

## **SACHARIDY**

Sacharidy jsou významnou a rozsáhlou skupinou přírodních látek. Pro živé soustavy jsou důležitými substráty, v nichž je uložena chemická energie, vpravená do nich v procesu fotosyntetické asimilace. Jsou biologickými prekurzory lipidů, bílkovin a jiných složek živé hmoty. Některé sacharidy jsou látky zásobní, jiné tvoří podpůrná pletiva rostlin. Tvoří až 75 % váhy suchého rostlinného těla. Společně s tuky a proteiny jsou živinami pro živočichy včetně lidí.

Sacharidy jsou polyhydroxyaldehydy nebo polyhydroxyketony s nejméně třemi alifaticky vázanými uhlíkovými atomy a také sloučeniny, které se z nich tvoří vzájemnou kondenzací za vzniku acetalových vazeb. Jsou složeny z uhlíku, kyslíku a vodíku, výjimečně obsahují v molekule dusík nebo síru.

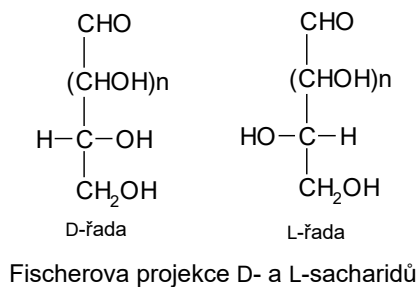
Sacharidy se dělí podle velikosti molekuly na:

- monosacharidy, jsou složeny z jedné cukerné jednotky a hydrolyticky se neštěpí;
- oligosacharidy, jsou složeny ze dvou až deseti monosacharidů vzájemně spojených glykosidovými (poloacetalovými) vazbami;
- polysacharidy, sestávají z více než deseti stejných nebo různých monosacharidů;
- složené sacharidy, obsahují ještě např. lipidy, proteiny nebo peptidy.

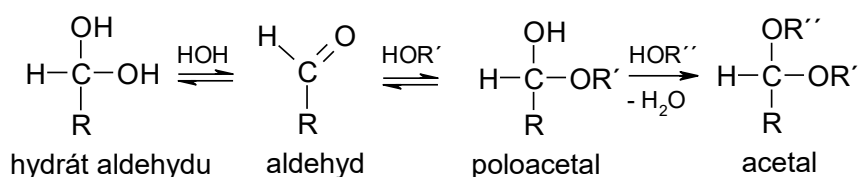
### **1. Monosacharidy**

Monosacharidy se rozdělují podle povahy karbonylové skupiny na aldosity a ketosity, podle počtu atomů uhlíku na triosy, tetrosy, pentosy, hexosy, resp. heptosy. Tato označení mohou být spojena, např. glukosa je aldohexosa, ribulosa je ketopentosa.

Konfigurace monosacharidů je označována prefixem D nebo L a je odvozena podle orientace hydroxylové skupiny nejvzdálenější od karbonylové skupiny. Je-li orientována doprava, patří do řady D, je-li vlevo, patří do řady L. Většina přírodních monosacharidů patří do D-řady (mimo L-rhamnosu, L-arabinosu, L-fukosu). Označení D, L nesouvisí s optickou otáčivostí, která se vyjadřuje znaménky (+) pro pravotočivé, (-) pro levotočivé. Typické vlastnosti cukrů začínají u tetros.

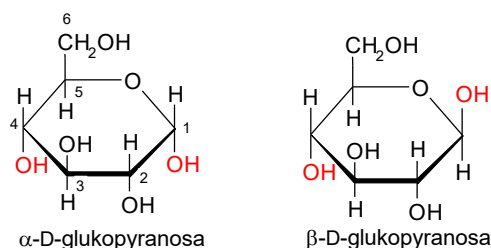


Aldehydy a ketony reagují s alkoholy za vzniku poloacetalů. Reakcí poloacetalu s další molekulou alkoholu za odštěpení molekuly vody vznikají acetaly. Jde o reakci, která odpovídá tvorbě glykosidů.



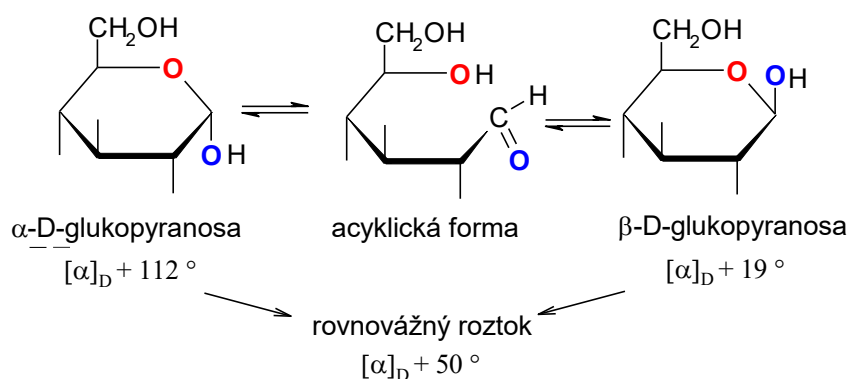
Intramolekulární adicí jedné z hydroxylových skupin (primární nebo sekundární hydroxylové skupiny) na karbonylovou skupinu vznikají ze sacharidů spontánně cyklické poloacetalu. Tyto cyklické formy tvoří přednostně šestičlenný, případně pětičlenný kruh. Struktury s pětičlenným kruhem se nazývají furanosy, se šestičlenným kruhem pyranosy.

Na uhlíku karbonylové skupiny (u aldosa uhlík C-1, u ketosa C-2) vzniká nové chirální centrum. Uhlík karbonylové skupiny se označuje jako anomerní uhlík, nově vytvořená hydroxylová skupina na anomerním uhlíku je anomerní hydroxylová skupina (poloacetalová hydroxylová skupina) a odpovídající dvojice izomerů jsou anomery. Pro označení konfigurace substituentů na anomerním uhlíku se používají konfigurační prefixy  $\alpha$  a  $\beta$ . Ty udávají relativní konfiguraci vůči chirálnímu atomu uhlíku, který určuje příslušnost k řadě D nebo L. Anomer  $\alpha$  má shodnou konfiguraci, anomer  $\beta$  opačnou. Každý z obou anomerů má odlišné chemické a fyzikální vlastnosti – teplotu tání, rozpustnost a zejména optickou otáčivost.

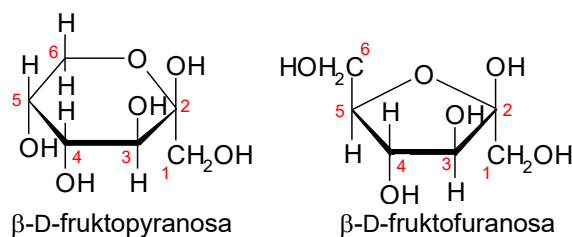


V krystalickém stavu existují monosacharidy výhradně v cyklických strukturách, tedy jako  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -anomery. Po rozpuštění dochází v roztoku po určité době k ustanovení rovnovážného stavu mezi  $\alpha$ - a  $\beta$ -anomerem a ke změně optické rotace, která je pro každý monosacharid charakteristická. Tento jev se označuje jako mutarotace. Pokud se např. krystalická  $\alpha$ -D-glukosa rozpustí ve vodě, optická otáčivost roztoku se pozvolna mění z původní hodnoty  $+112^\circ$ , až dosáhne hodnoty  $+52^\circ$ . Tato změna optické otáčivosti je výsledkem vytvoření rovnovážné směsi obsahující při teplotě  $20^\circ\text{C}$  67 %  $\beta$ -anomeru a 33 %  $\alpha$ -anomeru. Látky vykazující mutarotaci jsou často charakterizovány hodnotami počáteční a konečné rotace, např.  $[\alpha]_D + 112^\circ \rightarrow 52^\circ$ . Mutarotaci vykazují rovněž oligosacharidy, mající v molekule monosacharid s volnou poloacetalovou, tj. anomerní hydroxylovou skupinou.

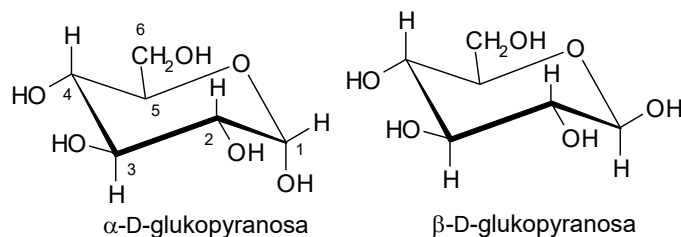
V metabolicky aktivních rostlinných tkáních je mutarotace sacharidů obsahujících vázanou glukosu a galaktosu katalyzována mutarotase (aldosa 1-epimerasa).



D-fruktosa jako většina volných sacharidů tvoří přednostně pyranosový kruh. Furanosová forma fruktosy se vyskytuje pouze v oligosacharidech (sacharosa), v polysacharidech (inulin) a v některých fosforečných esterech sacharidů.



Cyklické formy sacharidů nejsou rovinnými útvary. Nejčastěji se vyskytující (termodynamicky nejvýhodnější) konformací pyranos jsou konformace židličkové.

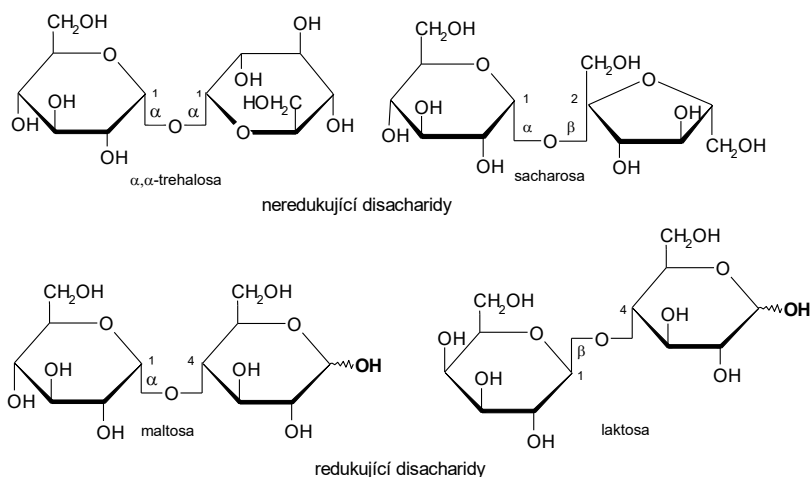


## 2. Oligosacharidy

**Oligosacharidy** jsou složeny ze dvou až deseti molekul monosacharidů, vázaných  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -glykosidickou vazbou. Podle počtu stavebních jednotek se označují jako disacharidy, tri-, tetra- až dekasacharidy. Mohou být hydrolyzovány kyselinami nebo enzymaticky na monosacharidy. Oligosacharidy jsou glykosidy, v nichž je „aglykonem“ molekula jiného sacharidu. Proto se také nazývají homoglykosidy. Nejčastěji se v oligosacharidech vyskytují hexosy. Disacharidy se tvoří kondenzací  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -anomerní hydroxylové skupiny monosacharidu s libovolnou hydroxylovou skupinou jiného monosacharidu. Při vzájemné kondenzaci dvou poloacetalových hydroxylových skupin neobsahuje vzniklý disacharid volnou anomerní hydroxylovou skupinu a je proto neredukující (např. trehalosa a sacharosa). V každém jiném případě vzniká redukující disacharid, který stejně jako výchozí monosacharid vykazuje v roztocích mutarotaci a vyskytuje se jako  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -anomer (např. maltosa a laktosa).

Sacharosa je složena z D-glukosy a z D-fruktosy. Fruktosa je zde přítomná ve své stálé furanosové formě, proto se sacharosa štěpí již velmi zředěnými kyselinami na glukosu a fruktosu. Tento pochod se nazývá inverze, dochází při něm ke změně optické otáčivosti. Směs po hydrolyse (invertní cukr) je vedle sacharosy hlavní složkou medu.

Z trisacharidů je nejvíce v přírodě rozšířena rafinosa, jejím hlavním zdrojem je cukrová řepa. Nemá redukční vlastnosti a po hydrolyse poskytuje D-glukosu, D-fruktosu a D-galaktosu.



### 3. Kvalitativní analýza sacharidů

Chemické vlastnosti sacharidů jsou podmíněny četnými hydroxylovými skupinami. Jako sloučeniny s mnoha hydroxyly jsou sacharidy snadno rozpustné ve vodě, nerozpustné v organických rozpouštědlech a tucích a chutnají sladce. Skupiny aldehydicke (a ketonické u ketos) se neprojevují; jednoduché barevné reakce na aldehydy jsou negativní, protože v roztoku není prakticky přítomen aldehyd, nýbrž jen poloacetalová forma sacharidu.

#### *Funkční deriváty hydroxylových skupin*

Alkoholické skupiny mohou být esterifikovány. Toho se využívá k charakterizaci sacharidů nebo k blokování určitých hydroxylů esterifikací. V biochemii mají zvláštní význam estery kyseliny fosforečné.

Alkoholické skupiny mohou tvořit ethery. Tvorba etherů (např. s dimethylsulfátem a hydroxidy) má význam při objasňování konstituce složených sacharidů. Mimořádně reaktivní je poloacetalový hydroxyl na prvním uhlíku u aldosa. Sloučeniny od něho odvozené jsou glykosidy.

#### *Deriváty karbonylové skupiny*

Sacharidy nedávají mnohé z reakcí na aldehydy a ketony, protože aldehydy jsou přítomny v rovnovážném stavu pouze ve zlomcích procenta. Lze je však dokázat pomocí určitých reakcí, jako je např. tvorba oximů. Z hlediska identifikace sacharidů



### **3.1. Analytické metody**

K identifikaci monosacharidů a oligosacharidů se používají převážně metody chromatografické (papírová chromatografie, chromatografie na tenkých vrstvách). Barevné reakce sacharidů s anthronem, fenoly (resorcinol, orcinol a pod.) a kyselinami mají menší význam; některých se používá jako detekčních reagensů při postřikování chromatogramů nebo při stanoveních kolorimetrických. Redukční metody, které se dříve používaly ke kvalitativnímu i kvantitativnímu stanovení sacharidů jsou postupně opouštěny pro svoji nízkou specifitu.

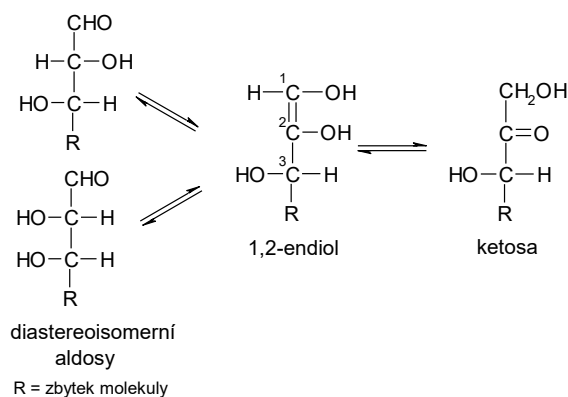
Nejmodernější techniky využívají plynovou chromatografii nebo kapalinovou chromatografii ve spojení s hmotnostní spektroskopií.

### **3.2. Redukční vlastnosti sacharidů**

Monosacharidy nebo ve vodě rozpustné oligosacharidy s krátkým řetězcem povahením se zkoumadly založenými na 'CuSO<sub>4</sub>/OH<sup>-</sup>' (např. Fehlingovo, Benedictovo), redukuje Cu<sup>2+</sup> ionty na Cu<sup>+</sup> ionty za vzniku cihlově-červené sraženiny Cu<sub>2</sub>O. Podmínkou uvedené reakce je, aby sacharidy obsahovaly nebo byly schopny poskytnout v alkalickém prostředí (0,2 M OH<sup>-</sup>) volnou aldehydickou (CHO) skupinu. Je to právě aldehydická skupina, která redukuje Cu<sup>2+</sup> a oxiduje se na karboxylovou skupinu (COOH). Sacharidy, které splňují tento požadavek, jsou:

- (i) aldotriosy s otevřeným řetězcem (např. D-glyceraldehyd)
- (ii) ketotriosy s otevřeným řetězcem (např. dihydroxyaceton) a ketotetrosy (D-erytrulosa)
- (iii) monosacharidy aldosity a ketosy, které jsou ve vodných roztocích převážně v cyklické formě jako pyranosy nebo furanosy, které mají volnou hydroxylovou skupinu na anomerním uhlíkovém atomu (C-1 u aldosu, C-2 u ketosu, např. D-glukosa a D-fruktosa, ale ne jejich glykosidy)
- (iv) ve vodě rozpustné oligosacharidy s krátkým řetězcem, které mají monosacharidový zbytek (aldosu nebo ketosu) s volnou hydroxylovou skupinou na anomerním uhlíkovém atomu (např. maltosa, ale ne sacharosa).

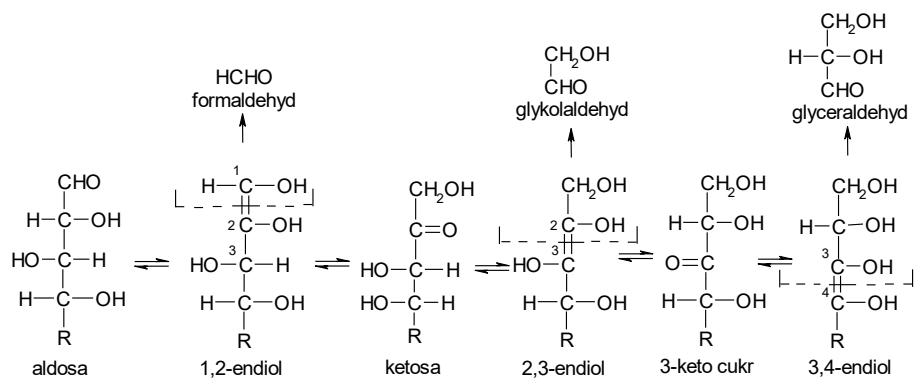
Sacharidy, které patří do kategorie (i) mají volnou aldehydickou skupinu, ale ty, které spadají do kategorie (ii) nikoliv. Ty v přítomnosti zředěných alkálií (0,02 M OH<sup>-</sup> je postačující) podléhají reverzibilní tautomerní izomerizaci, při které dochází k přeskupení (Lobry de Bruyn – Alberda van Ekenstein přeskupení).



Sacharidy skupiny (iii) v krystalickém stavu existují výhradně buď jako  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -anomer v jedné z jejich cyklických forem. Ve vodných roztocích podléhají mutarotaci, takže existují v rovnovážné směsi  $\alpha$ - a  $\beta$ -anomerů a v acyklické formě. Dosažení rovnovážného stavu v čisté vodě je pomalé, avšak téměř okamžité v přítomnosti OH<sup>-</sup> iontů. Mutarotace aldosa tudíž vytváří volný aldehyd, acyklickou formu sacharidu, která je nezbytná pro redukci Cu<sup>2+</sup>. Na druhé straně, mutarotace ketosa vytváří acyklickou formu s volnou ketoskupinou, která může redukovat Cu<sup>2+</sup> až po Lobry de Bruyn – Alberda van Ekenstein přeskupení, při kterém jsou reverzibilně generovány acyklické izomerní formy.

Nicméně, relativně vysoká koncentrace hydroxylových iontů ve Fehlingově a Benedictově zkoumadle zapříčiňuje tvorbu volného aldehydu a sacharidu s otevřeným řetězcem (z cyklické formy aldosa a ketosa) a dále poskytují přeskupením nejen 1,2-endioly, ale také 2,3-endioly a 3,4-endioly, které jsou v převládajících podmínkách nestálé. Ty pak poskytují řadu nižších aldehydů jako formaldehyd, glykolaldehyd a glycerinaldehyd, které jsou zodpovědné za redukci Cu<sup>2+</sup>. To také vysvětluje, proč mají pentosy a hexosy stejnou redukční sílu jako nízkomolekulární aldehydy.





Lékopisy (Ph. Eur. a ČL) využívají pro důkaz sacharidů jak metodu tenkovrstvé chromatografie, tak barevné reakce, založené na výše uvedených principech.

### 3.3. Zkoušky totožnosti sacharidů podle ČL 2009

#### 3.3.1. Tenkovrstvá chromatografie *Glucosum anhydricum* – glukosa bezvodá (ČL 2009) (uvedeno jako příklad)

Provede se tenkovrstvá chromatografie za použití vrstvy silikagelu G.

*Zkoušený roztok*: 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů vody a methanolu (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

*Porovnávací roztok (a)*: 10 mg glukosy se rozpustí ve směsi objemových dílů vody a methanolu (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

*Porovnávací roztok (b)*: 10 mg glukosy, 10 mg laktosy, 10 mg fruktosy a 10 mg sacharosy se rozpustí ve směsi objemových dílů vody a methanolu (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2  $\mu\text{l}$  každého roztoku a nanesené skvrny se důkladně vysuší. Vyvíjí se ve směsi objemových dílů vody, methanolu, kyseliny octové bezvodé a dichlorethanu (10 : 15 : 25 : 50) po dráze přesahující 15 cm. Rozpouštědla mají být odměřena přesně, i malý přebytek vody může způsobit zákal. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu. Vyvíjení se opakuje v čerstvě připravené směsi rozpouštědel. Vrstva se opět usuší v proudu teplého vzduchu, rovnoměrně se postříká roztokem 0,5 g thymolu ve směsi složené z 5 ml kyseliny sírové 95–97% a 95 ml lihu 96% a zahřívá se 10 minut při 130 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou ( $R_F$ ), zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou čtyři zřetelně oddělené skvrny.

Připravte 20 ml 2% roztoku sacharidů (glukosa, laktosa, fruktosa, galaktosa, xyloza) ve směsi objemových dílů vody a methanolu (2 + 3) a proveďte výše popsanou chromatografickou analýzu.

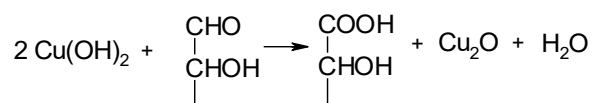
### 3.4. Oxidace sacharidů ionty kovů

Tyto reakce dávají redukující sacharidy. Ty redukují v alkalickém prostředí soli měďnaté, stříbrné, bismutité nebo rtuťnaté na sloučeniny o nižším mocenství, popřípadě až na kovy.

**Připravte 25 ml 2% vodného roztoku zkoumaného cukru a proveďte zkoušky s následujícími činidly a roztoky.**

#### 3.4.1. Fehlingovo zkoumadlo – komplexní měďnatá sůl

Připravte v čase potřeby smícháním Fehling I (roztok krystalického síranu měďnatého ve vodě) a Fehling II (roztok hydroxidu sodného a vínanu sodno-draselného ve vodě) v poměru 1:1. 2 ml zkoumadla se zahřívají s 2 ml cukerného roztoku. V přítomnosti redukujícího sacharidu vzniká červenooranžové nebo zelené zbarvení nebo sraženina oxidu měďného (Cu<sub>2</sub>O). Barva je závislá na teplotě, času a velikosti krystalů vyloučeného oxidu.

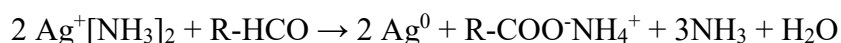


#### 3.4.2. Barfoedovo zkoumadlo – roztok octanu měďnatého

Toto zkoumadlo je redukováno pouze monosacharidy. Redukce octanu měďnatého probíhá poněkud obtížněji než redukce Fehlingova roztoku, takže redukční schopnosti redukujících disacharidů, které jsou poměrně menší než redukční schopnosti monosacharidů, nestačí pro vyloučení oxidu měďného. Slouží k rozlišení redukujících monosacharidů od redukujících disacharidů. 2 ml zkoumadla se zahřívají s 2 ml cukerného roztoku.

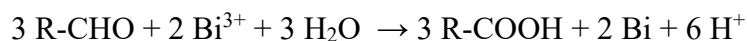
### **3.4.3. Tollensovo zkoumadlo – komplexní amoniakální sůl stříbra $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$**

Zkoumadlo připravíme smícháním 1 ml 5%  $\text{AgNO}_3$  s několika kapkami 5% vodného roztoku hydroxidu sodného. Vyloučený  $\text{Ag}_2\text{O}$  se rozpustí ve 2% hydroxidu amonném (nadbytek snižuje citlivost zkoumadla). Ke zkoumadlu přidáme 1 ml roztoku vzorku, protřepeme a necháme 10 minut stát. Pokud se roztok nezakalí vyloučeným stříbrem, slabě zahřejeme. Pokud ani tehdy nedojde k vyloučení stříbra, je reakce negativní. Po provedení reakce obsah zkumavek ihned vylíjete! Tato reakce není specifická pro cukry, reagují i jiné snadno se oxidující látky (vícesytné fenoly, aminofenoly, aromatické aldehydy).



### **3.4.4. Nylanderovo zkoumadlo - komplexní bismutitá sůl ( $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$ + vínan sodno-draselný + $\text{NaOH}$ )**

Principem je oxidace sacharidů alkalickým roztokem solí trojmocného bismutu. V přítomnosti redukujících cukrů se vyloučí bismut. 2 ml cukerného roztoku se povaří s 1 ml zkoumadla. Roztok tmavne vyloučeným bismutem.



### **3.4.5. Boettgerova reakce**

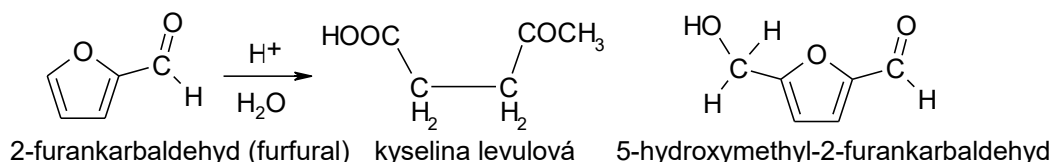
K 1 ml roztoku zkoušeného cukru se přidá několik krystalů zásaditého dusičnanu bismutitého a několik kapek 10% hydroxidu sodného. Nejprve se objeví bílá sraženina hydroxidu bismutitého, který se redukuje varem na černý bismut.

### **3.4.6. Nitrochromová reakce**

Je založena na oxidaci daného typu sacharidu kyselinou dusičnou a chromanem draselným. Chroman se při reakci redukuje na chromnatou sůl. Zatímco hydratovaný chromanový aniont  $\text{CrO}_4^{2-}$  je žlutý, hydratovaný chromnatý kation  $\text{Cr}^{2+}$  je modrý. Ke 2 ml vzorků sacharidů přidejte opatrně 3 ml kyseliny dusičné a 5 kapek roztoku chromanu draselného.

### 3.5. Barevné reakce sacharidů

Sacharidy dávají barevné reakce s fenoly v prostředí silných minerálních kyselin. Působením kyselin dochází k dehydrataci spojené se ztrátou jedné až tří molekul vody a vzniku derivátů furanu a pyranu (z pentos furfural, z methylpentos 5-methylfurfural a z hexos 5-hydroxy-methylfurfural). Rychleji reagují pentosy a ketohexosy, kdežto aldohexosy, které uvolňují jen nepatrné množství hydroxyfurfuralu, obvykle nereagují. Z 6-deoxypentos, jako je L-rhamnosa, vzniká 5-methyl-2-furankarbaldehyd. Deriváty furfuralu se zčásti opět štěpí a vytváří nižší aldehydy. Aldehydy kondenzují s fenoly za vzniku barevných produktů. Jako fenolová látka se používá:  $\alpha$ -naftol, resorcinol, floroglucin a orcin. Průběh reakcí není ještě zcela vyjasněn.



#### 3.5.1. Molischova zkouška (reakce s $\alpha$ -naftolem)

K 1 ml cukerného roztoku přidejte 1-2 kapky methanolického roztoku  $\alpha$ -naftolu, poté opatrně podvrstvěte 1 ml koncentrované kyseliny sírové. V přítomnosti sacharidů se vytváří na rozhraní vody a kyseliny červenofialový prstenec. Po promíchání se kapalina zbarví tmavofialově, zředěním se vyloučí modrofialová sraženina.

#### 3.5.2. Selivanovova zkouška (reakce s resorcinolem)

K 1 ml vzorku přidejte 1 ml roztoku resorcinolu v koncentrované kyselině chlorovodíkové a postupně zahřívejte. Ketosy dávají červené zbarvení, aldosity nereagují.

#### 3.5.3. Anthronová zkouška (reakce s anthronem)

K 1 ml vzorku opatrně přidejte 1 ml roztoku anthronu (0,1% roztok anthronu v  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), aby vznikly dvě vrstvy. Pokud vzniká na rozhraní modré nebo modrozelené zbarvení, je reakce pozitivní. Některé deoxycukry dávají s tímto zkoumadlem červené zbarvení.

### **3.5.4. Reakce s octanem olovnatým**

2 ml roztoku zkoušeného sacharidu se zahřívá se 2 ml 10% octanu olovnatého. Nejprve se objeví žluté zbarvení. Po přidání roztoku amoniaku vzniká sraženina hydroxidu olovnatého.

### **3.6. Kvantitativní stanovení cukrů**

Metody stanovení sacharidů jsou založeny na stejných principech jako jejich metody kvalitativní. Nejčastěji se využívá redukčních vlastností cukrů a reakční produkty se stanovují titračně nebo gravimetricky. Barevných reakcí se využívá při stanovení kolorimetrickém. Sacharidy lze stanovit také metodami fyzikálně-chemickými, např. polarograficky, polarometricky, popřípadě se stanovují metodami biologickými.

### **3.7. Testované substance a drogy**

#### **3.7.1. *Glucosum monohydricum* – Glukosa monohydrát (ČL 2009)**

Monohydrát (+)-D-glukopyranosy

Bílý, krystalický prášek. Má sladkou chuť. Snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v ethanolu 96% a nerozpustná v chloroformu.

Zkoušky totožnosti:

1. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody, přidají se 3 ml vlnanu měďnatého (Fehlingovo zkoumadlo) a zahřeje se; vznikne červená sraženina.
2. 0,1 g se rozpustí v 5,0 ml roztoku octanu měďnatého a povaří se. Vylučuje se oranžově červená sloučenina (odlišení od laktosy) (viz reakce s Barfoedovým zkoumadlem).
3. 1 ml roztoku glukosy se zahřívá s 1 ml alkalického roztoku kyseliny pikrové. Vzniká červená kyselina pikraminová (reaguje také fruktosa a laktosa).

*Příprava alkalického roztoku kyseliny pikrové:* 9,5 ml 1% kyseliny pikrové (2,4,6-trinitrofenol) se smíchá s 0,5 ml 10% roztoku hydroxidu sodného a zředí se 10 ml methanolu (příprava pro celý pracovní stůl).

### **3.7.2. Galactosum – Galaktosa (ČL 2009)**

Je to D-galaktopyranosa (diastereoizomer glukosy, liší se konfigurací na uhlíku C4) Bílý, krystalický nebo jemně granulovaný prášek. Snadno rozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v ethanolu 96%.

Zkoušky totožnosti:

1. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody, přidají se 3 ml vlnanu měďnatého (Fehlingovo zkoumadlo) a zahřeje se; vznikne oranžová nebo červená sraženina.

### **3.7.3. Fructosum – Fruktosa (ČL 2009) (syn. levulosa)**

(-)-D-arabino-hex-2-ulopyranosa

Bílý, krystalický prášek, chuti velmi sladké. Snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu 96% a nerozpustná v chloroformu.

Zkoušky totožnosti:

1. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody, přidají se 3 ml vlnanu měďnatého (Fehlingovo zkoumadlo) a zahřeje se; vznikne červená sraženina.

2. 5 g se rozpustí ve vodě a zředí se jí na 10 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se smíchá s 0,2 g resorcinolu a 9 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné a zahřívá se 2 minuty na vodní lázni; vzniká červené zbarvení.

3. 1 ml roztoku vanilinu v HCl po zahřátí s 1 ml zkoušeného vzorku dává červené zbarvení.

### **3.7.4. Xylosum – Xylosa (ČL 2009)**

Je to (+)-D-xylopyranosa, (syn. dřevní cukr)

Široce zastoupená pentosa ve dřevě rostlin ve formě xylanů. Existuje ve formě pyranosy i furanosy, stejně jako ve formě volného aldehydu. Není zkvašována kvasinkami.

Zkoušky totožnosti:

1. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody, přidají se 3 ml vlnanu měďnatého (Fehlingovo zkoumadlo) a zahřeje se; vznikne oranžová nebo červená sraženina.

### **3.7.5. Xylitolum – Xylitol (ČL 2009)**

Je to meso-xylitol. Vzniká redukcí xylosy. Opticky inaktivní C<sub>5</sub> cukerný alkohol.

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v ethanolu 96%. Xylitol je vedlejší produkt dřevní sacharifikace (cukernatění, zcukření). Má polovinu sladivosti sacharosy a vykazuje laxativní účinek.

### 3.7.6. *Mannitolum* - Mannitol (ČL 2009)

D-mannitol

Bílý, krystalický prášek, sladké chuti. Snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v ethanolu 96%. Je polymorfní. Přítomný v droze *Manna*, což je zaschlá šťáva, vytékající po nařezání kůry stromu *Fraxinus ornus* L. – jasan zimnář, Oleaceae.

Zkoušky totožnosti:

1. K 5 ml 2% vodného roztoku vzorku přidejte 1 ml 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 3 ml KMnO<sub>4</sub>. Směs zahřívejte 2 minuty na vodní lázni, zfiltrujte a přidejte stejný objem Fehlingova zkoumadla. Povařením se vylučuje oranžově červená sraženina oxidu měďného Cu<sub>2</sub>O. Cukerný alkohol se oxiduje manganistanem draselným na aldehyd, který vykazuje redukční schopnosti.
2. 1 g vzorku se rozpustí v destilované vodě prosté CO<sub>2</sub> a doplní se na 10 ml (roztok A). K 3 ml čerstvě připraveného roztoku pyrokatecholu (10 g/100 ml) se za chlazení ve vodní lázni s ledem přidá 6 ml konc. kyseliny sírové. K 3 ml ochlazené směsi se přidá 0,3 ml roztoku A a asi 30 sekund se opatrně zahřívá nad plamenem. Roztok se zabarví růžově.

### 3.7.7. *Lactosum anhydricum* – Laktosa bezvodá (ČL 2009)

Mléčný cukr, β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-β-D-glukopyranosa; nebo směs β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-β-D-glukopyranosy a β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-α-D-glukopyranosy.

Bílý krystalický prášek sladké chuti. Snadno, ale pomalu rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v ethanolu 96%.

Zkoušky totožnosti:

1. Asi 0,25 g laktosy se rozpustí v 5 ml vody a přidá se 5 ml 17,5% amoniaku. Roztok zahříváme na vodní lázni při 80 °C, vznikne červené zbarvení.

2. Oxidací kyselinou dusičnou vzniká ve vodě málo rozpustná kyselina slizová (kyselina galaktarová). Jde o test specifický pro galaktosu.

3. 0,5 g octanu sodného a 0,5 g fenylylhydrazinu rozpustíme ve 2,5 ml vody a zahříváme na vodní lázni do úplného rozpuštění. Poté přidáme vzorek cukru a zahříváme 30 minut na vroucí vodní lázni. Po intenzivním ochlazení dochází k vylučování krystalů fenylosazonu.

S přebytky fenylylhydrazinu ve vodném prostředí tlumeném octanovým pufrem vznikají osazony, které představují vhodnější deriváty pro identifikaci cukrů. Jako vodítko při identifikaci může sloužit i rychlost tvorby osazonů a jejich rozpustnost, která se podstatně liší. Například osazony glukosy a fruktosy se vylučují krátce po zahřátí, kdežto sacharosa vyžaduje 20-30 minutové zahřívání. Osazony laktosy a maltosy se vylučují až po ochlazení. Sacharidy, které se liší pouze konfigurací skupin na posledních dvou uhlících, poskytují stejné osazony (D-glukosa, D-fruktosa, D-mannosa).

### **3.7.8. *Saccharosum* – Sacharosa (ČL 2009)**

Saccharum,  $\beta$ -D-fruktofuranosyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid

Krystalky bezbarvé nebo bílý krystalický prášek, sladké chuti. Snadno rozpustná ve vodě, těžce rozpustná v ethanolu 96%, prakticky nerozpustná v ethanolu bezvodém.

Zkoušky totožnosti:

1. 0,1 g látky s několika kapkami koncentrované kyseliny sírové uhelnatí již za chladu, na rozdíl od glukosy a laktosy.
2. 1 g se rozpustí v 5 ml vody, přidá se 0,15 ml čerstvě připraveného síranu měďnatého (125 g/l) a 2 ml čerstvě připraveného hydroxidu sodného (8,5 g/100 ml). Roztok je modrý a čirý, povařením se jeho vzhled nemění. K horkému roztoku se přidají 4 ml kyseliny chlorovodíkové (20 g 35% kyseliny v 100 ml), vaří se 1 minutu a pak se přidají 4 ml hydroxidu sodného (8,5 g/100 ml); ihned vznikne oranžová sraženina.

### **3.7.9. *Mel* – Med (ČL 2009)**

Produkt vzniklý z květního nektaru, sladkých šťáv rozličných rostlinných orgánů, enzymatickým štěpením v žaludku včely medonosné, *Apis mellifera*, Apidae a



následným odpařením vody, zahuštěním, a uložením do medonosných pláští k dozrávání.

Téměř bílá až tmavohnědá viskózní tekutina, která může být částečně krystalizovaná. Obsahuje glukosu, fruktosu (invertní cukr), v menší míře sacharosu a další cukry.

Zkoušky totožnosti:

1. 20% vodný roztok reaguje na lakmus slabě kyselě (med obsahuje různé organické kyseliny např. kyselinu jablečnou, vinnou, stopy kyseliny mravenčí. Stáním se obsah kyselin zvyšuje.
2. Přidáním několika kapek vodného roztoku taninu se vodný roztok medu ihned znatelně kalí přítomnými bílkovinami.

Zkouška na čistotu:

5 g medu se roztírá 1 minutu v třence s 10 g diethyletheru, výluh se pak zfiltruje a na vlažné vodní lázni se odpaří v porcelánové misce. Suchý odparek se provlhčí několika kapkami čerstvě připraveného 1% roztoku resorcinolu v dýmavé HCl, roztok se nesmí zbarvit trvale červeně (umělý med).

Pravý včelí med se často přislazuje umělou invertosou, která se připravuje hydrolysou sacharosy koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Většinou je tato kyselina v nadbytku, dochází k reakci s fruktosou za vzniku 5-hydroxymethylfuralu, který snadno přechází do diethyletheru (na rozdíl od sacharosy) a s resorcinolem reaguje za vzniku červeného zbarvení.

U následujících drog zjistíte pomocí zkoušek a metodou tenkovrstvé chromatografie, jaké sacharidy obsahují.

### **3.7.10. *Malti extractum* – Sladový výtažek**

Získává se vyluhováním sušeného, rozdrčeného sladu, nejčastěji ječmenného, *Hordeum vulgare* L., ječmen setý, Poaceae, teplou vodou (60 °C) v poměru 1:5 a zahřívá se 15 minut při 70–75 °C.

Obsahové látky: hlavní podíl přítomných cukrů tvoří redukující disacharid maltosa – cukr sladový. Suspenze se přefiltruje přes vatu a v získaném filtrátu se metodou tenkovrstvé chromatografie dokazují sacharidy.

### 3.7.11. *Ceratoniae fructus* – Svatojánský chléb

*Ceratonia siliqua* L., rohovník obecný, Fabaceae.

Obsahové látky: sacharidy (glukosa, fruktosa, xylosa, sacharosa, D-pinitol), škrob, pektin, vláknina, bílkoviny.

Zkoušky totožnosti:

1. Práškovanou drogu (0,3 g) přelijeme 20 ml směsí voda methanol (2:3) a necháme macerovat 10 minut v kádince přikrytou hodinovým sklíčkem. Suspenze se přefiltruje přes vatou a v získaném filtrátu se metodou tenkovrstvé chromatografie dokazují sacharidy.

### 3.7.12. *Passulae minores* – Hrozinky

*Vitis vinifera* L., réva vinná, Vitaceae.

Hlavní obsahové látky: sacharidy.

Zkoušky totožnosti:

Rozdrcené plody (3 g) přelijeme 20 ml směsí voda : methanol (2 : 3) a necháme macerovat 10 minut v kádince přikryté hodinovým sklíčkem. Suspenze se přefiltruje přes vatou a v získaném filtrátu se metodou tenkovrstvé chromatografie dokazují sacharidy.

### 3.7.13. *Cynosbati fructus* – Šípek (ČL 2009) syn. *Rosae pseudo-fructus*

Je to usušený nepravý plod se zbytky suchého kalicha druhu *Rosa canina* L., růže šípková, *R. pendulina* L., růže převislá a jiných druhů rodu *Rosa*, Rosaceae, zbavený nažek.

Obsahové látky: nejméně 0,3 % kyseliny askorbové, počítáno na vysušenou drogu.

Dále jsou přítomné cukry a karotenoidy.

Zkoušky totožnosti:

1. Rozdrcené plody (3 g) přelijeme 20 ml směsí voda : methanol (2 : 3) a necháme macerovat 10 minut v kádince přikryté hodinovým sklíčkem. Suspenze se přefiltruje přes vatou a v získaném filtrátu se metodou tenkovrstvé chromatografie dokazují sacharidy.

### **3.8.Zkoušky totožnosti**

Připravte vodné roztoky sacharidů (monosacharidy pentosy, hexosy, aldosity, ketosy; disacharidy redukující a neredukující) a proveďte reakce uvedené výše. Výsledky zaznamenejte do tabulky.

Tabulka výsledných reakcí:

<b>Sacharid</b>	<b>Fehlingovo č.</b>	<b>Barfoedovo č.</b>	<b>Tollensovo č.</b>	<b>Nylanderovo č.</b>

<b>Sacharid</b>	<b>Molischova z.</b>	<b>Selivanovova z.</b>	<b>Anthronová z.</b>