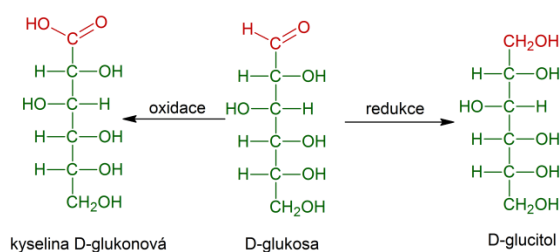


## SACHARIDY

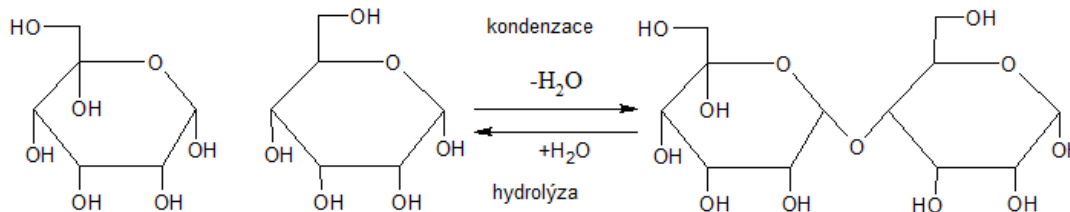
**SACHARIDY** (glycidy) jsou rozsáhlou a velmi pestrou skupinou přírodních látek patřících do skupiny polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin s minimálně třemi atomy uhlíku. Sacharidy jsou z chemického hlediska hydroxyaldehydy (**aldózy**), které mají navázaný jeden řetězec a jeden atom H, nebo hydroxyketony (**ketózy**), které mají navázané dva různé řetězce. Společný sumární vzorek všech sacharidů je  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , kde  $n \geq 3$ .

Aldosy se díky přítomnosti aldehydické skupiny mohou oxidovat nebo redukovat (Obr. 1).



*Obr. 1: Oxidace a redukce aldosy*

Primárně vznikají fotosyntézou. Monosacharidické jednotky se mohou spojovat do vyšších útvarů přes tzv. glykosidovou vazbu. Ke spojení do vícecyklických sacharidů dochází **kondenzací** (Obr. 2), tedy odštěpením vody. Naopak rozklad těchto sloučenin probíhá opačným procesem, tedy **hydrolýzou** (Obr. 2).



*Obr. 2: Vznik a rozklad polysacharidů*

Podle počtu sacharidových jednotek rozdělujeme monosacharidy, oligosacharidy (2-10 molekul) a polysacharidy.

Sacharidy lze rozdělit na redukující a neredukující sacharidy. **Redukující** sacharidy obsahují volnou aldehydovou nebo ketonovou funkční skupinu a mohou fungovat jako redukční činidla. Ketózy se nejprve musí tautomerizovat na aldózy a až pak mají redukční účinky. Redukující jsou všechny monosacharidy a patří tak mezi aldózy. Některé di- (laktóza, maltóza), oligo- i polysacharidy (mají-li poloacetátový hydroxyl). **Neredukující** sacharidy (sacharóza) nemají poloacetal a zůstávají tak v cyklické formě

Nízkomolekulární sacharidy (mono- a oligo-) jsou rozpustné ve vodě a mají více či méně sladkou chuť a lze je označit jako cukry (na potravinách označovány kategorií „z toho cukry“). Makromolekulární polysacharidy jsou většinou bez chuti a jsou ve vodě jen omezeně

rozpustné (škrob, agar), nebo zcela nerozpustné (celulóza a jiné neškrobové polysacharidy z vlákniny).

Rostliny jsou schopny je vyrábět fotosyntézou z vody,  $\text{CO}_2$  a sluneční energie. Ostatní organismy jsou závislé na jejich příjmu.

Sacharidy mají několik funkcí:

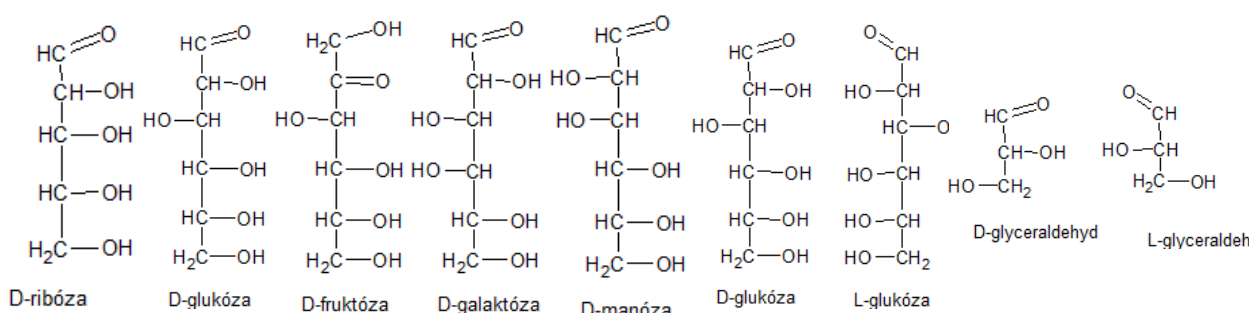
- **zdroje energie** (glukóza, fruktóza) – díky jednoduché struktuře jsou nejrychlejším zdrojem energie, na rozdíl od lipidů a proteinů).
- **zásobní látky** (inulin, škrob)
- **stavební funkce** – řetězením do dlouhých řetězců (polysacharidy) vzniká např. celulóza, která tvoří buněčnou stěnu většiny rostlin.
- **složky složitějších látek** (nukleové kyseliny, hormony, koenzymy)

**MONOSACHARIDY** (z řečtiny *monos*: jednoduchý, *sacchar*: cukr) jsou základní stavební jednotky všech sacharidů. Jsou charakteristické tím, že se nedají štěpit na sacharidy jednodušší. Monosacharidy jsou typicky krystalické látky dobře rozpustné ve vodě a v polárních rozpouštědlech. Monosacharidy jsou chirální sloučeniny, to znamená, že jsou opticky aktivní a stáčí rovinu polarizovaného světla.

Podle počtu uhlíků se dělí na triosy, tetrosy, pentosy a hexosy.

Monosacharidy lze zapsat ve formě lineární (vyjádřené Fisherovým vzorcem, viz Obr. 3) a cyklické (vyjádřené Haworthovým vzorcem, viz Obr. 4).

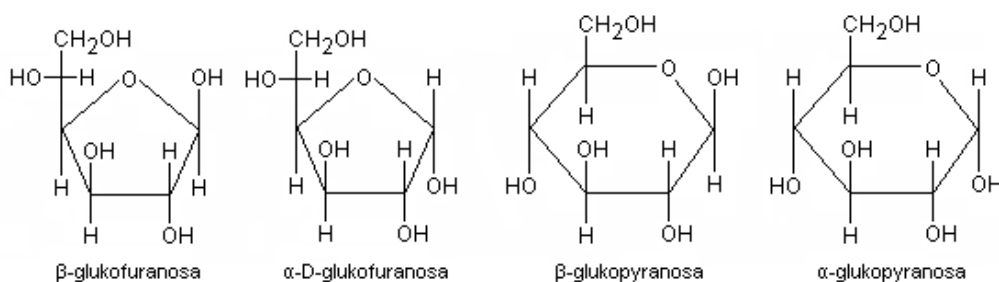
**Fisherův** vzorec je vhodný, chceme-li vidět orientaci jednotlivých funkčních skupin (Obr. 3).



Obr. 3: Přehled základních lineárních monosacharidů – Fisherův vzorec

**Haworthův** vzorec znázorňuje skutečnou, cyklickou strukturu sacharidů<sup>1</sup> (Obr. 4).

<sup>1</sup> Orientace hydroxylových skupin a atomů uhlíku v Haworthově vzorci se určuje tak, že je-li daná částice zapsaná ve Fischerově vzorci vpravo, nachází se v Haworthově dole. Pokud je částice ve Fischerově vzorci zapsána vlevo, píše se v Haworthově nahoru.



Obr. 4: Cyklické monosacharidy – Haworthův vzorec

U obou forem představují jednotlivé uhlíky asymetrická centra způsobující optickou aktivitu – jedná se o tzv. chirální centra. Díky nim existuje velké množství stereoizomerů (prostorových izomerů) se stejným sumárním vzorcem. Jejich maximální počet je  $2^n$  ( $n$  = počet chirálních center). Dvojice stereoizomerů, které jsou vzájemně právě zrcadlovými obrazy, nazýváme enantiomery a označujeme je stejným názvem doplněným symbolem L- (levotočivý) nebo D- (pravotočivý).

Podle orientace -OH skupiny na posledním stereogenním uhlíku ve Fischerově projekci tedy rozlišujeme **L-cukry** (orientované doleva) a **D-cukry** (orientované doprava).

V roztoku existují převážně v cyklických formách, přičemž formy s pětičlenným kruhem označujeme jako **furanosy** (konformačně flexibilnější, preferují obálkové konformace). Šestičlenné kruhy nazýváme **pyranosy** (nejčastěji v židličkových konformacích). Při uzavření cyklické formy dochází k vzniku dvou anomerů, které rozlišujeme za pomoci anomerních konfiguračních symbolů  $\alpha$  a  $\beta$ .

Nejdůležitějšími monosacharidy (Obr. 3) jsou:

- **D-glukóza** (hroznový cukr) – obsažena ve sladkých plodech, medu, hroznech; primární produkt fotosyntézy, základní sacharid, průmyslově se vyrábí ze škrobu
- **D-fruktóza** (ovocný cukr) – nejsladší, obsažena v medu, získává se z polysacharidu inulinu
- **D-ribóza** – složka kyseliny ribonukleové

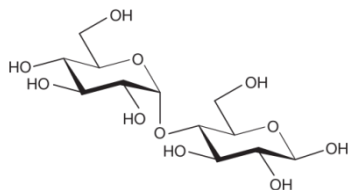
**OLIGOSACHARIDY** vznikají kondenzací 2–10 monosacharidových jednotek, konkrétně glykosidovou vazbou za odštěpení vody.

Disacharidy se dělí dle typu glykosidové vazby na redukující a neredukující. **Redukující** disacharidy (laktózy, maltóza) jsou spojeny na 1,4 a 1,6 koncích. **Neredukující** sacharidy (sacharóza) jsou spojeny vazbami na 1,1 a 1,2 koncích.

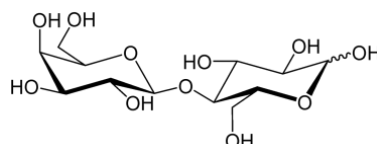
Podle počtu monosacharidových jednotek vázaných v jejich molekulách rozlišujeme disacharidy, trisacharidy, tetrasacharidy atd. Hydrolýzou se z nich opět uvolňují monosacharidy. Nejdůležitějšími z disacharidů jsou:

- **maltóza** (sladový cukr) (Obr. 5) – vzniká dehydratací 2 glukózových jednotek glykosidovou vazbou  $\alpha$  C1→C4 (je tedy redukující); získává se enzymatickou hydrolýzou škrobu

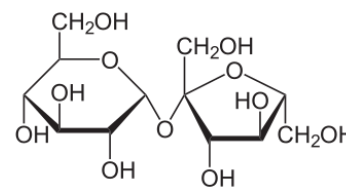
- **laktóza** (mléčný cukr) (Obr. 6) – vzniká spojením glukózy a galaktózy vazbou  $\beta$  C1→C4 (redukující); je obsažen v mléce savců (4–7 %)
- **sacharóza**<sup>2</sup> (řepný, třtinový cukr) (Obr. 7) – vzniká glykosidovou vazbou mezi glukózou a fruktózou, vazba  $\alpha,\beta$  C1<sub>gluk</sub>→C2<sub>fruk</sub> (neredukující); nejrozšířenější disacharid obsažený ve všech rostlinách; hydrolyzou vzniká D-glukóza a L-fruktóza = invertní cukr; v rostlinách se mění na škrob, případně se ukládá jako zásobní látka; získává se z cukrové řepy a třtiny



Obr. 5: Maltóza



Obr. 6: Laktóza



Obr. 7: Sacharóza

Produkty jejich hydrolyzy obsahují více redukujících sacharidů, zastoupení redukujících sacharidů v těchto produktech se nazývá dextrózový ekvivalent (DE).

**POLYSACHARIDY** jsou nejrozšířenějšími přírodními polymery. Jsou složeny z mnoha monosacharidových jednotek (řádově 10–100 000) s vysokou Mr. Vznikají spojením monosacharidových jednotek vždy přes poloacetalový hydroxyl (nemají redukční účinek). Hydrolyzou dochází ke štěpení na monosacharidy, které opět mají redukční schopnost.

Mají obecný sumární vzorec  $C_n(H_2O)_{n-1}$ .

Molekula sacharidu složená pouze z jednoho druhu monosacharidu se označuje jako **homopolysacharid**. Pokud obsahuje různé monosacharidy označuje se jako **heteropolysacharid**.

Nemají sladkou chuť a nenazývají se proto cukry, ve vodě jsou jen těžko rozpustné nebo častěji nerozpustné. Mají funkci především stavební (celulóza) a zásobní (škrob).

Nejvýznamnější polysacharidy jsou:

- škrob – viz níže
- celulóza – viz níže
- glykogen (živočišný škrob) – složený z  $\alpha$ -D-glukopyranózových jednotek, struktura je podobná amylopektinu ale větvenější; zásobní polysacharid živočichů (uložen především v játrech a svalech) a hub; rozpustný ve vodě
- chitin
- inulin
- heparin, aj.

<sup>2</sup> Anglicky je sacharóza **SUCROSE**! Někdy se mylně uvádějí jako neredukující cukry sukróza a sacharóza. To je pustý omyl, kdy si autoři nepřeložili do češtiny název **SUCROSE**.

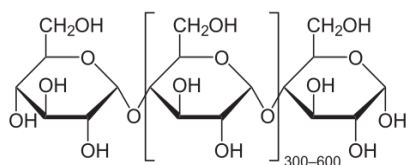
**Škrob** je nejdůležitější produkt metabolismu rostlin a zásobní polysacharid rostlin. V našem zeměpisném pásmu je spojován hlavně s bramborami, ale celosvětově je nejdůležitější plodinou pro výrobu škrobu kukuřice.

V rostlinách se vyskytuje jako heterogenní částice, nikoli jako rozpuštěná látka. Podle druhu plodiny má různý tvar a velikost (Obr. 8). Některé plodiny (např. pšenice) mají zrna dvou různých velikostí.

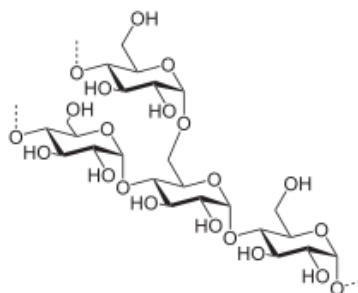


Obr. 8: Zrna různých škrobů

Chemicky je škrob poly (1,4) $\alpha$ -D-glukopyranosa s obecným sumárním vzorcem  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Je směsí makromolekul amylozy (10–20 %) a amylopektinu (80–90 %) jejichž vzájemný poměr se liší dle druhu rostliny. **Amylóza** (Obr. 9) má lineární nebo šroubovicovité uspořádání, obsahuje několik set glukózových jednotek, je rozpustná a s jódem se barví modře<sup>3</sup>. **Amylopektin** (Obr. 10) tvoří rozvětvené molekuly obsahující několik tisíc glukózových jednotek, nerozpustný sacharid obsahující další glykosidovou vazbu (1,6) $\alpha$ .



Obr. 9: Amylóza



Obr. 10: Amylopektin

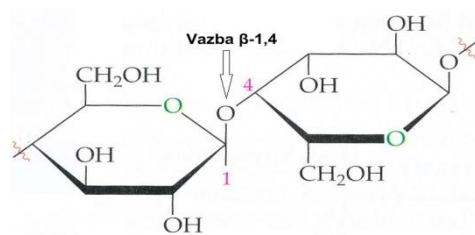
Škrob lze chemicky (kyselá hydrolýza) i enzymaticky (amyláza) štěpit v hlavním řetězci na oligosacharidy (např. maltóza) až monosacharidy. Štěpení chemické je obvykle kyselé katalyzované běžnými anorganickými kyselinami (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Využívá se k výrobě obalového papíru, lepenky, lepidel, sádkartonových desek, škrobení prádla. V současnosti se začíná využívat jako „bioplast“ a začínají se z něj vyrábět např. kompostovatelné obaly (sáčky, tašky)

**Celulóza** je nejrozšířenějším BIOPOLYMEREM na zemském povrchu. Tvoří základní stavební složku rostlin. Celulóza je tvořena molekulami  $\beta$ -D-glukopyranózy spojenými

<sup>3</sup> K tomuto jevu dochází, protože velikost dutiny šroubovice amylozy odpovídá velikosti molekuly jódu I<sub>2</sub> se kterou tvoří barevný komplex

pomocí  $\beta$ -1,4 glykosidové vazby (Obr. 11) do lineární struktury s množstvím vodíkových můstků.

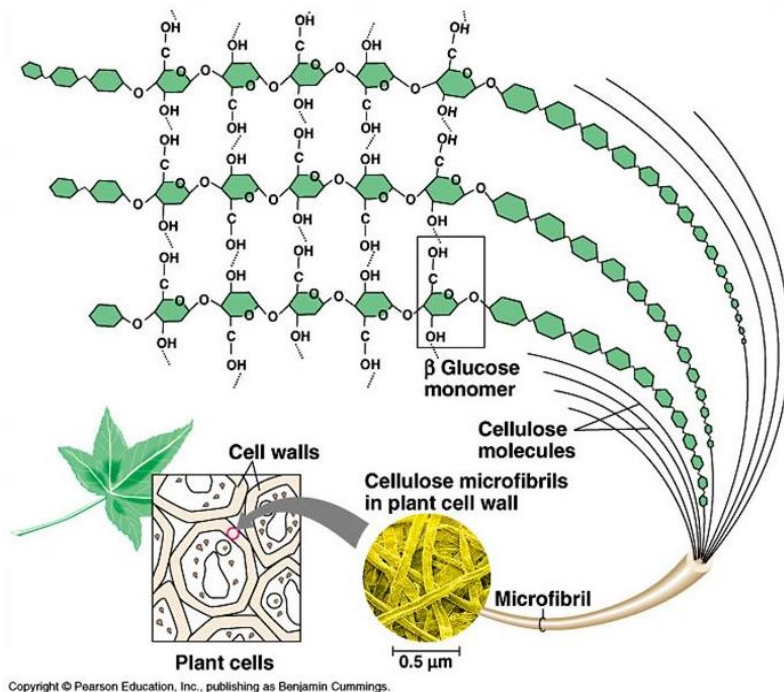


Obr. 11:  $\beta$ -D-Glukóza,  $\beta$ -1,4 glykosidová vazba

Podílí se na buněčné stavbě stěn mikroorganismů (Obr. 12). Pro živočichy je nestravitelná, ale v potravě má význam ve formě vlákniny.

Díky vláknité nadmolekulární struktuře má celulóza velkou pevnost. Celulóza je hygroskopická. Její rozpustnost je velmi omezená a často při ní dochází ke štěpení hlavního řetězce. Hlavní řetězec celulózy lze štěpit chemicky (kyselá katalýza) i enzymaticky (enzym celulóza). Rozpustnost závisí na molekulové hmotnosti celulózy.

Kratší molekuly celulózy, často substituované a větvené, se nazývají hemicelulózy. Hemicelulóza tvoří rovné, lineární řetězce obsahující pentózy i hexózy. Doprovází celulózu v jednotlivých vrstvách buněčné stěny rostlin. Tvoří tmelící vrstvu mezi celulózními řetězcovými makromolekulami, váže se na ni lignin. Ze dřeva je lze extrahovat pomocí zředěných bází a snadno hydrolyzovat zředěnými kyselinami za tepla.



Obr. 12: Stavba dřeva

Lignin je vysokomolekulární polyfenolická amorfnní látka. Základní stavební jednotkou jsou deriváty fenypropanu, které jsou vázány do trojrozměrných struktur

etherovými vazbami nebo vazbami mezi dvěma uhlíky. Je kovalentně vázán na polysacharidy. Lignin zabezpečuje dřevnatění buněčných stěn. Při využití dřeva jako paliva množství ligninu určuje jeho výhřevnost.

Chemickou stavbu dřeva tvoří ze 40–50 % celulóza, 20–30 % hemicelulóza, 20–30 % lignin, 1–15 % dalších organických látek (terpeny, tuky, vosky, třísloviny, pektiny, steroly, pryskyřice), 0,1–0,5 % anorganických látek a voda. Obsah jednotlivých látek se liší v závislosti na druhu suroviny, viz Tab. 1. Celulóza a hemicelulóza patří mezi polysacharidy a bývají souhrnně označovány jako *holocelulóza*. Lignin je vysokomolekulární látka.

Tab. 1: Složení bavlny, listnatého a jehličnanového dřeva

Komponenta	Bavlna [%]	Jehličnaté dřevo [%]	Listnaté dřevo [%]
Celulosa	90-94	50-58	52-54
Pentosa	1,5-2,0	11,0	25,0
Lignin	2,0-3,0	26,0-28,0	17,0
Pektinové látky	2,0	1,0	1,5-2,0
Bílkoviny	1,5-2,0	0,5-0,8	0,5-0,8
Tuky a vosky	0,5-1,0	1,0-2,0	1,0-2,0
Popel	1,0	0,25-0,5	0,25

Celulóza se pro komerční účely izoluje ze dřeva odstraněním ostatních složek (ligninu, hemicelulózy, olejů). Celulózová vlákna se používá v papírenském a textilním průmyslu. Celulóza je hlavní složkou buničiny, z níž se vyrábí papír, a rostlinných vláken z bavlny, lnu a konopí.

Jejími deriváty jsou:

- acetáty celulózy – acetylací na C6 vzniká acetátové hedvábí; reakcí s NaOH a CS<sub>2</sub> vzniká xantoghenát používaný k výrobě celofánu a viskózného hedvábí
- dinitrát celulózy (koloidová vlna) – smísením nitroglycerinem vzniká třaskavá želatina, reakcí s kafrem vzniká celulooid
- trinitrát celulózy (střelná bavlna) – nitrovaná celulóza je výbušná a vysoce hořlavá, používá se k výrobě granátů, min, bezdýmých střelných prachů.

# Úloha č. 1: MONO-, OLIGO- A POLYSACHARIDY

## A. KVALITATIVNÍ REAKCE SACHARIDŮ

Cílem kvalitativních reakcí je rozdělení sacharidů dle jejich chemického složení.

Jednotlivé reakce provádějte v návaznosti dle Schéma 1: Postup kvalitativních reakcí sacharidů

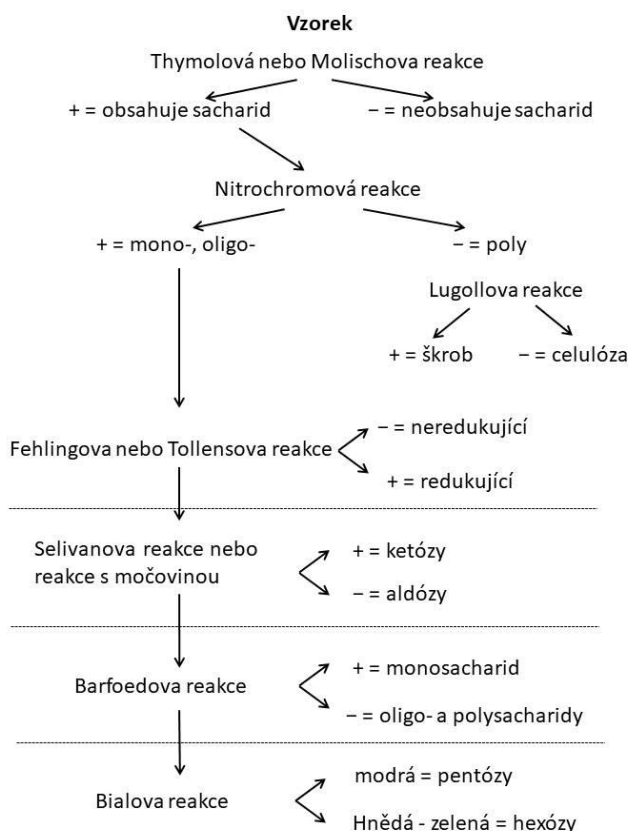


Schéma 1: Postup kvalitativních reakcí sacharidů

### Pomůcky:

Zkumavky, lžičky, špachtle, pipetky, kádinky, stojan, žihací kruh, síťka, vodní lázeň (vaříč a kádinka).

### Vzorky:

Vzorky sacharidů – glukóza, fruktóza, sacharóza, laktóza, ribóza, dextrin, škrob, aj.

### Závěr:

Do tabulky (Tab. 2: Tabulka výsledků kvalitativních zkoušek jednotlivých vzorků) uveďte reakci každého vzorku. Vyplněnou tabulku uveďte to protokolu s popisem vlastních pozorování.



**a. Thymolová reakce – důkaz sacharidů I.**

**Princip:**

Účinkem koncentrované HCl na monosacharidy dochází k dehydrataci a vzniku furfuralu či jeho derivátů. Furfural i jeho deriváty podléhají kondenzaci s fenoly (thymol) za vzniku barevného produktu. Sacharidy poskytují reakci s roztokem thymolu v přítomnosti HCl tmavočervené až purpurové sloučeniny

**Chemikálie:**

Koncentrovaná HCl, 5% (w/v) ethanolový roztok thymolu, NaCl

**Pracovní postup:**

1. Do několika zkumavek nasypete na špičku špachtle různých druhů pevných sacharidů a rozpustíte v destilované vodě. V případě kapalného sacharidu nalijte vzorek do zkumavky.
2. Do zkumavek se vzorky přidejte asi 5 kapek roztoku thymolu, 10 cm<sup>3</sup> konc. HCl a několik krystalků NaCl.
3. Zkumavku umístěte do vodní lázně a mírně zahřívejte, dokud nedojde ke změně barvy.
4. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
5. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–3. určete zda vzorek obsahuje sacharid.

**b. Molischova reakce – důkaz sacharidů II.**

**Princip:**

Účinkem koncentrované HCl na monosacharidy dochází k dehydrataci a vzniku furfuralu či jeho derivátů. Furfural i jeho deriváty podléhají kondenzaci s fenoly (1-naftol) za vzniku barevného produktu. Sacharidy poskytují reakci s Molischovým činidlem fialový prstenec na rozhraní koncentrované H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a roztoku sacharidu.

**Chemikálie:**

**Molischovo činidlo** – 3% ethanolický roztok 1-naftolu; koncentrovaná H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

**Pracovní postup:**

1. Ke 2 ml roztoku vzorku ve zkumavce přidejte 5 kapek Molischova činidla a protřepejte.
2. Podvrstvěte 2 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (kyselinu nechte opatrně stékat po stěně zkumavky)
3. Na rozhraní kyseliny a sacharidu vznikne intenzivně zbarvený (červený, červenofialový, fialový, modrý až hnědý) prstenec.
4. Zamícháním se kapalina zbarví tmavě fialově; zředěním vodou se vyloučí modrofialová sraženina rozpustná v etheru za vzniku žlutého roztoku.
5. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
6. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–4. určete zda vzorek obsahuje sacharid.

**Pozn.:** reakce není specifická jen pro sacharidy a ovlivňují ji např. nečistoty v 1-naftolu (zelené zbarvení) nebo přítomnost bílkovin ve vzorku (bílý pruh).

**c. Nitrochromová reakce – důkaz mono- a oligosacharidů**

**Princip:**

Reakcí koncentrované kyseliny dusičné a chromanu draselného se sacharidem dochází k oxidaci mono- a oligosacharidů. Chroman ( $\text{Cr}^{+6}$ ) se redukuje na modře zbarvené kationty chromnaté ( $\text{Cr}^{+2}$ ). Sekundární alkoholická skupina sacharidu reaguje s chromanem v kyselém prostředí za vzniku modrého zbarvení. Polysacharidy nereagují.

**Chemikálie:**

Konc.  $\text{HNO}_3$ , 5% (w/v) roztok  $\text{K}_2\text{CrO}_4$

**Pracovní postup:**

1. Ke 2 ml vzorku sacharidu přidejte asi 3 ml konc.  $\text{HNO}_3$  a 5 kapek roztoku  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ .
2. Po chvíli (cca 2 min) pozorujte vznik modrého zbarvení
3. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
4. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–2. určete, zda neznámý vzorek obsahuje polysacharid.

**Pozn.:** z polysacharidů reaguje inulin a škroby, kdy po delší době dochází k hydrolyze. Hydrolyzou vzniklé mono- a oligosacharidy pak poskytují pozitivní reakci

**d. Jodový test – důkaz polysacharidů (rozlišení škrobu a celulózy)**

**Princip:**

Škrob i celulóza jsou polysacharidy složené tisíce jednotek molekuly glukózy. Škrob se skládá ze dvou různých polysacharidů (amylóza a amylopektin). Škrob reaguje s Lugolovým roztokem za vzniku modrého zbarvení, které zahřátím mizí.

**Chemikálie:**

**Lugolův roztok** – 5 g  $\text{I}_2$  a 10 g KI v 85 ml destilované vody

**Pracovní postup:**

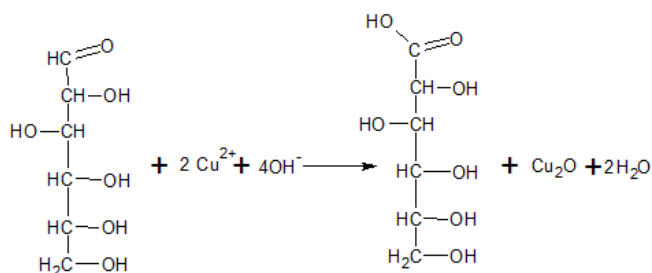
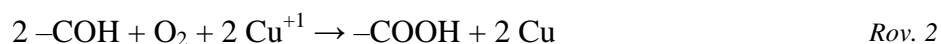
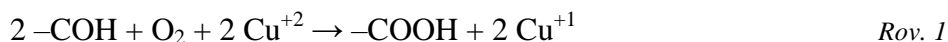
1. Ke 1 ml roztoku sacharidu přidejte asi 1 kapku Lugolova roztoku.
2. Po chvíli pozorujte vznik modrofialového až modročerného zbarvení.
3. Zkumavku zahřejte k varu dokud se směs neodbarví.
4. Po ochlazení se opět objeví modré zbarvení
5. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
6. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–2. určete, zda neznámý vzorek obsahuje škrob.

**e. Fehlingova reakce – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů I**

**Princip:**

Oxidačně – redukční reakce probíhá pouze u skupiny tzv. redukujících cukrů. To jsou takové cukry, které mohou mít v otevřené formě volnou, oxidace schopnou, karbonylovou skupinu. Může jít jak o monosacharidy, tak disacharidy, trisacharidy či vyšší mery sacharidů. Má-li dojít k viditelné reakci (změna barvy sloučeniny mědi z modré na žlutočervenou), musí být v roztoku dostatečná koncentrace koncových merů, které mohou mít v otevřené formě

volnou, oxidace schopnou, karbonylovou skupinu. Pokud tomu tak není, jedná se o tzv. cukr neredukující. Oxidačně – redukční reakce obvykle probíhá pouze do stupně redukce  $\text{Cu}^{+2}$  (Rov. 1) na  $\text{Cu}^{+1}$ . V případě vyšší koncentrace redukujícího sacharidu může dojít k redukci až na Cu (Rov. 2).



Obr. 13: Princip Fehlingovy reakce

### Chemikálie:

**Fehlingovo činidlo I:** 4 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 100 ml.

**Fehlingovo činidlo II** - 20 g  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  a 15 g NaOH rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 100 ml.

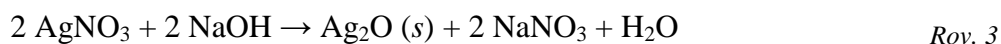
### Pracovní postup:

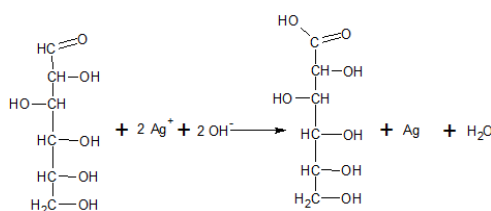
1. Do několika zkumavek nasypete na špičku špachtle různých druhů pevných sacharidů a rozpustíte v destilované vodě. V případě kapalného sacharidu nalijete vzorek do zkumavky.
2. Do zkumavek se vzorky přidejte 1 ml roztoku Fehling I a 1 ml roztoku Fehling II.
3. Zkumavku umístěte do vodní lázně a zahřívejte, dokud nedojde ke změně barvy.
4. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
5. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–3. určete neznámý vzorek (redukující x neredukující)

### f. Tollensova zkouška – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů II

#### Princip:

Tollensovo činidlo (dusičnan diamminstříbrný  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$ ) vzniká reakcí dusičnanu stříbrného a koncentrovaného roztoku hydroxidu amonného za vzniku amonného komplexu (Rov. 3 a Rov. 4). Reakcí Tollensova činidla s aldehydickou skupinou sacharidů vzniká amonná sůl karboxylové kyseliny a redukované stříbro (Rov. 5). Pozitivní reakce činidla s redukujícím cukrem se projeví vznikem tzv. stříbrného zrcátka na stěnách zkumavky.





Obr. 14: Princip Tollensovy reakce

**Chemikálie:**

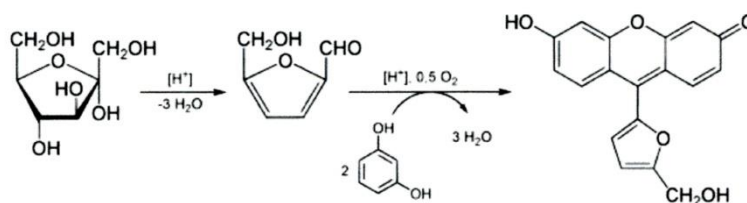
5% roztok  $\text{AgNO}_3$  v  $\text{H}_2\text{O}$ , 10%  $\text{NaOH}$  v  $\text{H}_2\text{O}$ , koncentrovaný  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$

**Pracovní postup:**

1. Tollensovo činidlo připravte smísením stejného objemu roztoku  $\text{AgNO}_3$  a  $\text{NaOH}$  (Rov. 3). Následně do zkumavky přidejte koncentrovaný  $\text{NH}_4\text{OH}$ , přičemž se hnědá sraženina  $\text{Ag}_2\text{O}$  rozpustí (Rov. 4). **Delším stáním ve směsi může vznikat velmi výbušné Bertholetovo třaskavé stříbro  $\text{Ag}_3\text{N}$ !**
2. Do několika zkumavek připravte vzorky sacharidů ve formě vodného roztoku.
3. Ke vzorkům sacharidů ve zkumavkách přikápněte Tollensovo činidlo.
4. Za přítomnosti redukujícího cukru dojde dle Rov. 5 ke vzniku stříbrného zrcátka.
5. **Porovnejte se slepým vzorkem.** Místo vzorku sacharidů nadávkujte pouze vodu.
6. **Určete neznámý vzorek**

**g. Selivanova reakce – roližení aldóz a ketóz I.****Princip:**

Podstatou reakce je dehydratace sacharidů koncentrovanými kyselinami na 5-(hydroxymethyl)fural, který následně reaguje s resorcinolem za vývoje třešňově červeného produktu (Obr. 5).



Obrázek 1: Princip Selivanovy reakce

Cílem reakce je rozlišení ketos (např. fruktóza) a aldos (např. glukosa). Ketosy reagují rychleji než aldosity. Aldosity poskytují pouze slabě růžové zbarvení kvůli pomalejší dehydrataci, kdy nejprve dochází k izomerizaci aldosity na ketosu. Reakce aldosity je asi 20× pomalejší.

Pozitivní výsledek poskytuje fruktóza a sacharóza zatímco glukóza nereaguje.

**Chemikálie:**

**Selivanovo činidlo:** 0,05 g resorcinolu se rozpustí ve směsi 50 cm<sup>3</sup> HCl a 50 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

**Pracovní postup:**

1. Ke vzorkům sacharidů ve formě roztoku (cca 1 cm<sup>3</sup>) přidejte cca 2 cm<sup>3</sup> Selivanova činidla.
2. Sledujte změnu zbarvení
3. **Porovnejte se slepým vzorkem**
4. **Určete neznámý vzorek**

**h. Reakce s močovinou – odlišení aldóz a ketóz II.**

**Chemikálie:**

Močovina, konc. HCl

**Pracovní postup:**

1. Do zkumavky odvažte asi 0,5 g močoviny a přidejte 6 kapek HCl.
2. Ke směsi přidejte 3 kapky roztoku sacharidu.
3. Reakční směs promíchejte, aby se močovina rozpustila
4. Zkumavku zahřívejte 15 min na vodní lázni.
5. Sledujte změnu zbarvení – aldózy reagují vývojem zelenomodrého zbarvení, ketózy se barví červeně.
6. **Porovnejte se slepým vzorkem**
7. **Určete neznámý vzorek**

**i. Barfoedova reakce – důkaz monosacharidů**

**Princip:**

Roztoky sacharidů reagují s barefoedovým činidlem červenohnědou sraženinu

Octan měďnatý se v kyselém prostředí redukuje na oxid měďný (červená sraženina) a zároveň dochází k oxidaci monosacharidů na příslušné aldonové kyseliny (např.: glukosa – k. glukonová). Aldehydová skupina se oxiduje na karboxylovou skupinu, zatímco skupina – CH<sub>2</sub>OH zůstává zachována. Přednostně se redukují monosacharidy. Všechny monosacharidy mají redukční účinky, protože mají volnou aldehydovou skupinu (aldosy), nebo je možná izomerizace ketoskupiny na aldoskupinu (ketosy)), až po delší době reagují redukující disacharidy.

Reakce sacharidů s Barfoedovým činidlem je podobně jako reakce sacharidů s Fehlingovým činidlem založena na redukcí Cu<sup>2+</sup> na Cu<sub>2</sub>O (oranžová či červená sraženina). Redukce Cu<sup>2+</sup> v Barfoedově testu probíhá v kyselém prostředí (kyselina octová), na rozdíl nebo Fehlingova testu, kdy Cu<sup>2+</sup> se redukuje v zásaditém prostředí hydroxidu sodného

**Chemikálie:**

**Barfoedovo činidlo:** 7 g octanu měďnatého Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> a 0,9 ml konc. Kyseliny octové CH<sub>3</sub>COOH se doplní po 100 ml destilovanou vodou.

**Pracovní postup:**

1. Ke 2 ml roztoku sacharidu přidejte 2 ml Barfoedova činidla.
2. Zkumavku ponořte do vodní lázně.
3. Sledujte změnu zbarvení – monosacharidy reagují vznikem červené sraženiny, ostatní roztoky jsou modré.

**4. Porovnejte se slepým vzorkem**

**5. Určete neznámý vzorek**

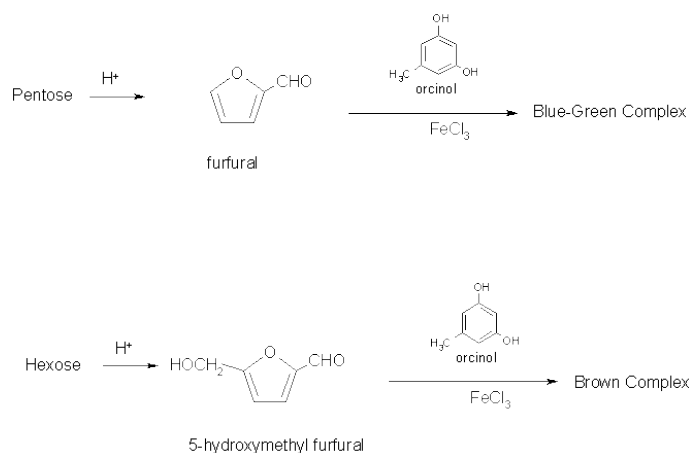
**Pozn.:** reakce je specifická na důkaz redukujících monosacharidů, redukující disacharidy vzhledem k slabě kyselé povaze Barfoedova činidla pozitivní reakci neposkytují vůbec nebo až po delší době.

**j. Bialova reakce – důkaz pentóz a hexóz**

**Princip:**

Bialova reakce odlišuje pentózy a hexózy. Dehydratací **pentózy** (5-uhlíkový sacharid) vzniká furfural, který reaguje s Bialovým činidlem za vzniku modrého kondenzačního produktu.

Dehydratací **hexózy** (6-uhlíkový sacharid) vzniká 5-hydroxymethylfurfural reaguje s Bialovým činidlem za vzniku hnědého, červenohnědého nebo zeleného kondenzačního produktu.



Obr. 15: Princip Bialovy reakce

**Chemikálie:**

**Bialovo činidlo:** 6,25 mg FeCl<sub>3</sub> + 0,75 g orcinol (5-methylbenzen-1,3-diol CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(OH)<sub>2</sub> + 250 ml konc. HCl

**Pracovní postup:**

1. K 1 ml Bialova činidla přidejte 5–6 kapek roztoku sacharidu.
2. Zkumavku zahřejte k varu.
3. Sledujte změnu zbarvení (2–3 min) **Porovnejte se slepým vzorkem**
4. **Určete neznámý vzorek**

**Pozn.:** reakce je specifická na důkaz redukujících monosacharidů, redukující disacharidy vzhledem k slabě kyselé povaze Barfoedova činidla pozitivní reakci neposkytují vůbec nebo až po delší době.

Tab. 2: Tabulka výsledků kvalitativních zkoušek jednotlivých vzorků

<b>Vzorek/ Činidlo</b>	<i>Dextrin</i>	<i>Fruktóza</i>	<i>Glukóza</i>	<i>Laktóza</i>	<i>Ribóza</i>	<i>Sacharóza</i>	<i>Škrob</i>	<i>Slepý vz.</i>	<i>Neznámý vz.</i>
<b>Rozpustnost</b>									
<b>Thymol</b>									
<b>Molisch</b>									
<b>Nitrochrom</b>									
<b>Lugol</b>									
<b>Fehling</b>									
<b>Tollens</b>									
<b>Selivan</b>									
<b>Urea</b>									
<b>Bafoed</b>									
<b>Bial</b>									