

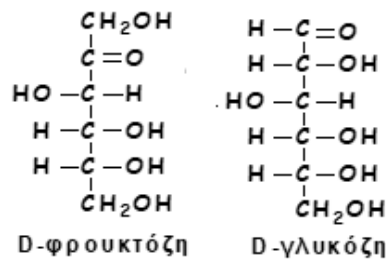
Σάκχαρα

Ανίχνευση Αλδοζών – Κετοζών - Πολυσακχαριτών

Εισαγωγή

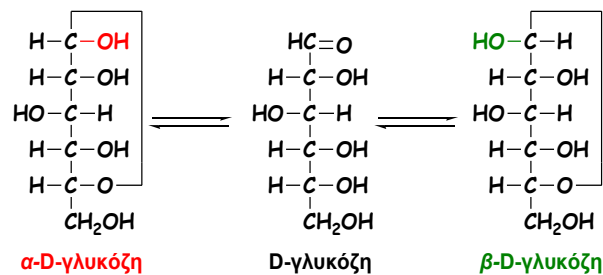
Γενικά

Τα σάκχαρα ανάλογα με το είδος της λειτουργικής ομάδας (αλδεΐδη ή κετόνη) που περιέχουν στο μόριο τους διακρίνονται σε αλδόζες (D-Γλυκόζη) και κετόζες (D-Φρουκτόζη)



Ανάγοντα Σάκχαρα

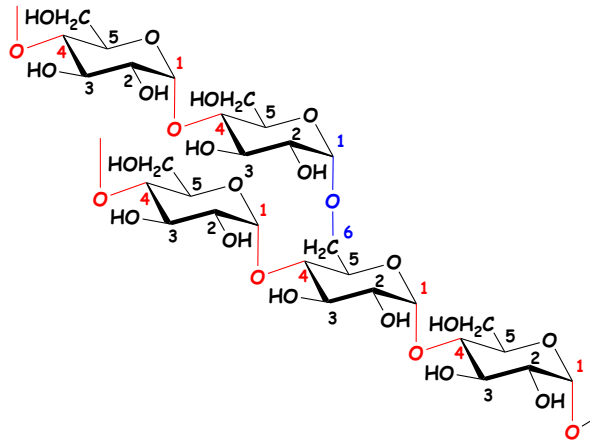
Σε ένα υδατικό διάλυμα, οι τρεις μορφές ενός σακχάρου (δυο κυκλικές και μια άκυκλη) βρίσκονται σε ισορροπία. Στις κυκλικές δομές προκύπτει ένα επιπλέον υδροξύλιο που λέγεται ημιακεταλικό ή ανωμερικό.



Το φαινόμενο ότι σε ένα υδατικό διάλυμα η μια ανωμερική κυκλική μορφή (πχ. η α-D-γλυκόζη) μετατρέπεται προοδευτικά, μέσω της άκυκλης μορφής στην άλλη ανωμερική με παράλληλη παρατήρηση προοδευτικής μεταβολής της τιμής της στροφικής ικανότητας, έως ότου σταθεροποιηθεί σε μια νέα τιμή λέγεται Πολυστροφισμός.

Οι μονοσακχαρίτες αλδόζες και κετόζες έχουν αναγωγικές ιδιότητες. Τα σάκχαρα που εμφανίζουν πολυστροφισμό είναι και ανάγοντα σάκχαρα αφού μπορούν από την κυκλική να μετατραπούν στην άκυκλη μορφή. Έτσι, τα απλά σάκχαρα και οι δισακχαρίτες στην περίπτωση που έχουν ελεύθερο ημιακεταλικό υδροξύλιο (κυκλωμένα) παρουσιάζουν αναγωγικές ιδιότητες και ανάγουν τον δισθενή χαλκό σε μονοσθενή δίνοντας τα αντίστοιχα οξέα.

Η **αμυλοπηκτική διακλαδισμένος ομοπολυ-σακχαρίτης**, ο οποίος αποτελείται από χιλιάδες μόρια του ίδιου μονοσακχαρίτη (α -D-γλυκόζη) Γραμμικά μέσω **$\alpha(1,4)$ -γλυκοζιτικών δεσμών**. Διακλαδώσεις μέσω **$\alpha(1,6)$ -γλυκοζιτικών δεσμών**.



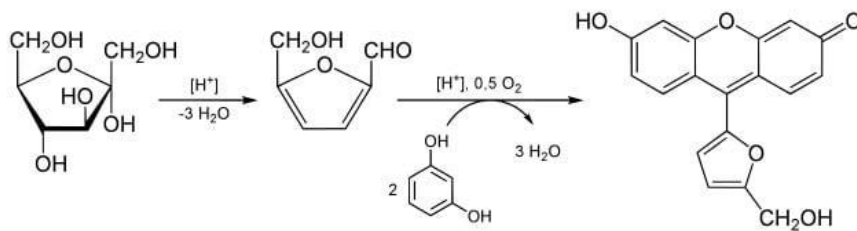
ΔΟΚΙΜΗ Seliwanoff

Η δοκιμή του **Seliwanoff** χρησιμοποιείται για τη διάκριση μεταξύ σακχάρων που έχουν ομάδα κετόνης (κετόζη) και σακχάρων που έχουν ομάδα αλδεϋδης (αλδόζη).

Στόχοι της δοκιμής του Seliwanoff

- A. ανίχνευση της παρουσίας κετοεξοζών σε ένα δείγμα.
- B. διακρίση των κετόζων από τις αλδόζες.

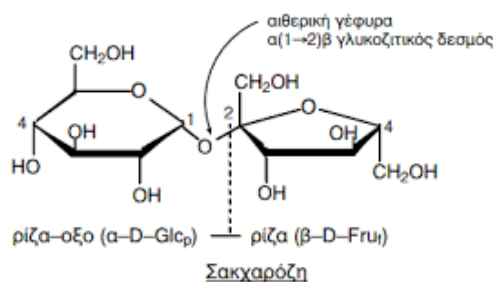
Το αντιδραστήριο αυτής της δοκιμής αποτελείται από ρεσορκινόλη και πυκνό HCl.



Οι **κετόζες** υφίστανται **αφυδάτωση** παρουσία συμπυκνωμένου οξέος για να δώσουν 5-υδροξυμεθυλ φουρφουράλη

Η αφυδατωμένη κετόζη αντιδρά με δύο ισοδύναμα ρεσορκινόλης σε μια σειρά αντιδράσεων συμπύκνωσης για να παράγει ένα σύμπλοκο (όχι ένα ίζημα), που ονομάζεται **ξανθινοειδές**, με βαθύ κόκκινο κερασί χρώμα.

Η όξινη υδρόλυση πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών οδηγεί σε απλούστερα σάκχαρα έτσι υδατάνθρακες όπως η σακχαρόζη δίνει επίσης ένα θετικό γιατί υδρολύεται το σακχαρο με οξύ για να δώσει φρουκτόζη.



- Οι κετόζες αφυδατώνονται ταχύτερα από τις αλδόζες.

- Οι αλδόζες μπορεί να αντιδράσουν ελαφρώς για να παραγάγουν ένα αχνό ροζ έως κόκκινο κέρασι χρώμα εάν η δοκιμή παραταθεί.
- Το προϊόν και ο χρόνος αντίδρασης της αντίδρασης οξείδωσης βοηθούν στη διάκριση μεταξύ υδατανθράκων.

Πειραματικό μέρος

Παρασκευή Αντιδραστηρίου Seliwanoff:

Προσθέστε 0,05% ρεσορκινόλη (m-υδροξυβενζόλιο) σε 3N HCl.

Ή Διαλύστε 50 mg ρεσορκινόλης σε 33 ml πυκνού HCl και αραιώστε έως τα 100 ml με νερό.

Απαιτούμενα υλικά

Δοκιμαστικοί σωλήνες, Βάση δοκιμαστικού σωλήνα, Πιπέτες, Υδατόλουτρο

Διαδικασία του τεστ Seliwanoff

Πάρτε δύο καθαρούς, στεγνούς δοκιμαστικούς σωλήνες και προσθέστε 1 ml του δείγματος στον ένα και 1 ml αποσταγμένου νερού στον άλλο. Προσθέστε 2 ml αντιδραστηρίου Seliwanoffs και στους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες. Διατηρήστε και τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες σε υδατόλουτρο για 1 λεπτό. Παρατηρήστε το σχηματισμό του χρώματος

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Ο σχηματισμός του συμπλέγματος κόκκινου κερασιού δείχνει **ένα θετικό αποτέλεσμα** που σημαίνει ότι το δεδομένο δείγμα περιέχει κετόζες.
- Η **απουσία τέτοιου χρώματος** ή η εμφάνιση του χρώματος μετά από παρατεταμένη χρονική περίοδο υποδηλώνει αρνητικό αποτέλεσμα που σημαίνει ότι το δείγμα δοκιμής δεν έχει κετόζες.
- Η αντίδραση χρώματος του Seliwanoff χρησιμοποιείται στη μέθοδο για τον **χρωματομετρικό προσδιορισμό της φρουκτόζης**.
- Η **υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης ή άλλου σακχάρου** μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή παρόμοιων χρωματισμένων ενώσεων με το αντιδραστήριο Seliwanoff.
- Ο **παρατεταμένος βρασμός** μπορεί να μετατρέψει τη γλυκόζη σε φρουκτόζη με την καταλυτική δράση του οξέος και να σχηματίσει ένα κόκκινο-σύμπλοκο κερασιών δίνοντας ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα.
- Αυτή η δοκιμή είναι μια γενικευμένη δοκιμή και δεν κάνει διάκριση μεταξύ συγκεκριμένων κετοζών και απαιτείται ξεχωριστή δοκιμή για τη συγκεκριμένη ταυτοποίηση σακχάρου κετόζης.

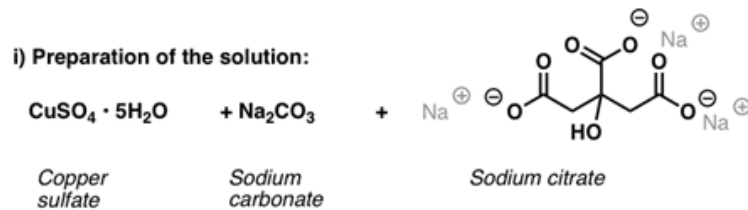
ΔΟΚΙΜΗ Benedict

Το αντιδραστηρίου Benedict χρησιμοποιείται:

A. Για τον προσδιορισμό της παρουσίας ή της απουσίας αναγωγικού σακχάρου στο διάλυμα.

B. Για να προσδιοριστεί ποσοτικά η συγκέντρωση γλυκόζης στο διάλυμα.

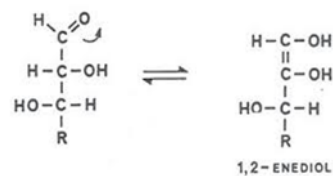
Το διάλυμα Benedict είναι ένα βαθύ-μπλε αλκαλικό χημικό αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της παρουσίας της λειτουργικής ομάδας αλδεύδης -CHO που αποτελείται από πενταένυδρο θειικό χαλκό ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), κιτρικό νάτριο ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) και αποσταγμένο νερό.



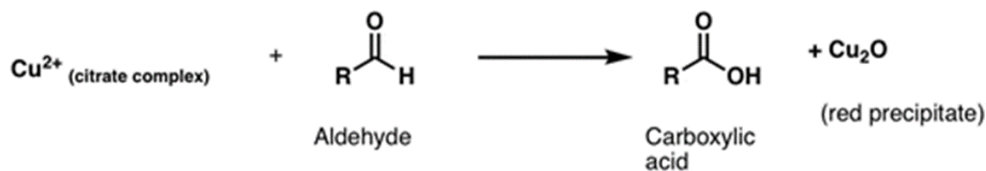
Το **ανθρακικό νάτριο** καθιστά **αλκαλικές συνθήκες** που απαιτούνται για την οξειδοαναγωγική αντίδραση. Το **κιτρικό νάτριο συμπλοκοποιείται με τα ιόντα χαλκού (II)** για να αποφευχθεί η αποικοδόμηση σε ιόντα χαλκού (I) κατά την αποθήκευση του αντιδραστηρίου.

Η δοκιμή εκτελείται με **θέρμανση** του διαλύματος αναγωγικού σακχάρου με το αντιδραστήριο Benedict.

Η παρουσία του **αλκαλικού** ανθρακικού νατρίου μετατρέπει το σάκχαρο σε έναν ισχυρό αναγωγικό παράγοντα που ονομάζεται ενεδιόλη.



Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, οι ενεδιόλες ανάγουν τον χαλκού Cu^{2+} που υπάρχει στο αντιδραστήριο Benedict σε χαλκό Cu^+ που εμφανίζεται ως ερυθρό οξείδιο του χαλκού (Cu_2O) αδιάλυτο στο νερό.



Όταν το διάλυμα αντιδραστηρίου Benedict και τα αναγωγικά σάκχαρα θερμαίνονται μαζί, το διάλυμα αλλάζει το **χρώμα του σε πορτοκαλί-κόκκινο / κόκκινο ίζημα**.

Το ερυθρόχρωμο οξείδιο του χαλκού είναι αδιάλυτο στο νερό και ως εκ τούτου, διαχωρίζεται από το διάλυμα.

Όταν η συγκέντρωση του αναγωγικού σακχάρου είναι υψηλή στο διάλυμα, τότε το χρώμα γίνεται πιο έντονο (κοκκινωπό) και ο όγκος του ιζήματος αυξάνεται στον δοκιμαστικό σωλήνα καθιστώντας το σαφώς ορατό.

Πειραματικό μέρος

Παρασκευή Αντιδραστηρίου Benedict :

Για την Παρασκευή ενός λίτρου αντιδραστηρίου διαλύονται 100 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου 173 g κιτρικό νάτριο και 17.3 g ένυδρου θειικού χαλκού.

Απαιτούμενα υλικά

Δοκιμαστικοί ΣΩΛΗΝΕΣ, Βάση δοκιμαστικού σωλήνα, Πιπέτες, Υδατόλουτρο

Διαδικασία του τεστ Benedict

1. 1 ml δείγματος τοποθετείται το στον καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Περίπου 2 ml (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου Benedict προστίθεται στο δείγμα.
3. Ο δοκιμαστικός σωλήνας τοποθετείται πάνω από το υδατόλουτρο (ζέον) για 3-5 λεπτά

Ο χρωματισμός του διαλύματος είναι ανάλογος με το ποσοστό του ανάγοντος σακχάρου:

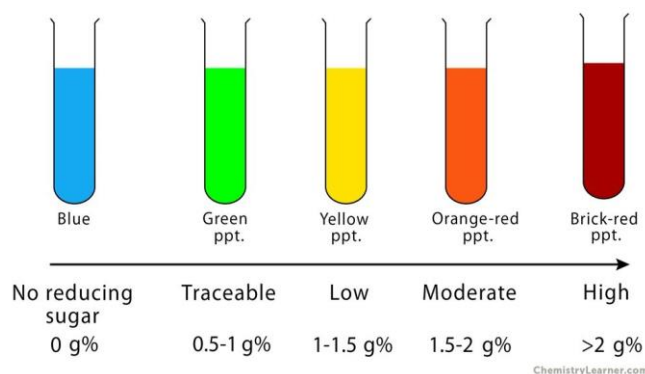
Μπλέ: Απουσία ανάγοντος σακχάρου

Πράσινο: Ίχνη ανάγοντος σακχάρου

Κίτρινο: Χαμηλή παρουσία ανάγοντος σακχάρου

Πορτοκαλοκόκκινο: Μέση παρουσία ανάγοντος σακχάρου

Βαθύ κόκκινο: Παρουσία ανάγοντος σακχάρου



ΔΟΚΙΜΗ Barfoerd

Η δοκιμή Barfoed είναι μια χημική δοκιμή που χρησιμοποιείται για την **ανίχνευση της παρουσίας μονοσακχαριτών**.

Αυτή η αντίδραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για δισακχαρίτες, αλλά η αντίδραση θα ήταν πολύ αργή.

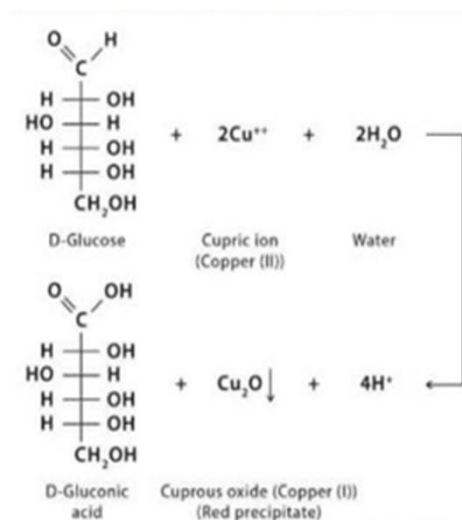
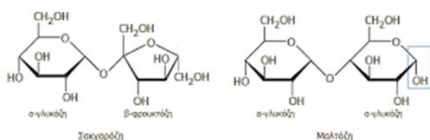
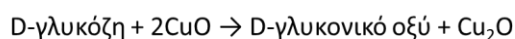
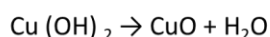
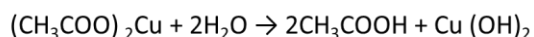
Χρησιμοποιείται:

Για την ανίχνευση μειωμένων υδατανθράκων.

Για τη διάκριση των αναγωγικών μονοσακχαριτών από τους δισακχαρίτες

- Το αντιδραστήριο Barfoed αποτελείται από **οξικό χαλκό** σε αραιό διάλυμα **οξικού οξέος**.
- Δεδομένου ότι το όξινο pH **δεν ευνοεί την αναγωγή**, οι μονοσακχαρίτες, οι οποίοι είναι ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες, αντιδρούν σε περίπου 1-2 λεπτά.
- Οι **δισακχαρίτες χρειάζονται περισσότερο χρόνο** περίπου 7-8 λεπτά, έχοντας πρώτα να υδρολυθούν στο όξινο διάλυμα και μετά να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο.
- Μόλις πραγματοποιηθεί η αντίδραση, **σηματίζεται λεπτό κόκκινο ιζήμα** στο κάτω μέρος των πλευρών του σωλήνα.
- Η διαφορά στο χρόνο εμφάνισης του ιζήματος βοηθά στη διάκριση μονοσακχαριτών από δισακχαρίτες.

Αντίδραση



Πειραματικό μέρος

Παρασκευή Αντιδραστηρίου Barfoed :

Αντιδραστήριο Barfoed: 0,33M διάλυμα οξικού χαλκού προστίθεται σε 1% οξικό οξύ. Φρεσκοπαρασκευασμένο αντιδραστήριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό.

Απαιτούμενα υλικά

Δοκιμαστικοί ΣΩΛΗΝΕΣ, Βάση δοκιμαστικού σωλήνα, Πιπέτες, Υδατόλουτρο, αναδευτήρας

Διαδικασία του τεστ Seliwanoff

Πάρτε δύο καθαρούς, στεγνούς δοκιμαστικούς σωλήνες και προσθέστε 1 ml του δείγματος στον ένα και 1 ml αποσταγμένου νερού στον άλλο. Προσθέστε 2-3 σταγόνες αντιδραστηρίου Barfoed και στους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες αναδεύστε. Διατηρήστε και τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες σε υδατόλουτρο για 1-2 λεπτά. Παρατηρήστε το σχηματισμό του χρώματος

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- **Ο βρασμός δεν πρέπει να παραταθεί πέρα από τα 2 λεπτά** καθώς οι δισακχαρίτες ενδέχεται να υδρολυθούν σε μονοσακχαρίτες και να δώσουν θετικό αποτέλεσμα.
- Η παρουσία **ερυθρού ιζήματος** ανιχνεύει την παρουσία αναγόντων μονοσακχαριτών στο δείγμα.

- Εάν το χρώμα **εμφανίζεται μέσα στα πρώτα λεπτά**, το δείγμα περιέχει ανάγοντες μονοσακχαρίτες.
- Ωστόσο, **εάν το χρώμα εμφανίζεται μετά τα πρώτα 3 λεπτά**, το δείγμα περιέχει ανάγοντες δισακχαριτών
- Αυτή η δοκιμή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αναγόντων μονοσακχαριτών και τη διάκριση των αναγόντων δισακχαριτών και μονοσακχαριτών.

ΔΟΚΙΜΗ Ιωδίου

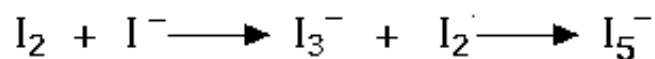
Η δοκιμή ιωδίου είναι μια χημική δοκιμή που χρησιμοποιείται για τη **διάκριση μονο- ή δισακχαριτών από ορισμένους πολυσακχαρίτες όπως αμυλάση, δεξτρίνη και γλυκογόνο**.

Το τεστ ιωδίου βασίζεται στο γεγονός ότι **τα ιόντα πολυϊωδιδίων σχηματίζουν χρωματιστό σύμπλοκο** προσρόφησης με ελικοειδείς αλυσίδες υπολειμμάτων **αμυλόζης του αμύλου (μπλε-μαύρο)**, δεξτρίνης (μαύρο) ή γλυκογόνου (κοκκινωπό-καφέ).

Οι μονοσακχαρίτες, οι δισακχαρίτες και οι διακλαδισμένοι πολυσακχαρίτες όπως η κυτταρίνη παραμένουν άχρωμα. Η **αμυλοπηκτίνη** παράγει μια **πορτοκαλοκίτρινη απόχρωση**.

Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται στη δοκιμή ιωδίου είναι ένα υδατικό διάλυμα στοιχειακού ιωδίου και ιωδιούχου καλίου.

Το ιώδιο από μόνο του είναι αδιάλυτο στο νερό. Η προσθήκη ιωδίου καλίου καταλήγει σε αναστρέψιμη αντίδραση του ιόντος ιωδίου με ιώδιο για σχηματισμό ιόντος τριϊωδιδίου, το οποίο αντιδρά περαιτέρω με μόριο ιωδίου για να σχηματίσει ιόν πενταϊωδιδίου. (Iugol's Iodine)



Το διάλυμα του ιωδίου είναι καφέ, ενώ το ιώδιο, το τριϊωδίδιο και το ιόν **πενταϊωδιδίου είναι άχρωμα**.

Παρατηρείται ότι η δομή έλικας (πηνίο ή ελατήριο) της αλυσίδας γλυκόζης είναι το κλειδί αυτής της δοκιμής.

Περαιτέρω, **το προκύπτον χρώμα εξαρτάται από το μήκος των αλυσίδων γλυκόζης**.

Τα ιόντα **τριϊωδιδίου και πενταϊωδιδίου που σχηματίζονται είναι γραμμικά και γλιστρούν μέσα στην έλικα**.

Η ένταση του χρώματος μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και την παρουσία προσμίξεων νερού οργανικών ενώσεων.

Κατά τη θέρμανση, το σύμπλεγμα μπλε χρώματος αμυλάσης-ιωδίου διαχωρίζεται αλλά σχηματίζεται ξανά κατά την ψύξη επειδή η ελικοειδής δομή έχει διαταραχθεί. Έτσι η αμυλόζη χάνει την ικανότητα πρόσδεσης του ιωδίου και το μπλε χρώμα.

Το μπλε χρώμα επανεμφανίζεται κατά την ψύξη λόγω της ανάκτησης της ικανότητας σύνδεσης ιωδίου λόγω της επαναφοράς της ελικοειδούς δομής.

Πειραματικό μέρος

Παρασκευή Αντιδραστηρίου ΙΩΔΙΟΥ:

5% στοιχειακό ιώδιο αναμιγνύεται με 10% διάλυμα ιωδιούχου κάλιου

Απαιτούμενα υλικά

Δοκιμαστικοί ΣΩΛΗΝΕΣ, Βάση δοκιμαστικού σωλήνα, Πιπέτες, Υδατόλουτρο

Διαδικασία του τεστ Ιωδίου

Πάρτε 1 ml δείγματος σε καθαρό σε στεγνό δοκιμαστικό σωλήνα για τον έλεγχο πάρτε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο σωλήνα. Προσθέστε περίπου 2-3 σταγόνες διαλύματος ιωδίου και στους δύο σωλήνες και ανακατέψτε. Παρατηρήστε την εμφάνιση χρώματος στους δοκιμαστικούς σωλήνες.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Η εμφάνιση ενός μπλε-μαύρου ή μοβ χρώματος αντιπροσωπεύει ένα θετικό τεστ, που δείχνει την παρουσία αμύλου.
- Εάν δεν υπάρχει αλλαγή χρώματος, το αποτέλεσμα είναι αρνητικό και δείχνει την απουσία αμύλου.
- Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παρουσίας αμύλου σε διάφορα δείγματα.
- Πραγματοποιείται για να δοκιμαστεί η διαδικασία της φωτοσύνθεσης στα φυτά.
- Αυτή η δοκιμή δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όξινες συνθήκες γιατί το άμυλο υδρολύεται.
- Αυτή η δοκιμή είναι ποιοτική και όχι ποσοτική του αμύλου.