

Datum Jméno Kroužek

Protokol z praktického cvičení z biochemie

Téma: **Sacharidy**

1. Reakce sacharidů

Princip:

Reakce	Podstata reakce	Hlavní součást činidla	Pozitivně reagující látky
Molischova reakce			
Bialova reakce			
Selivanova reakce			
Benedictova reakce			
Barfoedova reakce			
Reakce s Schiffovým činidlem			
Reakce na průkaz škrobu			

Molischova reakce

	Zkumavka 1 FRUKTÓZA	Zkumavka 2 MALTÓZA	Zkumavka 3 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 4 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek				

Bialova reakce

	Zkumavka 1 XYLÓZA	Zkumavka 2 GLUKÓZA	Zkumavka 3 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 4 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek				

Selivanova reakce

	Zkumavka 1 GLUKÓZA	Zkumavka 2 FRUKTÓZA	Zkumavka 3 SACHARÓZA	Zkumavka 4 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 5 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek					

Benedictova reakce

	Zkumavka 1 GLUKÓZA	Zkumavka 2 MALTÓZA	Zkumavka 3 SACHARÓZA	Zkumavka 4 Kyselina ASKORBOVÁ	Zkumavka 5 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 6 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek						

Barfoedova reakce

	Zkumavka 1 GLUKÓZA	Zkumavka 2 MALTÓZA	Zkumavka 3 SACHARÓZA	Zkumavka 4 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 5 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek					

Reakce s Schiffovým činidlem

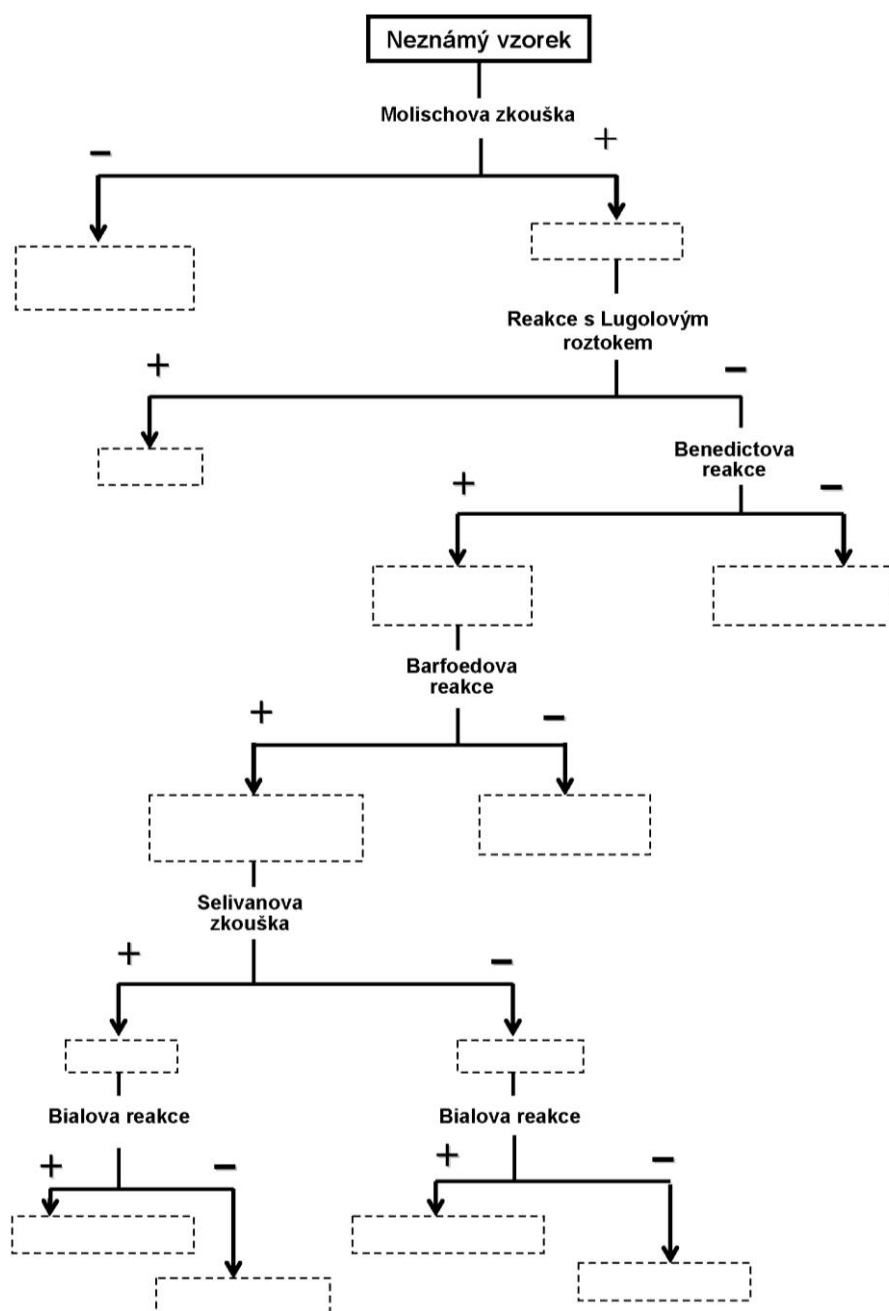
	Zkumavka 1 GLUKÓZA	Zkumavka 2 FORMALDEHYD	Zkumavka 3 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek			

Reakce na průkaz škrobu

	Zkumavka 1 GLUKÓZA	Zkumavka 2 ŠKROB	Zkumavka 3 NEZNÁMÝ VZOREK	Zkumavka 4 SLEPÁ ZKOUŠKA
Výsledek				

Diskuse k jednotlivým reakcím:

2. Analýza neznámého vzorku



Diskuse k analýze neznámého vzorku:

3. Tenkovrstevná chromatografie sacharidů

Princip:

Vyhodnocení:

1. Zakreslete schéma chromatogramu. Zaznamenejte zbarvení skvrn, určete hodnoty R_f vzorků sacharidů a výsledky zapište do tabulky.
2. Porovnáním hodnot R_f skvrny neznámého vzorku s R_f standardů určete sacharid v neznámém vzorku.

Schéma chromatogramu:

	Zbarvení skvrny	Vzdálenost a (start – střed skvrny) v cm	Vzdálenost b (start – čelo rozpouštědla) v cm	R_f
Galaktóza				
Maltóza				
Laktóza				
Fruktóza				
Neznámý vzorek				

Neznámý vzorek č. je

Diskuse k analýze neznámého vzorku barevnými reakcemi a tenkovrstevnou chromatografií:

4. Inverze sacharózy

Princip:

Výsledky:

Optická otáčivost sacharózy *před hydrolyzou*:

$\alpha = \dots\dots\dots$

Optická otáčivost *hydrolyzátu sacharózy*:

$\alpha = \dots\dots\dots$

Vyhodnocení:

1. Vypočtete výchozí koncentraci roztoku sacharózy

Koncentrace sacharózy:

2. Ověřte, zda proběhla kompletní hydrolýza sacharózy

Při kompletní hydrolýze sacharózy vzniká ekvimolární směs glukózy a fruktózy, jejichž koncentrace odpovídají koncentraci sacharózy před hydrolýzou.

Postup při výpočtu:

Do vzorce pro výpočet optické otáčivosti se dosazují hmotnostní koncentrace. Proto je nutné převést hmotnostní koncentraci sacharózy na látkovou a zpětně přepočítat látkovou koncentraci glukózy a fruktózy na hmotnostní koncentraci¹.

Cukr	Mr	Hmotnostní koncentrace g/l	Látková koncentrace mol/l	Specifická otáčivost $[\alpha]_D^{20^\circ C}$
Sacharóza	342			+ 66,5 °
D-Glukóza	180			+ 52,5 °
D-Fruktóza	180			- 92,4 °

Poté hmotnostní koncentrace glukózy a fruktózy dosadíme do vzorce:

$$\alpha = [\alpha]_D^{20^\circ C}_{D\text{-glukóza}} \times \frac{1 \times w}{100} + [\alpha]_D^{20^\circ C}_{D\text{-fruktóza}} \times \frac{1 \times w}{100}$$

Pokud se teoretická hodnota shoduje s naměřenou hodnotou, proběhla kompletní hydrolýza sacharózy. Vyšší hodnoty (méně negativní) svědčí o přítomnosti nehydrolyzovaných molekul sacharózy.

Závěr:

¹ Nelze jednoduše vydělit hmotnostní koncentraci sacharózy dvěma, protože při hydrolýze vstupují do reakce molekuly vody, které se stávají součástí molekul uvolněné glukózy a fruktózy.