Laboratórne cvičenie č. 3

**Vypracoval:** Samuel Nalevanko

**Odbor:** 2FBb

**Školský rok:** 2018/19

**Predmet:** Fyziológia rastlín

**Cvičiaci**: RNDr. Michal Goga, PhD.

**Cvičenie dňa:** 7. 3. 2019

**Názov témy: Sacharidy**

**Úlohy:**

**Dôkazové reakcie sacharidov**

Sacharidy v zelených rastlinách sú produktmi fotosyntézy a tvoria základ energetického metabolizmu. Predstavujú tiež hlavný stavebný materiál rastlinných buniek a pletív. Mono- a oligosacharidy sa obvykle akumulujú v rastlinných plodoch.

**A.) Príprava extraktu voľných sacharidov**

***Pomôcky:*** roztieračka, sklená tyčinka, lievik, kadičky, váhy

***Materiál:*** jablko

***Postup:***

* navážime 5g jablka, rozotrieme,
* sacharidy vylúhujeme v 30ml teplej vody
* výluh filtrujeme, filtrát použijeme na dôkazové reakcie

**B.) Dôkaz redukujúcich sacharidov v extrakte (Fehlingova skúška)**

***Princíp:*** Voľná poloacetálová hydroxylová funkčná skupina sacharidov sa vyznačuje redukčnými vlastnosťami.

***Pomôcky:*** skúmavky, držiak na skúmavky, vodný kúpeľ

***Materiál:*** výluh sacharidov, roztok Fehling I (40 g CuSO4 . 5H2O v 1000 ml vody), Fehling II (200 g vínanu sodnodraselného a 150 g NaOH v 1000 ml vody), 10% roztok sacharózy

***Postup:***

* zmiešame rovnaké objemy roztokov Fehling I a II (2ml)
* k 2ml výluhu v jednej skúmavke a k 2ml roztoku sacharózy v ďalšej pridáme 2ml Fehlingovho roztoku
* roztoky privedieme vo vodnom kúpeli do varu
* za prítomnosti redukujúcich látok sa Cu2+ redukuje a vyzráža sa červenohnedá zrazenina
* vyhodnotíme reakcie

**C.) Tymolová skúška**

***Princíp:*** Sacharidy sa v prostredí silných minerálnych kyselín menia na fural a jeho deriváty, ktoré reagujú s tymolom, pričom pozorujeme karmínové zafarbenie.

***Materiál:*** výluh sacharidov, 3% etanolový roztok tymolu, konc. HCl, kryštalický NaCl

***Postup:***

* k 0,5ml výluhu pridáme niekoľko kvapiek roztoku tymolu, 5ml konc. HCl a niekoľko kryštálov NaCl
* obsah skúmavky zahrejeme
* vyhodnotíme reakciu

**D.) Molischova reakcia**

***Princíp:*** Sacharidy v prostredí kyseliny sírovej reagujú s α-naftolom a dávajú intenzívne fialové zafarbenie. Po zriedení sa vylúči fialová zrazenina.

***Materiál:*** výluh sacharidov, 10% etanolový roztok α-naftolu, konc. H2SO4

***Postup:***

* k 1ml výluhu pridáme 2 kvapky roztoku α-naftolu
* podvrstvíme 2ml konc. kyseliny sírovej
* pozorujeme fialový prstenec, po premiešaní fialové zafarbenie celého roztoku

**E.) Selivanova reakcia**

***Princíp:*** V prostredí kyseliny chlorovodíkovej sa ketózy menia na 5-hydroxymetylfural, ktorý reaguje s rezorcínom a dáva červené zafarbenie. Aldózy s rezorcínom nereagujú.

***Materiál:*** výluh sacharidov, 1% roztok glukózy, 1% roztok fruktózy, HCl (1:3), rezorcín

***Postup:***

* k 2ml roztokov pridáme 2ml HCl (1:3), niekoľko kryštálov rezorcínu, zahrejem
* vyhodnotíme, ktorý roztok je ketóza, a ktorý aldóza

**F.) Rozlíšenie pentóz od hexóz**

***Princíp:*** Pôsobením HCl z pentóz vzniká fural, ktorý s floroglucínom dáva višňovo červené zafarbenie. Hexózy sa menia na deriváty furalu, ktoré v tejto reakcii dávajú žlté zafarbenie.

***Materiál:*** výluh sacharidov, 10% roztoky arabinózy, xylózy, glukózy, fruktózy, sacharózy,

zriedená HCl (1:3), floroglucín

***Postup:***

* k 1ml roztokom cukrov pridáme 1ml HCl (1:3) a niekoľko kryštálov floroglucínu, zahrejeme
* vyhodnotíme, ktoré roztoky sú pentózy, a ktoré hexózy

**G.) Bialova reakcia na dôkaz pentóz**

***Princíp:*** Fural, ktorý vzniká z pentóz v silne kyslom prostredí, dáva s aromátmi farebný derivát so širokým absorpčným pásom okolo 670 nm a úzkym okolo 610 nm. Hexózy takéto absorpčné spektrum nedávajú.

***Materiál:*** výluh sacharidov, 10% roztoky arabinózy, xylózy, glukózy, fruktózy, sacharózy, Bialov roztok

***Postup:***

* k 0,5ml roztokov sacharidov pridáme 0,5ml Bialovho roztoku, krátko zahrejeme na vriacom vodnom kúpeli
* vznik tmavozeleného sfarbenia dokazuje prítomnosť pentózy
* vyhodnotíme, ktoré roztoky sú pentózy

**Záver**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Výluh sacharidov** | **10% sacharóza** | **10% glukóza** | **10% fruktóza** | **10% arabinóza** | **10% xylóza** |
| **Fehlingova skúška** | **✓** | **×** |  |  |  |  |
| **Tymolová skúška** | **✓** |  |  |  |  |  |
| **Molischova reakcia** | **?** |  |  |  |  |  |
| **Selivanova reakcia** | **✓** |  | **×** | **✓** |  |  |
| **Rozlíšenie pentóz a hexóz** | **H** | **H** | **H** | **H** | **P** | **P** |
| **Bialova reakcia** | **H** | **H** | **H** | **H** | **P** | **P** |

**✓** - úspešný dôkaz

**×** - neúspešný dôkaz

**?** - dôkaz nevyšiel podľa očakávaní

