4 SACHARIDY

Všetci vďačíme svojej existencii rastlinám a procesu odohrávajúcom sa v nich – **fotosyntéze**. V tomto procese sa oxid uhličitý a voda menia na kyslík a glukózu, fruktózu, škrob a celulózu – látky, ktoré sa nazývajú **sacharidy**:

$$6 \text{ CO}_2 (g) + 6 \text{ H}_2 \text{O} (I) + \text{ fotony } \rightarrow \text{ C}_6 \text{H}_{12} \text{O}_6 (aq) + 6 \text{ O}_2 (g)$$

Sacharidy (z gréckeho *sacharon* = cukor) sú z chemického hľadiska definované ako **polyhydroxy aldehydy** a **polyhydroxy ketóny**, alebo zlúčeniny, ktoré môžu byť hydrolyzovateľné na tieto látky. Všetky sacharidy obsahujú prvky uhlík, vodík a kyslík približne v pomere 1:2:1. Pomer 2:1 je pomer vodíka a kyslíka vo vode, z čoho je odvodený starší názov pre sacharidy karbo**hydráty** (uhľo**hydráty**). Tento názov je však trochu zavádzajúci, preto by sa nemal používať. Hoci sacharidy v molekule neobsahujú vodu, väčšina uhlíkov je spojených práve s vodíkom a hydroxylovou skupinou, a tieto zložky vody môžu byť odstránené vo forme H₂O, napríklad pôsobením koncentrovanej kyseliny sírovej, pričom čierna látka – pozostatok po tejto reakcii – je uhlík.

Sacharidy predstavujú väčšinu organickej hmoty na našej planéte:

- tvoria zdroj energie a metabolické medziprodukty. Škrob v rastlinách a glykogén v živočíchoch sú polysacharidy, z ktorých sa v prípade potreby môže rýchlo vytvárať glukóza primárne palivo pri tvorbe energie. ATP (adenozíntrifosfát), univerzálne zmeniteľné platidlo voľnej energie, je fosforylovaný derivát sacharidu (ribózy), podobne ako mnohé koenzýmy;
- sacharidy **ribóza** a **deoxyribóza** tvoria štruktúrnu kostru RNA a DNA. Konformačná flexibilita týchto sacharidových kruhov je dôležitá pre uskladnenie a expresiu genetickej informácie:
- polysacharidy sú štruktúrnymi zložkami bunkovej steny baktérií a rastlín a tvoria skelet niektorých živočíchov. **Celulóza**, ktorá tvorí hlavnú zložku rastlinných bunkových stien, je najčastejšie sa vyskytujúcou látkou v biosfére. **Chitín** sa nachádza v bunkovej stene húb a tvorí vonkajšiu kostru článkonožcov (kôrovce, hmyz);
- sacharidy sa kovalentne viažu s mnohými lipidmi a bielkovinami (proteínmi), pričom vytvárajú glykolipidy, proteoglykány a glykoproteíny.

Súčasné štúdie ukazujú, že sacharidové jednotky na povrchu buniek hrajú kľúčovú úlohu pri rozpoznávaní buniek. Oplodnenie vajíčka začína naviazaním spermie na špecifický oligosacharid na povrchu vajíčka. Adhézia lymfocytov na miesta poškodených ciev a ich návrat do lymfatických uzlín je iným príkladom dôležitej úlohy sacharidov v rozpoznávacích procesoch. Sacharidy sú zaujímavé molekuly – bohaté na informáciu, ktorá sa využíva (nám neznámym spôsobom) pri vývoji a opravách organizmov.

Monosacharidy

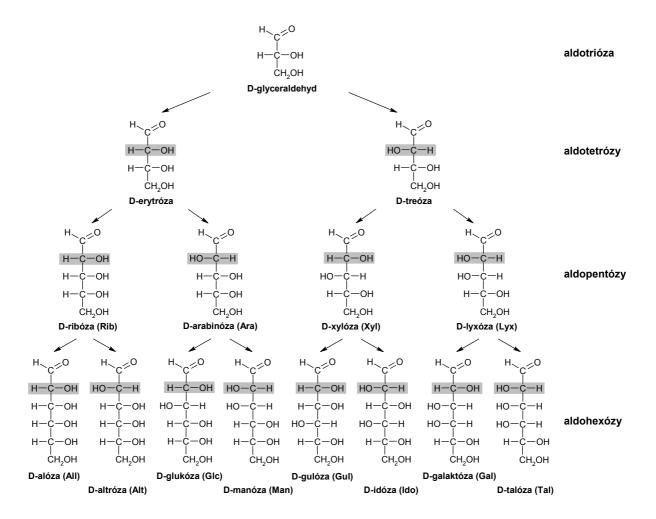
Monosacharidy patria medzi najjednoduchšie sacharidy. Ide o aldehydy alebo ketóny, ktoré obsahujú 2 a viac hydroxylových skupín. Empirický vzorec mnohých monosacharidov je $(CH_2O)_m$. Podľa funkčnej skupiny ich delíme na **aldózy** (funkčná skupina –CHO) a **ketózy** (funkčná skupina C=O). Najjednoduchšie sú tie s troma uhlíkmi (**triózy**, m = 3), a to **glyceraldehyd** (aldóza) a **dihydroxyacetón** (ketóza):

rovina zrkadla

$$\begin{array}{c|cccc} CHO & CHO & CH_2OH \\ \hline HO - C^* - H & H - C^* - OH \\ \hline CH_2OH & CH_2OH & CH_2OH \\ \hline L-glyceraldehyd & D-glyceraldehyd & dihydroxyacetón \\ \end{array}$$

Glyceraldehyd má jediný asymetrický uhlík (C*). Preto existujú dva stereoizoméry: D-glyceraldehyd a L-glyceraldehyd. Predpony D a L označujú absolútnu konfiguráciu. Pripomíname, že vo Fischerovej projekcii molekuly, atómy spojené s asymetrickým uhlíkom horizontálnymi väzbami ležia pred rovinou stránky papiera a atómy spojené vertikálnymi väzbami ležia za touto rovinou.

Sacharidy so štyrmi, piatimi, šiestimi a siedmimi uhlíkovými atómami sa nazývajú **tetrózy, pentózy, hexózy** a **heptózy** (**obrázok 4.1A, B**). Dve najbežnejšie hexózy sú **D-glukóza** (aldóza) a **D-fruktóza** (ketóza). Pre sacharidy s viac ako jedným asymetrickým uhlíkovým atómom symboly D a L poukazujú na absolútnu konfiguráciu asymetrického uhlíka, ktorý je najvzdialenejší od aldehydovej alebo keto- skupiny. Tieto hexózy patria do D radu, pretože ich konfigurácia na piatom uhlíku (C-5, posledný asymetrický uhlík vo vzorci) je rovnaká ako má D-glyceraldehyd.



Obrázok 4.1A Prehľad D-aldóz.

Obrázok 4.1B Prehľad D-ketóz.

Vo všeobecnosti má molekula s n asymetrickými centrami bez prítomnosti roviny symetrie 2^n stereoizomerných foriem. Pre aldotriózy n=1, preto poznáme 2 stereoizoméry: D- a L-glyceraldehyd. Tieto formy sa tiež nazývajú **enantiomérmi – zrkadlovými obrazmi** (pre ne je charakteristické to, že otáčajú rovinu polarizovaného svetla o ten istý uhol v opačnom smere). Pridaním HCOH skupiny vznikajú štyri aldotetrózy, pretože n=2. Dve z nich sú D-sacharidy, dve sú enantiomérne L-sacharidy. Pozrime sa bližšie na D-sacharidy:

1
CHO CHO
 2 CHO HO-C-H
 3 C-OH HO-C-H
 4 CH $_{2}$ OH CH $_{2}$ OH

D-erytróza D-treóza

Obidve D-aldotetrózy majú rovnakú konfiguráciu na C-3 (podľa definície D a L radu), ale opačnú na C-2 – nazývajú sa **diastereoizoméry**, nie enantioméry (!), pretože nie sú navzájom zrkadlovými obrazmi.

Sacharidy, ktoré sa líšia v konfigurácii na jednom asymetrickom uhlíku sa nazývajú **epi-méry**. D-erytróza a D-treóza sú tiež epimérmi, a to podľa C-2. Zrejmejšie to bude (dúfame) na príklade hexóz: D-manózy, D-glukózy a D-galaktózy:

CHO
1
CHO 1 CHO

D-glukóza a D-manóza sú epimérmi podľa C-2; D-glukóza a D-galaktóza sú epimérmi podľa C-4. Okrem toho sú všetky tri sacharidy navzájom diastereoizoméry.

Reakcie monosacharidov

Najčastejšie sa vyskytujúcou aldohexózou je **D-glukóza** a ketohexózou **D-fruktóza**. Pozrime sa bližšie na ich vlastnosti v roztoku. Prevládajúcimi formami glukózy a fruktózy v roztoku nie je otvorený reťazec, ale **cyklická forma**. Vo všeobecnosti môže aldehyd reagovať s alkoholom za vzniku **hemiacetálu** (poloacetálu):

Uhlík C-1 aldehydovej skupiny v otvorenej forme glukózy reaguje s C-5 hydroxylovou skupinou za vzniku **intramolekulového hemiacetálu**. Výsledný 6-článkový kruh sa nazýva pyranóza, pretože je podobný pyránu:

Podobne ketón môže reagovať s alkoholom za vzniku **hemiketálu** (poloketálu):

Uhlík C-2 keto skupiny v otvorenej forme fruktózy môže reagovať s C-5 hydroxylovou skupinou za vzniku **intramolekulového hemiketálu**. Tento 5-článkový kruh sa nazýva furanóza, pretože je podobný furánu:

Uzavreté štruktúry D-glukózy môžu tvoriť α -D-glukopyranózu a β -D-glukopyranózu. Pre D-aldózy v Haworthovej projekcii označenie α znamená, že hemiacetálová hydroxylová skupina na C-1 je pod rovinou kruhu; označenie β znamená, že hemiacetálová hydroxylová skupina na C-1 je nad rovinou kruhu. Uhlík C-1 sa tiež nazýva anomérny uhlíkový atóm (v dôsledku uzavretia kruhu je aj tento uhlík asymetrický) a formy α a β sú anoméry. Vo všeobecnosti pri písaní Haworthových vzorcov D-sacharidov platí, že hydroxylové skupiny, ktoré sú vo Fischerovom vzorci napravo budú pod rovinou kruhu, a tie, ktoré sú naľavo budú nad rovinou kruhu.

Vo vode prechádza α-D-glukopyranóza na β-D-glukopyranózu a naopak, a to cez otvorenú formu až do vytvorenia rovnováhy medzi oboma cyklickými formami. Táto premena bola dávno sledovaná vďaka meraniu optickej otáčavosti a samotný proces sa nazýva **mutarotácia**.

 $[\alpha]_0^{27}$ = +52,7° pre rovnovážnu zmes s koncentráciou 1 g na 100 ml

Rovnovážna zmes obsahuje približne jednu tretinu α -anoméru, dve tretiny β -anoméru a minimálne množstvo (< 1 %) otvorenej formy. Niektoré bunky obsahujú enzýmy **mutarotázy**, ktoré urýchľujú premenu anomérnych sacharidov.

V prítomnosti oxidačných činidiel, kovových iónov ako Cu²⁺ a určitých enzýmov, monosacharidy podliehajú **oxidačným reakciám**. Oxidáciou aldehydovej skupiny aldóz vznikajú **aldónové kyseliny**. Pri oxidácii koncovej –CH₂OH skupiny (primárna alkoholová skupina) sa tvoria **urónové kyseliny**. Výsledkom oxidácie oboch uvedených skupín sú **aldárové kyseliny**. Na to, aby došlo k oxidácii aldehydovej alebo keto skupiny je nutné, aby sacharid obsahoval voľný poloacetálový hydroxyl, ktorý je na C-1 (v prípade ketóz ide o poloketálový hydroxyl, a to na C-2). Tým sa zabezpečí to, aby mohol sacharid voľne prechádzať z cyklickej formy na otvorenú formu, ktorá je potrebná na prebehnutie oxidačnej reakcie. Takým sacharidom hovoríme, že sú **redukujúce** (**samé sa oxidujú**). **Všetky monosacharidy sú redukujúce**, čo sa využíva na ich dôkaz (viď dôkazové reakcie sacharidov).

Redukciou aldehydovej a keto-skupiny monosacharidov vznikajú **sacharidové alkoholy** (**alditoly**). Alditoly sa komerčne využívajú pri spracovaní potravín a liekov. Redukciou D-glukózy sa tvorí **D-glucitol** známy aj ako **D-sorbitol**.

Pre monosacharidy sú charakteristické **izomerizačné reakcie**. Ako príklad možno uviesť alkalický roztok D-glukózy, ktorý po niekoľkých hodinách bude obsahovať aj D-manózu a D-fruktózu ako dôsledok izomerizačných reakcií. Obe izomerizácie zahŕňajú súčasne intramolekulový presun vodíkového atómu a prechodnú zmenu polohy dvojitej väzby. Vratná transformácia glukózy na fruktózu je príkladom aldózo-ketózovej konverzie. Premena glukózy na

manózu sa nazýva **epimerizácia**, keďže ide o zmenu konfigurácie na jednom asymetrickom uhlíku.

Reakciou hydroxylových skupín sacharidov s kyselinami vznikajú sacharidové estery. **Esterifikácia** často dramaticky mení fyzikálne a chemické vlastnosti sacharidov. V prírode sa najčastejšie vyskytujú fosfátové a sulfátové estery. Fosforylované deriváty určitých monosacharidov sú dôležitými metabolickými zložkami buniek. Sulfátové estery sú súčasťou proteoglykánov vyskytujúcich sa v spojivovom tkanive.

α-D-glukóza-1-fosfát

Pri zahrievaní glukózy s bezvodým metanolom obsahujúcim HCl, reaguje anomérny uhlí-

metyl α-D-glukopyranozid

kový atóm s hydroxylovou skupinou metanolu za vzniku dvoch acetálov: metyl α-D-glukopyranozidu a metyl β-D-glukopyranozidu. Kyselina uľahčuje odstránenie –OH skupiny vďaka protonizácii anomérneho uhlíkového atómu. Nová väzba medzi C-1 glukózy a kyslíkovým atómom metanolu sa nazýva **glykozidová väzba** – v danom prípade *O*-glykozidová väzba (poznáme aj *N*-glykozidovú väzbu). Sacharidy sa navzájom spájajú *O*-glykozidovou väzbou za vzniku disacharidov a polysacharidov.

Disacharidy

Disacharidy pozostávajú z dvoch monosacharidov spojených *O*-glykozidovou väzbou. Tri najčastejšie sa vyskytujúce disacharidy sú **sacharóza**, **laktóza** a **maltóza**. Je zaujímavé spomenúť aj **trehalózu** – disacharid s pozoruhodnými stabilizujúcimi účinkami na biomakromolekuly, často sa vyskytujúci/syntetizovaný v organizmoch v stresových podmienkach.

Sacharóza sa komerčne získava z cukrovej trstiny a repy. Anomérny uhlíkový atóm na glukózovej jednotke a fruktózovej jednotke sú spojené a vytvárajú glykozidovú väzbu disacharidu. Konfigurácia tejto glykozidovej väzby je α pre D-glukózu a β pre D-fruktózu – z to-

ho vyplýva aj systémový názov sacharózy: α -D-glukopyranozyl- $(1\rightarrow 2)$ - β -D-fruktofuranozid. Keď že na vzniku glykozidovej väzby sa podieľ a poloacetálový hydroxyl D-glukózy a poloketálový hydroxyl D-fruktózy, **sacharóza stráca redukčné vlastnosti**, na rozdiel od väčšiny ostatných sacharidov. Redukčné vlastnosti nemá ani **trehalóza** - α -D-glukopyranozyl- $(1\rightarrow 1)$ - α -D-glukopyranozid.

Laktóza – mliečny cukor, pozostáva z β-D-galaktopyranózy spojenej s β-D-glukopyranózou β-1,4-glykozidovou väzbou (β-D-galaktopyranozyl-(1 \rightarrow 4)-β-D-glukopyranóza). Je to redukujúci disacharid.

Maltóza – sladový cukor, získava sa hydrolýzou škrobu. Tento disacharid je zložený z dvoch glukózových jednotiek spojených α -1,4-glykozidovou väzbou (α -D-glukopyranozyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glukopyranóza). Podobne ako laktóza, aj maltóza je redukujúci disacharid.

* šedou farbou je zvýraznený voľný poloacetálový hydroxyl

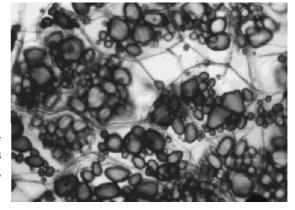
Polysacharidy

Živočíšne bunky skladujú glukózu vo forme **glykogénu**. Glykogén tvorí veľké, rozvetvené polymérne štruktúry, pozostávajúce z glukózových jednotiek. Väčšina glukózových jednotiek v glykogéne je spojená α-1,4-glykozidovou väzbou. Rozvetvenia sú tvorené α-1,6-glykozidovou väzbou, ktorá sa vyskytuje približne po každých 10 jednotkách glukózy. Tieto vetvenia zvyšujú rozpustnosť glykogénu a zvyšujú prístupnosť glukózových jednotiek.

Zásobným zdrojom energie v rastlinách je škrob, ktorý je zložený z dvoch foriem, a to

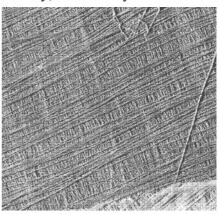
amylózy a amylopektínu. **Amylóza** (20 % škrobu, rozpustná v horúcej vode), nerozvetvený typ škrobu, pozostáva z glukózových jednotiek pospájaných α-1,4-glykozidovou väzbou. **Amylopektín** (80 % škrobu, nerozpustný vo vode), rozvetvená forma, vytvára α-1,6-glykozidovú

Obrázok 4.2 Škrob tvorí nerozpustné zrná v rastlinných bunkách. Obrázok ukazuje tieto škrobové zrná (jemne zafarbené jódom) v bunkách zemiaku. Ryža, zrno a kukurica sú taktiež bohatými zdrojmi škrobu.



väzbu po každých cca 30 glukózových jednotkách (spojených α-1,4-glykozidovou väzbou) – teda podobne ako glykogén, ale s nižším stupňom rozvetvenia. Viac ako polovica sacharidov v našej potrave pozostáva zo škrobu. Obidve formy - amylopektín a amylóza - sú rýchlo hydrolyzovateľné α-amylázou, ktorá je vylučovaná slinnými žľazami a pankreasom. α-amyláza je endoglykozidáza, ktorá hydrolyzuje α-1,4 väzby za vzniku maltózy, maltotriózy a α-dextrínu.

Celulóza je hlavnou zložkou dreva a rastlinných vlákien – má predovšetkým štruktúrnu úlohu. Celulóza je jednou z najhojnejších zložiek v biosfére. Ročne sa syntetizuje a degraduje približne 10¹⁵ kg tejto látky! Je to nerozvetvený polymér pozostávajúci z jednotiek glukózy spojených β-1,4-glykozidovou väzbou. β konfigurácia umožňuje celulóze vytvárať dlhé rovné reťazce. α-1,4glykozidová väzba v glykogéne a škrobe má za následok veľmi rozdielnu molekulovú architektúru. Na rozdiel od celulózy, glykogén a škrob vytvárajú helikálne (špirálové) štruktúry. α a β konfigurácia glykozidovej väzby má dôležité biologické dôsledky. Rovný reťazec tvorený β-väzbou je optimálny na konštrukciu vlákien s veľkou ťahovou odolnosťou. Naopak, otvorený helix tvorený αglykozidovou väzbou je vhodný na tvorbu prístupného zdroja energie.



Obrázok 4.3 Tento elektrónový mikrograf ukazuje celulózové vlákna v bunkových stenách zelených rias.

Chitín sa nachádza v organizme mnohých bezstavovcov – hlavne hmyzu. Nachádza sa aj v niektorých hubách a morských živočíchoch, ako napr.
v kraboch. Chitín je prírodným fibrínom, je netoxický a nemá vedľajšie účinky. Jeho štruktúra
je veľmi podobná celulóze, pretože chitín obsahuje *N*-acetyl-glukozamínové zvyšky, ktoré
sú navzájom pospájané β-1,4-glykozidovými väzbami. Táto látka sa od celulózy odlišuje tým,

že každá hydroxylová skupina na druhom uhlíku glukózy je nahradená acetamidovou skupinou. Chitín sa nerozpúšťa v alkohole, slabých kyselinách ani zásadách. Tráviace enzýmy živočíchov ho nedokážu rozštiepiť. Pri niektorých potravinárskych technológiach (spracovanie morských krabov) sa získava veľa odpadového chitínu, ktorý sa môže využiť ako substrát na čistenie odpadových vôd, pri liečení popálenín i hojení rán. Bunkovú stenu buniek húb tvorí tiež prevažne chitín, ktorý sa však nevyskytuje v bunkách vyšších rastlín.

DÔKAZOVÉ REAKCIE SACHARIDOV

Molischova reakcia

Molischova reakcia je všeobecný test na **všetky** monosacharidy, ktoré obsahujú päť a šesť atómov uhlíka. Test je založený na schopnosti monosacharidov podstupovať kyselinou katalyzovanú dehydratáciu za vzniku aldehydu. V prvom kroku sa účinkom koncentrovanej kyseliny sírovej tvorí z pentóz **furfural** a z hexóz **5-hydroxymetylfurfural**:

1. krok:
$$HO-CH-CH-OH$$

$$H_{2}C HC-C$$

$$HO OH$$

$$HO OH$$

$$H_{2}C HC C$$

$$HO OH$$

$$HC-CH$$

$$H - C C C$$

$$H - C$$

$$H - C C$$

$$H - C$$

$$H -$$

V druhom kroku kondenzuje furfural, resp. 5-hydroxymetylfurfural s dvoma molekulami α-naftolu (Molischovo činidlo), pričom vzniká fialovo sfarbený produkt:

Rovnako aj disacharidy a polysacharidy dávajú pozitívny výsledok, keď sú hydrolyzované kyselinou na 5- a 6-uhlíkové monosacharidy.

Bialova reakcia

Bialova reakcia odlišuje **5-uhlíkové** monosacharidy od **6-uhlíkových**. **Furfural** vznikajúci dehydratáciou **5-uhlíkového** sacharidu reaguje s **orcinolom** a chloridom železitým za vzniku modrého kondenzačného produktu. **5-hydroxymetylfurfural** vznikajúci dehydratáciou **6-uhlíkového** sacharidu reaguje za vzniku hnedého, červenohnedého alebo zeleného kondenzačného produktu:

Disacharidy a polysacharidy budú dávať pozitívny výsledok po kyslej hydrolýze.

Seliwanovova reakcia

Seliwanovova reakcia rozlišuje **ketohexózy** od **aldohexóz**. Ketohexózy dehydratujú rýchlo za vzniku 5-hydroxymetylfurfuralu, zatiaľ čo aldohexózy dehydratujú oveľa pomalšie. 5-hydroxymetylfurfural reaguje s **rezorcinolom** za vzniku tmavočerveného kondenzačného produktu:

Rothenfusserova reakcia

Difenylamín dáva pri reakcii s **ketózami** v prostredí minerálnej kyseliny intenzívne **modré** sfarbenie.

Reakcia s floroglucínom (podľa Tollensa)

Pentózy v kyslom prostredí za varu odštepujú vodu, pričom sa tvorí furfural. Dokazujeme ho roztokom **floroglucínu**, pričom vzniká **purpurovočervené** sfarbenie.

Fouglerov test

V prítomnosti Fouglerovho činidla (močovina + H₂SO₄ + SnCl₂) po zahriatí dáva:

- fruktóza zelenomodré zafarbenie,
- aldohexózy červené až purpurové sfarbenie,
- aldopentózv žlté sfarbenie.

Tvorba osazónov

Aldózy a **ketózy** kondenzujú s **fenylhydrazínom** v prostredí kyseliny octovej na príslušné **hydrazóny**, ktoré kondenzujú s ďalšou molekulou fenylhydrazínu na tzv. **osazóny**:

Osazóny sú žlté, dobre kryštalizujúce látky, preto sa používajú na identifikáciu sacharidov. Kryštály glukosazónu majú charakteristický tvar dlhých ihlíc, spojených do tvaru hviezdic.

Redukčné skúšky

Povarením mono- a disacharidov, obsahujúcich voľnú poloacetálovú hydroxyskupinu v silno alkalickom prostredí vznikajú ako medziprodukty tzv. **reduktóny**, ktoré redukujú komplexne viazané ióny ťažkých kovov (Cu²⁺, Bi³⁺, Fe³⁺, Hg²⁺, Ag⁺) a niektoré iné látky (kyselinu pikrovú, metylénovú modrú).

Trommerova reakcia

Hexózy redukujú Cu^{2+} v alkalickom prostredí na Cu^{+} . Ako komplexotvorné činidlo účinkuje sám sacharid:

CHO
$$(CH-OH)_4 + 2 CuSO_4 + 5 NaOH$$
 $-2 H_2O$ $(CH-OH)_4 + 2 CuOH + 2 Na_2SO_4$ CH_2OH $-2 Cu_2O$ Cu_2O

Reakcia prebieha za vzniku zrazeniny $Cu(OH)_2$, ktorá sa pri zatrepaní skúmavkou rozpustí a zafarbí roztok na intenzívne modro. Pri zahrievaní skúmavky do varu spočiatku vzniká žltá zrazenina CuOH, ktorá postupne vznikom Cu_2O sčervenie.

Reakcia s Fehlingovým činidlom

Princíp Fehlingovej reakcie je podobný ako pri Trommerovej reakcii, s tým rozdielom, že ako komplexotvorné činidlo sa používa Seignettova soľ (vínan sodnodraselný). Zakladá sa na reakciách:

Reakcia má tú nevýhodu, že Fehlingovo činidlo je nestále. Činidlo treba preto pripravovať v skúmavke vždy čerstvé. Pri vare sacharidu s Fehlingovým činidlom sa vylúči **žltočervená** zrazenina Cu₂O a súčasne sa mení modré sfarbenie roztoku do **zelena**, **zelenožlta** až **žltozelena**, približne podľa obsahu glukózy. **Táto reakcia nie je špecifická!** Zmena sfarbenia bez vzniku zrazeniny, modrozelený alebo olivovozelený zákal, nie sú dôkazom glukózy. Tieto zmeny spôsobujú aj iné redukujúce látky.

Benedictiho reakcia

Benedictiho skúška určuje, či monosacharidy alebo disacharidy obsahujú voľnú aldehydovú skupinu, ktorá môže byť oxidovaná na karboxylovú kyselinu. Sacharid následne oxiduje meďnaté ióny v Benedictiho reagencii na červený precipitát oxidu meďného:

$$\begin{array}{c} O \\ || \\ R - C - H + 2 Cu^{2+} + 4 OH^{-} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} O \\ || \\ R - C - OH + Cu_{2}O + 2 H_{2}O \end{array}$$

Po povarení a ochladení vznikne modrý, červený, zelený, alebo žltý precipitát podľa množstva redukujúceho sacharidu. Negatívna je táto skúška len vtedy, ak roztok zostáva číry.

Barfoedova reakcia

Barfoedova skúška je podobná ako Benedictiho, avšak rozlišuje, či redukujúci sacharid je monosacharid alebo disacharid. Barfoedova reagencia reaguje s monosacharidom za vzniku oxidu meďného oveľa rýchlejšie ako v prípade disacharidu.

Reakcia podľa Nylandera s Bi³⁺

Princíp dôkazu redukujúcich sacharidov podľa Nylandera spočíva v redukcii Bi³⁺ na kovový bizmut, ktorý je **čierny**:

$$Bi(OH)_2NO_3 + NaOH \rightarrow Bi(OH)_3 + NaNO_3$$

 $Bi(OH)_3 \rightarrow Bi^{3+} + 3 OH^{-1}$
 $Bi^{3+} + 3 e^{-1} \rightarrow Bi^{0}$

Jódový test

Niektoré sacharidy (škrob, glykogén) reagujú s jódom za vzniku charakteristickej **modrej**, v niektorých prípadoch hnedej, príp. červenej až purpurovej farby. Farebný produkt vzniká pravdepodobne v dôsledku zachytenia jódu do otvorených priestorov vnútri štruktúr, vytvorených polysacharidmi.

Test na glukózu

Jednoduchý, komerčne dostupný test na glukózu je založený na enzymatickej reakcii. Obsahuje *orto*-toluidín a enzýmy glukózaoxidázu a peroxidázu. Glukózaoxidáza oxiduje glukózu za vzniku glukónovej kyseliny a peroxidu vodíka. Následne, peroxid vodíka reaguje s peroxidázou za vzniku kyslíka, ktorý oxiduje *orto*-toluidín. Táto reakcia dáva produkt, ktorého farba môže byť od svetlozelenej do modročiernej.

D-glukóza

orto-toluidín

kyselina D-glukónová

$$2 H_2O_2 \xrightarrow{\text{peroxidáza}} 2 H_2O + O_2$$

Použitá literatúra

- Barna K., Paščenko A. Je., Barnová E., Guzy J.: Lekárska chémia a biochémia, 3. prepracované vydanie, Košice 1989.
- Podhradský D., Mihalovová H.: Praktické cvičenie z biochémie, Košice 1989.
- Eaton D.C.: Laboratory investigations in organic chemistry, McGraw-Hill, Inc., New York 1989.
- Stryer L.: Biochemistry, 4th edition, W.H. Freeman and Company, New York 1995.