

م. دانشگاه پیرنیتی ساختار

نویسار

فصل سوم: کربوهیدرات‌ها

آزمایش‌های کیفی قندها:

اهداف کلی:

کربوهیدراتها، خصوصاً گلوکز یکی از مهم‌ترین مولکول‌های زیستی در بدن انسان می‌باشند که شناسایی ساختمان و بررسی برخی از خواص بیوشیمیایی آنها نظیر قدرت احیاکنندگی، اکسیداسیون و ... بسیار ضروری می‌باشند.

تئوری :

کربوهیدرات‌ها یا هیدرات‌های کربن ترکیبات پلی‌هیدروکسی آلدئید یا پلی‌هیدروکسی کتون با فرمول $(CH_2O)_n$ یا $C_n(H_2O)_n$ می‌باشند. بنابراین قندها به دو صورت آلدئیدی (آلدوز) و ستنی (کتوز) وجود دارند.

قندها به سه دسته اصلی زیر تقسیم می‌شوند:

۱. مونوساکاریدها : قندهای ۳-۷ کربنه هستند که به ترتیب تریوز، تتروز، پنتوز، هگزوز و هپتوز نام دارند. در اثر هیدرولیز به قندهای ساده تر تبدیل نمی شوند. تمامی مونوساکاریدها (آلدید=آلدوز و کتون=کتوز) دارای خاصیت احیاء کنندگی هستند که این خصوصیت به دلیل گروه آلدیدی و کتونی می باشد.

مونوساکاریدها اگر دارای عامل آلدیدی باشند، جزو گروه آلدوز و اگر دارای عامل کتونی باشند، جزو گروه کتوزها می شوند.

۲. الیگوساکاریدها:

از دو تا ده مونوساکارید تشکیل شده‌اند که در بین آنها، دی ساکاریدها از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. به دو دسته احیاء کننده (لاکتوز) و غیراحیا کننده (ساکاروز) تقسیم می‌شوند.

۳. پلی ساکاریدها: از تعداد زیادی واحدهای مونوساکاریدی تشکیل شده‌اند و از مهم‌ترین پلی‌ساکاریدها، نشاسته، سلولز و گلیکوژن را می‌توان نام برد.

جهت تشخیص انواع قندها در مایعات بیولوژیک و محلول‌های مجهول واکنش‌های مختلفی وجود دارد.

۱. مولیش :

یک تست عمومی برای تشخیص وجود کربوهیدرات‌ها در یک محلول می‌باشد. اسید سولفوریک غلیظ باعث هیدرولیز اتصالات گلیکوزیدی (پیوند بین قندها) و تبدیل الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها به مونوساکارید می‌شوند. مونوساکاریدها نیز در حضور اسید سولفوریک غلیظ، آب از دست داده و به فورفورال و یا مشتقات آن تبدیل می‌شوند که در حضور آلفا نفتل (الکل بنزنی) کمپلکس بنفش رنگ ایجاد می‌کند.

۲. سلیوانف :

جهت تشخیص آلدوز یا کتوز بودن مونوساکاریدها بکار می‌رود. در این آزمایش کتو هگزوزها در مجاورت اسید کلریدریک آب از دست داده، به هیدروکسی متیل فورفورال تبدیل می‌شوند. این ترکیبات با رزورسینول ترکیب شده به کمپلکس قرمز رنگی تبدیل می‌گردند آلدوزها در شرایط سخت تری با رزورسینول واکنش می‌دهند

۳. بارفود :

این آزمایش‌ها برای تشخیص مونوساکاریدها از دی‌ساکاریدها است. معرف بارفود حاوی استات مس در محیط اسیدی رقیق، اسید استیک یا اسید لاکتیک است و مونوساکاریدها به علت داشتن قدرت احیا کنندگی قوی قادرند یون مس دو ظرفیتی را در محیط اسیدی ضعیف احیا نموده و تولید رسوب قرمز رنگ اکسید مس نمایند.

۴. بندیکت یا فهلینگ :

این آزمایش جهت تشخیص قندهای احیا کننده از غیر احیا کننده می‌باشد. عامل آلدئیدی یا کتونی قندها باعث احیا شدن هیدروکسید مس آبی رنگ شده و آن را تبدیل به اکسید مس نامحلول (رسوب قرمز آجری رنگ) می‌نماید.

۵. آزمایش ید :

برای تشخیص پلی ساکاریدهای نظیر نشاسته و گلیکوژن به کار می رود. ید با نشاسته ایجاد رنگ آبی تیره و با گلیکوژن ایجاد رنگ قهوه ای می کند، علت ایجاد رنگ نفوذ ید در لابه لای مارپیچ های ساختمانی پلی ساکارید می باشد.

آزمایش ۱: مولیش

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول ۰/۱ مولار چند قند ، لوله آزمایش ، پیپت و پوآر ، محلول الکلی آلفانفتل ، اسید سولفوریک غلیظ ، قطره چکان ، آب مقطر

روش کار:

در لوله آزمایش ۲ میلی لیتر از نمونه قند بریزید و روی آن چند قطره محلول الکلی آلفانفتل اضافه کرده و خوب مخلوط کنید. از کنار لوله ، ۱ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آرامی و طوری وارد کنید که در ته لوله قرار گیرد.

۱. حلقه رنگی فورفورال که پس از چند ثانیه تشکیل می شود به چه رنگی است؟

۲. وجود این رنگ نمایانگر چیست؟

آزمایش ۲ : سلیوانف

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول های قندی ۰/۱ مولار فروکتوز، گلوکز و ساکاروز، لوله آزمایش، پیپت و پوآر، معرف سلیوانف، بن ماری

روش کار:

سه لوله آزمایش انتخاب کرده و در هریک ۱ میلی لیتر معرف سلیوانف ریخته و سپس ۱ میلی لیتر از قندهای مورد آزمایش را اضافه کرده و آن را به مدت ۹۰ ثانیه در آب جوش بگذارید. رنگ و یا رسوب قرمز دلیل بر کتون است.

۱. کدامیک از قندهای نامبرده دارای عامل کتونی است؟

آزمایش ۳: بارفود :

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول های ۱/ ۰ قندهای گلوکز، فروکتوز، لاگتوز، لوله آزمایش، پیپت و پوآر، معرف بارفود، بن ماری.

روش کار:

۱ میلی لیتر از هر نمونه قندی را در یک لوله آزمایش بریزید و به هریک ۱ میلی لیتر معرف بارفود اضافه کرده و لوله ها را ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار دهید. اگر محلول مورد آزمایش مونوساکارید باشد، رسوب قرمز ایجاد می شود.

کدامیک از قندهای فوق الذکر مونوساکارید و کدامیک غیرمونوساکاریدند؟ چرا؟

آزمایش ۴: . خاصیت احیاکنندگی قندها، واکنش فehلینگ

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول های ۱/ ۰ قندهای گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و مالتوز، لوله آزمایش، پیپت و پوآر، معرف فehلینگ A و معرف فehلینگ B، بن ماری.

روش کار:

چهار لوله آزمایش را انتخاب کرده و در هر یک ۱ میلی لیتر معرف فهلینگ A و ۱ میلی لیتر معرف فهلینگ B بریزید، مخلوط نمایید. سپس ۱ میلی لیتر از محلول قندی مورد آزمایش را اضافه کنید و لوله ها را ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار دهید. اگر محلول مورد آزمایش قند احیاکننده باشد، رسوبی به رنگ زرد تا قرمز ایجاد می گردد.

۱. کدامیک از قندهای فوق الذکر احیاکننده و کدامیک غیر احیاکننده می باشند؟

واکنش های کیفی قندها

آزمایش ۵: تشکیل بلورهای اوزازون

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول های ۰/۱ مولار قندهای گلوکز، گالاکتوز، مالتوز، لاکتوز، گزیلوز و آرابینوز، لوله آزمایش، پیت و پوآر، معرف فنیل هیدرازین، بن ماری، لام ، لامل و میکروسکوپ

روش کار:

شش لوله آزمایش انتخاب کرده و در هر یک ۱ میلی لیتر معرف فنیل هیدرازین بریزید. حال به هر کدام از لوله ها ۱ میلی لیتر از هر یک از قندهای نامبرده اضافه کرده و لوله ها را به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در آب جوش قرار دهید. آن ها را در دمای آزمایشگاه سرد کرده و زمان تشکیل هر نوع رسوب یا بلور را مشخص کنید. سپس با یک

پیت یک قطره از رسوب را روی لام گذارده و آن را به آرامی با لامل بپوشانید و در زیر میکروسکوپ بلورهای آنها را مشاهده کنید.

