



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską

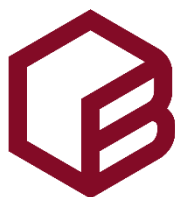


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

*Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00*

# INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

*dla kierunku lekarskiego  
Politechniki Bydgoskiej  
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA  
BYDGOSKA**  
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską



## ĆWICZENIE 4

### CUKRY = WĘGLOWODANY

#### Monocukry i dwocukry

Węglowodany (cukry, sacharydy) są związkami o charakterze aldehydoalkoholi lub ketoalkoholi wielowodorotlenowych. Cukry proste (monosacharydy) mogą być klasyfikowane według kryteriów, jak np.: liczba atomów węgla w cząsteczce, charakter grup czynnych, czy budowa pierścienia. W organizmie człowieka występują przede wszystkim cukry zawierające od trzech do siedmiu atomów węgla. Najobficiej występują heksozy, wśród nich glukoza, która jest głównym monosacharydem spożywanym i przetwarzanym w organizmie ludzkim. Połączenie dwu heksoz wiązaniem glikozydowym powoduje powstanie disacharydu.

Monosacharydy i niektóre disacharydy w obecności słabych środków utleniających w środowisku alkalicznym odznaczają się zdolnością redukującą. Właściwości redukujące cukrów zależą od obecności wolnej grupa aldehydowej lub ketonowej. Formy pierścieniowe cukrów przechodzą w łańcuchowe i grupa aldehydowa odtwarza się przy C-1 w glukopiranozie, a grupa ketonowa przy C-2 we fruktofuranozie, w środowisku alkalicznym. Wszystkie cukry proste oraz oligosacharydy, które posiadają wolną grupę aldehydową lub ketonową są cukrami redukującymi. Węglowodany te podczas ogrzewania w środowisku zasadowym tworzą silnie redukujące produkty.

W środowisku słabo kwaśnym właściwości redukujące wykazują tylko monocukry.

#### 1. Identyfikacja cukrów metodą chromatografii bibułowej.

Chromatografia (gr. χρῶμα (chrōma) = barwa + γράφω (graphō) = piszę) jedna z metod rozdzielania mieszanin, w której proces rozdzielania odbywa się na granicy dwóch faz: fazy stacjonarnej (nośnika, adsorbentu) i fazy ruchomej (eluentu). Rozdział związków z badanej mieszaniny następuje na skutek różnego powinowactwa rozdzielanych substancji chemicznych do każdej z tych faz (fazy stacjonarnej lub ruchomej). W procesie tzw. rozwijania chromatogramu, czyli przepływu fazy ruchomej przez fazę stacjonarną rozdzielane substancje poruszają się z różną szybkością w zależności od stosunku ich powinowactwa do eluentu i nośnika. W chromatografii wykorzystywane są różne zjawiska fizykochemiczne (adsorpcja, podział substancji między dwie nie mieszające się cieczce, wymiana jonowa). W chromatografii bibułowej fazę stałą stanowi bibuła celulozowa a fazę ruchomą ciekły rozpuszczalnik lub mieszanina rozpuszczalników.

Identyfikacji związków dokonuje się na podstawie charakterystycznej wartości  $R_f$ , która jest wielkością stałą. Szybkość wędrówki poszczególnych związków jest charakterystyczna dla poszczególnych związków.

#### Wykonanie

Na pasku bibuły Watman 3MM zaznaczyć ołówkiem linię startu w odległości 2,5 cm od dolnej krawędzi. Na linii startu zaznaczyć cztery punkty, na które nanieść mikropipetą 1% roztwory wzorcowe cukrów (fruktozy, rybozy, glukozy) oraz otrzymany roztwór badany (po 10 kropli na każdy punkt). Po każdorazowym naniesieniu krople wysuszyć w strumieniu ciepłego powietrza. W komorze chromatograficznej znajduje się rynienka z układem rozwijającym (izopropanol-octan etylu-woda w stosunku 7:1:2), w której należy zanurzyć pasek bibuły. Chromatogram rozwijać 2 godziny. Po tym czasie wyjąć chromatogram z komory, zaznaczyć ołówkiem czoło układu rozwijającego i suszyć w suszarce w temperaturze 100-105°C do momentu wywołania plam. Zidentyfikować cukry na podstawie współczynników  $R_f$  obliczonych wg następującego wzoru:

$$R_f = \frac{\text{droga, którą przybyła badana substancja [cm]}}{\text{droga, którą przebył układ rozwijający [cm]}}$$



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską



Po wywołaniu plam charakterystycznych dla danych aminokwasów należy obliczyć  $R_f$  dla trzech znanych cukrów i na podstawie uzyskanych wartości podać nazwę nieznanego

$R_f 1 =$  ———

$R_f 2 =$  ———

$R_f 3 =$  ———

$R_f x =$  ———

**Nieznany cukier (X) to:**

### 1. Wykrywanie ketoz reakcją Seliwanowa

Do trzech probówek nalać po 1ml odczynnika Seliwanowa i kolejno dodawać do pierwszej - 2 krople fruktozy, do drugiej - 2 krople glukozy, a do trzeciej - 2 krople sacharozy. Zwartość zmieszać i pozostawić we wrzącej łaźni wodnej około 30 sekund. Zanotować czas, po którym pojawi się czerwone zabarwienie w każdej probówce.

Za dodatnią próbę Seliwanowa uważa się taką próbę, w której czerwone zabarwienie pojawi się w czasie do 30 sekund. Przy dłuższym ogrzewaniu inne cukry też dają czerwoną barwę i próba przestaje być specyficzna dla ketoz.

Wypełnij tabelę, narysuj wzory i wyciągnij wnioski. Wyjaśnij czym się różnią ketozy od aldoz, podaj przykłady.

	Glukoza	Fruktoza	Sacharoza
Czas pojawienia się czerwonego zabarwienia			

**Narysować wzory strukturalne i sumaryczne glukozy, fruktozy i sacharozy**

### 2. Odróżnianie jednocukrów od dwucukrów redukujących.

Właściwości redukujące posiadają wszystkie monocukry oraz niektóre disacharydy (maltoza, laktoza, celobioza), ponieważ posiadają w cząsteczce wolną grupę aldehydową lub ketonową.

**Wykonanie**

Do dwóch probówek nalać po 5 ml odczynnika Barfoeda, po czym do jednej 1ml roztworu glukozy, a do drugiej 1ml roztworu laktozy. Zamieszać i wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 15 minut.

Reagenty	Wynik reakcji
odczynnik Barfoeda + glukoza	
odczynnik Barfoeda + laktoza	

**Wnioski:**



### 3. Wykrywanie cukru w moczu metoda Benedicta

W środowisku alkalicznym w obecności cukru redukującego jon  $\text{Cu}^{2+}$  obniża swój stopień utleniania do  $\text{Cu}^+$  i wytrąca się w postaci ceglastoczerwonego osadu  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Glukoza w moczu prawidłowym nie występuje. Chociaż niewielkie jej ilości mogą być wydalane przez zdrowe nerki, są one zwykle poniżej progu czułości.

#### Wykonanie

Do 5 ml odczynnika Benedicta dodać 8 kropli moczu, wymieszać, wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 5 min.

Po tym czasie wyjąć i oziębic probówkę pod bieżącą wodą.

W przypadku obecności cukru w moczu roztwór zmienia barwę – powstaje żółty, pomarańczowy lub czerwony osad.

Z barwy osadu można w przybliżeniu ocenić stężenie cukru w badanym moczu.

Barwa mieszaniny reakcyjnej	Przybliżona zawartość cukru w g/dl
Bez zmian	0
Zielona, brak osadu	1–3
Zielona, osad	5
Żółtozielona, osad	10
Pomarańczowa, osad	15
Czerwona, osad	20 i powyżej

#### Wnioski: