

1. Identyfikacja cukrów w produktach spożywczych metodą chromatografii cienkowarstwowej

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. Płytki chromatograficzne (20×20 cm) pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego
2. Komora chromatograficzna
3. Układ rozwijający: octan etylu : izopropanol : woda : pirydyna (26 : 14 : 7 : 2; v/v/v/v).
4. Soki owocowe, mleko, sok z pomidora
5. Etanol
6. Wirówka
7. Cieplarka (105°C)
8. Suszarka do włosów
9. Kapilary
10. Spryskiwacz do płytek chromatograficznych
11. Układ wywołujący (po spryskaniu wywołać termicznie)
 - a) (świeżo przygotowany) otrzymany w wyniku połączenia:
 - 5 objętości acetonowego roztworu aniliny (10 g/L)
 - 5 objętości acetonowego roztworu difenylaminy (10 g/L)
 - 1 objętości 85% kwasu fosforowego
 - b) 5% kwas siarkowy

11. Standardy cukrów: glukoza, fruktoza, ksyliza, ryboza, laktoza, sacharoza, galaktoza i mannoza (stężenie 10g/l w 10% izopropanolu).

Wykonanie doświadczenia:

Do 1 mL soku lub mleka dodać 3 mL etanolu. Odwirować zdenaturowane białka (6000 RPM przez 15 min). Na płytce chromatograficznej (**podczas wszystkich operacji należy unikać dotykania złoza płytki palcami**) (20×20 cm) w odległości 1 cm od brzegu narysować delikatnie miękkim ołówkiem linię, na której co 1,5 cm zaznaczyć punkty. W oznaczonych punktach nanieść kapilarą poszczególne roztwory standardów cukrów oraz etanolowe ekstrakty soku. Odparować (do sucha) rozpuszczalniki strumieniem powietrza z suszarki do włosów. Włożyć płytkę do komory chromatograficznej nasyconej parami układu rozwijającego i pozostawić do momentu, gdy czoło układu rozwijającego osiągnie poziom około 2 cm od przeciwległego końca płytki. Po wyjęciu płytki z komory chromatograficznej niezwłocznie zaznaczyć ołówkiem poziom czoła układu rozwijającego, a następnie dokładnie wysuszyć płytkę za pomocą suszarki do włosów i spryskać (**pod włączonym wyciągiem!**) układem wywołującym. Następnie wywołać płytkę poprzez jej silne ogrzanie gorącym strumieniem powietrza z suszarki do włosów (pod wyciągiem) lub po wstępnym wysuszeniu pod wyciągiem, suszarką do włosów, płytkę umieścić w cieplarni nastawionej na temperaturę 105°C. Zaznaczyć delikatnie pojawiające się plamki. Wyznaczyć wartości R_f dla standardów cukrów i badanej próbki. Na podstawie obliczonych wartości R_f zidentyfikować cukry obecne w badanym soku i mleku.

Zakres materiału:

Klasyfikacja węglowodanów, formy izomerów węglowodanów, podstawowe reakcje chemiczne węglowodanów, deoksycukry i cukry redukujące, najważniejsze fizjologicznie monosacharydy, disacharydy i polisacharydy oraz ich funkcje biologiczne, glikoproteiny i ich funkcje biologiczne, podstawy chromatografii cienkowarstwowej (zasada rozdzielania, współczynnik podziału i sposób jego wyznaczenia, od czego zależy wartość współczynnika podziału, układy rozwijające i wywołujące w chromatografii cienkowarstwowej).