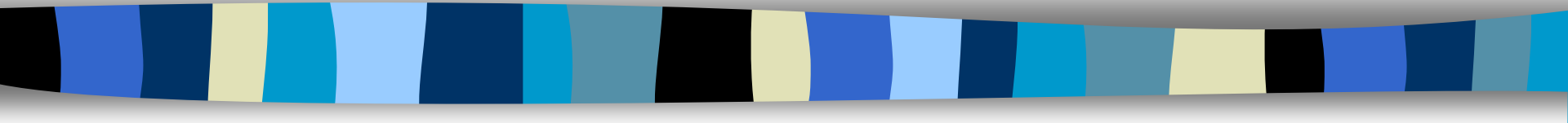


Φροντιστήριο Βιοχημείας Ι



Ε.Φραγκοπούλου
Λέκτορας

Υδατάνθρακες

Δράση στις εξής περιπτώσεις :

- Αποθηκευτικές μορφές ενέργειας
(π.χ. γλυκογόνο, άμυλο)
- Καύσιμα
(π.χ. γλυκόζη)
- Μεταβολικά ενδιάμεσα
- Μόρια αναγνώρισης
(γλυκοπρωτεΐνες=> ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος,
αλληλεπίδραση κυττάρου-κυττάρου, στην ανάπτυξη των ιστών,
εξωκυτταρικά μηνύματα)

ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

ΜΟΝΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ (8-10 μονοσακχαρίτες)

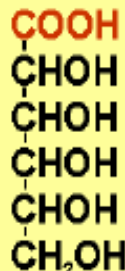
ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ (>10 μονοσακχαρίτες)

Πολυυδροξυ-αλδοϋδες (αλδόζες)

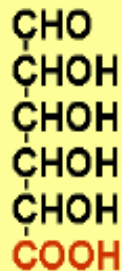
Πολυυδροξυ-κετόνες (κετόζες)

Παράγωγα μονοσακχαριτών

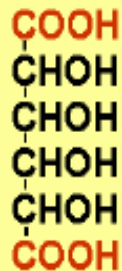
Παράγωγα οξειδωσης (Μono-, Δι- καρβονικά οξέα)



γλυκονικό
(εξονικό)

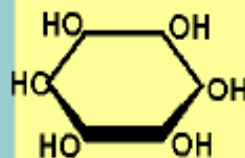


γλυκουρονικό
(ουρονικό)

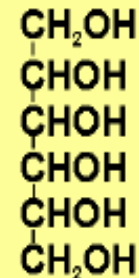


σακχαρικό

Παράγωγα αναγωγής (Πολυυδρικές αλκοόλες)

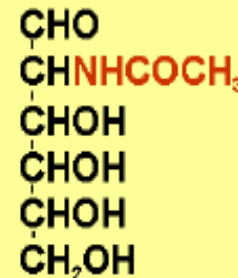


ινοσιτόλη

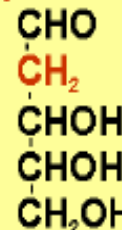


σορβιτόλη

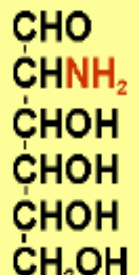
Παράγωγα αντικατάστασης (Αμινοσάκχαρα, Δεοξυσάκχαρα)



N-ακετυλο-
γλυκοζαμίνη



δεοξυ-ριβόζη



γλυκοζαμίνη

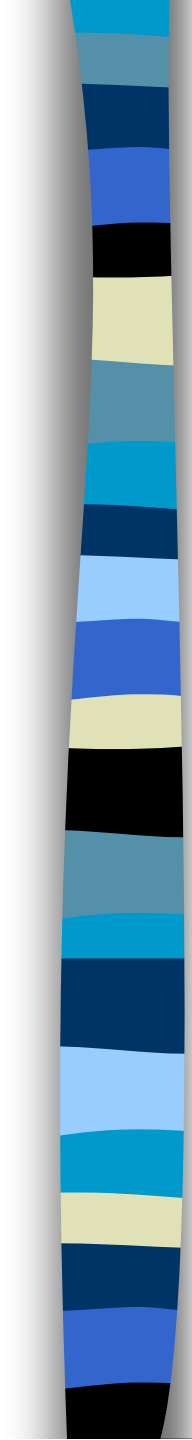
Μελέτη υδατανθράκων

➤ Μελέτη δομής

- Παραλαβή του υδατάνθρακα και διαχωρισμός από τις άλλες τάξεις βιομορίων
- Διαχωρισμός από άλλους υδατάνθρακες
- Ποσοτικός προσδιορισμός (π.χ. χημικός προσδιορισμός σακχάρων)
- Σταδιακή αποικοδόμιση τους με ειδικά αντιδραστήρια τα οποία βοηθάνε στον προσδιορισμό της θέσης των χημικών δεσμών ή στη στερεοχημεία του μορίου.
- Φασματοσκοπικές τεχνικές (φασματοσκοπία μάζας MS, φασματοσκοπία πυρηνικού συντονισμού NMR)

➤ Μελέτη λειτουργίας

- Καθορισμός βιολογικής δράσης (εμπλοκή στο μεταβολισμό κ.τ.λ)
- Σχέση δομής - βιολογικής δράσης
- Ρύθμιση βιολογικής δράσης



Παραλαβή υδατανθράκων

Βασίζεται στη διαφορά διαλυτότητας που εμφανίζουν σε σχέση με τα άλλα βιομόρια

- Ένα μεγάλο μέρος των υδατανθράκων, με εξαίρεση τα γλυκολιποειδή και τους δομικούς υδατανθρακες (κυτταρίνη), είναι αδιάλυτοι σε οργανικούς διαλύτες και ευδιάλυτοι στο νερό.
- Σε χαμηλά pH, οι υδατάνθρακες είναι διαλυτοί, σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες και τα νουκλεϊνικά οξέα τα οποία, κάτω από τις συνθήκες αυτές, καταβυθίζονται.

Παραλαβή υδατανθράκων

- Περιλαμβάνει την αποδέσμευση τους από τις άλλες τάξεις βιομορίων (γλυκοπρωτεΐνες, πρωτεογλυκάνες, γλυκολιποειδή) στις οποίες είναι συνδεδεμένα με χημικούς δεσμούς.

Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών ενζύμων τις γλυκοσιδάσες τα οποία υδρολύουν εκλεκτικά είτε O- είτε N- δεσμευμένα σάκχαρα καθώς και με τη χρήση λιπασών που απομακρύνουν το λιποειδικό τμήμα του μορίου.

- Μετά την απομάκρυνση των άλλων βιομορίων, οι περισσότεροι πολυσακχαρίτες καθιζάνουν με την προσθήκη πολικών διαλυτών (αιθανόλης ή ακετόνης) και ψύξη

Μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού υδατανθράκων

Ζύγιση => μετά την παραλαβή απομακρύνεται ο διαλύτης και ζυγίζεται μέχρι σταθερού βάρους

Χημικοί προσδιορισμοί

■ Προσδιορισμός ανάγοντων σακχάρων

Ο προσδιορισμός των αναγόντων υδατανθράκων, δηλαδή αυτών που περιέχουν μια τελική αλδεΰδο-ομάδα περιλαμβάνει οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις χρησιμοποιώντας ως οξειδωτικά μέσα είτε Cu^{2+} , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Η πιο γνωστή μέθοδος είναι η μέθοδος του σιδηρικού κυανιούχου άλατος.

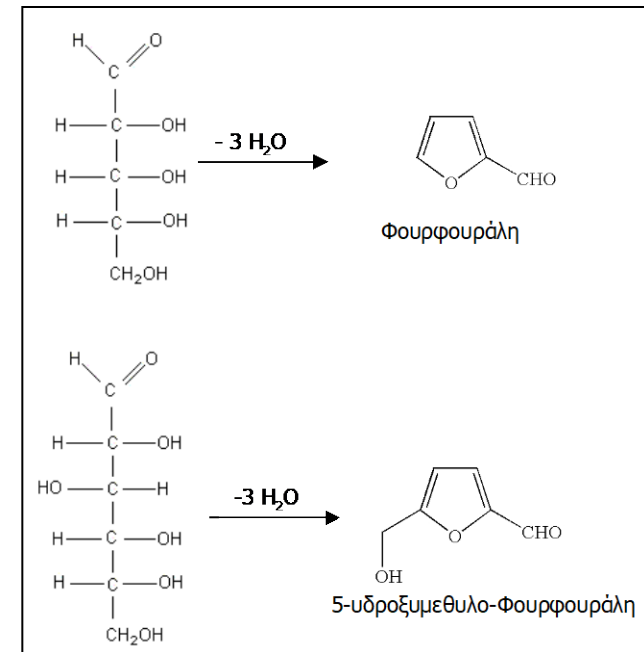
Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί αλκαλικό διάλυμα σιδηρι(III)κυανιούχου καλίου και μετράτε η απορρόφηση στα 237 nm η οποία είναι ανάλογη του σιδηρο(II) κυανιούχου που παράγεται και των σακχάρων που οξειδώθηκαν

Μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού υδατανθράκων

Χημικοί προσδιορισμοί

■ Προσδιορισμός ολικών σακχάρων

Τα ολικά σάκχαρα μπορούν να προσδιοριστούν (όπως αναφέρθηκε και στα λιποειδή) με προσθήκη πυκνού θειικού οξέος όπου οι εξόζες και οι πεντόζες σχηματίζουν ω-οξυμεθυλοφουρφουρόλη και μεθυλοφουρφουρόλη, αντίστοιχα, που με φαινόλη δίνουν έγχρωμη ένωση που απορροφά στα 490 nm

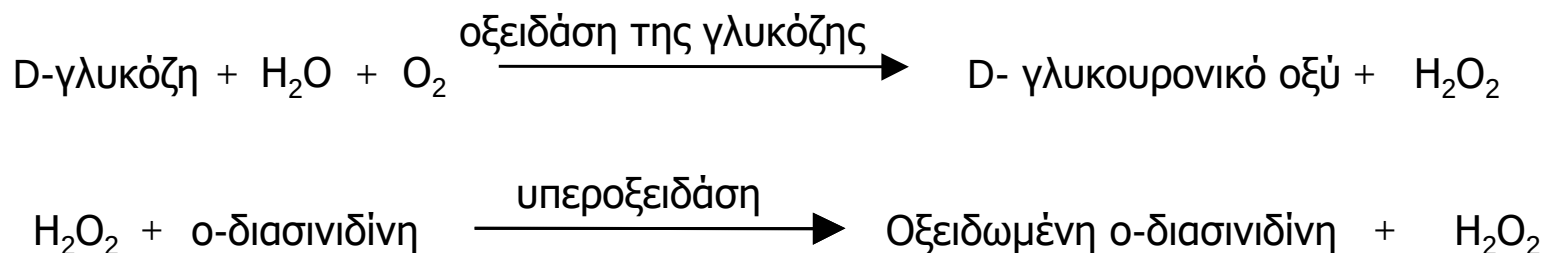


Μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού υδατανθράκων

Χημικοί προσδιορισμοί

Προσδιορισμός γλυκόζης

Ο προσδιορισμός της συγκεκριμένα της γλυκόζης μπορεί να γίνει με ενζυμικές μεθόδους. Οι κοινές είναι η μέθοδος της εξοκινάσης και η μέθοδος της οξειδάσης της γλυκόζης. Η μέθοδος περιλαμβάνει την οξείδωση της D-γλυκόζης με χρήση του ενζύμου οξειδάσης της γλυκόζης.



Τεχνικές Διαχωρισμού των υδατανθράκων

- Διαχωρισμός βάση της διαλυτότητας
- Χρωματογραφία

Τα μίγματα των υδατανθράκων μπορούν να διαχωριστούν με διάφορες τεχνικές χρωματογραφίας που βασίζονται είτε στο μέγεθος, είτε στο φορτίο τους είτε στη διαφορετική τους πολικότητα

Χρωματογραφία στήλης

Ιονανταλλαγής: Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται για τον διαχωρισμό υδατανθράκων που έχουν φορτίο.

Αποκλεισμού μεγεθών: Η τεχνική αυτή χωρίζει τους υδατάνθρακες με βάση του μεγέθους τους.

Χρωματογραφία συγγένειας: Η ύπαρξη ειδικών πρωτεϊνικών μορίων (λεκτίνες) που δεσμεύονται εκλεκτικά σε υδατάνθρακες κάνει δυνατό το διαχωρισμό των υδατανθράκων με χρωματογραφία συγγένειας.

Τεχνικές Διαχωρισμού των υδατανθράκων

- Χρωματογραφία

Επίπεδη χρωματογραφία

TLC

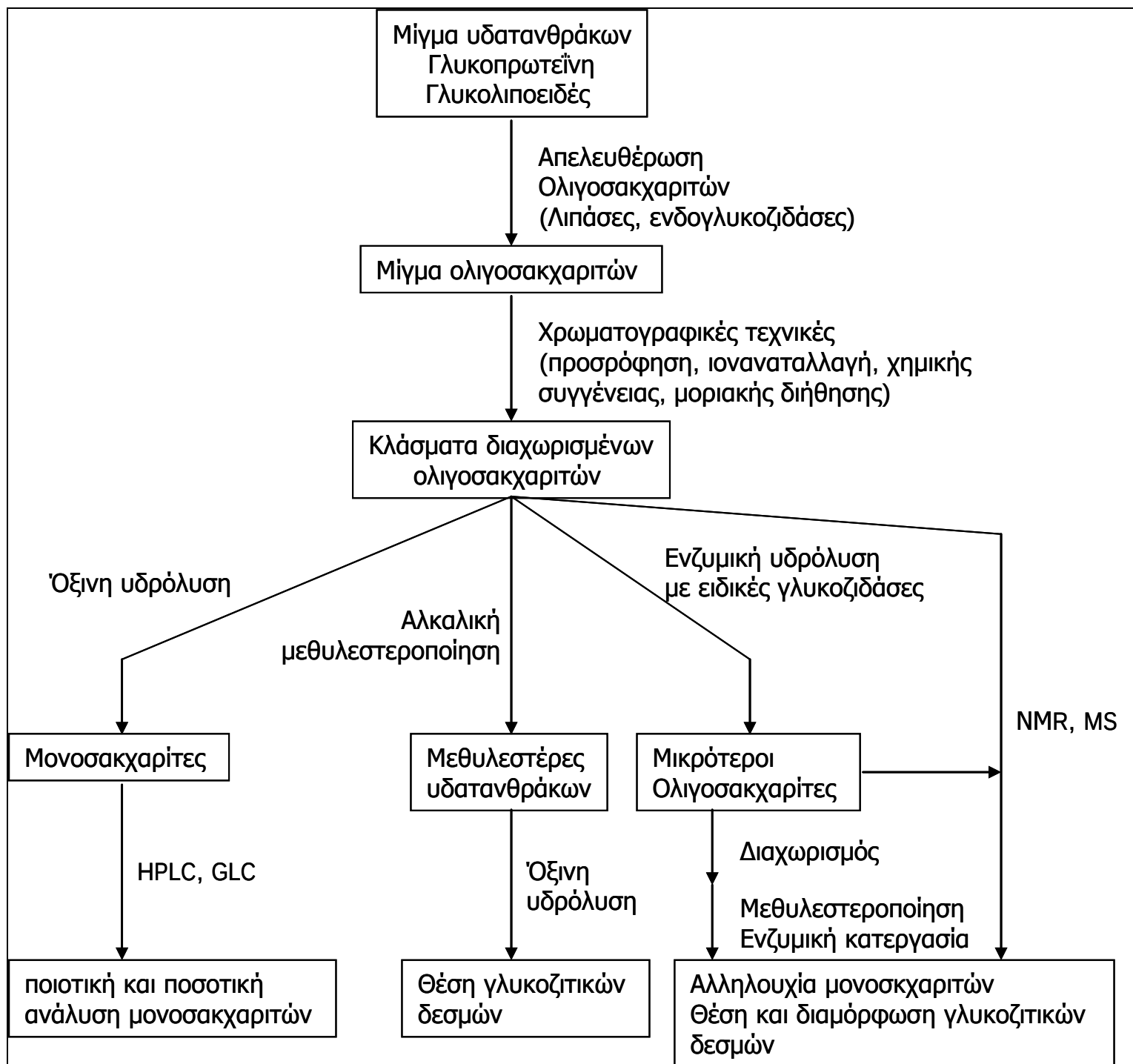
στατική φάση => silica gel.

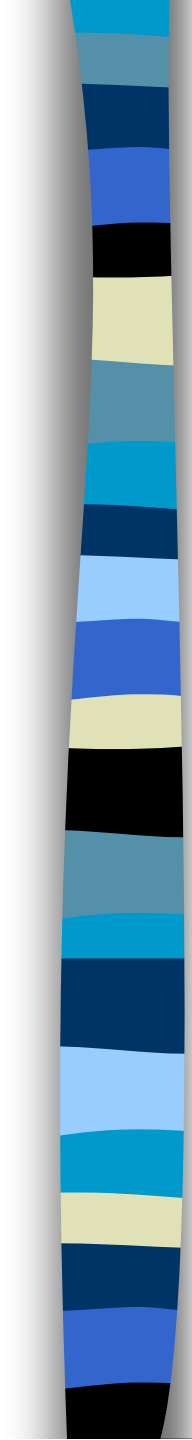
κινητή φάση => χρησιμοποιείται είναι μίγμα οργανικών διαλυτών ανάλογα με το είδος των υδατανθράκων που θέλουμε να διαχωρίσουμε.

n-βουτανόλη:οξικό οξύ:νερό 2:1:1 v/v/v μπορούν να διαχωριστούν οι μονο- από τους δι-σακχαρίτες,

Η απόσταση που θα διανύσει ένας υδατάνθρακας εξαρτάται από τον αριθμό των μονοσακχαρικών μονάδων με τα μικρότερα μόρια να διανύουν μεγαλύτερη απόσταση.

Η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται με ψεκασμό με ειδικά αντιδραστήρια τα οποία δίνουν χαρακτηριστικό χρώμα τα οποία μπορεί να έχουν εξειδίκευση για συγκεκριμένη κατηγορία υδατανθράκων.

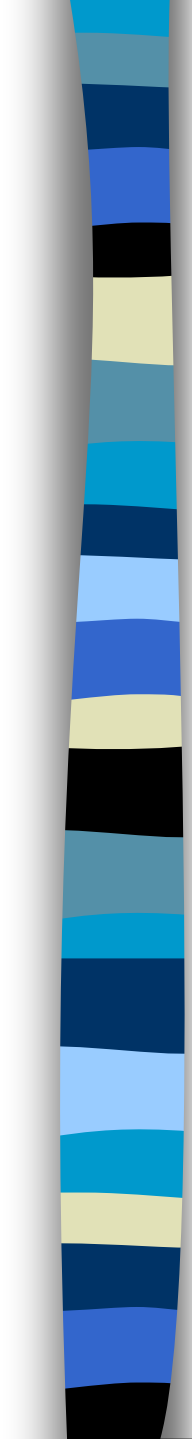




Ανάλυση Υδατανθράκων εργαστηριακές ασκήσεις 11 & 12

Σκοπός των εργαστηριακών ασκήσεων είναι η ανάλυση υδατανθράκων.

- Για αυτό το λόγο θα πραγματοποιηθεί υδρόλυση δισακχαριτών με ενζυμικό και χημικό τρόπο (Εργ.Ασκ.11).
- Τα προϊόντα υδρόλυσης θα μελετηθούν TLC με (Εργ.Ασκ.12).



Εργαστηριακή άσκηση 11

Ενζυμική και χημική υδρόλυση υδατανθράκων

Στην συγκεκριμένη άσκηση θα πραγματοποιηθεί υδρόλυση πρότυπων ενώσεων υδατανθράκων με ενζυμικό και χημικό τρόπο.

- Η ενζυμική υδρόλυση θα πραγματοποιηθεί με το ένζυμο α-γλυκοζιδάση (Θέρμανση 37°C, 20 min) το οποίο υδρολύει εκλεκτικά α(1→4) γλυκοζιτικούς δεσμούς μεταξύ μορίων γλυκόζης.
- Η χημική υδρόλυση θα πραγματοποιηθεί σε όξινο περιβάλλον (Διάλυμα HCl 0,5M) με θέρμανση (100°C, 30 λεπτά) και έχει ως αποτέλεσμα τη μη εκλεκτική υδρόλυση όλων των γλυκοζιτικών δεσμών των μορίων.

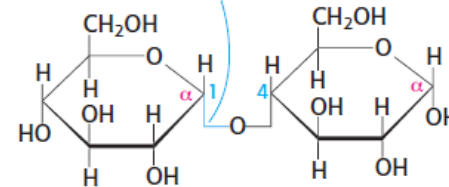
Ενζυμική και χημική υδρόλυση υδατανθράκων

	ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ α-γλυκοζιδάση	ΧΗΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ
Μαλτόζη 0,5%		
Λακτόζη 0,5%		
Κελλοβιόζη 0,5%		
Σουκρόζη 0,5%		

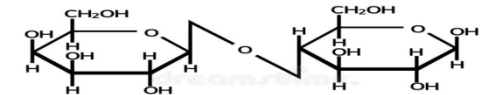
ΔΟΜΗ

Μαλτόζη 0,5%

Γλυκοζιτικός δεσμός α-1,4

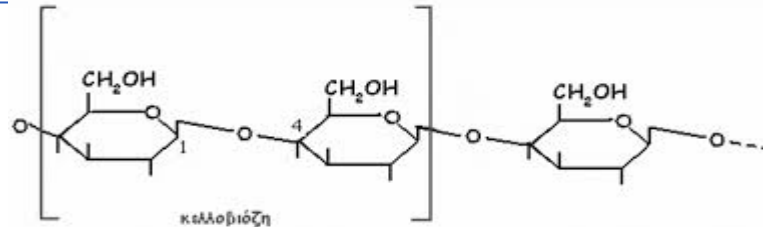


Λακτόζη 0,5%

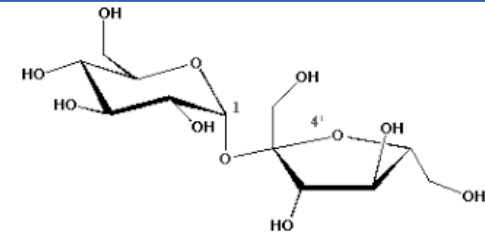


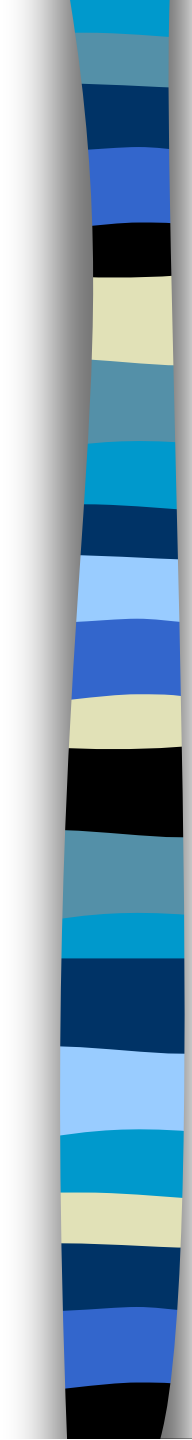
lactose

Κελλοβιόζη 0,5%



Σουκρόζη 0,5%



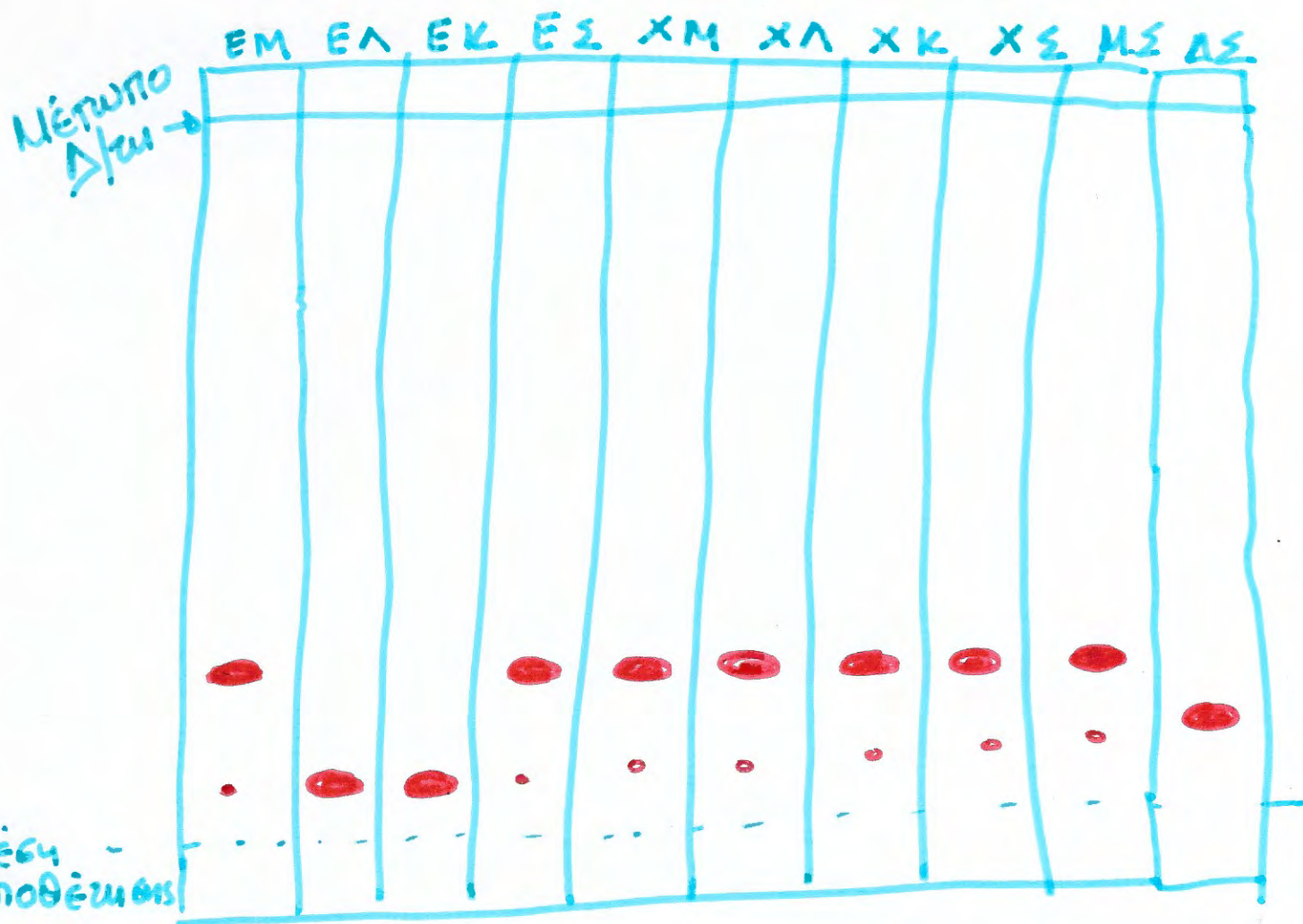


Εργαστηριακή άσκηση 12

Χρωματογραφικός διαχωρισμός υδατανθράκων

Σκοπός ο διαχωρισμός των προϊόντων υδρόλυσης των υδατανθράκων που προέκυψαν από την εργαστηριακή άσκηση 11 και η ταυτοποίηση της δομής τους με TLC και συγχρωματογράφιση με πρότυπα διαλύματα μονοσακχαριτών.

- Στατική φάση είναι πηκτή πυριτικού (silica gel)
- Σύστημα ανάπτυξης βουτανόλη:νερό:οξικό οξύ (2:1:1, v/v/v)



Ε: Ενυψική

Μ: Μαλτόζη

Λ: Λακτόζη

Κ: Κελλοβιόζη

Σ: Σακχρόζη

Χ: Χιψική

ΜΣ: Μονο-σακχαρίτης

ΔΣ: Δι-σακχαρίτης