



Προσδιορισμός υδατανθράκων

Ανάλυση Τροφίμων

Εισαγωγή

- ▶ Ως υδατάνθρακες νοείται ένα φάσμα ουσιών από απλά σάκχαρα ως σύνθετοι πολυσακχαρίτες.
- ▶ Χρησιμεύουν στον οργανισμό ως πηγή ενέργειας.
- ▶ Οι πιο σημαντικοί για την ανάλυση τροφίμων είναι:
 - A. Οι μονοσακχαρίτες: είναι ουσίες που δεν δύνανται να υδρολυθούν σε απλούστερες. Κύριοι εκπρόσωποι είναι η αραβινόζη, η ριβόζη, η ξυλόζη, η ραμνόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η γαλακτόζη, η μανόζη.
 - B. Οι ολιγοσακχαρίτες: είναι ουσίες που κατόπιν υδρόλυσης δίνουν 2-6 μόρια απλών σακχάρων. Κύριοι εκπρόσωποι είναι η σακχαρόζη, η μαλτόζη, η λακτόζη, η ραφινόζη.
 - C. Οι πολυσακχαρίτες: είναι ουσίες που κατόπιν υδρόλυσης δίνουν μεγάλο αριθμό απλών σακχάρων. Κύριοι εκπρόσωποι είναι το άμυλο, οι δεξτρίνες, το γλυκογόνο, η κυτταρίνη, οι πηκτινικές ουσίες και η ινουλίνη.

Μόνο- & ολίγο-σάκχαρα

- ▶ Εκχύλιση των σακχάρων από τα τρόφιμα
- ▶ Ανίχνευση σακχάρων
 - Η αντίδραση της ανθρόνης
 - Η αντίδραση Fehling
 - Η αντίδραση Benedict
 - Η αντίδραση της οξαζόνης
 - Η αντίδραση Barfoed
 - Η αντίδραση Molisch
 - TLC, HPLC, GC



Ποσοτικός προσδιορισμός μόνο-& ολιγο-σακχαριτών

- ▶ Αναγωγικές
- ▶ Διαθλασιμετρικές
- ▶ Πολωσιμετρικές
- ▶ Πυκνομετρικές
- ▶ Χρωματογραφικές
- ▶ Ηλεκτροφορητικές
- ▶ Χρωματομετρικές
- ▶ Βιοχημικές



Αναγωγικές μέθοδοι

- ▶ Μέθοδοι αναγωγής χαλκού
- ▶ Μέθοδοι αναγωγής αλκαλικού διαλύματος σιδηροκυανιούχων
- ▶ Ιωδομετρική μέθοδος προσδιορισμού αλδοξών (Kolthoff)
- ▶ Προσδιορισμός μη αναγόντων σακχάρων
- ▶ Προσδιορισμός γλυκόζης, φρουκτόζης και καλαμοσακχάρου σε μίγμα



Διαθλασιμετρικός προσδιορισμός σακχάρων

- ▶ Ο δείκτης διάθλασης ενός σακχαρούχου διαλύματος είναι συνάρτηση της ποσότητας του περιεχομένου σακχάρου.
- ▶ Ο προσδιορισμός μπορεί να γίνει με το διαθλασίμετρο Abbe και με εμβαπτιζόμενο διαθλασίμετρο.
- ▶ Η περιεκτικότητα σε σάκχαρο γίνεται από τον δείκτη διάθλασης με τη χρήση πινάκων.

Πολωσιμετρικός & Πυκνομετρικός προσδιορισμός σακχάρων

- ▶ Τα σάκχαρα είναι οπτικά ενεργές ενώσεις.
- ▶ Στο πολωσίμετρο μετριέται η γωνία στροφής του πολωμένου φωτός που προκαλεί το σακχαρούχο διάλυμα.
- ▶ Η πυκνότητα ή το ειδικό βάρος ενός διαλύματος σακχάρου είναι συνάρτηση της συγκέντρωσής του στο διάλυμα σε συγκεκριμένη θ.
- ▶ Ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους σακχαρούχου διαλύματος γίνεται με την χρήση αραιόμετρου (Brix, Baume).
- ▶ Πλεονεκτεί σε απλότητα και ταχύτητα αλλά μειονεκτεί σε ακρίβεια.
- ▶ Η σε σάκχαρο περιεκτικότητα ενός διαλύματος με βάση το ειδικό βάρος βρίσκεται με την βοήθεια πινάκων.

Χρωματογραφικές Μέθοδοι

- ▶ Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
- ▶ Χρωματογραφία ιοανταλλαγής
- ▶ Αέρια χρωματογραφία
- ▶ Πλεονεκτήματα της τελευταίας μεθόδου είναι οι πολύ μικρές ποσότητες σακχάρων που δύνανται να μετατραπούν σε αιθεροπαράγωγα και επιπλέον οι πολύ μικρές ποσότητες δειγμάτων που απαιτούνται για την ανάλυση.

Ηλεκτροφορητικές & χρωματομετρικές μέθοδοι

- ▶ Χρησιμοποιείται η τεχνική του χαρτιού ή της πηκτής.
- ▶ Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται κατόπιν παρασκευής των βορικών παραγώγων τους.
- ▶ Η μέθοδος πλεονεκτεί έναντι των χρωματογραφικών κατά το ότι τα μείγματα μπορούν να διαχωριστούν στα συστατικά τους.
- ▶ Από τις χρωματομετρικές μεθόδους η μέθοδος της φαινόλης παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον.
- ▶ Το σακχαρούχο διάλυμα κατεργάζεται με διάλυμα φαινόλης και θειικού οξέος. Κατόπιν ψύξης του προκύπτοντος διαλύματος, κίτρινο-πορτοκαλί χρώματος, μετρείται η απορρόφησή του στο $\lambda=490\text{nm}$.

Βιοχημικές μέθοδοι

- ▶ Διακρίνονται σε μικροβιολογικές και ενζυματικές μεθόδους ανάλυσης.
- ▶ Στις μικροβιολογικές επιλέγονται ειδικά στελέχη ζυμών τα οποία διαφοροποιούν τις πεντόζες από τις εξόζες.
- ▶ Στις ενζυματικές χρησιμοποιείται εκλεκτική ενζυματική οξείδωση των σακχάρων, πχ. Προσδιορισμός της γλυκόζης με εξοκινάση/γλυκοζο-6-φωσφο-δευδρογενάση, της γαλακτόζης με β-γαλακτο-δευδρογενάση, της λακτόζης με β-γαλακτοξειδάση, της μαλτόζης με α-γαλακτοξειδάση/εξοκινάση/γλυκοζο-6-φωσφο-δευδρογενάση.



Πολυσακχαρίτες

- ▶ Άμυλο
- ▶ Γλυκογόνο
- ▶ Δεξτρίνες
- ▶ Πηκτινικές ύλες
- ▶ Κυτταρίνη
- ▶ Ινουλίνη

Άμυλο...

- ▶ Μετά την κυτταρίνη είναι ο πιο διαδεδομένος πολυσακχαρίτης στο φυτικό βασίλειο.
- ▶ Απαντά στην μορφή κόκκων, το μέγεθος και το σχήμα των οποίων είναι χαρακτηριστικό κάθε φυτικού οργανισμού.
- ▶ Ολόκληροι οι κόκκοι του αμύλου είναι αδιάλυτοι σε ψυχρό ή ελαφρά θερμό νερό.
- ▶ Αυξανόμενη της θερμοκρασίας και της υγρασίας προκαλείται διόγκωση του αμύλου και σχηματισμός πηκτών.
- ▶ Το άμυλο αποτελείται αποκλειστικά από D-γλυκόζη, τα μόρια της οποίας συνενώνονται σε μορφή ευθείας αλυσίδας και σε μορφή διακλαδισμένης αλυσίδας.
- ▶ Τα δύο κλάσματα προκύπτουν από το άμυλο κατόπιν ζελατινοποίησης σε υψηλή θ και πίεση.
- ▶ Διαχωρίζονται μεταξύ τους με υπερφυγοκέντριση λόγω σημαντικής διαφοράς στο Μ.Β. τους.

Δεξτρίνες...

- ▶ Είναι προϊόντα θερμικής αποικοδόμησης του αμύλου. Είναι άμορφα σώματα, διαλυτά στο κρύο νερό που χρησιμοποιούνται σαν συγκολλητικές ουσίες.
- ▶ Μικρού Μ.Β. δεξτρίνες παράγονται από την επίδραση αμυλασών πάνω στο άμυλο.
- ▶ Ο ποιοτικός του προσδιορισμός στηρίζεται στον μπλε χρωματισμό που δίνει το σύμπλοκο αμύλου-ιωδίου. Στο σύμπλοκο συμμετέχει κυρίως η αμυλόζη.
- ▶ Ο ποσοτικός προσδιορισμός του στηρίζεται σε υδρολυτικές και μη-υδρολυτικές μεθόδους.

Υδρολυτικές μέθοδοι προσδιορισμού δεξτρινών

- ▶ Συνίστανται στην προσθήκη οξέος που υδρολύει πλήρως το άμυλο προς γλυκόζη, η οποία στην συνέχεια προσδιορίζεται με χημικές ή φυσικοχημικές μεθόδους.
- ▶ Η υδρόλυση με οξύ εισάγει σφάλματα στον προσδιορισμό λόγω ταυτόχρονης υδρόλυσης πολυσακχαρών αφενός και καταστροφής της προκύπτουσας δεξτρόζης από το οξύ αφετέρου.
- ▶ Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με χρήση συνδυασμού οξέος και ενζύμων, όπως η α-αμυλάση και η αμυλογλυκοξειδάση.

Μη-υδρολυτικές μέθοδοι προσδιορισμού δεξτρινών

- ▶ Συνίστανται στην χώνευση του αμύλου με 52% HClO_4 και διασπορά του σε κολλοειδές διάλυμα. Σε αυτό το διάλυμα, το άμυλο μπορεί να προσδιοριστεί σταθμικά, ογκομετρικά, πολωσιμετρικά ή χρωματομετρικά.
- ▶ Το άμυλο μπορεί επίσης να προσδιοριστεί με εκχύλιση με θερμό, πυκνό δοάλυμα CaCl_2 . Το άμυλο προσδιορίζεται σταθμικά, ογκομετρικά ή χρωματομετρικά.
- ▶ Γενικά σαν πρώτο στάδιο της ανάλυσης συνιστάται η απομάκρυνση των λιπιδίων, κατόπιν εκχύλισης με αιθέρα και των σακχάρων κατόπιν εκχύλισης με αλκοόλη.

Γλυκογόνο...

- ▶ Χρησιμεύει σαν αποταμιευτική ύλη στα ζώα. Δομικά μοιάζει με την αμυλοπηκτίνη του αμύλου με M.B. της τάξης των μερικών εκατομμυρίων.
- ▶ Για την απομόνωση του γλυκογόνου το τρόφιμο κατεργάζεται σε υψηλή θ με KOH , οπότε το γλυκογόνο καθιζάνει με την προσθήκη αλκοόλης.
- ▶ Το απομονωμένο γλυκογόνο προσδιορίζεται άμεσα με την μέθοδο της ανθρόνης ή έμμεσα με υδρόλυση και προσδιορισμό της περιεχόμενης γλυκόζης.

Πηκτινικές Ύλες

Παραλαβή και ανίχνευση πηκτινικών υλών

- ▶ Γίνεται με βάση τον βαθμό εστεροποίησής τους, που συνδέεται άμεσα με την διαλυτότητά τους. Αυξανόμενου του βαθμού εστεροποίησης, αυξάνει η διαλυτότητά τους.
- ▶ Για την ανίχνευση των πηκτινικών υλών χρησιμοποιούνται οι παρακάτω αντιδράσεις:
 1. Αντίδραση Ehrlich
 2. Αντίδραση υδροξαμικού οξέος

Ποσοτικός προσδιορισμός πηκτινικών υλών

- ▶ Εδώ χρησιμοποιούνται σταθμικές, χρωματομετρικές, πολωσιμετρικές, ογκομετρικές μέθοδοι.
- ▶ Στην σταθμική μέθοδο, το ίζημα μετατρέπεται σε πηκτινικό οξύ, το οποίο ζυγίζεται.
- ▶ Στην πολωσιμετρική μέθοδο, οι πηκτινικές ύλες προσδιορίζονται υπό τον όρο ότι είναι γνωστή η ειδική στροφή τους στο υπό εξέταση δείγμα.

Κυτταρίνη...

- ▶ Ο προσδιορισμός της κυτταρίνης είναι δύσκολος επειδή περιέχει μη καθορισμένα σε μέγεθος και σύσταση πολυμερή.
- ▶ Μέρος μόνο της κυτταρίνης διαλύεται σε αλκαλικό διάλυμα. Το αδιάλυτο κλάσμα ονομάζεται α-κυτταρίνη.
- ▶ Το κλάσμα του αλκαλικού εκχυλίσματος που καταβυθίζεται με οξίνιση ονομάζεται β-κυτταρίνη, ενώ το κλάσμα που παραμένει στο διάλυμα ονομάζεται γ-κυτταρίνη και περιέχει κυρίως ημικυτταρίνες.

Εφαρμογές...

Μέλι...

- ▶ Το προϊόν αυτό περιέχει μίγμα γλυκόζης/φρουκτόζης σε ποσοστό 70-80% και καλαμοσάκχαρο 4%. Όσο πιο ώριμο είναι το μέλι τόσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητά του σε ιμβερτοσάκχαρο (γλυκόζη + φρουκτόζη) και μικρότερη σε καλαμοσάκχαρο.
- ▶ Αρχικά προσδιορίζονται τα απευθείας ανάγοντα σάκχαρα (γλυκόζη + φρουκτόζη) με μία από τις μεθόδους Regenbogen ή Lane Eynon ή Schoorl.
- ▶ Σε άλλη ποσότητα προσδιορίζεται η γλυκόζη κατά Kolthoff, οπότε με αφαίρεση από το ποσό των απευθείας αναγόντων σακχάρων προκύπτει η ποσότητα της φρουκτόζης.
- ▶ Στη συνέχεια το δείγμα υποβάλλεται σε ιμβερτοποίηση (υδρόλυση), οπότε προσδιορίζονται τα συνολικά σάκχαρα.
- ▶ Τελικά, μετά από αφαίρεση των απευθείας αναγόντων σακχάρων από τα συνολικά σάκχαρα και πολλαπλασιασμό της διαφοράς επί 0,95 προκύπτει η ποσότητα του περιεχομένου καλαμοσακχάρου.

Αμυλοσιρόπι...

- ▶ Είναι το προϊόν υδρόλυσης του αμύλου, πυκνότερης υφής.
- ▶ Κύρια συστατικά του είναι η γλυκόζη (37%), οι δεξτρίνες (47%) και η μαλτόζη.
- ▶ Η ανάλυση των υδατανθράκων συνίσταται στον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων (γλυκόζη + μαλτόζη).
- ▶ Στην συνέχεια ακολουθεί προσδιορισμός των δεξτρινών.
- ▶ Η διαφορά μεταξύ συνολικά και απευθείας αναγόντων σακχάρων πολλαπλασιαζόμενο επί 0,9 δίνει το ποσό των περιεχόμενων δεξτρινών.