

2. POLYSACHARIDY

2.1 VYUŽITELNÉ POLYSACHARIDY

• ŠKROBY

amylóza - rozpustná ve studené vodě, nemazovatí
(čirý, málo viskózní roztok)

amylopektin - ve studené vodě nerozpustný,
záhřevem mazovatí

DŮKAZ

- mikroskopické vyšetření - identifikace druhu škrobu

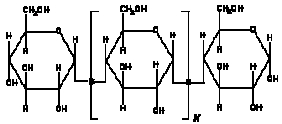


a₁ – bramborový
a₂ – kukuřičný
a₃ – pšeničný

- reakce s roztokem jodu v KI : **amylóza** - modré zbarvení,
amylopektin - fialové zbarvení

A. IZOLACE

- ◇ *extrakce amylozy a dextrinů horkou vodou (amylopektin mazovati)*
- ◇ *převedení na rozpustné formy pomocí zředěné HCl → vznik dextrinů*



DEXTRINY:
Poly- α -D-glucosidy střední délky řetězce vznikající ze škrobu hydrolyzou (kyselou či amylázou)

2. STANOVENÍ

analytické formy obecně:

➤ Škroby

- neporušený
- parciálně hydrolyzovaný (dextriny)
- totálně hydrolyzovaný (D-glukosa)

➤ Dextriny

- vlastní oligomery
- totálně hydrolyzované (D-glukosa)

1. FYZIKÁLNÍ METODY

A. Vážkové

Různé alternativy:

- vymytí (vypírání) vodou → filtrace suspenze → vysušení
- převedení na rozpustnou formu (směs dextrinů) parciální kyselou hydrolyzou → srážení z filtrátu 80 % ethanolom → vysušení
- metoda dle Fellenberga: převedení na rozpustnou formu roztokem CaCl_2 → srážení roztokem jodu → vymytí jodu ethanolom → vysušení
(vzorek musí být odtučněný!)

B. Densimetrické metody

hustota vzorku (např. hustota brambor),
→ přímá úměrnost obsahu škrobu (škrobnatosti)
☞ orientační stanovení

C. Polarimetrické metody

hydrolyza za definovaných podmínek
na dextriny → vyčiření, filtrace →
polarimetrie (! za podmínek metody
různá otáčivost podle typu škrobu)

Podmínky hydrolyzy škrobu pro polarimetrické stanovení

Metoda	Činidlo	Teplota °C	Čas min.	$[\alpha]_D^{20}$
Ewersova	HCl 0,422 % - bramborový 1,124 % - obilný	100	15	+ 182,7
Lintnerova- Belschnerova	HCl 25 %	20	30	+ 202



Metody vhodné pro běžné potravinářské suroviny a produkty

2. CHEMICKÉ METODY

A. Metody titrační

hydrolyza škrobu na D-glukosu → titrační stanovení - např.
jodometrie

B. Metody spektrofotometrické

hydrolyza na D-glukosu → stanovení např s anthronem
(reakce s 5-hydroxymethyl-2-furaldehydem)

• **GLYKOGEN**

rezervní polysacharid živočišných tkání (játra, svaly)
zákl. stavební jednotka: $\alpha(1 \rightarrow 4)$ D-glukopyranóza, více větvený než škrob

Izolace

extrakce vodou nebo trichloroctovou kyselinou

Důkaz

červené až červenohnědé zbarvení s roztokem jodu

Stanovení

nejčastěji po kyselé hydrolýze jako D-glukosa
→ **spektrofotometrické metody (anthron)**

• **INULIN**

polyfruktosany $\beta(1 \rightarrow 2)$ glykosidická vazba (asi 35 molekul)
- artičoky, topinambury

Důkaz

chromatografické metody k důkazu jednotlivých oligo- a polyfruktosanů (např. TLC)

Izolace

extrakce horkou vodou → srážení 80 % ethanolem z vodného extraktu

Stanovení

Vážkové

→ po srážení ethanolem

Titrační

→ po hydrolýze na D-fruktosu

Spektrofotometrické

→ po hydrolýze a vzniku 5-hydroxymethyl-2-furaldehydu

Chromatografické

- TLC, densitometrické stanovení "in situ"
- HPLC metody

2.2 NEVYUŽITELNÉ POLYSACHARIDY

⇒ komplex polymerů rezistentních enzymům v trávicím traktu člověka

<i>složka vlákniny</i>	<i>charakteristika</i>
PEKTINOVÉ LÁTKY	heteropolysacharidy, hlavní složka polygalakturonová kyselina - extrahovatelné horkou vodou nebo chelatačními roztoky s Ca^{2+} → rozpustná složka vlákniny
HEMICELULÓZY	komplexní směs polysacharidů buněčných stěn zvláště extrahovatelných pentosanů (po odstranění pektinu): <ul style="list-style-type: none">♦ polymerní forma - alkalicky, např. 10% NaOH♦ hydrolyzovaná forma - kyselá např. 1M H_2SO_4 při 100°C → nerozpustná složka vlákniny

CELULÓZA	hlavní strukturální polysacharidy rostlin zbývající po odstranění pektinů a hemicelulóz <ul style="list-style-type: none">♦ nerozpustné v silných alkáliích,♦ rozpustné v 72% H_2SO_4 při 20°C
LIGNIN	makromolekuly z kondenzovaných fenolických alkoholů zbývající po extrakci 72% H_2SO_4
REZISTENTNÍ ŠKROB	forma rezistentní působení α -amylázy (v cereáliích, luštěninách) - typ potraviny/granule, nebo důsledek zpracování suroviny - retrogradace

Ostatní látky potenciálně navyšující nálezy vlákniny:

- * **rozpustné:** gummy (rostlinné, z řas či bakteriální)
- * **nerozpustné :** produkty Maillardových reakcí
složky kutikuly - komplexní vosky
modifikované polysacharidy

STANOVENÍ VLÁKNINY - obecný postup

<i>analytický krok</i>	<i>technika, činidla</i>
• příprava sušení, dezintegrace	v sušárně, lyofilizace, sonikace, mletí, vlhká homogenizace
↓	
• předextrakce - odstranění tuku a pigmentů	-, aceton , chloroform, diethylether, ethanol (90, 80%), petrolether....
↓	
• rozklad (digesce) - rozpuštění škrobu a ost. "nevlákninových" složek	horké či studené alkálie, horké kyseliny, kyselý či neutrální detergent, močovina, studená voda, DMSO, puřry, amylázy, amyloglukozidázy, proteázy, směsné hydrolázy
↓	

↓	
• separace - oddělení z digestátu	precipitace, dialýza, filtrace, centrifugace, ultrafiltrace
↓	
• vlastní stanovení vlákniny	přímé vážení, ztráta váhy po zpopelnění, odečtení váhy vzorku po stanovení ostatních komponent, GLC/kolorimetrie, HPLC

☞ nesmí dojít ke vzniku artefaktů - např. via Maillardovy reakce



Vláknina, hrubá vláknina, vláknina potravy

Přehled izolačních postupů nevyužitelných polysacharidů

• METODY CHEMICKÉ

A. Metody hydrolytické

Vzorek se hydrolyzuje kyselinou nebo kyselinou a hydroxidem, nerozpustný zbytek se izoluje a stanoví vážkově

Klasické metody

Hydrolyza	Stanovená látka	Podle
H ₂ SO ₄	Celulosa, lignin	König, Wergenthalen
H ₂ SO ₄ /NaOH	Hemicelulosa, celulosa, lignin	Henneberg-Stohmann
H ₂ SO ₄ dvoustupňově	Hemicelulosa, celulosa, lignin	Harwood

Metody hydrolytické za použití saponátů

Za přítomnosti saponátů solubilizace bílkovin a jiných polymerů, poté hydrolyza za mírnějších podmínek (zředěné roztoky H₂SO₄, neutrální roztoky)

B. Metody oxidační

Vzorek se hydrolyzuje HNO₃ (event. i směsí s jinými kyselinami), oxidační degradace ligninu a stanoví se pouze celulosa a hemicelulosa
(Degradaci ligninu lze provést i chlorem, siřičitany apod.)

C. Enzymové metody

Vzorek se hydrolyzuje amylolytickými a proteolytickými enzymy (často v kombinaci s kyselou hydrolyzou), vysuší a zváží

Vztah mezi vlákninou a analytickými metodami

	Definice vlákniny	Analytický cíl
A	zbytek po extrakci rostlinných produktů rozpouštědlem, zředěnou kyselinou a zředěným louhem	empirický ukazatel nevyživového podílu potravin a krmiv
B	nerozpustný organický podíl, netravitelný živočišnými enzymy	empirický ukazatel nevyživového podílu potravin a krmiv
C	zbytek rostlinných buněk rezistentní hydrolyze alimentárními enzymy člověka	ukazatel netravitelných složek potravin (zvl. polysacharidy a lignin) rezistentních působení specifických enzymů
D	suma ligninu a rostlinných polysacharidů netravitelných sekretem lidského trávicího traktu	ukazatel netravitelných polysacharidů a ligninu, rezistentních působení specifických enzymů
E	polysacharidy jiné než škrob	ukazatel neškrobových polysacharidů jako index podílu stěn rostlinných buněk v potravinách

PEKTINOVÉ LÁTKY

• Gravimetrické metody

extrakce vzorku za tepla (často s přidávkou chelatačních činidel pro uvolnění pektinových látek přítomných ve formě vápenatých solí) ⇒ srážení pektinů roztokem ethanolu nebo CaCl_2 (pektan vápenatý) ⇒ vysušení a zvážení

HEMICELULOZY

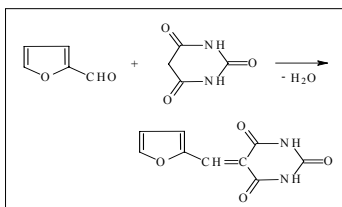
➤ hydrolyza přítomných pentozanů (zvl. arabanů a xylanů) pomocí HCl ($\approx 12\%$) za vzniku 2-furaldehydu a jeho následné stanovení

♣ tvorba 2-furaldehydu neprobíhá stechiometricky, velmi záleží na podmínkách destilace, různé výtěžnosti podle druhu polysacharidu

Metody vážkové

stanovení produktu reakce 2-furaldehydu s:

- floroglucinolem
- thiobarbiturovou kyselinou
- barbiturovou kyselinou

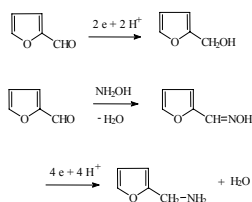


Metody spektrofotometrické

měření absorbance produktu reakce 2-furaldehydu s chromoforem: benzidinem, orcinolem aj.

Metody elektrochemické

stanovení 2-furaldehydu přímo po převedení na oxim



• LIGNIN

hydrolýza vzorku resp. přítomných bílkovin a sacharidů
72 % hm. H_2SO_4 , případně oxidace těchto látek $KMnO_4$,
 \Rightarrow vysušení zbytku, zvážení
