

I.1. DOZAREA GLUCIDELOR SOLUBILE

În plante, pe lângă principalele poliglucide (amidon și celuloză) se găsesc cantități apreciabile de oligoglucide (zaharoză, maltoză, celobioză, lactoză, rafinoză etc.) și monoglucide (D-glucoză, D-fructoză, D-manoză, D-galactoză, D-pentoze). Atât oligoglucidele cât și monoglucidele sunt ușor solubile în apă și alcooli inferiori.

Puterea reducătoare a grupei carbonilice din molecula monoglucidelor și oligoglucidelor reducătoare stă la baza metodelor de dozare a acestora în organismele animale și vegetale.

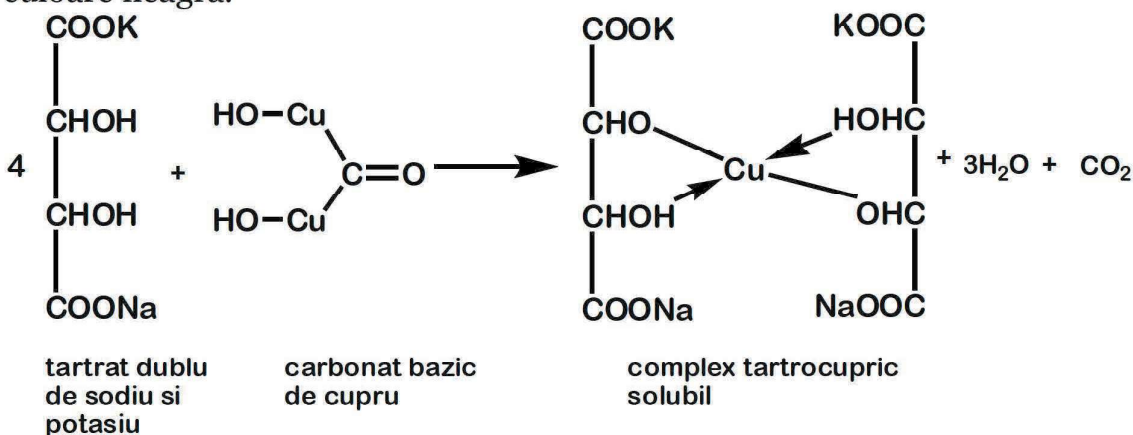
I.1.1. DOZAREA MONOGLUCIDELOR ȘI OLIGOGLUCIDELOR REDUCĂTOARE ÎN PLANTE

Principiul metodei. Pentru dozarea glucidelor solubile reducătoare se folosește un reactiv format din sulfat de cupru și tartrat dublu de sodiu și potasiu (*sare Seignette*) în mediu alcalin. Prin amestecarea sulfatului de cupru cu carbonatul de sodiu are loc reacția:



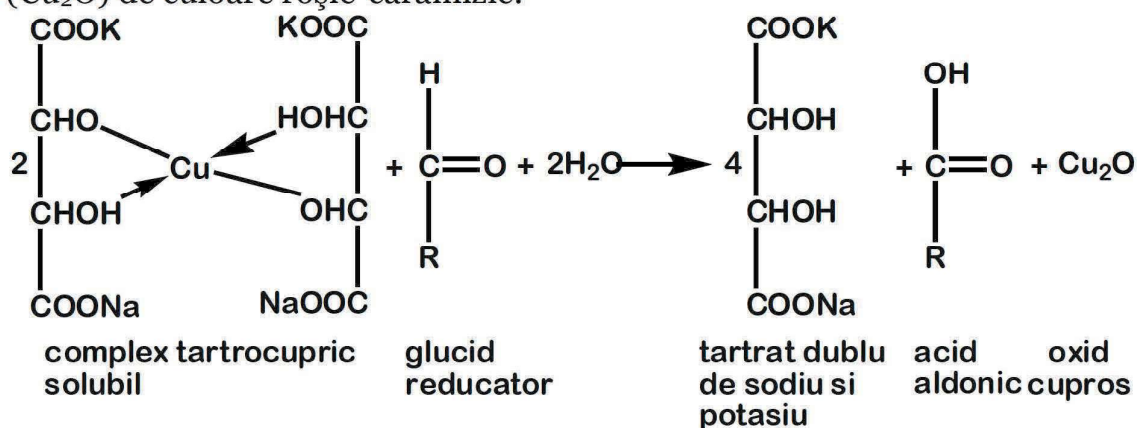
sulfat de cupru carbonat de sodiu carbonat bazic de cupru bisulfat de sodiu

Tartratul dublu de sodiu și potasiu (*sare Seignette*) prezent în amestec facilitează formarea complexului tartro-cupric solubil, împiedicându-se astfel formarea oxidului de cupru (CuO) insolubil, de culoare neagră.



Monoglucidele și oligoglucidele reducătoare (cu legătură monocarbonilică: maltoza, celobioza, lactoza) reduc cuprul din complexul

tartro-cupric solubil, la cald, cu formarea unui precipitat de oxid cupros (Cu_2O) de culoare roșie-cărămizie:



După cantitatea de Cu_2O format (care este direct proporțională cu cantitatea de glucide reducătoare) se poate aprecia conținutul de glucide în proba de analizat.

Cantitatea de oxid cupros format se determină iodometric. Pentru aceasta oxidul de cupru (I) format se dizolvă într-o soluție de acid clorhidric (HCl) și apoi se oxidează cu un exces de soluție titrată de iod. Prin dizolvarea oxidului de cupru (I) în HCl se obține un complex incolor ($\text{H}[\text{CuCl}_2]$), respectiv sarca sa de sodiu dacă se ia în considerare prezența în mediul de reacție a ionilor Na^+ .



Complexul astfel obținut nu este stabil, descompunându-se în prezența iodului după ecuația:



Iodul care nu a reacționat este titrat cu tiosulfat de sodiu în prezența amidonului ca indicator:



Din volumul de soluție de iod consumată pentru oxidarea oxidului cupros se poate calcula, ținând seama de ecuațiile de mai sus, cantitatea de oxid de cupru (I), respectiv conținutul de glucide reducătoare din proba de analizat.

Reactivi. 1) *Soluție de sulfat de cupru cu tartrat dublu de sodiu și potasiu în mediu alcalin.* Se dizolvă 5 g de sulfat de cupru cristalizat, 300 g sare Seignette și 10 g carbonat de sodiu anhidru în 900 ml apă distilată la rece. Amestecul se încălzește apoi timp de 2 ore pe baie de apă la fierbere, se răcește, se trece într-un balon cotat de 1000 ml și se completează la semn cu apă distilată.

2) *Soluție de tiosulfat de sodiu 0,0323 N.* Se dizolvă o cantitate de 8 g tiosulfat de sodiu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) în 1000 ml de apă distilată, în prealabil fiartă și răcită, pentru îndepărtarea CO_2 . După trecerea a 2 - 3 zile, se stabilește factorul soluției de tiosulfat de sodiu cu ajutorul unei soluții de dicromat de potasiu N/25. La 1 ml de soluție de tiosulfat de sodiu EXACT 0,0323 N corespunde 1 mg de glucoză.

3) *Soluție de iod 0,0323 N.* Se dizolvă 4,1 g iod metalic și 20 g iodură de potasiu (KI) în 25 - 50 ml apă distilată. După dizolvarea completă a reactivilor, volumul soluției se aduce la 1000 ml cu apă distilată.

4) *Soluție de amidon 1%.* Se suspendă 1 g de amidon în 10 ml apă distilată rece, apoi suspensia obținută se adaugă la 90 ml apă distilată în fierbere. Se fierbe timp de 2 minute, soluția se răcește și se completează volumul la 100 ml cu apă distilată. Pentru conservare, în soluția de amidon se dizolvă clorură de sodiu (NaCl) până la saturare.

5) *Soluție de HCl 0,8913 N.* Se diluează 82 ml de HCl concentrat ($d=1,19$ g/ml) cu apă distilată până la volumul de 1000 ml.

6) *Soluție de acetat bazic de plumb.* 60 g acetat de plumb se mojarază cu 20 g PbO (litargă). Amestecul se încălzește într-o capsulă de porțelan acoperită cu o sticlă de ceas pe baia de apă la fierbere până masa capătă o culoare alb-roz. Se adaugă 200 ml de apă distilată fierbinte, trecându-se cantitativ într-un balon cotat de 250 ml. Se lasă să se răcească, se completează la semn cu apă distilată, se lasă în repaus 10 - 12 ore, apoi se filtrează în flacoane brune, închise ermetic, deoarece în contact cu aerul soluția se tulbură.

7) *Soluție saturată de sulfat de sodiu.*

8) *Pudră de talc.*

Modul de lucru. Dozarea monoglucidelor și diglucidelor reducătoare (maltoză, celobioză etc.) în plante cuprinde 3 operații:

a) extragerea glucidelor din țesutul vegetal cu ajutorul apei;

b) purificarea extractului obținut

c) dozarea glucidelor reducătoare în extractul purificat (defecat) obținut.

A) *PREPARAREA EXTRACTULUI VEGETAL.* O cantitate de 5 - 25 g (în funcție de conținutul presupus de glucide reducătoare) de material vegetal uniform omogenizat prin mojarare sau măcinare se introduce într-un flacon conic de 150 - 200 ml cu ajutorul a 70 - 80 ml de apă distilată încălzită la 85 - 90°C. Flaconul se cufundă într-o baie de apă până la nivelul conținutului și se încălzește la 75 - 80°C timp de 60 de minute, agitând cu o baghetă de sticlă din timp în timp. Extractul este apoi filtrat prin decantare într-un balon cotat de 100 ml, spălând cantitativ, de mai multe ori, cu câte 5 - 10 ml de apă distilată fierbinte, atât materialul vegetal din flacon cât și filtrul.

B) *PURIFICAREA (DEFECAREA) EXTRACTULUI VEGETAL.* În extractul obținut vor exista întotdeauna unele substanțe neglucidice reducătoare (proteine), poliglucide etc. De aceea devine necesară defecarea extractelor glucidice în vederea purificării lor. În acest scop, la filtratul fierbinte din balonul cotat se adaugă 1 - 5 ml de soluție de acetat bazic de plumb (reactiv 6) și se agită energic. Se lasă în repaus pentru sedimentarea precipitatului format. După 10 - 15 minute se controlează dacă defecarea extractului este completă adăugându-se la extractul clar câteva picături de acetat bazic de plumb. Dacă soluția nu devine opalescentă, defecarea este

completă. În caz contrar se mai adaugă amestecului un volum de soluție de acetat bazic de plumb. Conținutul balonului cotate se răcește și se completează la semn cu apă distilată. Se lasă apoi pentru sedimentarea cât mai completă a precipitatului după care se filtrează într-un pahar uscat.

Un volum de 50 ml de filtrat se trece într-un balon cotate de 100 ml și se adaugă 3 - 5 ml de soluție saturată de sulfat de sodiu (reactiv 7) pentru îndepărtarea excesului de acetat bazic de plumb. Conținutul balonului se completează la semn cu apă distilată și se agită. După depunerea precipitatului, soluția se filtrează din nou pe hârtie de filtru cantitativă (pentru precipitate fine) sau se centrifughează. În filtratul obținut pe această cale se vor doza glucidele reducătoare.

C) DOZAREA GLUCIDELOR REDUCĂTOARE ÎN EXTRACTUL VEGETAL DEFECAT ȘI PURIFICAT. Într-un flacon conic de 300 ml se măsoară cu o pipetă 1 - 20 ml filtrat defecat și se completează până la 25 ml cu apă distilată. Se adaugă 50 ml soluție de complex tartro-cupric (reactiv 1) și un vârf de spatulă de pulbere de talc sau piatră ponce. Conținutul flaconului se aduce la fierbere pe o sită de azbest. Apoi se fierbe moderat, la flacăra mică, timp de 5 minute. După fierbere, fără agitare, flaconul se răcește într-o baie de apă.

În flacon se introduc apoi 15 ml soluție de HCl 0,8913 N (reactiv 5) și imediat (în caz contrar oxidul cupros care trece în soluție se poate oxida cu oxigenul din aer) se adaugă din biuretă 20 ml soluție de iod 0,0323 N (reactiv 3). Conținutul flaconului se agită cu atenție, prin rotire și se lasă în repaus 2 minute. Apoi se titrează cu soluție de tiosulfat de sodiu 0,0323 N (reactiv 2) până la culoarea galben-închis. Se adaugă câteva picături de soluție de amidon 1% (reactiv 4) și se continuă titrarea până la dispariția colorației indicatorului (conținutul flaconului va avea o tentă bleu-pal). Se va nota numărul de ml de soluție de tiosulfat de sodiu 0,0323 N consumați.

Paralel cu proba de analizat se execută un control în care extractul glucidic este înlocuit cu un volum echivalent de apă distilată.

OBSERVAȚIE. După fierbere soluția din flacon trebuie să fie colorată în albastru. Dacă culoarea este galbenă înseamnă că extractul vegetal are o concentrație prea mare de glucide reducătoare. În acest caz se va repeta determinarea diluându-se corespunzător extractul glucidic defecat.

Calculul rezultatelor. Cantitatea glucidelor reducătoare exprimată în grame de glucoză la 100 g de material vegetal proaspăt se calculează după formula:

$$X = \frac{(n_1 - n_2) \cdot F \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{a.v. \cdot 50 \cdot 1000} = \frac{(n_1 - n_2) \cdot F \cdot 20}{a.v.}, \text{ în care:}$$

n_1 - ml soluție de tiosulfat consumați la titrarea controlului;

n_2 - ml soluție de tiosulfat consumați la titrarea probei de analizat;

F - factorul soluției de tiosulfat de sodiu aflat prin titrare cu soluție de dicromat de potasiu N/25;

v - volumul de filtrat luat pentru determinarea glucidelor
reducătoare, în ml;
a – greutatea materialului vegetal, în grame.