Методы углеводной химии

Метод Нельсона
(Определение восстанавливающих сахаров)

Проведение анализа

0,5 мл исслед. р-ра + 0,5 мл Нельсон (А+В) $\xrightarrow[\text{кипящ. водяная баня}]{15\text{-}20'}$ охладить + 0,5 мл Нельсон С $\longrightarrow$

$\longrightarrow$ встряхнуть + 3,5 мл H_2O $\longrightarrow$ $ОП_{750}$*

* - оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при 750 нм относительно контроля:

$К_1$ = **0,5 мл H_2O** + 0,5 мл Нельсон (А+В) $\xrightarrow{15\text{-}20'\ \text{вод. баня}}$ + 0,5 мл Нельсон С + 3,5 мл H_2O → $ОП_{750}$

Если исследуемый раствор окрашен, то необходимо поставить контроль этого р-ра:

$К_2$ = 0,5 мл исслед. р-ра + **4,5 мл H_2O** → $ОП_{750}$

Количество вост. сахаров определяют по калибровочной кривой

Приготовление реактивов

<u>Реактив А</u>

25 г – Na_2CO_3 (б/в)
25 г – калий натрий виннокислый (сегнетова соль) $KNaC_4H_4O_6 \bullet 4H_2O$
20 г – $NaHCO_3$
20 г – Na_2SO_4 (б/в)

} растворить в 800 мл H_2O довести до **1 л** в мерной колбе отфильтровать

<u>Реактив В</u>

на 100 мл:

к 15% р-ору сульфата меди (15 г $CuSO_4 \bullet 5H_2O$ растворить в 60 мл H_2O и довести до 100 мл водой в мерной колбе) добавить 1 каплю конц. H_2SO_4

<u>Реактив С</u>

33 г аммония молибденовокислого $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \bullet H_2O]$ растворить в 800 мл H_2O +
42 мл конц. H_2SO_4 → размешать и при перемешивании +
50 мл р-ра мышьяка (9,4 г Na_2AsO_4 в 50 мл H_2O), довести до **1 л** в мерной колбе водой и поместить в термостат на 48 час при 37°С. Готовый раствор должен быть желтого цвета.

Если раствор позеленел, то: 1) к-та H_2SO_4 плохого качества;
2) не та соль мышьяка (проверить формулу).

Раствор хранить в темной склянке.

<u>Нельсон (А+В)</u>

Реактив А + Реактив В = **25 : 1** (т.е. к 25 мл реактива А добавить 1 мл реактива В)

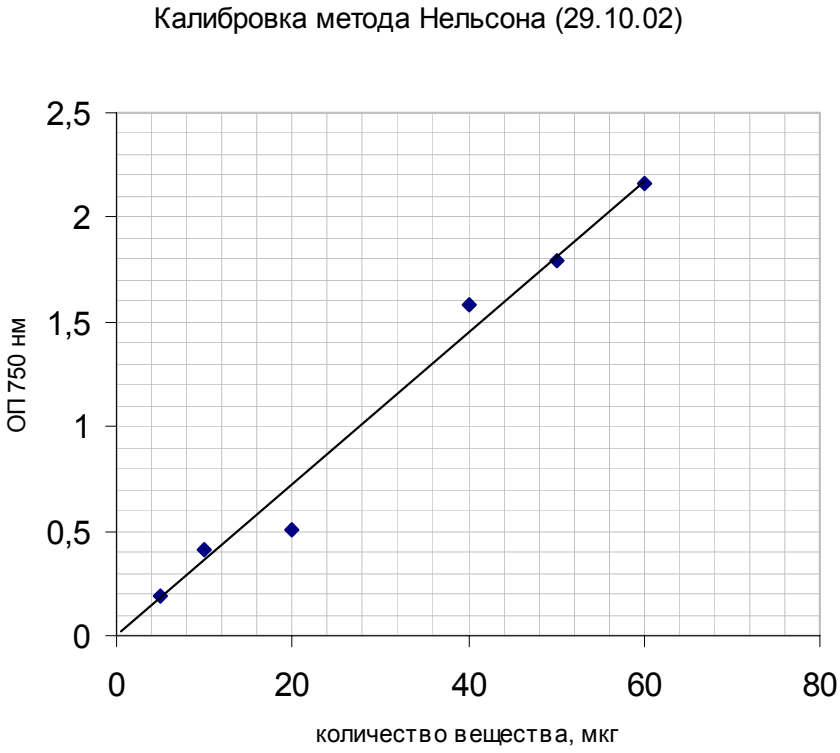
Калибровка

Калибровочную кривую строят по раствору глюкозы.

Стандартный р-р глюкозы 1 мг/мл готовят в мерной колбе: 100 мг глюкозы растворить в 50 мл H_2O и довести водой до метки (до 100 мл). Далее методом разбавления получить растворы разной концентрации:

1 мл стандартного р-ра довести до 100 мл → С % = 10 мкг/мл
1 мл стандартного р-ра довести до 50 мл → С % = 20 мкг/мл
1 мл стандартного р-ра довести до 25 мл → С % = 40 мкг/мл
2 мл стандартного р-ра довести до 25 мл → С % = 80 мкг/мл
2,5 мл стандартного р-ра довести до 25 мл → С % = 100 мкг/мл
3 мл стандартного р-ра довести до 25 мл → С % = 120 мкг/мл

Конц. р-ра, мкг/мл	Кол-во в-ва, мкг	$ОП_{750}$	
		парал-лели	ср. знач.
1000	500	>3	
10	5	0,184 0,188	0,186
20	10	0,41 0,412	0,411
40	20	- 0,507	0,507
80	40	1,606 1,55	1,578
100	50	0,904*2 0,891*2	1,795
120	60	- 1,080*2	2,16



Для каждого вновь приготовленного реактива строится новый калибровочный график