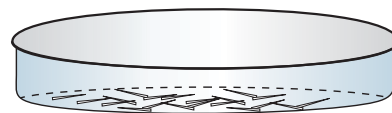


एकक-11

कार्बोहाइड्रेट, प्रोटीन और वसा का परीक्षण



प्रयोग 11.1

उद्देश्य

कार्बोहाइड्रेट, वसा और प्रोटीन के अभिलक्षणों का शुद्ध अवस्था में अध्ययन और उनकी खाद्य पदार्थों में उपस्थिति का पता लगाना।

I. कार्बोहाइड्रेट, वसा और प्रोटीन के शुद्ध अवस्था में परीक्षण

(क) कार्बोहाइड्रेट के परीक्षण

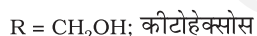
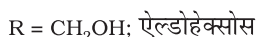
कार्बोहाइड्रेट, ध्रुवण घूर्णक पॉलिहाइड्रॉक्सी ऐल्डिहाइड, पॉलिहाइड्रॉक्सी कीटोन अथवा वे यौगिक होते हैं जो जल अपघटन उत्पाद में ये इकाइयाँ देते हैं। स्टार्च, सेलुलोस और शर्करा, कार्बोहाइड्रेटों के जाने पहचाने उदाहरण हैं। कार्बोहाइड्रेटों को उनके जल अपघटन से प्राप्त पॉलिहाइड्रॉक्सी ऐल्डिहाइड अथवा कीटोन इकाइयों की संख्या के आधार पर वर्गीकृत किया जाता है। तीन प्रमुख वर्ग निम्नलिखित हैं -

- मोनोसैकैराइड** - इन्हें और अधिक पॉलिहाइड्रॉक्सी ऐल्डिहाइड एवं कीटोन इकाइयों में जलअपघटित नहीं किया जा सकता।
- ओलिगोसैकैराइड** - यह जल अपघटन से 2-10 मोनोसैकैराइड इकाइयाँ देते हैं। इनमें सामान्यतः डाइसैकैराइड होते हैं, जो दो मोनोसैकैराइड इकाइयाँ उत्पन्न करते हैं।
- पॉलिसैकैराइड** - यह जल अपघटन से अत्यधिक संख्या में मोनोसैकैराइड इकाइयाँ देते हैं।

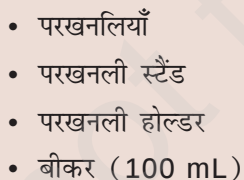
मोनोसैकैराइडों को कार्बन परमाणुओं की संख्या और उपस्थित प्रकार्यात्मक समूह के प्रकार के आधार पर और अधिक वर्गों में बाँटा गया है। यदि मोनोसैकैराइड में ऐल्डिहाइड समूह होता है तो इसे **ऐल्डोस** कहते हैं और यदि कीटोन ग्रुप होता है तो **कीटोस**। सभी वर्गों के कार्बोहाइड्रेट मोलिश परीक्षण देते हैं। जो कार्बोहाइड्रेट स्वाद में मीठे होते हैं वे शर्करा कहलाते हैं। ग्लूकोस, फ्रक्टोज (फलों की शर्करा) और सूक्रोस (चीनी), शर्करा के उदाहरण हैं। शर्कराओं को दो वर्गों में बाँटा गया है - अपचायी शर्करा और अपचयन न करने वाली शर्करा। शर्करा की अपचायी प्रकृति का परीक्षण फेलिंग परीक्षण, बेनेडिक्ट परीक्षण और टॉलेन परीक्षण नामक तीन परीक्षणों से किया जाता है।

अलग-अलग बीकरों में ग्लूकोस, फ्रक्टोज और सूक्रोस का 1% विलयन बनाएं और प्रत्येक को क, ख, ग, घ इत्यादि नामांकित परखनलियों में विभाजित करें और निम्नलिखित परीक्षण करें।

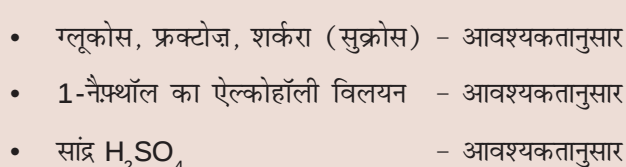
जब कार्बोहाइड्रेट के एल्कोहॉली 1-नैप्रथॉल युक्त जलीय विलयन में, परखनली की दीवार के सहारे सांद्र सल्फ्यूरिक अम्ल मिलाया जाता है तो द्रवों के मिलने के स्थल पर बैंगनी रंग की वलय उत्पन्न होती है। सांद्र सल्फ्यूरिक अम्ल कार्बोहाइड्रेट के ग्लाकोसाइडी आबंधों को जल अपघटित कर देता है जिससे मोनोसैकेराइड बनते हैं जो निर्जलन द्वारा फरफ्यूरल नामक ऐलिडहाइड देते हैं। यह 1-नैप्रथॉल से अभिक्रिया करके गहरे बैंगनी रंग का अस्थाई संघनन उत्पाद बनाता है। कुछ अन्य कार्बनिक यौगिक भी यह परीक्षण दे देते हैं। निम्नलिखित अभिक्रिया होती है :



आवश्यक सामग्री



- आवश्यकतानुसार
- एक
- एक
- एक



प्रक्रिया

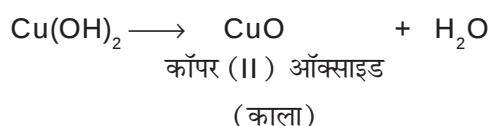
1-नैःप्राथम्य के 1% ऐल्कोहॉली विलयन की 2-3 बूँदें परखनली 'क' में डालें और उसके बाद परखनली की दीवारों के सहारे इसमें 2 mL सांद्र सल्फ्यूरिक अम्ल इस प्रकार मिलाएं कि यह परखनली के निचले भाग में अलग परत बना ले। दोनों परतों के मध्य हल्के बैंगनी

रंग की वलय का बनना कार्बोहाइड्रेट की उपस्थिति संपुष्ट करता है।

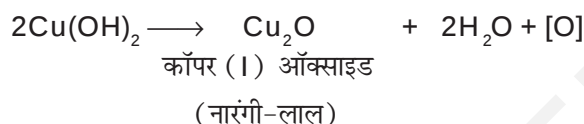
II. अपचायी शर्करा के परीक्षण का सिद्धांत

(क) फेलिंग परीक्षण एवं बेनेडिक्ट परीक्षण

क्षारकीय विलयन में कॉपर हाइड्रॉक्साइड के निलंबन को गरम करने से काला कॉपर (II) ऑक्साइड बनता है।



यदि अभिक्रिया माध्यम में कोई अपचयन कर्मक उपस्थित हो तो नारंगी-लाल कॉपर (I) ऑक्साइड अवक्षेपित होता है।

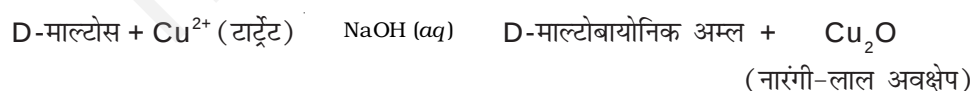
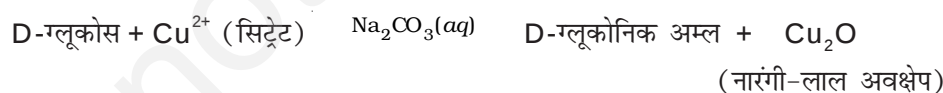


अपचायी शर्कराओं में ऐल्डीहाइड समूह अथवा α -हाइड्रॉक्सी कीटोनिक समूह होता है अतः यह क्षारकीय माध्यम में Cu^{2+} आयनों को अपचित करती हैं। परन्तु यदि अभिक्रिया को सीधे ही क्षारक की उपस्थिति में किया जाए तो कॉपर (II) हाइड्रॉक्साइड अवक्षेपित हो जाता है। इस समस्या को हल करने के लिए कॉपर (II) आयनों को विलयन में टार्ट्रेट आयनों (फेलिंग अभिकर्मक) अथवा सिट्रेट आयनों (बेनेडिक्ट अभिकर्मक) के साथ संकुलित अवस्था में रखा जाता है। दोनों ही संकुल क्षारकीय माध्यम में घुलनशील होते हैं और इतनी कम सांद्रता में Cu^{2+} आयन मुक्त करते हैं कि कॉपर हाइड्रॉक्साइड का विलेयता गुणांक नहीं पहुँचता।

अपचायी शर्कराएं फेलिंग विलयन के साथ निम्नलिखित अभिक्रिया के अनुसार क्रिया करती हैं :



Cu^{2+} आयनों के कारण दिखने वाले नीले रंग का विलोप और Cu_2O के कारण नारंगी-लाल रंग का अवक्षेप उत्पन्न होना अपचायी शर्करा के गुणधर्म को इंगित करता है।



सूक्रोस (डाइसैकेराइड) फेलिंग विलयन कोई अभिक्रिया नहीं

ऐल्कोहॉल



H_2SO_4



आपदा चेतावनी

- अधिक सांद्रता में 1-नै. फॉल सभी ऊतकों के लिए अत्यधिक विनाशक होता है।

कभी-कभी क्यूप्रस आयन पीले रंग के क्यूप्रस हाइड्रॉक्साइड में अवक्षेपित होते हैं, परन्तु गरम करने पर यह नारंगी-लाल कॉपर (I) ऑक्साइड में बदल जाता है।

कुछ उदाहरणों में यह अभिक्रिया रक्त और मूत्र इत्यादि में अपचायी शर्कराओं के मात्रात्मक विश्लेषण में प्रयुक्त होती है।

सभी मोनोसैकेराइड अपचायी शर्करा होते हैं। वे डाइसैकेराइड भी जिनमें मुक्त हेमीएसीटैल समूह ($\begin{array}{c} \text{H} \diagup \text{C} - \text{OR} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$) होता है, दुर्बल अपचायी शर्करा होते हैं। अधिकतर डाइसैकेराइड अपचायी शर्कराएं होते हैं (सूक्रोस एक अपवाद है)।

(ख) टॉलेन परीक्षण

टॉलेन अभिकर्मक सिल्वर नाइट्रेट का अमोनियामय विलयन है। अपचायी शर्करा, सिल्वर आयन को धात्विक सिल्वर में अपचित कर देती है जो परखनली की भीतरी सतह पर रजत दर्पण बना देती है। अभिक्रिया निम्न प्रकार से होती है-



आवश्यक सामग्री

	• परखनलियाँ	- आवश्यकतानुसार		• फेलिंग विलयन	
	• परखनली स्टैंड	- एक		A एवं B	- आवश्यकतानुसार
	• परखनली होल्डर	- एक		• बेनेडिक्ट अभिकर्मक	- आवश्यकतानुसार
	• बीकर (100 mL)	- एक		• टॉलेन अभिकर्मक	- आवश्यकतानुसार
	• जल ऊष्मक	- एक			
	• बुन्सेन बर्नर	- एक			

प्रक्रिया

(क) फेलिंग परीक्षण

फेलिंग विलयन A और B के एक-एक mL विलयन को एक परखनली में मिलाएं और मिश्रण को परखनली B में डालें। सामग्री को जल ऊष्मक में गरम करें। नारंगी-लाल रंग का अवक्षेप प्राप्त होना अपचायी शर्करा की उपस्थिति इंगित करता है।

(ख) बेनेडिक्ट परीक्षण

परखनली 'ग' में 1 mL बेनेडिक्ट अभिकर्मक डालें और मिश्रण को जल ऊष्मक में रखकर दो मिनट तक उबालें। कॉपर (I) ऑक्साइड बनने के कारण नारंगी-लाल रंग का अवक्षेप प्राप्त होना अपचायी शर्करा की उपस्थिति इंगित करता है।

☒

हुए गरम करें। नारंगी-लाल रंग का अवक्षेप प्राप्त होना मोनोसैकेराइड का सकारात्मक परीक्षण इंगित करता है। डाइसैकेराइड यह परीक्षण नहीं देते।

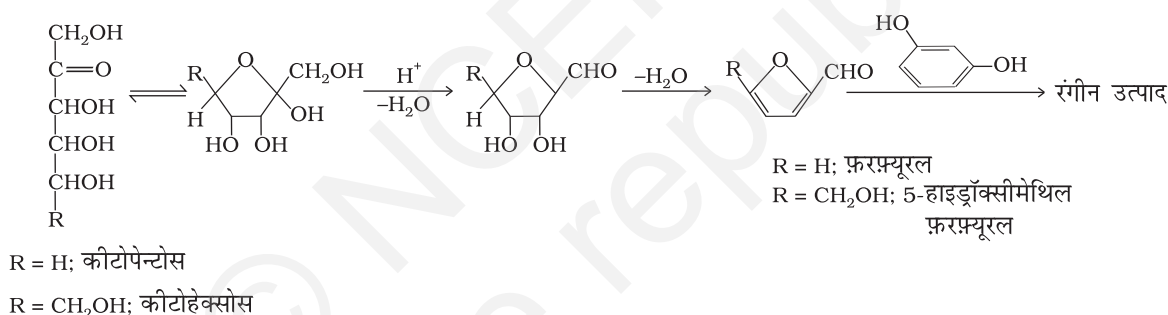
सूक्रोस का परीक्षण

परीक्षण के लिए सूक्रोस को जलअपघटित करने के लिए सूक्रोस के 1% विलयन के 5 mL में 5 बूँद साँद्र HCl की मिलाकर जल ऊष्मक में गरम करें। मिश्रण को ठंडा करने के पश्चात इसमें सोडियम हाइड्रॉक्साइड विलयन मिलाकर उदासीन अथवा हल्का क्षारकीय विलयन प्राप्त कर लें। जल अपघटन के उत्पाद से अपचायी शर्करा का परीक्षण निम्नलिखित सेलिवानॉफ परीक्षण करें और अपने परिणामों को रिकॉर्ड करें।

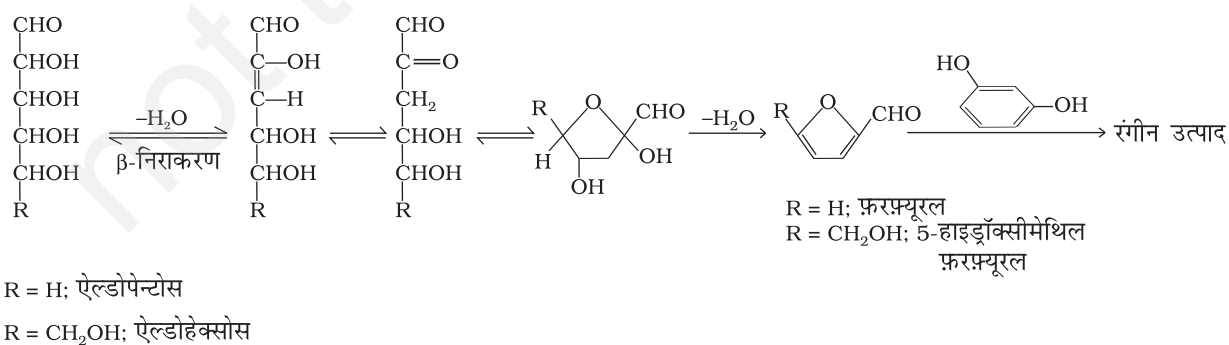
IV. कीटोस एवं ऐल्डोस में विभेद करने के लिए परीक्षण

सेलिवानॉफ परीक्षण

अम्लीय माध्यम में कीटोस अत्यधिक तीव्रता से निर्जलित होकर फ़रफ़्यूरल देते हैं जो रिसॉर्सिनॉल (1,3-डाइहाइड्रॉक्सी बेन्जीन) से अभिक्रिया करके रंगीन उत्पाद बनाता है।



कीटोहेक्सोस लाल रंग देते हैं और कीटोपेन्टोस नीला-हरा रंग देते हैं। उन्हीं अवस्थाओं में ऐल्डोस रंग उत्पन्न करने में अधिक समय लगाते हैं क्योंकि यह फ़रफ़्यूरल धीरे-धीरे बनाते हैं। शायद इसलिए कि इनके फ़रफ़्यूरल में बदलने से पहले β -निराकरण द्वारा निर्जलन की आवश्यकता होती है। इसलिए अधिक समय तक गरम नहीं करना चाहिए।



आवश्यक सामग्री

	• परखनलियाँ	- आवश्यकतानुसार		• ग्लूकोस, फ्रक्टोज़,	
	• परखनली स्टैंड	- एक		सूक्रोस	- आवश्यकतानुसार
	• परखनली होल्डर	- एक		• सेलिवानॉफ अभिकर्मक	- आवश्यकतानुसार
	• बीकर (100 mL)	- एक			
	• जल ऊष्मक	- एक			
	• बुन्सेन बर्नर	- एक			

प्रक्रिया

एक परखनली में शर्करा के 1% विलयन की दस बूँद लेकर उसमें 2 mL सेलिवानॉफ अभिकर्मक मिलाएं। परखनली को उबलते हुए जल के ऊष्मक में दो मिनट तक गरम करें। कीटोहेक्सोस लाल रंग देते हैं। कीटोपेन्टोस नीला-हरा रंग दे हैं। ऐल्डोस दो मिनट में रंग नहीं देते।

V. पॉलिसैकेराइड (स्टार्च) के परीक्षण का सिद्धांत

आयोडीन के साथ स्टार्च आयोडाइड नामक संकुल बनने के कारण स्टार्च आयोडीन विलयन के साथ नीला रंग देती है। स्टार्च, गेहूँ, चावल, मक्का, आलू इत्यादि में उपस्थित होती है।

आवश्यक सामग्री

	• परखनलियाँ	- आवश्यकतानुसार		• स्टार्च विलयन	- आवश्यकतानुसार
	• परखनली स्टैंड	- एक		• आयोडीन विलयन	- आवश्यकतानुसार
	• परखनली होल्डर	- एक			
	• बीकर (100 mL)	- एक			
	• जल ऊष्मक	- एक			
	• बुन्सेन बर्नर	- एक			

प्रक्रिया

आयोडीन परीक्षण

0.5 g स्टार्च का 5 mL जल में निलम्बन बनाएं और इसे उबलते हुए 50 mL जल में मिला दें जिससे जलीय कोलॉइड विलयन प्राप्त हो जाए। इसके 1 mL में आयोडीन के जलीय विलयन की कुछ बूँदें मिलाएं। नीले रंग का प्रकट होना स्टार्च की उपस्थिति प्रदर्शित करता है।

आयोडीन



(ख) तेल और वसा का परीक्षण

सिद्धांत

यह ग्लिसरॉल और लंबी शृंखला वाले फैटी अम्लों के एस्टर होते हैं और ट्राइग्लिसराइड कहलाते हैं। जो ट्राइग्लिसराइड कक्ष ताप पर द्रव होते हैं वह तेल और जो ठोस होते हैं वह वसा कहलाते हैं। तेलों के स्रोत वनस्पतियाँ और वसा के स्रोत प्राणि होते हैं। उन ट्राइग्लिसराइडों को जिनमें तीनों ऐसिल समूह समान होते हैं साधारण ट्राइग्लिसराइड कहते हैं जबकि वे ट्राइग्लिसराइड जिनमें तीन ऐसिल समूह अलग-अलग होते हैं, मिश्रित ट्राइग्लिसराइड कहलाते हैं। प्रकृति में पाए जाने वाले अधिकतर वसा अम्लों में दो या तीन द्वि आबंध होते हैं। वसा और तेल जिनसे यह प्राप्त होते हैं, पॉली असंतृप्त वसा या तेल कहलाते हैं। वसा और तेल, जल में अविलेय होते हैं।

पोटैशियम हाइड्रोजन सल्फेट के साथ गरम करने पर ऐक्रोलीन की अभिलक्षणिक गंध देते हैं। यह स्वतंत्र अथवा एस्टर में उपस्थित ग्लिसरॉल का परीक्षण है। पोटैशियम हाइड्रोजन सल्फेट के साथ गरम करने से ग्लिसरॉल निर्जलित हो जाता है और ऐक्रोलीन बनता है जिसकी गंध तीक्ष्ण होती है। अभिक्रिया निम्नलिखित प्रकार से होती है-



आवश्यक सामग्री



- परखनलियाँ - आवश्यकतानुसार
- परखनली स्टैंड - एक
- परखनली होल्डर - एक
- बीकर (100 mL) - एक
- जल ऊष्मक - एक
- बुन्सेन बर्नर - एक



- सरसों का तेल/घी - आवश्यकतानुसार
- पोटैशियम हाइड्रोजनसल्फेट - आवश्यकतानुसार

प्रक्रिया

पोटैशियम हाइड्रोजन सल्फेट के कुछ क्रिस्टल (0.5g) परखनली में लिए गए 3 mL सरसों के तेल/घी में मिलाएं और सामग्री को धीरे-धीरे गरम करें। दुर्गंध आना तेल या वसा की उपस्थिति प्रदर्शित करता है।

(ग) प्रोटीन का परीक्षण

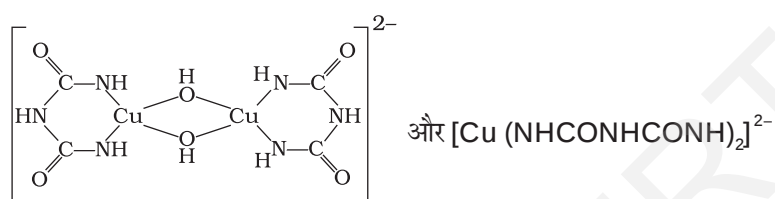
सिद्धांत

प्रोटीन, जटिल कार्बनिक यौगिक होते हैं जिनमें नाइट्रोजन होती है और यह ऐमीनो अम्लों से बने होते हैं। प्रोटीन, अंड एल्ब्यूमिन, सोयाबीन, दालों, मछली, दूध इत्यादि में उपस्थित

होते हैं। इनकी उपस्थिति विभिन्न परीक्षणों द्वारा की जा सकती है। अभिलक्षणिक पार्श्व शृंखला की उपस्थिति के कारण कुछ ऐमीनो अम्ल विशिष्ट रंग उत्पन्न करने वाली अभिक्रियाएं देते हैं जो इनकी पहचान करने का आधार हैं। प्रोटीन भी ऐमीनो अम्लों की अभिलक्षणिक अभिक्रियाएं प्रदर्शित करते हैं, परन्तु बाइयूरेट अभिक्रिया और स्कंदन के द्वारा इनमें और ऐमीनो अम्लों में विभेद किया जा सकता है।

I. पेप्टाइड आबंधों के लिए बाइयूरेट परीक्षण

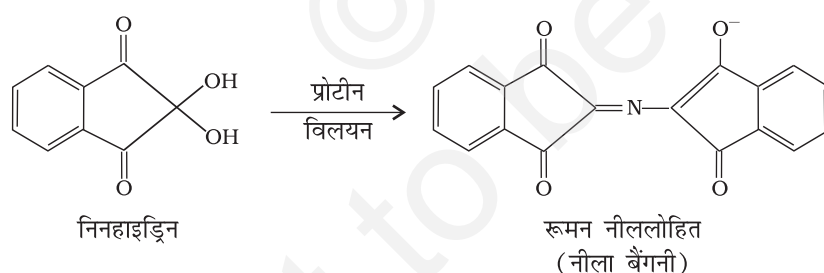
क्षारकीय कॉपर सल्फेट दो या इससे अधिक पेप्टाइड आबंध युक्त यौगिकों से अभिक्रिया करके बैंगनी रंग के संकुल बनाता है।



परीक्षण का नाम बाइयूरेट यौगिक के नाम पर है, जो यह परीक्षण देता है। यह अभिक्रिया केवल पेप्टाइड आबंधों की विशेष अभिक्रिया नहीं है क्योंकि नाइट्रोजन अथवा कार्बन द्वारा जुड़े दो कार्बोनिल समूह युक्त अनेक यौगिक सकारात्मक परिणाम देते हैं।

II. निनहाइड्रिन परीक्षण

निनहाइड्रिन एक शक्तिशाली ऑक्सीकरण कर्मक है और प्रोटीनों से अभिक्रिया करके रूमन नीललोहित नामक नीले-बैंगनी रंग का यौगिक बनाता है।



नोट - अमोनिया, प्राथमिक ऐमीन, ऐमीनोअम्ल और पेप्टाइड भी निनहाइड्रिन से अभिक्रिया करते हैं।

III. जैन्थोप्रोटीइक अभिक्रिया

स्वतंत्र ऐमीनो अम्ल अथवा प्रोटीन के ऐरोमेटिक समूहों का सांद्र नाइट्रिक अम्ल के साथ अभिक्रिया से नाइट्रोकरण हो जाता है। इन व्युत्पन्नों के लवण नारंगी रंग के होते हैं।

आवश्यक सामग्री

	परखनलियाँ	-	आवश्यकतानुसार		अंड ऐल्ब्यूमिन/केसीन	] आवश्यकतानुसार
	परखनली स्टैंड	-	एक		निनहाइड्रिन	
	परखनली होल्डर	-	एक		कॉपर अभिकर्मक	
	बीकर (100 mL)	-	एक		सांद्र HNO_3	
	जल ऊष्मक	-	एक		एल्कोहॉल	
	बुन्सेन बर्नर	-	एक			

प्रक्रिया

(क) बाइयूरेट परीक्षण

केसीन अथवा अंड ऐल्ब्यूमिन का 0.1 M NaOH विलयन में 0.5% (w/V) विलयन बनाएं। विलयन के लगभग 2-3 mL लेकर इसमें 10% सोडियम हाइड्रॉक्साइड विलयन के लगभग 2 mL मिलाएं। कॉपर अभिकर्मक की कुछ बूँदें मिलाने के बाद मिश्रण को लगभग 5 मिनट तक गरम करें। Cu^{2+} आयनों द्वारा -CONH- समूह के साथ संकुल स्पीशीज़ बनने के कारण बैंगनी रंग उत्पन्न होना नमूने में प्रोटीन की उपस्थिति संपुष्ट करता है।

HNO_3



एल्कोहॉल



(ख) निनहाइड्रिन परीक्षण

एक परखनली में अंड ऐल्ब्यूमिन के जलीय विलयन के 2-3 mL लेकर निनहाइड्रिन विलयन मिलाएं और इसे गरम करें। नीले रंग का प्रकट होना प्रोटीन की उपस्थिति इंगित करता है।

(ग) जैन्थोप्रोटीइक परीक्षण

एक परखनली में अंड ऐल्ब्यूमिन का 1 mL जलीय विलयन लेकर इसमें सांद्र नाइट्रिक अम्ल की कुछ बूँदें मिलाएं। अभिक्रिया मिश्रण को कुछ मिनट के लिए बुन्सेन ज्वाला में गरम करें। पीला रंग उत्पन्न होता है। परखनली को नल से बहते हुए पानी में ठंडा करके 10 M सोडियम हाइड्रॉक्साइड विलयन मिलाएं, नारंगी रंग उत्पन्न होगा।

II. कार्बोहाइड्रेट, वसा और प्रोटीन का खाद्य पदार्थों में परीक्षण

- दूध, गेहूँ का आटा, चावल और चने का आटा (बेसन) कार्बोहाइड्रेट, वसा और प्रोटीन के परीक्षण के लिए लें।
- प्रत्येक परीक्षण के लिए 0.5 mL दूध लेकर परीक्षण करें।
- गेहूँ के आटे, चावल के आटे और चने के आटे के लिए 100 mg नमूने को 10 mL आसुत जल में मिलाकर निलंबन को उबालें जिससे कोलाइडी विलयन प्राप्त हो जाए। इस कोलाइडी विलयन से परीक्षण करें और प्रेक्षणों को सारणी 11.1 में रिकॉर्ड करें।

सारणी 11.1 - विभिन्न खाद्य पदार्थों के नमूनों में कार्बोहाइड्रेट वसा और प्रोटीन का परीक्षण

नमूना	कार्बोहाइड्रेट उपस्थित/ अनुपस्थित	वसा उपस्थित/ अनुपस्थित	प्रोटीन उपस्थित/ अनुपस्थित
दूध			
गेहूँ का आटा			
चावल का आटा			
बेसन			
दालें			

प्रयोग से प्रदर्शित होगा कि गेहूँ के आटे, और बेसन जैसे पदार्थों में कार्बोहाइड्रेट और प्रोटीन उपस्थित हैं। चावल के आटे में कार्बोहाइड्रेट हैं जबकि दूध में वसा और प्रोटीन उपस्थित हैं। इसी प्रकार से अन्य खाद्य पदार्थों में भी कार्बोहाइड्रेट, वसा और प्रोटीन का परीक्षण किया जा सकता है।

सावधानियाँ

- (क) चने, गेहूँ और चावल के आटे का निष्कर्ष बनाते समय मिश्रण को अच्छी तरह हिलाएं।
- (ख) सदैव ताजे बने अभिकर्मकों का ही प्रयोग करें।
- (ग) अभिकर्मकों की केवल आवश्यक मात्रा ही प्रयोग करें।



विवेचनात्मक प्रश्न

- (i) आप सूक्रोस और ग्लूकोस में विभेद कैसे करेंगे?
- (ii) विवेचना कीजिए कि कीटोन ग्रुप उपस्थित होने पर भी फ्रक्टोज फेलिंग विलयन और टॉलेन अभिकर्मक को अपचित क्यों करता है?
- (iii) फेलिंग अभिकर्मक और बेनेडिक्ट अभिकर्मक में टार्ट्रेट और सिट्रेट आयनों की क्रमशः क्या भूमिका है?