

تهدف هذه التجربة إلى تعريفك بإحدى الفئات الرئيسية الثلاث للمغذيات الكبيرة الموجودة في الطعام، وهي الكربوهيدرات. لتحديد الكربوهيدرات (السكريات) على أنها دهيدات وكيوتونات متعددة الهيدروكسيل. السكريات الأحادية أو الثنائية أو المتعددة وخصائصها الكيميائية. ستتعلم أيضًا مجموعة متنوعة من طرق تصنيف الكربوهيدرات والعديد من الاختبارات المستخدمة في تحليل الكربوهيدرات.

## Experiment 8 Qualitative determination of Carbohydrates

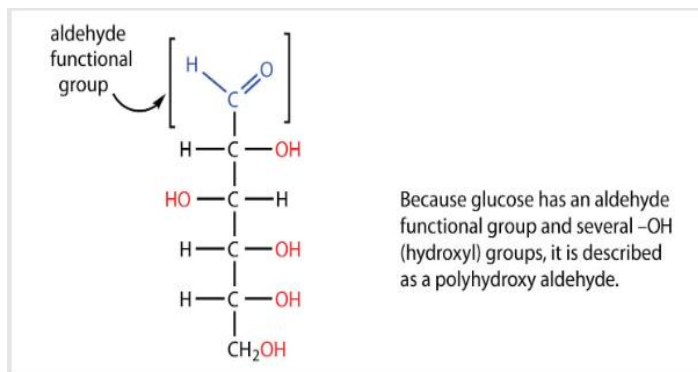
This experiment is intended to introduce you to one of the three major classes of macronutrients found in food, carbohydrates. To identify carbohydrates (sugars) as being polyhydroxylated aldehydes and ketones. Mono or di- or polysaccharides and their chemical characteristics. You will also learn a variety of ways to categorize carbohydrates and several tests used in the analysis of carbohydrates.

### Introduction of Carbohydrate

**Carbohydrate** is the primary source of energy for brain, retina and erythrocytes and so the glucose concentration requires precise regulation that is accomplished by many metabolic processes and interrelated with several glands and organs. If any disturbance occurs to the glands or organs, a loss of glycemic control will occur which results in the formation of a pathological state. However, the **diabetes mellitus** is the result of glucose metabolism abnormality, and is often has different causes, which include genetic, autoimmune and other causes.

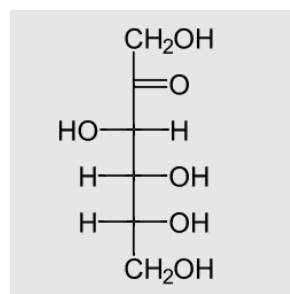
All carbohydrates consist of carbon, hydrogen, and oxygen atoms and are polyhydroxy aldehydes or polyhydroxyketones or are compounds that can be broken down to form such compounds. Examples of carbohydrates include glucose, ribose, fructose (fruit sugar), sucrose (table sugar), lactose (milk sugar), maltose (malt sugar), galactose, starch, and structural materials such as cellulose. The molecular formula for a carbohydrate can be considered as  $C_n(H_2O)_n$ , where n is the number of carbon atoms. Example, because its formula is  $C_6H_{12}O_6$ , glucose was once thought to be a "carbon hydrate" with the structure  $C_6(H_2O)_6$ .

تتكون جميع الكربوهيدرات من ذرات الكربون والهيدروجين والأكسجين، وهي إما الدهيدات متعددة الهيدروكسيل أو كيتونات متعددة الهيدروكسيل، أو مركبات يمكن تحليلها لتكوين مثل هذه المركبات. تشمل أمثلة الكربوهيدرات الجلوكوز والريبوز والفركتوز (سكر الفاكهة) والسكروز (سكر المائدة) واللاكتوز (سكر الحليب) والمالتوز (سكر الشعير) والجالكتوز والنشا والمواد البنائية مثل السليلوز. يمكن اعتبار الصيغة الجزيئية للكربوهيدرات  $C_n(H_2O)_n$ ، حيث n هو عدد ذرات الكربون. على سبيل المثال، نظرًا لأن صيغته  $C_6H_{12}O_6$ ، فقد اعتقد سابقًا أن الجلوكوز هو "دهيدات كربونية" ذات بنية  $C_6(H_2O)_6$ .



**Fructose has a ketone group**, so it is considered a **polyhydroxy ketone**.

يحتوي الفركتوز على مجموعة كيتون، لذا يُعتبر كيتونًا متعدد الهيدروكسيل.



أ- الكربوهيدرات البسيطة. غالبًا ما يشار إليها بالسكريات البسيطة أو السكريات الأحادية، تحتوي على وحدة واحدة من السكر ولا يمكن تجزئتها إلى كربوهيدرات أصغر، مثل الجلوكوز والفركتوز والجالاكتوز والمانوز.

## Classification according to Molecular size or Complexity:

- A- Simple Carbohydrates.** often referred to as **simple sugars or monosaccharides**, contain one unit of saccharide and cannot be broken down into smaller carbohydrates, such as glucose, fructose, galactose, and mannose.

Monosaccharide can be also classified according to different factors as follow:

### a. Classification according to **Number of carbon atoms**

1. **Triose C3 sugars**, example: dihydroxyacetone and glyceraldehydes.
2. **Tetrose C4 sugars**, example: D-erythrose, D-threose, and D-erythrulose.
3. **Pentose C5 sugars**, example: nucleic acids and coenzymes NAD, Ribose that is a structural element of ATP and flavor proteins: Arabinose, ribulose, and xylose.
4. **Hexose C6 sugars**, example: glucose, fructose.

1. سكريات ثلاثية الكربون (C3)، مثال: ثنائي هيدروكسي أستون وجليسرالدهيد.  
2. سكريات رباعية الكربون (C4)، مثال: D-إريثروس وD-ثريوز وD-إريثرولوز.  
3. سكريات بنتوز C5، مثال: الأحماض النووية والإنزيمات المساعدة NAD، والريبوز الذي يعد عنصرًا بنيويًا في ATP وبروتينات النكهة: الأرابينوز، والريبولوز، والزيلولوز.  
4. سكريات الهكسوز C6، مثال: الجلوكوز، والفركتوز.

### b. Classification according to **Functional group**

1. **Aldose**: sugars having an aldehyde functional group R-HC=O, example: glucose
2. **Ketose**: sugars having a ketone functional group R<sub>2</sub>-C=O, example: fructose.

1. الألدوز: سكريات تحتوي على مجموعة وظيفية ألدهيد R-HC=O، مثال: الجلوكوز.  
2. الكيتوز: سكريات تحتوي على مجموعة وظيفية كيتون R-C=O، مثال: الفركتوز.

### c. Classification according to **Reactivity in Redox Reactions**

1. **Reducing sugars** oxidized by Tollens' reagent or Benedict's or Fehling's reagents). Examples are glucose, fructose, glyceraldehydes, lactose, arabinose and maltose
2. **Non-reducing sugars** not oxidized by Tollens' reagent or Benedict's or Fehling's reagents. Example: sucrose, starch.

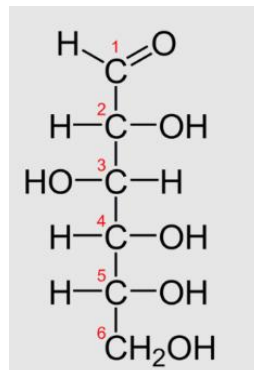
1. السكريات المختزلة المؤكسدة بواسطة كاشف تولنز أو كاشف بنديكت أو كاشف فهلنج. أمثلة: الجلوكوز، الفركتوز، الجليسرالدهيد، اللاكتوز، الأرابينوز، والمالتوز.  
2. السكريات غير المختزلة غير المؤكسدة بواسطة كاشف تولنز أو كاشف بنديكت أو كاشف فهلنج. مثال: السكروز، النشا.

for example, glucose is an aldose (it contains an aldehyde functional group) and glucose is also a hexose (it contains six carbon atoms). Therefore, glucose is considered as an aldohexose.

على سبيل المثال، الجلوكوز هو ألدوز (يحتوي على مجموعة وظيفية ألدهيد) وهو أيضًا سكر سداسي (يحتوي على ست ذرات كربون). لذلك، يُعتبر الجلوكوز ألدوهكسوز.

Glucose is classified as an aldohexose, because it contains six carbon atoms and an aldehyde functional group.

يُصنف الجلوكوز على أنه ألدوهكسوز، لأنه يحتوي على ست ذرات كربون ومجموعة وظيفية ألدهيد.



	Aldoses	Ketoses
(C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ) Trioses	Glyceraldehyde	Dihydroxyacetone
(C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ) Tetroses	Erythrose	Erythrulose
(C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) Pentoses	Ribose	Ribulose
(C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ) Hexoses	Glucose	Fructose

الكربوهيدرات المعقدة. هي تلك التي تحتوي على أكثر من مجموعة واحدة من السكريات. من خلال عملية تُعرف باسم التحلل المائي، يمكن تكسير الكربوهيدرات المعقدة إلى وحدات كربوهيدراتية أصغر.

**Complex Carbohydrates.** Those containing more than one group of saccharides are complex carbohydrates. Through a process known as hydrolysis, complex carbohydrates can be broken down into smaller carbohydrate units.

1. تحتوي السكريات الثنائية على وحدتين من السكريات الأحادية. يمكن أن يؤدي التحلل المائي إلى كسر السكريات الثنائية إلى وحدتين من السكريات الأحادية وفقدان جزيء واحد من الماء. على سبيل المثال:

1. **Disaccharides** contain two units of monosaccharide., Hydrolysis can break disaccharides into two monosaccharide units and lose one molecule of water. such as:

المالتوز: جزيئان من الجلوكوز في روابط 1، 4.

- **Maltose:** two glucose residues in 1, 4 linkages.

- **Lactose** can be found in milk. On hydrolysis, it produces D-galactose and D-glucose. it is a reducing disaccharide

يوجد اللاكتوز في الحليب. عند تحلله مائياً، ينتج D-جالاكتوز وD-جلوكوز. وهو سكر ثنائي مختزل

- **Sucrose:** Cane sugar (table sugar) or sucrose is a disaccharide of fructose and glucose.

السكروز: سكر القصب (سكر المائدة) أو السكروز هو سكر ثنائي من الفركتوز والجلوكوز.

2. **Oligosaccharides** have 3-6 units of monosaccharides, Oligosaccharides can be broken by hydrolysis into 3-6 monosaccharide units and lose one or more water molecules.

2. تحتوي السكريات قليلة التعداد على 3-6 وحدات من السكريات الأحادية، ويمكن تكسيرها بالتحلل المائي إلى 3-6 وحدات من السكريات الأحادية مع فقدان جزيء ماء واحد أو أكثر

3. **Polysaccharides** (hundreds or thousands of units), Polysaccharides can be broken into 7 or more units of monosaccharides by hydrolysis and one or more molecules of water can be lost. Such as:

3. السكريات المتعددة (مئات أو آلاف الوحدات)، يمكن تكسير السكريات المتعددة إلى 7 وحدات أو أكثر من السكريات الأحادية عن طريق التحلل المائي، ويمكن فقدان جزيء واحد أو أكثر من الماء. على سبيل المثال:

-**Starch** is a storage form of energy in plants. It contains two polymers composed of glucose units: amylose (linear) and amylopectin (branched). The complete hydrolysis of starch yields, in successive stages, glucose:

starch → dextrins → maltose → glucose

In the human body, several enzymes known collectively as amylases degrade starch sequentially into usable glucose units.

- النشا هو شكل تخزين للطاقة في النباتات. يحتوي على بوليمرين مكونين من وحدات الجلوكوز: الأميلوز (خطي) والأميلوبكتين (متفرع). ينتج عن التحلل المائي الكامل للنشا، على مراحل متتالية، الجلوكوز: النشا → الدكسترينات → المالتوز → الجلوكوز

في جسم الإنسان، تقوم العديد من الإنزيمات المعروفة مجتمعة باسم الأميليزات بتحليل النشا بالتتابع إلى وحدات جلوكوز قابلة للاستخدام.

-**Glycogen** is a storage form of energy in human and animals. It is a branched polymer composed of glucose units. It is more highly branched than amylopectin. glycogen is found as granules in liver and muscle cells. When fasting, animals draw on these glycogen reserves during the first day without food to obtain the glucose needed to maintain metabolic balance.

- الجليكوجين هو شكل تخزيني للطاقة في الإنسان والحيوان. وهو بوليمر متفرع يتكون من وحدات جلوكوز، وهو أكثر تفرغاً من الأميلوبكتين. يوجد الجليكوجين على شكل حبيبات في خلايا الكبد والعضلات. عند الصيام، تستمد الحيوانات مخزون الجليكوجين هذا خلال اليوم الأول بدون طعام للحصول على الجلوكوز اللازم للحفاظ على التوازن الأيضي.

-**Cellulose** is a structural polymer of glucose units found in plants. It is a linear polymer with the glucose units linked through β-1,4-glycosidic bonds.

- السليلوز هو بوليمر هيكلي من وحدات الجلوكوز موجود في النباتات. وهو بوليمر خطي ترتبط فيه وحدات الجلوكوز بروابط جليكوسيدية من نوع بيتا-1،4.

توجد عدة صعوبات في التحليل النوعي والكمي عند تحليل عينة تحتوي على خليط من الكربوهيدرات، وخاصة السكريات. تُعزى هذه المشاكل إلى تشابهها البنوي والكيميائي، بالإضافة إلى تماثلها الفراغي. لذلك، من الضروري تحديد ما إذا كانت عينة معينة تحتوي على كربوهيدرات أم لا أثناء التحقيقات البيوكيميائية. لتحديد وجود أو عدم وجود سكر أو كربوهيدرات في عينة، تتوفر عدة اختبارات سريعة. تعتمد هذه الاختبارات على تفاعلات لونية نموذجية محددة لمجموعتها. يمكن تأكيد حساسية هذه الاختبارات باستخدام تراكيز مختلفة من محاليل السكر (1-0.1 بالمائة).

## Qualitative tests for carbohydrates:

There are several difficulties in their qualitative as well as quantitative analysis when analyzing a sample containing a mixture of carbohydrates, particularly sugar. These problems are attributed to their structural and chemical resemblance, as well as their stereoisomerism. It is therefore necessary to determine, during biochemical investigations, whether or not a given sample contains carbohydrates. In order to establish the presence or absence of a sugar or a carbohydrate in a sample, several rapid tests are available. Such tests are based on specific typical color reactions for their group. The sensitivity of these tests can be confirmed by using different concentrations of sugar solutions (0.1- 1 percent ).

### A. General tests for carbohydrates:

بالنسبة لجميع الكربوهيدرات، سواء كانت حرة أو في شكل مركب، فهو اختبار جماعي. يُستخدم بشكل روتيني للكشف عن وجود الكربوهيدرات، على الرغم من محدودياته.

For all carbohydrates, whether free or in combined form, it is a group test. It is routinely used to detect the presence of carbohydrates, despite its limitations.

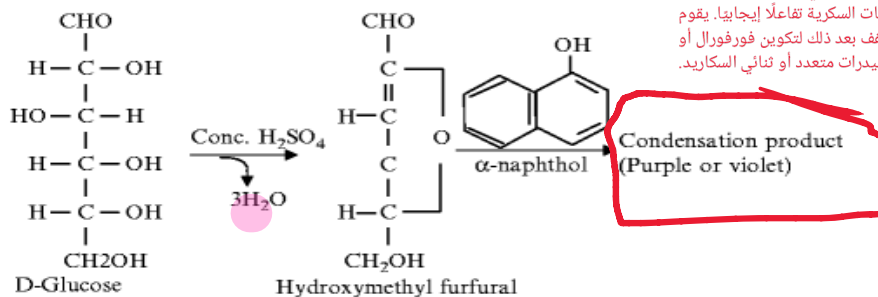
In order to detect the presence of carbohydrates in a solution, the most common tests used are:

الكشف عن وجود الكربوهيدرات في محلول، فإن أكثر الاختبارات شيوعاً المستخدمة هي

### Molisch's Test: → الكشف عن وجود الكربوهيدرات

The response is based on the fact that H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrated catalyzes the dehydration of sugars to form furfural (from pentoses) or hydroxymethyl furfural (from hexoses). These furfurals then condense to give a purple or violet colored product with sulfonated alpha-naphthol. A+ve reaction is also provided by polysaccharides and glycoproteins. The acid first hydrolyses it into monosaccharides, which are then dehydrated to form furfural or its derivatives, in the case of the carbohydrate being a poly or disaccharide.

تعتمد الاستجابة على حقيقة أن حمض الكبريتيك المركز يحفز نزع الماء من السكريات لتكوين فورفورال (من البنتوزات) أو هيدروكسي ميثيل فورفورال (من الهكسوزات). تم اكتشاف هذه الفورفورالات لإعطاء منتج بنفسجي أو أرجواني اللون مع ألفا نافثول سلفوني. كما توفر السكريات المتعددة والبروتينات السكرية تفاعلاً إيجابياً. يقوم الحمض أولاً بتحليلها إلى سكريات أحادية، والتي تجف بعد ذلك لتكوين فورفورال أو مشتقاته، في حالة كون الكربوهيدرات متعدد أو ثنائي السكريد.



Molisch test give a positive result with all carbohydrates.

يعطي اختبار مولش نتيجة إيجابية مع جميع الكربوهيدرات.

## B. Differentiation test of Carbohydrates

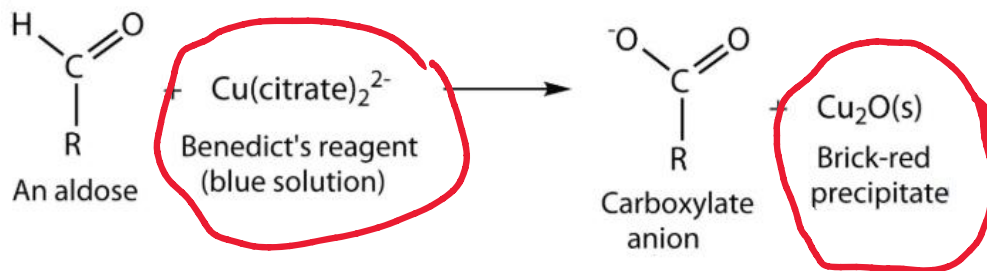
### 1. Benedict's Test

يحدد اختبار بنديكت ما إذا كان السكر الأحادي أو الثنائي سكرًا مختزلًا. لإعطاء نتيجة إيجابية، يجب أن يحتوي الكربوهيدرات إما على مجموعة ألدهيد حرة أو مجموعة كيتون. كاشف بنديكت هو محلول قلوي يحتوي على أيونات النحاس، والتي تؤكسد الألدھيد إلى حمض كربوكسيلي. بدورها، تُختزل أيونات النحاس إلى أكسيد النحاسوز، الذي يشكل راسبًا أحمر.

Benedict's test determines whether a **monosaccharide or disaccharide is a reducing sugar**. To give a **positive test**, the carbohydrate must **contain either a free aldehyde group or a ketone group**. Benedict's reagent is an **alkaline solution containing cupric ions**, which **oxidize the aldehyde to a carboxylic acid**. In turn, **the cupric ions are reduced to cuprous oxide**, which forms a **red precipitate**.

Give **positive result with all reducing sugar as glucose, fructose, lactose, maltose, galactose, except for sucrose and starch.**

يعطي نتيجة إيجابية مع جميع السكريات المختزلة مثل الجلوكوز والفركتوز واللاكتوز والمالتوز والجالاكتوز، باستثناء السكروز والنشا.



### 2. Barfoed's Test:

يتكون من أيون النحاس في محلول حمضي (حمض الخليك). يُجرى هذا الاختبار للتمييز بين اختزال السكريات الأحادية والثنائية. السكريات الأحادية عوامل اختزال أكثر تفاعلًا من السكريات الثنائية، وبالتالي تتفاعل في غضون 1-2 دقيقة تقريبًا، بينما يستغرق اختزال السكريات الثنائية 7-12 دقيقة حتى تتحلل مائيًا ثم تتفاعل في المحلول الحمضي. لذلك، من الممكن اكتشاف الفرق في خصائص الاختزال. يعطي نتيجة إيجابية على شكل راسب أحمر مع الجلوكوز والفركتوز والسكريات الأحادية الأخرى.

Consist of **cupric ion in acidic solution (acetic acid)**. This test is performed to differentiate between **mono- and disaccharide reduction**. Monosaccharides are more reactive reducing agents than disaccharides and thus react in about 1-2 minutes, while it takes 7-12 minutes for the reducing disaccharides to get hydrolysed and then react in the acidic solution. Therefore, it is possible to detect the difference in property reductions.

It gives positive red precipitate result with glucose and fructose and other monosaccharides.

### 3. Seliwanoff's Test

هذا الاختبار عبارة عن تفاعل لوني محدد بوقت خاص بالكيتوهكسوز. لذلك، يُستخدم للتمييز بين الألدوزات والكيتوزات. يتم إجراء عملية نزع الماء في وجود حمض الهيدروكلوريك المركز أو حمض الكبريتيك مع الريزورسينول، مما يؤدي إلى إنتاج 4-هيدروكسي ميغيل فورفورال من الكيتوهكسوزات بشكل أسرع من الألدوهكسوزات. بالإضافة إلى ذلك، تتكثف مشتقات الفورفورال هذه لتكوين مركب أحمر اللون مع الريزورسينول.

This test is a **keto hexose-specific timed colour reaction**. It is therefore used for the differentiation of **aldoses from ketoses**. Dehydration is carried out in the presence of **concentrated HCl or H2SO4 with resorcinol**, **keto hexoses to yield 4-hydroxy methyl furfural** more rapidly than aldohexoses. In addition, these furfural derivatives condense to form a **red coloured complex with resorcinol**.

It gives positive result with fructose. And in **prolong heating it will give a positive result with sucrose also due to hydrolysis to fructose and glucose, while other sugar gives a negative result.**

يعطي نتيجة إيجابية مع الفركتوز. وفي التسخين المطول، يُعطي اليود نتيجة إيجابية مع السكروز أيضًا بسبب تحلله إلى فركتوز وجلوكوز، بينما تُعطي السكريات الأخرى نتيجة سلبية.

### 4. Iodine test:

Iodine forms color complex with starch, glycogen and dextrins. The color varies according to the **chain length and the size of the molecule**. **Starch gives blue color, glycogen gives purple** while **dextrins forms red to colorless complexes**. The complexes with iodine are very unstable. The iodine is readily removed from these compounds by alcohol, NaOH, Na2S2O3 or heating. This indicates the **weak interaction between iodine and these compounds**.

يشكل اليود مركبات ملونة مع النشا والجليكوجين والدكستريانات. يختلف اللون وفقًا لطول السلسلة وحجم الجزيء. يعطي النشا لونًا أزرق، ويعطي الجليكوجين لونًا أرجوانيًا، بينما تشكل الدكستريانات مركبات تتراوح ألوانها من الأحمر إلى عديم اللون. المركبات مع اليود غير مستقرة للغاية. يُزال اليود بسهولة من هذه المركبات باستخدام الكحول أو هيدروكسيد الصوديوم أو كبريتيد الصوديوم أو التسخين. وهذا يدل على ضعف التفاعل بين اليود وهذه المركبات.

## Practical part:

### 1. Molisch's test:

#### Procedure

1. In a test tube, add 2 ml of test solution ( unknown)
2. Add 2 drops of Molisch's reagent and mix by gentle shaking
3. Tilt the tube and carefully pour 1 ml conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> along the side of the tube (no mixing)
4. Violet ring at the junction of the two liquids indicates a positive result.



*Note: The appearance of purple or violet ring confirms the presence of carbohydrate.*

ملاحظة: يؤكد ظهور حلقة أرجوانية أو بنفسجية وجود الكربوهيدرات.

**Interpretation:** The formation at the junction of two layers of a **purple or violet ring or zone** indicates the presence of **carbohydrates**.

التفسير: يشير تكون حلقة أو منطقة أرجوانية أو بنفسجية عند نقطة التقاء طبقتين إلى وجود الكربوهيدرات.

#### Precautions:

- (i) The solution of alpha-naphthol is unstable and should be made fresh.
- (ii) Conc.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> should be carefully added along the sides of the test tube, causing the contents of the tube to be minimally disturbed.

الاحتياطات:

(أ) محلول ألفا-نفتول غير مستقر ويجب تحضيره طازجاً.

(ب) يجب إضافة حمض الكبريتيك المركز بحذر على طول جوانب الأنبوب الاختبار، مع الحرص على عدم إزعاج محتويات الأنبوب قدر الإمكان.

### 2. Iodine test:

1. To two ml of your test solution ( unknown), add few drops of diluted HCl
2. Add 2 drops of iodine solution
3. A **blue color** indicates positive result
4. Heat the colored solution and observe the disappearance of the color

Iodine test give A+e result ( blue color complex) with starch as a polysaccharides.



يعطي اختبار اليود نتيجة A+e (مركب أزرق اللون) مع النشا كعديد السكاريد.

### 3. Benedict's test

1. In a tube add 5 ml of benedict reagent
2. Add 8 drops of your test solution (unknown) and mix
3. Heat the tube in boiling water bath for 5 min
4. Positive result is indicated by the **change in color or the formation of a precipitate yellow to brick red color**, depending upon the conc. of the glucose or reduced sugar in the solution.

4. تشير النتيجة الإيجابية إلى تغير اللون أو تكون راسب أصفر إلى أحمر طويي، اعتمادًا على تركيز الجلوكوز أو السكر المختزل في المحلول.



*Note: The appearance of red precipitate confirms the presence of carbohydrates.*

ملاحظة: ظهور راسب أحمر يؤكد وجود الكربوهيدرات.

### 4. Barfoed's test

1. Add 1 mL of the test solution (unknown) to a test tube.
2. Add 5 ml Barfoed's reagents to test tube and mix
3. Place the test tubes in a water bath and observe the time when a precipitate appears.

Thin red precipitates indicate the presence of a **reduction of monosaccharide** at the bottom or sides of the tube.

تشير الرواسب الحمراء الرقيقة إلى وجود اختزال للسكريات الأحادية في قاع الأنبوب أو جوانبه.



**Positive Barfoed's test for monosaccharides: glucose, fructose.**

**Note:** The boiling should not be prolonged beyond 1-2min, otherwise the disaccharide reduction will respond to this test as well.

ملاحظة: يجب ألا تطول مدة الغليان لأكثر من 1-2 دقيقة، وإلا فإن اختزال السكريات الثنائية سيستجيب لهذا الاختبار أيضًا.

## 5. Seliwanoff's test

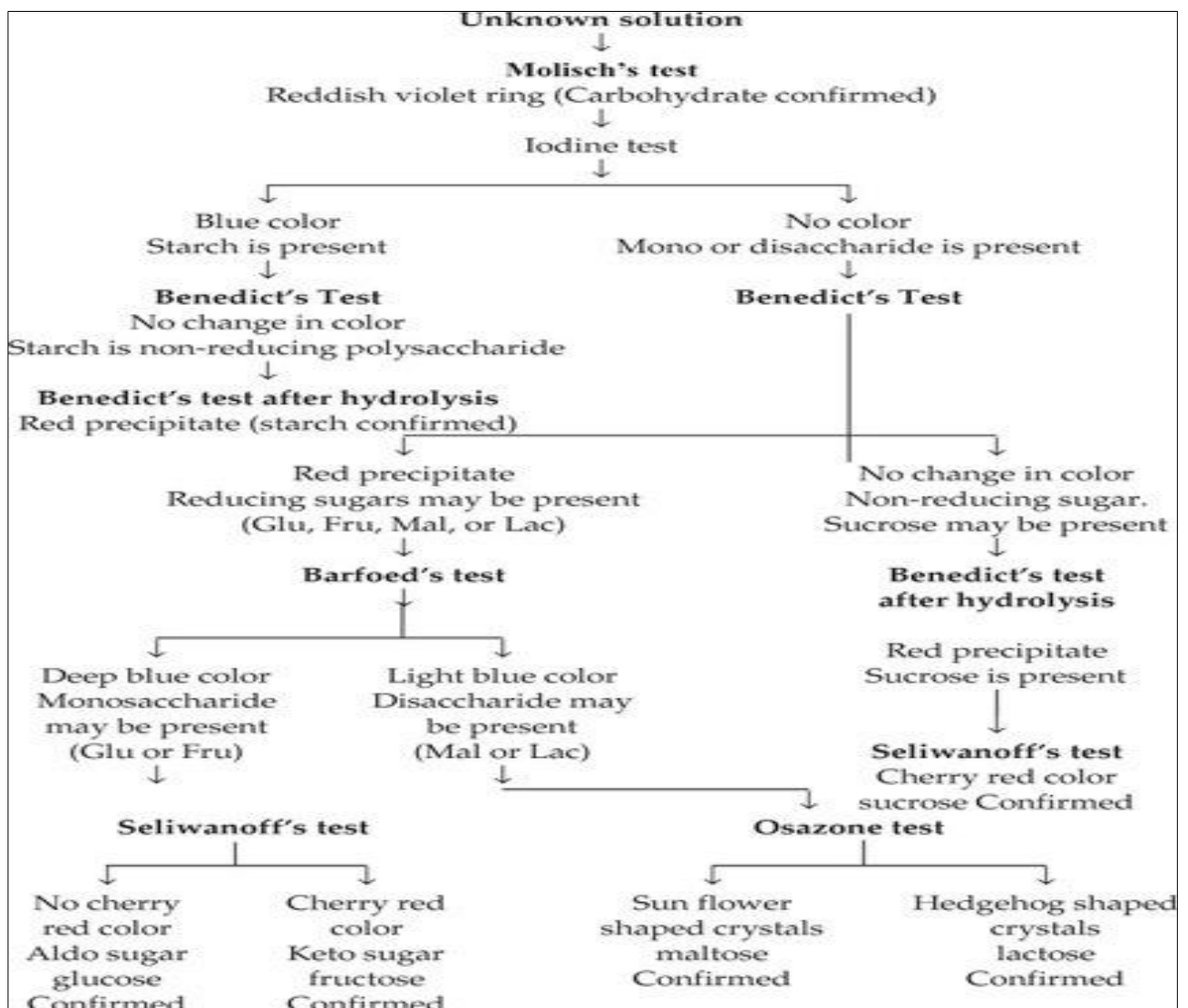
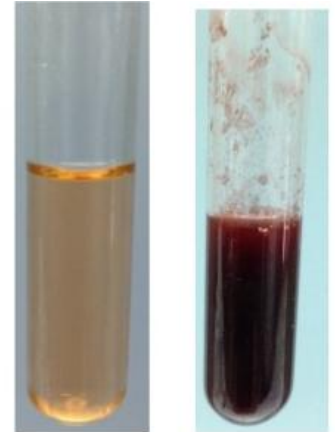
1. Add 1 mL of the test solution (unknown) to about 2 mL of the Seliwanoff reagent
2. Heat the test tube in boiling water bath for 10-20 min or just heat to boiling.

A positive reaction is indicated by a **deep red color and formation of brown precipitate**.

يشير اللون الأحمر الداكن وتكون راسب بني إلى تفاعل إيجابي.

(The presence of **ketohexose** indicates the appearance of a **red colour (fructose)**).

(يشير وجود الكيتوهكسوز إلى ظهور لون أحمر (الفركتوز)).



## Summary

Biochemical test	Glucose	Fructose	Maltose	Lactose	Sucrose	Starch
Molisch	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>
Benedict	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>
Barfoed	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>
Seliwanoff	<b>Negative</b>	<b>Positive</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Positive</b>	<b>Negative</b>
Iodine	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Negative</b>	<b>Positive</b>