

# ĆWICZENIE III

## Badanie właściwości cukrów, kwasów karboksylowych, tłuszczów, aminokwasów na podstawie wybranych reakcji chemicznych

### I. Właściwości chemiczne cukrów

#### 1. Próby redukcyjne

Najczęściej stosowanymi do utleniania grupy aldehydowej akceptorami elektronów są jony metali ciężkich:  $\text{Cu}^{2+}$  ( próby: Fehlinga, Trommera, Hainesa, Benedicta),  $\text{Bi}^{3+}$  (próba Nylandera) i  $\text{Ag}^+$  (próba Tollensa).

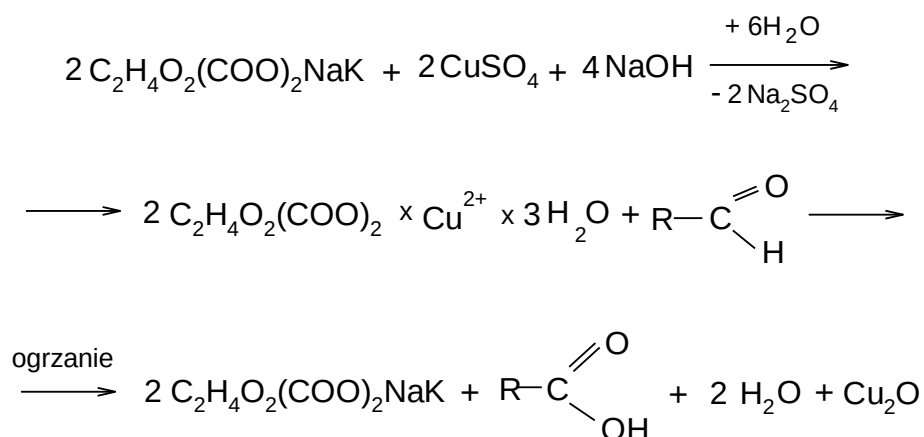
Monosacharydy (aldozy i  $\alpha$ -hydroksyketozy) wykazują również zdolność redukcji powyższych jonów w środowisku alkalicznym, same zaś utleniają się do odpowiednich kwasów. Aldozy ulegają tej reakcji ze względu na obecność grupy  $-\text{CHO}$ , natomiast ketozy w środowisku alkalicznym ulegają izomeryzacji do odpowiedniej aldozy. W warunkach prób redukcyjnych, podczas zużywania formy łańcuchowej, cząsteczki pierścieniowe kolejno przechodzą w cząsteczki łańcuchowe. W efekcie tych przemian zwiększa się również ilość produktów zredukowanych ( $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{1+}$ ,  $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$  itp.). Właściwości redukcyjne wykazują także disacharydy, które posiadają wolną, niezablokowaną grupę  $-\text{OH}$  przy węglu glikozydowym (półacetalowym).

Utleniane mogą być albo grupa aldehydowa, albo I-rzędowa grupa alkoholowa albo obie grupy w zależności od warunków utleniania. Łagodne utlenianie prowadzi do utlenienia grupy aldehydowej, w wyniku czego powstają kwasy R-onowe, w wyniku energicznego utleniania powstają kwasy dikarboksylowe R-cukrowe, a jeśli utlenieniu ulega tylko grupa alkoholowa I-rzędowa powstają kwasy R-uronowe. W tym ostatnim przypadku utlenianie winno odbywać się tylko po zablokowaniu grupy aldehydowej, co ma miejsce podczas przemian biochemicznych w żywych organizmach.

#### a) Próba Fehlinga

W próbie Fehlinga po zmieszaniu odczynników Fehling I ( $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  w rozcieńczonym  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) i Fehling II (roztwór winianu sodowo-potasowego i  $\text{NaOH}$ ) powstaje zasadowy roztwór kompleksu miedzi z winianem, co zapobiega wytrącaniu

się osadu  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  i maskowaniu końcowego produktu reakcji - czerwonego osadu  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Dodany aldehyd ulega utlenieniu oddając elektrony, których akceptorem jest dwuwartościowa miedź. Kompleks miedzi z winianem po ogrzaniu rozpada się i powstaje czerwony osad tlenku miedzi (I).



### Wykonanie:

Zmieszać po 1 ml roztworów Fehling I i II, ogrzać do wrzenia aby sprawdzić czy nie wystąpi redukcja własna odczynnika. Następnie dodać kilka kropli roztworu (glukozy, sacharozy) i ponownie ogrzać. Pojawia się osad o barwie pomarańczowej do czerwonej, zależnie od stanu rozproszenia powstającego tlenku miedzi(I). Sacharoza tej próby nie daje.

### *b) Próba Trommera z glukozą*

Próbie redukcyjną  $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{1+}$  można wykonać także bez stosowania soli Seignetta (związku solubilizującego  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ), gdyż sam cukier posiada kilka grup hydroksylowych, które mogą w podobny sposób solubilizować wodorotlenek miedzi. W próbie Trommera ważne jest dodanie tylko nieznacznej ilości roztworu  $\text{CuSO}_4$ , aby nie przekroczyć molekularnego stosunku cukier :  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (1:1) i wtedy otrzymuje się efekt próby identyczny, jak w próbie Fehlinga. Jeśli jednak roztwór  $\text{CuSO}_4$  zostanie dodany w nadmiarze, to po ogrzaniu otrzymuje się czarny osad  $\text{CuO}$ , który będzie maskował powstały równolegle czerwony osad  $\text{Cu}_2\text{O}$ .

### Wykonanie:

Do 1 ml roztworu glukozy dodać około 1 ml 2 M roztworu  $\text{NaOH}$ , po czym dodawać kroplami roztwór  $\text{CuSO}_4$  dopóty, dopóki strącający się  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  jeszcze się rozpuszcza przy wstrząsaniu płynu. Podgrzać w płomieniu palnika górną część płynu do wrzenia. Powstaje żółtopomarańczowy lub czerwony osad tlenku miedzi(I).

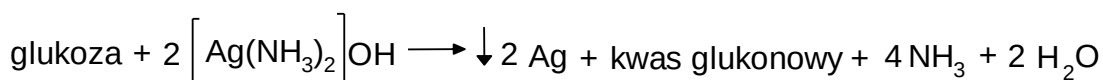
Gdyby dodano zbyt dużo  $\text{CuSO}_4$  i wytrącający się osad  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  nie rozpuszczał się, należy przed ogrzaniem próby osad odsączyć.

### *c) Próba Tollensa (próba lustra srebrowego) — 1 próba na salę*

Odczynnik Tollensa stanowi roztwór wodorotlenku diaminasrebra, który przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem w czystej, dokładnie odtłuszczonej probówce.

#### Wykonanie:

Do dokładnie odtłuszczonej probówki odmierzyć 1 ml 0,1 M roztworu  $\text{AgNO}_3$  i wkraplać ostrożnie 2 M roztwór amoniaku  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Najpierw powstaje zmętnienie i osad  $\text{AgOH}$ , który po dodaniu dalszych kropli roztworu amoniaku rozpuszcza się wskutek powstania związku kompleksowego  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ . Do przyrządzonego w ten sposób odczynnika dodać 8 kropli badanego roztworu (glukozy lub laktozy), zmieszać i ogrzewać na wrzącej łaźni wodnej lub w płomieniu palnika. Po pewnym czasie na ściankach probówki wydziela się metaliczne srebro w postaci lustra.



### *d) Próba Barfoeda z glukozą i laktozą*

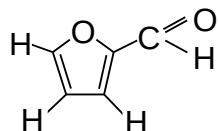
Próba służy do odróżnienia cukrów prostych od dwucukrów redukujących. Dwucukry redukujące dają dodatni wynik reakcji dopiero po dłuższym ogrzaniu, a więc dopiero po hydrolizie do cukrów prostych. Próba jest stosowana w diagnostyce cukromoczu dla odróżnienia redukcji pochodzącej od glukozy lub od laktozy.

#### Wykonanie:

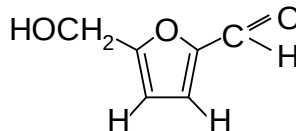
Do dwóch probówek odmierzyć po 0,5 ml odczynnika Barfoeda (roztwór octanu miedzi(II) i kwasu octowego), po czym do pierwszej dodać 1 ml roztworu glukozy, do drugiej laktozy, zmieszać i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej około 3 minut. Osad tlenku miedzi(I) pojawia się tylko w probówce zawierającej glukozę. Po dalszym ogrzewaniu (ok. 0,5 godziny) osad tlenku miedzi(I) pojawia się również w probówce zawierającej laktozę.

## 2. Próby grupowe

Stężone kwasy, takie jak kwas solny, siarkowy, a nawet octowy odwadniają cząsteczki monosacharydów w wyniku czego powstają aldehydowe pochodne furanu, z pentoz powstaje furfural, a z heksoz hydroksymetylenofurfural



furfural



hydroksymetylenofurfural

Związki te, kondensując z fenolami, dają barwne pochodne triarylometanowe (w próbach Molischa, tymolowej) lub ksantenowe (w próbach Biala, Seliwanowa). Reakcje barwne dają nie tylko monosacharydy, ale również oligo- i polisacharydy, które pod wpływem kwasu ulegają hydrolizie do cukrów prostych.

Próby Molischa i tymolowa są próbami grupowymi na cukry. Wynik ujemny wyklucza obecność węglowodanów w środowisku, natomiast wynik dodatni nie jest jeszcze dowodem wystarczającym dla stwierdzenia ich obecności. Reakcje barwne z fenolami dają również inne substancje (aldehydy, aceton, kwasy: mlekowy, cytrynowy, mrówkowy i inne).

### a) Próba Molischa

#### Wykonanie:

Do około 1 ml roztworu cukru dodać 2 krople alkoholowego roztworu  $\alpha$ -naftolu, dobrze wymieszać i podwarstwić 1 ml stężonego  $H_2SO_4$ . Po kilku minutach, na granicy warstw, powstaje czerwono-fioletowy pierścień. Czasami poniżej pierścienia pojawia się krążek zielony, który pochodzi od zanieczyszczeń  $\alpha$ -naftolu.

### b) Próba Seliwanowa na ketozy

W środowisku stężonego HCl ketoheksozy ulegają odwodnieniu o wiele łatwiej niż aldoheksozy. Powstały hydroksymetylenofurfural tworzy z rezorcyną (1,3-dihydroksybenzen) kompleks o barwie czerwonej. Próbę uważa się za dodatnią jedynie wtedy, gdy zabarwienie występuje przed upływem 1 minuty. Przy dłuższym ogrzewaniu, odczyn ten wypada również dodatnio z sacharozą i inuliną, które ulegają hydrolizie do fruktozy.

### Wykonanie:

Do około 1 ml odczynnika Seliwanowa (0,5% roztwór rezorcyny w kwasie solnym rozcieńczonym wodą w stosunku 1:2) dodać 4-5 kropli roztworu fruktozy, zmieszać i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej ok. 1 minuty, po czym oziębować. W obecności ketoz próba barwi się na jasnoczerwono, zaś przy dużych ich stężeniach powstaje osad.

### *c) Próba Biała na pentozy*

Zasada próby oparta jest również na zachowaniu się cukru wobec stężonych kwasów, po czym furfural kondensuje z orcyną w obecności  $\text{FeCl}_3$ .

### Wykonanie:

Do około 1 ml odczynnika Biała (roztwór orcyny w stężonym kwasie solnym z dodatkiem  $\text{FeCl}_3$ ) dodać 3 krople roztworu pentozy (ksylozy) i ogrzać we wrzącej łaźni wodnej. Po kilkudziesięciu sekundach roztwór zabarwia się na zielono. Heksozy w powyższych warunkach tworzą połączenia o barwie żółtej.

### *d) Próba z jodem na skrobię*

### Wykonanie:

Do około 1 ml kleiku skrobiowego dodać 1 kroplę roztworu jodu w jodku potasu. Powstaje niebieskie zabarwienie znikające po krótkim ogrzaniu próbówki w płomieniu palnika i powracające po jej oziębieniu.

## **II. Reakcje na kwasy karboksylowe**

Swoistość tych reakcji zależy albo od rodnika organicznego, z którym połączona jest grupa karboksylowa albo od obecności w cząsteczce drugiej, innej grupy funkcyjnej. Kwasy karboksylowe w porównaniu z kwasami mineralnymi są kwasami słabymi, ale mocniejszymi od kwasu węglowego.

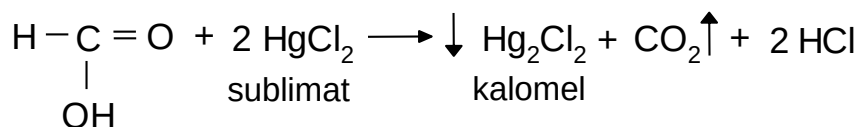
### *1. Wypieranie $\text{CO}_2$ z kwaśnego węglanu sodowego*

### Wykonanie:

Do około 1 ml roztworu kwasu organicznego dodać około 1 ml 5%  $\text{NaHCO}_3$ . Wymieszać zawartość próbówki. Obserwować wydzielanie się pęcherzyków dwutlenku węgla  $\text{CO}_2$ .

## 2. Próba na kwas mrówkowy

Kwas mrówkowy dzięki obecności grupy aldehydowej posiada właściwości redukujące



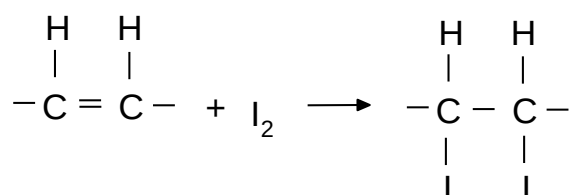
### Wykonanie:

Do około 1 ml roztworu kwasu mrówkowego dodać kilka kropli roztworu sublimatu  $\text{HgCl}_2$  i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej do pojawienia się białego osadu kalomelu  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ .

## III. Reakcje na kwasy tłuszczowe i lipidy

### 1. Przyłączanie chlorowca do nienasyconych kwasów tłuszczowych

Jod (lub inne chlorowce) łatwo przyłącza się w miejscu podwójnego wiązania, w wyniku czego brunatny roztwór jodu odbarwia się na skutek powstania bezbarwnego związku z organicznie związanym jodem.



### Wykonanie:

Do 3 kropli oliwy dodawać kroplami odczynnik Hűbla (roztwór jodu i chlorku rtęci(II) w alkoholu). Płyn odbarwia się po pewnym czasie w temperaturze pokojowej lub natychmiast po ogrzaniu.

### 2. Rozpuszczalność tłuszczów

Tłuszcze posiadają długie hydrofobowe reszty kwasów tłuszczowych i dlatego rozpuszczają się dobrze w rozpuszczalnikach nie polarnych, takich jak chloroform, eter, benzen, nie rozpuszczają się natomiast w rozpuszczalnikach polarnych.

### Wykonanie:

**a)** kilka kropli oliwy zalać 3 ml wody i wytrząsnąć. Tworzy się nietrwała emulsja tłuszczu w wodzie, która po pewnym czasie rozdziela się na dwie warstwy,

**b)** do kilku kropli oliwy dodać 2 ml chloroformu i wstrząsnąć. Tłuszcz ulega całkowitemu rozpuszczeniu.

### **3. Powstawanie mydeł**

Ogrzewanie tłuszczu w środowisku alkalicznym doprowadza do hydrolizy wiązań estrowych, a uwolnione kwasy tłuszczowe tworzą z jonami sodu lub potasu rozpuszczalne sole, zwane mydlami. Z roztworów mydeł rozpuszczalnych można wytrącać mydła nierozpuszczalne odpowiednimi jonami ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ).

#### Wykonanie:

Do kilku kropli oliwy dodać 3-4 ml alkoholowego roztworu KOH, mieszaninę ogrzewać kilka minut we wrzącej łaźni wodnej. Do mieszaniny dodać 10 ml wody destylowanej i wstrząsnąć. Pienienie się roztworu świadczy o obecności mydeł.

## **IV. Reakcje na niektóre aminokwasy**

### *Próba ksantoproteinowa na aminokwasy aromatyczne*

Aminokwasy zawierające pierścień benzenowy (np. tyrozyna) pod wpływem stęż.  $\text{HNO}_3$  ulegają nitrowaniu, w wyniku czego powstają pochodne nitrowe o barwie żółtej. Po zalkalizowaniu, związki nitrowe słabo dysocjują i barwa roztworu zmienia się na pomarańczową. Próbę tę dają również inne związki aromatyczne, jak fenol, benzen itp., a także większość białek, gdyż zawierają aminokwasy aromatyczne.

#### Wykonanie:

Do 1 ml roztworu aminokwasu aromatycznego (tyrozyny) dodać 5 kropli stęż.  $\text{HNO}_3$ , po podgrzaniu roztwór żółknie.