

ĆWICZENIE 5

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

I. Reakcje na cukry

1. Próby redukcyjne

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

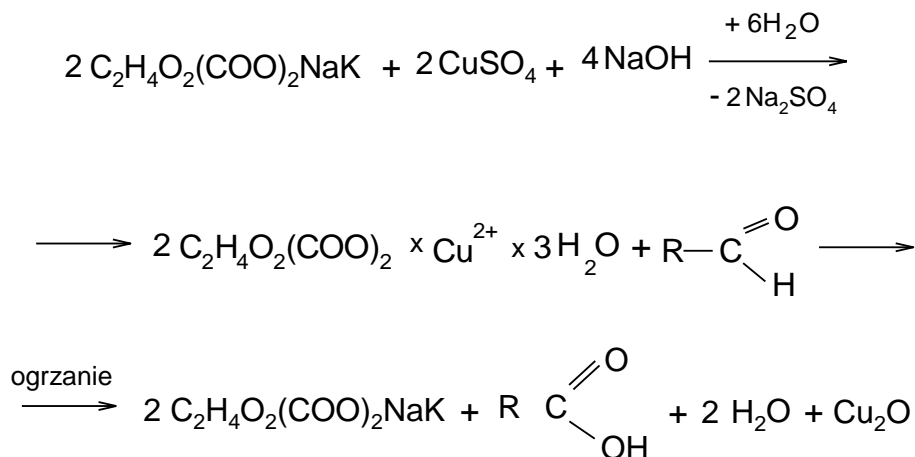
Monosacharydy (aldozy i α -hydroksyketozy) wykazują również zdolność redukowania powyższych jonów w środowisku alkalicznym, same zaś utleniają się do odpowiednich kwasów. Aldozy ulegają tej reakcji ze względu na obecność grupy $-\text{CHO}$, natomiast ketozy w środowisku alkalicznym ulegają izomeryzacji 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 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ w rozcieńczonym H_2SO_4) i Fehling II (roztwór winianu sodowo-potasowego i 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 Cu_2O . 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, fruktozy, 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 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 CuSO_4 zostanie dodany w nadmiarze, to po ogrzaniu otrzymuje się czarny osad CuO , który będzie maskował powstały równoległe czerwony osad Cu_2O .

Wykonanie:

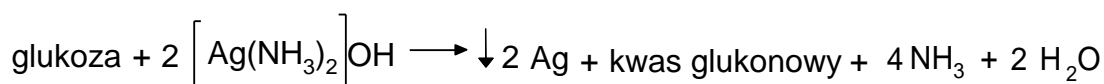
Do 1 ml roztworu glukozy dodać około 1 ml 2 M roztworu NaOH, po czym dodawać kroplami roztwór CuSO_4 dopóty, dopóki strącający się $\text{Cu}(\text{OH})_2$ jeszcze się rozpuszcza przy wstrząsaniu płynu. Ogrzać we wrzącej łaźni wodnej. Powstaje żółtopomarańczowy lub czerwony osad tlenku miedzi(I). Gdyby dodano zbyt dużo 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)

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

Wykonanie:

Do dokładnie odtłuszczonej probówki (**probówki i odczynniki do próby Tollensa znajdują się pod dygestorium**) odmierzyć 1 ml 0,1 M roztworu AgNO_3 i wkraplać ostrożnie 2 M roztwór amoniaku $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Najpierw powstaje zmętnienie i osad 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, fruktozy i sacharozy), 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*

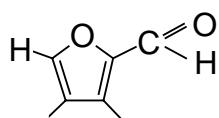
Próba służy do odróżnienia cukrów prostych od dwucukrów redukujących. Dwucukry redukujące dają dodatni wynik reakcji dopiero po dłuższym ogrzaniu, a więc dopiero po hydrolizie do cukrów prostych. Próba jest stosowana w diagnostyce cukromoczu dla odróżnienia redukcji pochodzącej od glukozy lub od laktozy.

Wykonanie:

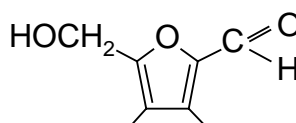
Do dwóch probówek odmierzyć po 0,5 ml odczynnika Barfoeda (roztwór octanu miedzi(II) i kwasu octowego) (**odczynnik znajduje się pod dygestorium**), po czym do pierwszej dodać 1 ml roztworu glukozy, do drugiej laktozy, zmieszać i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej około 5 minut. Osad tlenku miedzi(I) pojawia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

3. Próby grupowe na cukry

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



H H
furfural



H H
hydroksymetylenofurfural

Związki te, kondensując z fenolami, dają barwne pochodne triarylometanowe (w próbach Molischa, tymolowej) lub ksantenowe (w próbach Biała, 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 5 kropli alkoholowego roztworu α -naftolu (**pod dygestorium**), 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 α -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. 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) (**pod dygestorium**) dodać 10 kropli roztworu fruktozy, zmieszać i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej ok. 3 minuty. W drugiej probówce wykonać tą samą próbę stosując glukozę i porównać wyniki. 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 $FeCl_3$.

Wykonanie:

Do około 1 ml odczynnika Biała (roztwór orcyny w stężonym kwasie solnym z dodatkiem $FeCl_3$) (**pod dygestorium**) dodać 3 krople roztworu pentozy (ksylozy) i ogrzać we wrzącej łaźni wodnej. W drugiej probówce wykonać tą samą próbę stosując glukozę i porównać wyniki. Po krótkim ogrzewaniu roztwór pentozy zabarwia się na zielono. Heksozy w powyższych warunkach tworzą połączenia o barwie żółtej.

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.

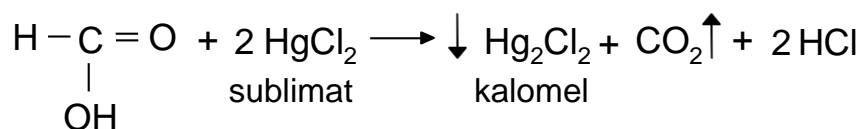
1. Wypieranie CO₂ z kwaśnego węglanu sodowego

Wykonanie:

Do około 1 ml roztworu kwasu organicznego dodać około 1 ml 5% NaHCO₃. Wymieszać zawartość probówki. Obserwować wydzielanie się pęcherzyków dwutlenku węgla CO₂.

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 HgCl₂ i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej do pojawienia się białego osadu kalomelu Hg₂Cl₂.

3. Próba na kwas mlekowy

Kwas mlekowy (2-hydroksypropanowy) podobnie jak i inne 2-hydroksykwasy zmienia barwę odczynnika Uffelmana na kolor żółto-zielony.

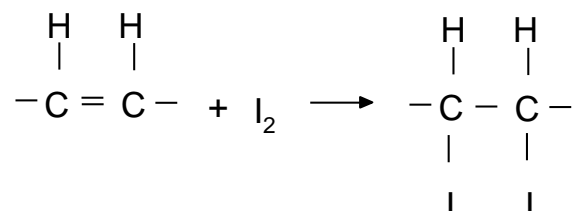
Wykonanie:

Do około 1 ml roztworu kwasu mlekowego dodać kilka kropli odczynnika Uffelmana (FeCl₃ w 1% roztworze fenolu) (**pod dygestorium**). Kwas mlekowy zmienia fioletową barwę odczynnika na barwę jasno żółto-zieloną.

III. Reakcje na kwasy tłuszczowe

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) (**pod dygestorium**). 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 niepolarnych, 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 mydłami. Z roztworów mydeł rozpuszczalnych można wytrącać mydła nierozpuszczalne odpowiednimi jonami (Ba^{2+} , Ca^{2+} , 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 związków aromatycznych i heterocyklicznych

1. Reakcja fenolu

Wykonanie:

Do około 1ml wodnego roztworu fenolu dodać kroplę roztworu FeCl_3 . Powstaje fioletowe zabarwienie, które znika po zakwaszeniu.

2. Próba na kwas salicylowy

Wykonanie:

Kilka kryształków kwasu salicylowego rozpuścić w 1 ml wody i dodać 1 kroplę roztworu FeCl_3 . Podobnie jak w roztworze fenoli występuje fioletowe zabarwienie.

3. Reakcja Folina na kwas moczowy

Wykonanie:

Kilka kryształków kwasu moczowego rozpuścić w 1ml destylowanej wody, dodać kilka kropli kwasu fosforowolframowego, następnie dodać kilka kropli 2M NaOH. Powstaje niebieskie zabarwienie połączeń zredukowanego wolframu.