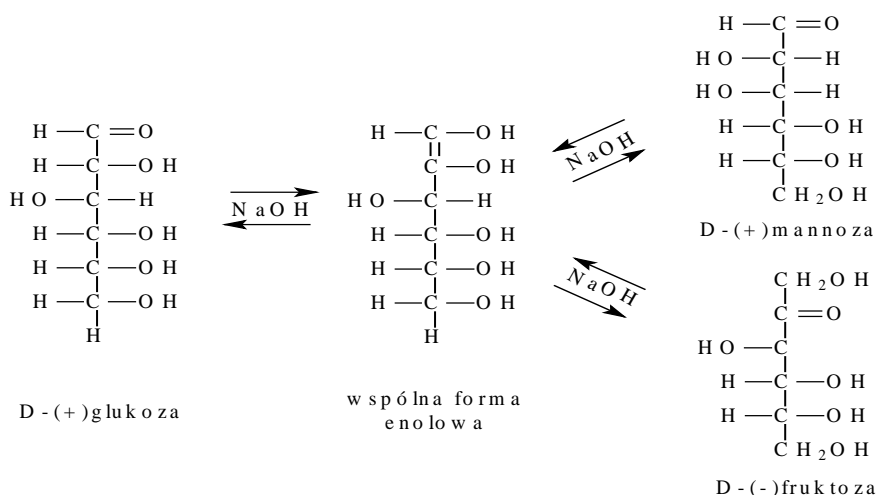


8. WŁASNOŚCI REDUKCYJNE WĘGLOWODANÓW

ODCZYNY REDUKCYJNE CUKRÓW

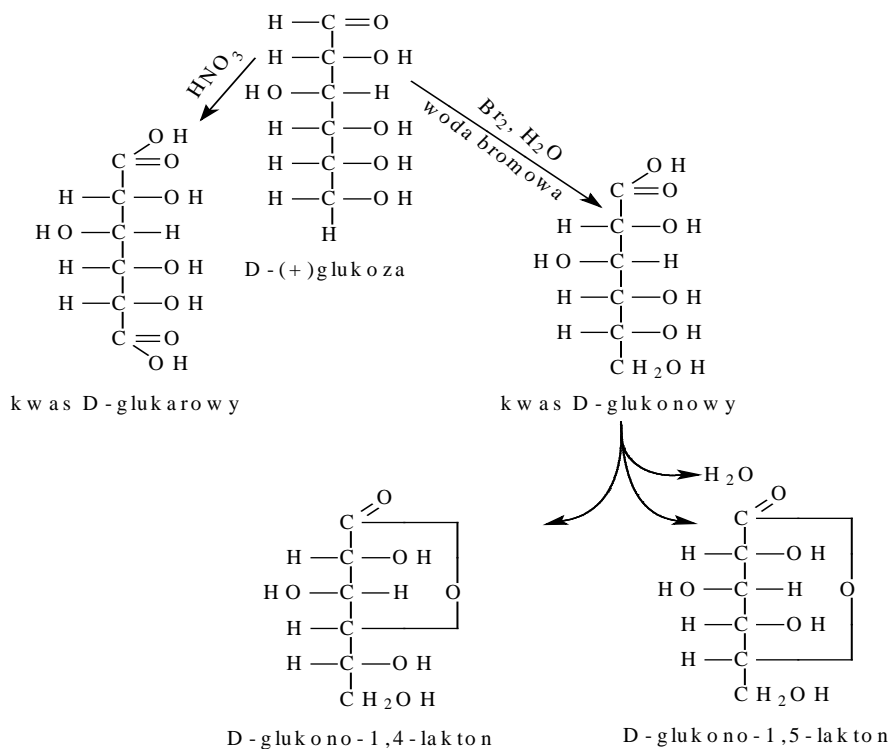
Zasada:

Cukry krystaliczne oraz cukry rozpuszczone w roztworach obojętnych lub słabo kwaśnych w temperaturze pokojowej występują najczęściej w formach pierścieniowych. Formy te pozbawione są wolnej grupy redukującej, ponieważ uczestniczy ona w tworzeniu wewnątrzcząsteczkowego hemiacetalu. Natomiast w roztworach zasadowych lub silnie kwaśnych cukry są obecne przede wszystkim w formach łańcuchowych, dzięki czemu mają wolne grupy aldehydowe, bądź ketonowe. W tych warunkach cukry mogą zachowywać się, jak typowe aldehydy lub ketony. Istotna różnica między aldehydami i ketonami polega na ich odmiennym zachowaniu się wobec odczynników utleniających. Aldehydy bardzo łatwo redukują słabe utleniacze (np. Cu^{+2} , Ag^+), wykazując swe własności redukcyjne, natomiast ketony z tymi słabymi utleniaczami nie reagują. Jednak cukry, które są ketonami, np. fruktoza, w środowisku zasadowym redukują słabe utleniacze – podobnie jak aldozy. Wynika to z faktu, że ketozy (oraz aldozy) w środowisku zasadowym przechodzą w formę łańcuchową, która dzięki przegrupowaniu tautomerycznemu do 1,2-endiolu pozostaje w równowadze z epimerycznymi aldozami.



Enolizacja monosacharydów w środowisku zasadowym (NaOH) doprowadza do równowagi między epimerycznymi aldozami i ketozami. Własności redukcyjne są wykorzystywane do wykrywania oraz ilościowego oznaczania cukrów. Najbardziej znane są próby, w których cukier redukuje kation metalu, sam utleniając się do kwasów aldonowych. Redukowanymi kationami są: Cu^{+2} w próbach Fehlinga, Benedicta, Barfoeda, Trommera; Ag^+ w próbie Tollensa (próba lustra srebrnego); Bi^{+3} w próbie Nylandera. Wygodnym odczynnikiem do utleniania aldoz jest woda bromowa, pod wpływem której powstają kwasy aldonowe, z glukozy w tych warunkach powstaje kwas glukonowy. Kwasy aldonowe występują w uprzywilejowanej formie laktonowej.

Natomiast pod wpływem silniejszych utleniaczy (HNO_3) aldozy utleniają się do kwasów aldarowych, czyli polihydroksykwasów dikarboksylowych, zwanych



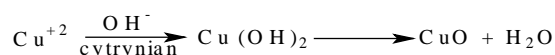
również kwasami cukrowymi. Poza tym pod wpływem stężonych zasad i podwyższonej temperatury cukry mogą ulegać rozkładowi do di-, tri-, tetrawęglowych fragmentów o właściwościach silnie redukujących (np. aldehydu mrówkowego, glikolowego, triozy, tetrozy), które kondensują ze sobą do połączeń o brunatnym zabarwieniu.

1. Odczyn Benedicta

Zasada:

W skład odczynnika Benedicta wchodzi CuSO_4 , Na_2CO_3 i cytrynian trisodowy. Cytrynian zapobiega wytrącaniu się osadu $\text{Cu}(\text{OH})_2$, ponieważ tworzy z nim związek kompleksowy. Węglan sodu alkalizuje środowisko, ale w mniejszym stopniu niż np. NaOH stosowany w próbie Fehlinga. Sprawia to, że odczyn Benedicta jest bardziej specyficzny dla cukrów niż odczyn Fehlinga, gdyż reakcja przebiega w pH nieco niższym, a w tych warunkach kationy Cu^{+2} nie są redukowane przez inne związki, które mogą być obecne w materiale biologicznym i dają dodatni odczyn Fehlinga, np. kreatynina lub kwas moczowy.

W odczynie Benedicta kation Cu^{+2} ulega redukcji do Cu^+ .



W środowisku zasadowym dodatni odczyn Benedicta dają również disacharydy, ale tylko te, w których jeden monocukier ma wolny atom węgla anomerycznego. Monocukier z wolnym atomem węgla anomerycznego przechodzi wtedy w formę łańcuchową, dzięki czemu wykazuje własności redukujące. Disacharydy, które są utworzone z dwóch cukrów połączonych poprzez oba atomy węgla anomerycznych (sacharoza lub trehaloza), nie dają dodatniego odczynu Benedicta.

Wykonanie:

- Przygotować cztery próbki zawierające po 0,5 ml odczynnika Benedicta.
- Następnie dodać po:
 - 2 krople 0,5% roztworu glukozy – do pierwszej próbki,
 - 2 krople 0,5% roztworu fruktozy – do drugiej próbki,
 - 4 krople 0,5% roztworu maltozy lub laktozy – do trzeciej próbki,
 - 4 krople 0,5% roztworu sacharozy lub trehalozy – do czwartej.
- Wszystkie próby wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 3 minuty. Po ochłodzeniu pod bieżącą wodą, w próbach zawierających cukry redukujące wytrąca się pomarańczowoczerwony osad Cu_2O .
- Porównać wyniki reakcji w analizowanych próbach.

2. Odczyn Barfoeda, odróżnianie monosacharydów od disacharydów redukujących

Zasada:

W odczynie Barfoeda redukcję kationów Cu^{+2} do Cu^+ przeprowadza się w środowisku słabo kwaśnym rozcieńczonego kwasu mlekowego. W tych warunkach reakcja redukcji przebiega wolniej niż w środowisku zasadowym. Szybkość reakcji z udziałem monosacharydów różni się od szybkości reakcji z udziałem disacharydów redukujących. Monocukry dają dodatni wynik odczynu wkrótce po ogrzaniu mieszaniny reakcyjnej, natomiast disacharydy redukujące dopiero po dłuższym ogrzewaniu.

Wykonanie:

- Przygotować trzy próbki zawierające po: 1 ml odczynnika Barfoeda.
- Następnie dodać:
 - 5 kropli 0,5% roztworu glukozy – do pierwszej próbki,
 - 5 kropli 0,5% roztworu maltozy lub laktozy – do drugiej próbki,
 - 5 kropli 0,5% roztworu sacharozy lub trehalozy – do trzeciej.
- Wszystkie próby wstawić do wrzącej łaźni wodnej i ogrzewać przez 3 minuty. Po tym czasie wytrąci się czerwony osad Cu_2O w mieszaninie zawierającej monocukier redukujący, próbę tę wyjąć z łaźni.
- Pozostałe próby ogrzewać dalej do 20 minut.
- Porównać wyniki reakcji w analizowanych próbach.

3. Hydroliza kwasowa skrobi

Zasada:

W skrobi, ogrzewanej w środowisku rozcieńczonych kwasów, rozrywane są wiązania glikozydowe, z towarzyszącym przyłączeniem jednej cząsteczki wody na każde hydrolizowane wiązanie. Początkowymi produktami hydrolizy są dekstryny, czyli krótsze fragmenty skrobi, wśród których kolejno pojawiają się: amylodekstryny, barwiące się z jodem na kolor niebieskofioletowy, erytrodekstryny, barwiące się z jodem na kolor brunatnoczerwony i achrodekstryny, które nie dają zabarwienia z jodem. Poza dekstrynami w trakcie hydrolizy zaczynają pojawiać się reszty maltozy i glukozy, czyli cukry redukujące, które można wykryć, stosując jeden z odczynów na cukry redukujące. Ostatecznym, końcowym produktem hydrolizy kwasowej skrobi jest glukoza.

Wykonanie:

- Przygotować w statywie dwa szeregi po 10 probówek.
- Do probówek jednego szeregu wprowadzić po 1 kropli rozcieńczonego płynu Lugola.
- Do probówek drugiego szeregu odmierzyć po 1 ml 2 M roztworu NaOH i po 1 ml odczynnika Benedicta.
- Do zlewki odmierzyć 30 ml 1% roztworu kleiku skrobiowego oraz dodać 12 ml 1 M roztworu H₂SO₄, wymieszać i natychmiast pobrać 1 ml mieszaniny, z której dodać:
 - 0,5 ml do probówki pierwszego szeregu (z płynem Lugola) i
 - 0,5 ml dodać do probówki drugiego szeregu (z odczynnikiem Benedicta) – probówkę tę wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 3 min.
- Zawartość zlewki ogrzewać na płytce elektrycznej.
- Począwszy od 10 do 50 min trwania ogrzewania hydrolizatu, pobierać w 5-minutowych odstępach czasu po 1 ml hydrolizatu, który (podobnie jak wcześniej) rozlać po 0,5 ml do uprzednio przygotowanych dwóch szeregów probówek.
- Probówki z odczynnikiem Benedicta po dodaniu hydrolizatu należy zaraz wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 3 minuty. Hydrolizę skrobi prowadzić do zaniku barwy z jodem.
- Wyróżnić kolejne stadia hydrolizy kwasowej skrobi i określić, na którym etapie zaczynają pojawiać się cukry redukujące. Wyjaśnić, dlaczego do prób z odczynnikiem Benedicta dodawany jest roztwór NaOH.

ODCZYNNIKI

0,5% roztwór glukozy; 0,5% roztwór fruktozy; 0,5% roztwór maltozy lub laktozy; 0,5% roztwór sacharozy lub trehalozy; odczynnik Benedicta (173 g bezwodnego cytrynianu trisodowego i 90 g Na₂CO₃ bezwodnego rozpuścić w 600 ml gorącej wody, przesączyć i dodać 100 ml 17,3% roztworu CuSO₄ · 5H₂O, mieszaninę uzupełnić wodą do 1000 ml); odczynnik Barfoeda (13,3 g octanu miedzi (II) rozpuścić w 200 ml H₂O i po przesączeniu dodać 1,8 ml kwasu octowego lodowatego; modyfikacja Taubera i Kleinera: rozpuścić na gorąco 24 g octanu miedzi (II) w 450 ml H₂O i dodać 25 ml 8,5% roztworu kwasu mlekowego); 1% roztwór kleiku skrobiowego (1 g skrobi zawiesić w 10 ml zimnej wody, po czym zawiesinę tę wlać do 80 ml wrzącej wody – po rozpuszczeniu ostudzić i uzupełnić wodą do 100 ml); roztwór jodu w jodku potasu (płyn Lugola – 2 g KJ rozpuścić w 5 ml H₂O i w tym roztworze rozpuścić 1 g jodu, po czym uzupełnić wodą do 300 ml – jest to roztwór macierzysty, który przed użyciem rozcieńcza się 150 razy); 2 M roztwór NaOH; 1 M roztwór H₂SO₄.