

IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE AZUCARES

REACCION DEL ACIDO MUCICO

Este ensayo permite la identificación de la galactosa o de los azúcares que la contienen. El ácido nítrico oxida tanto al grupo aldehído como al alcoholico primario de cualquier azúcar para originar ácidos dicarboxílicos que han recibido el nombre general de ácidos sacáricos. El ácido mícico o galactárico es el menos soluble en agua acidificada de todos los ácidos sacáricos.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Colocar 700 mg de galactosa, glucosa y de la sustancia problema en distintos tubos de ensayo, a continuación añadir 1 ml de agua y 1 ml de HNO_3 a cada tubo. Calentar los tubos en un baño de agua hirviendo durante una hora y luego se dejan enfriar lentamente. La reacción debe considerarse positiva si aparece un precipitado blanco de cristales de ácido mícico.

REACCION DE MOLISCH

Este ensayo permite detectar la presencia de hidratos de carbono en una muestra; se basa en la acción hidrolizante y deshidratante que ejerce el ácido sulfúrico sobre estos compuestos. Como se sabe, los ácidos concentrados originan una deshidratación de los azúcares para rendir furfurales, que son derivados aldehídicos del furano. Los furfurales se condensan con los fenoles para dar productos coloreados característicos, empleados frecuentemente en el análisis colorimétrico.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En un tubo de ensayo se depositan 10 ml de una disolución al 5% de la muestra a ensayar, en un segundo tubo de ensayo se deposita la misma cantidad de una disolución también al 5% de un hidrato de carbono conocido (glucosa). Se añaden unas gotas de reactivo de Molisch (α -naftol al 5% en etanol) y se mezcla el contenido. Inclínense los tubos y déjese resbalar cuidadosamente 1 ml de ácido SO_4H_2 concentrado a lo largo de la pared del tubo de manera que se forme una capa bajo la fase acuosa. A continuación se calientan los tubos en un baño de agua unos minutos. La reacción es positiva si se forma un anillo rojo violáceo en la interfase. Esta reacción la dan todos los azúcares por lo que debe llevarse a cabo evitando la presencia de restos de papel de filtro o materiales similares en los tubos de ensayo.



REACCION DE FEHLING

Este ensayo pone de manifiesto la presencia de azúcares reductores (aldosas: glucosa, ribosa, eritrosa, etc.). Se trata de una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el Cu^{2+} que se reduce a Cu^+ . Tanto los monosacáridos como los disacáridos reductores reaccionan con el Cu^{2+} dando un precipitado rojo de óxido cuproso. La reacción tiene lugar en medio básico por lo que es necesario introducir en la reacción tartrato sódico-potásico para evitar la precipitación del hidróxido cúprico. La prueba de Fehling no es específica; otras sustancias que dan reacción positiva son los fenoles, aminofenoles, benzoína, ácido úrico, catecol, ácido fórmico, hidrazobenceno, fenilhidrazina, pirogalol y resorcinol.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El reactivo de Fehling consta de dos disoluciones que se mezclan a partes iguales en el momento de su utilización. La solución I esta formada por $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 7% en agua y la solución II por tartrato sódico-potásico al 35% en NaOH al 10% en agua. En un tubo se disuelven 500 mg de la sustancia a ensayar en 5 ml de agua. Se procede de igual manera con otros tubos que contengan azúcares reductores y no reductores conocidos. A continuación se añaden a todos los tubos 5 ml del reactivo de Fehling. Finalmente se someten a ebullición en baño de agua durante 5 minutos. La reacción debe considerarse positiva si se forma un precipitado rojo de óxido cuproso.

REACCION DE BARFOED

Este ensayo se emplea para diferenciar a los mono de los disacáridos. Estos últimos reaccionan más lentamente con el acetato cúprico, debido probablemente al tamaño molecular, aunque también pueden estar implicados otros factores tales como una interacción más compleja con los dos anillos monosacáridos.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El reactivo de Barfoed se prepara añadiendo 2.5 ml de ácido acético al 38% en agua a 100 ml de acetato cúprico al 6.6% en agua. Se disuelven 500 mg de la sustancia a ensayar en 5 ml de agua y se añaden 5 ml del reactivo de Barfoed. Se repite la operación con muestras de mono y disacáridos conocidos. Posteriormente se someten a ebullición en baño de agua y se anotan los distintos tiempos de formación del precipitado.

REACTIVOS

Reactivo de Barfoed : 50 ml de ácido acético y 100 ml de acetato cúprico al 6.6 % en agua

200 ml de sulfato cúprico al 7 % en agua

200 ml de tartrato sódico-potásico (o disódico en su defecto) al 35 % en NaOH al 10 % en agua.

50 ml de sacarosa al 5 % *

50 ml de fructosa al 5 % *

50 ml de glucosa al 5 % *

20 ml de 1-naftol al 5 % en etanol

100 ml de NaCl al 5 % en agua

*Estas disoluciones deberán conservarse en el refrigerador.

DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS

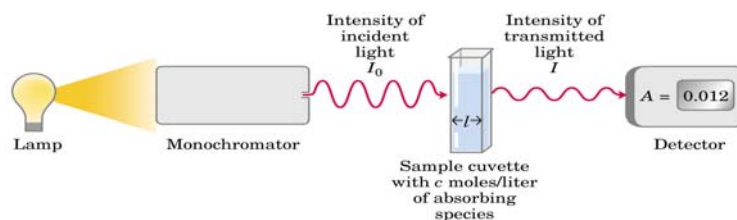
INTRODUCCION

La fracción de la luz incidente absorbida por una solución a una longitud de onda determinada es proporcional al grosor de la capa absorbente (paso óptico) y a la concentración de la especie absorbente. Estas relaciones están expresadas en la ley de Lambert-Beer.

$$\text{Log} \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot l \qquad A = \log \frac{I_0}{I}$$
$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

En donde I_0 es la intensidad de la luz incidente, I es la intensidad de la luz transmitida, ϵ es el coeficiente de absorción molar en unidades de $M^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,

c es la concentración de la especie absorbente en molar y l es el paso óptico de la muestra que absorbe en cm. A es absorbancia que es adimensional.



Componentes principales de un espectrofotómetro

El coeficiente de absorción molar ϵ está relacionado con la probabilidad de que la sustancia absorba un fotón y depende del compuesto y de la longitud de onda a la cual es determinado. En muchas ocasiones ϵ no se conoce para las condiciones concretas del ensayo y es preciso determinarlo en cada caso. Para ello se prepara una recta patrón; que consiste en una serie de disoluciones de concentraciones conocidas de la sustancia a valorar. Estas disoluciones se someten al mismo tratamiento que la disolución problema, se mide la absorbancia y se representa gráficamente la absorbancia frente a las correspondientes concentraciones. La concentración de la disolución problema se interpola directamente de la gráfica. Cuando no se conoce el rango de concentración de la solución problema es preciso realizar varias diluciones de la misma para asegurar que, al menos una de ellas, está dentro del rango de concentraciones de la recta patrón.

OBJETIVO

Determinar azúcares en soluciones acuosas: valoración colorimétrica de hidratos de carbono por el método de fenol/ácido sulfúrico usando una disolución de glucosa/sacarosa como patrón. Los resultados se expresan como g de equivalentes de glucosa/sacarosa en 100 ml.

REACTIVOS

-Acido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) **PRECAUCION MUY CORROSIVO**

-Fenol en agua al 80% en peso: 3.2 g fenol más 0.8 ml de agua. Agitar **PRECAUCION** no entrar en contacto con el fenol, prepararlo en un tubo de ensayo.

-Solución patrón de glucosa/sacarosa 1 mg/ml: disolver 100 mg en 100 ml de agua, utilizar un matraz Erlenmeyer de 100 ó 250 ml.

-Solución problema, muestra líquida con azúcares (proporcionada por los alumnos, o bien jugos de frutas comerciales). Aparte de la muestra (A) realizar dos diluciones, 1/10 y 1/100 (B y C)

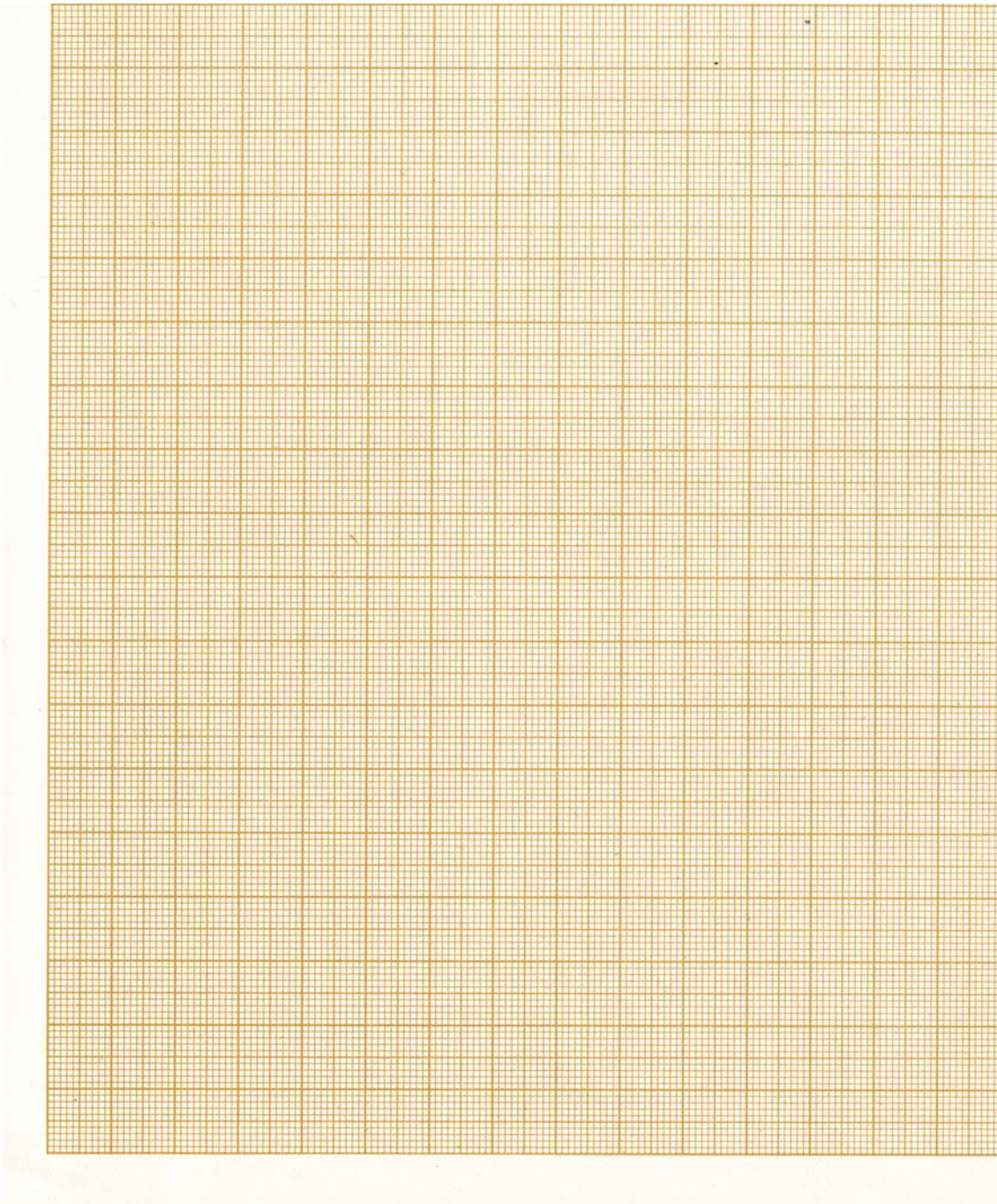
PROCEDIMIENTO

Preparación de la recta patrón y de la muestra: numerar 15 tubos de ensayo del 1 al 15, en los tubos agregue los reactivos en el orden que aparecen en la siguiente tabla. Los volúmenes en todos los casos son en mililitros.

Tubo	H ₂ O	Glu/Sac	A	B	C	Fenol	Agite y deje reposar 15 min.	H ₂ SO ₄	Agite y deje reposar 30 min.	A 540 nm	[Azúcar]		
1	1	0				0.1							
2	0.9	0.1				0.1		3					
3	0.8	0.2				0.1		3					
4	0.7	0.3				0.1		3					
5	0.5	0.5				0.1		3					
6	0.4	0.6				0.1		3					
7	0.2	0.8				0.1		3					
8	0.1	0.9				0.1		3					
9	0	1				0.1		3					
10	0	-	1			0.1		3					
11	0.5	-	0.5			0.1		3					
12	0	-		1		0.1		3					
13	0.5	-		0.5		0.1		3					
14	0	-			1	0.1		3					
15	0.5	-			0.5	0.1	3						

-Leer la absorbancia de los tubos a 540 nm

-Representar en papel milimetrado la absorbancia frente a la concentración de glucosa/sacarosa en cada tubo. Interpole la concentración de azúcar en la muestra.



Determinación cuantitativa de azúcares presentes en las bebidas cola

1. Objetivo

2. Introducción

3. Reactivos

4. Procedimiento experimental

5. Resultados

1. Objetivo

Determinación volumétrica del contenido de azúcares (glucosa y carbohidratos simples) en las bebidas cola.

2. Introducción

Determinación de glucosa y azúcares:

(Solución cupritartárica valorada - Licor de Fehling)

Este procedimiento permite una determinación de gran aproximación de los azúcares presentes en las muestras, en particular la glucosa. Este presenta una estructura química que posibilita la reducción de sustancias como: Cobre, Zinc, y Hierro, entre otras. Se encuentra constituida por 6 carbonos, todos con un grupo hidroxilo (OH^-) menos uno, que presenta un grupo carbonilo (CH_2OH^+).

La glucosa es un monosacárido que presenta estereoisomería (capacidad de una molécula en rotar el plano de la luz polarizada incidente), constituyendo dos estructuras, la α -D-glucosa y la β -D-glucosa. Este método consiste en la reducción directa de iones cúpricos divalentes (Cu^{2+}), a iones cuprosos monovalentes (Cu^+) (1). En presencia de calor, los iones cuprosos reducidos forman óxido cuproso (Cu_2O) (2), precipitado rojo ladrillo.

Reacción:

calor



calor



3. Reactivos:

Para obtener 1 l. de solución de Licor de Fehling, se deben preparar 2 soluciones por separado en matraces de 500 ml; para la solución A, se disuelven 35 g. de sulfato de cobre (CuSO_4) en 150 ml de agua destilada. Se coloca a baño maría para favorecer la disolución, y se deja enfriar en un desecador hasta adquirir la temperatura ambiente. Luego se le agrega 5 ml

de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), y se completa hasta un volumen de 500 ml con agua destilada.

Para la solución B, se disuelven 173 g. de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle; $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y 50 g. de hidróxido de sodio (NaOH) en 400 ml. de agua destilada. Se coloca a baño maría para favorecer la disolución, y se deja enfriar en un desecador hasta temperatura ambiente. Finalmente, se completa el volumen con agua destilada a 500 ml. Para hacer el análisis se debe preparar una solución patrón de glucosa en agua, disolviendo 0,5 g, de glucosa anhidra (P.F. 146°C .) en 100 ml de agua destilada.

Se prepara una solución (solución CC) colocando una muestra de bebida cola a baño maría; con calentamiento leve e interrumpido, sin dejar que se concentre y varíe el volumen. De este modo se logra eliminar el dióxido de carbono presente, y evitar la posibilidad de cualquier tipo de interferencia en el proceso y en los resultados.

4. Procedimiento experimental:

Mezclar a partes iguales la solución A y B, para un volumen final de 10 ml; se le agrega 40 ml de agua, y se lleva a ebullición.

Se coloca la solución de glucosa en una bureta y se titula hasta reducción total. Este punto se determina por el cambio de color de celeste a rojo ladrillo, proporcionado por el óxido cuproso (Cu_2O).

Se calcula la cantidad de glucosa que reduce 10 ml de solución cupritartárica.

Volver a repetir el procedimiento utilizando para la titulación la solución CC; verificando cuantos mililitros de ésta se utilizan en la reducción total.

5. Resultados:

Tablas de reducciones

SOLUCIÓN PATRÓN		
Sol. cupritartárica (ml)	Sol. de GLUCOSA (ml.)	GLUCOSA (g.)
10	9.1	0,0455

COCA-COLA			
Sol. cupritartárica (ml)	Sol. de COCA-COLA (ml)	[azúcares] (g)	[azúcares] (g)
10	0,5	0,0455	91