

## IDENTIFICAZIONE DI UN CARBOIDRATO

I carboidrati, in base alla loro struttura, possono essere classificati come **derivati aldeidici o chetonici di poliidrossialcoli**; possono inoltre essere classificati in base al numero di atomi di carbonio che contengono (pentosi, esosi, ecc.), oppure per il **numero di monomeri che contengono in mono-, di-oligo-, polisaccaridi**.

A seconda che i carboidrati abbiano o meno la funzione aldeidica o chetonica impegnata in un legame glicosidico (che li rendono rispettivamente non ossidabili o viceversa) essi possono essere suddivisi anche in **carboidrati non riducenti o riducenti**.

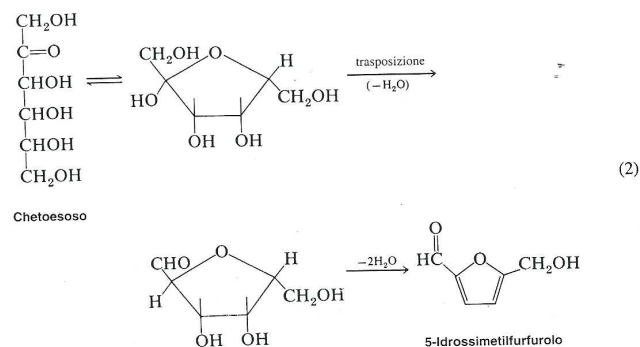
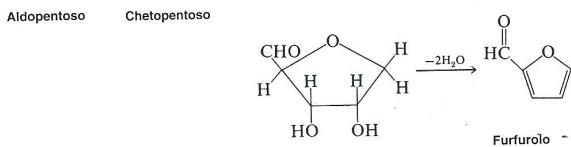
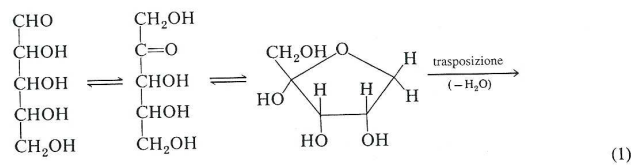
### Immagine tratte da:

- D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz  
Il laboratorio di chimica organica  
a cura di P. Grünanger  
Edizioni Sorbona, Milano, 1994

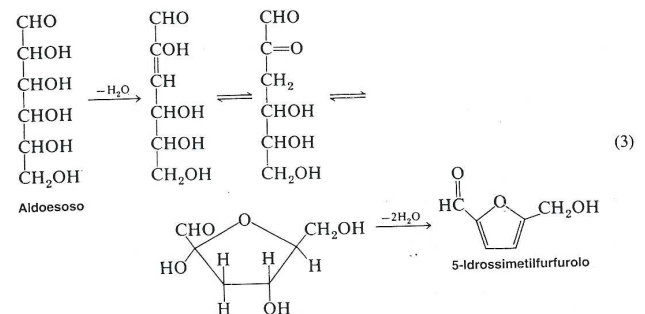
- G. Ricciotti  
Biochimica di base in laboratorio  
Editore Bovolenta, Ferrara, 1988

### Saggi che comportano la produzione di furfurolo o di un suo derivato: Molisch, Seliwanoff, Foulger e Bial

Gli aldopentosi e i chetopentosi subiscono una **rapida** disidratazione in ambiente acido e danno origine al furfurolo (Equazione 1). I chetoesosi producono **rapidamente** il 5-idrossimetilfurfurolo (Equazione 2). I disaccaridi e i polisaccaridi possono essere idrolizzati in mezzo acido cosicché vengono liberati monosaccaridi che poi reagiscono nello stesso modo producendo furfurolo o 5-idrossimetilfurfurolo.



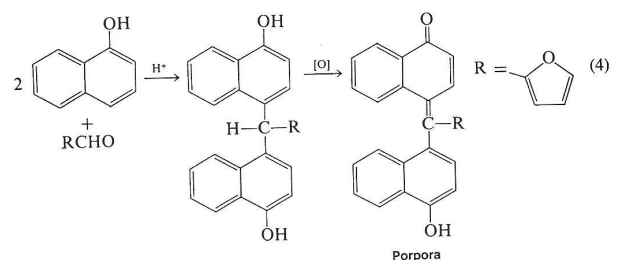
Gli aldoses vengono disidratati, ma **lentamente**, producendo anch'essi il 5-idrossimetilfurfurolo. Un meccanismo possibile è indicato nell'equazione 3. Il meccanismo è diverso da quello delle equazioni 1 e 2 per il fatto che il processo di disidratazione avviene fin dall'inizio e lo stadio di trasposizione non è presente.



Il furfurolo o il 5-idrossimetilfurfurolo che derivano dai processi descritti nell'equazione 1, 2 oppure 3 reagiscono con un fenolo formando un prodotto di condensazione caratterizzato da una colorazione intensa. Il saggio di Molisch utilizza l' $\alpha$ -naftolo, il saggio di Bial l'orcinolo e il saggio di Seliwanoff si basa invece sulla reazione del resorcinolo.

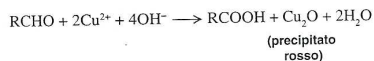


I colori e le velocità di sviluppo di questi colori servono per distinguere un carboidrato dall'altro. Le sezioni 1, 2 e 3 descrivono i vari saggi cromatici. Un tipico prodotto colorato che deriva dal furfurolo e dall' $\alpha$ -naftolo (saggio di Molisch) è il seguente (Equazione 4):

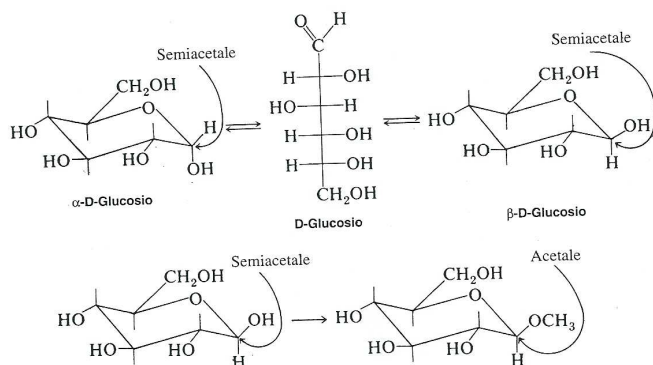


## Saggi che sfruttano le caratteristiche riducenti dei carboidrati

I monosaccaridi e quei disaccaridi che hanno un gruppo aldeidico potenziale sono in grado di ridurre certi reagenti come la soluzione di Benedict che produce un precipitato rosso di ossido rameoso:



Il glucosio, per esempio, il quale è un esoso, ha caratteristiche riducenti. Le due forme di stereoisomero  $\alpha$ - e  $\beta$ -D-glucosio sono in equilibrio tra loro in soluzione acquosa. L'anello dell' $\alpha$ -D-glucosio si apre in corrispondenza dell'atomo di carbonio anomero (struttura semiacetale) e libera la funzione aldeidica. Questa ciclizza rapidamente producendo  $\beta$ -D-glucosio, cioè un nuovo semiacetale. Nella forma di aldeide libera lo zucchero può presentare caratteristiche riducenti. Reagisce con il reagente di Benedict e produce un precipitato rosso che costituisce la parte visibile del saggio. I carboidrati che hanno gruppi funzionali semiacetalici mostrano tutte le caratteristiche riducenti.



Quando il semiacetale viene trasformato in acetale, ad esempio per metilazione, il carboidrato (zucchero) non sarà più in grado di ridurre il reagente di Benedict.

Nel caso dei disaccaridi possono presentarsi due situazioni diverse. Se gli atomi di carbonio anomeri sono collegati l'uno all'altro formando una struttura di tipo acetale lo zucchero non potrà ridurre il reagente di Benedict, ma se le molecole di zucchero sono collegate testa a coda vi sarà una delle due estremità che sarà ancora in grado di presentare l'equilibrio semiacetalico che comporta la forma aldeidica libera. Un esempio di un disaccaride riducente e uno di un disaccaride non riducente sono indicati nella seguente figura:

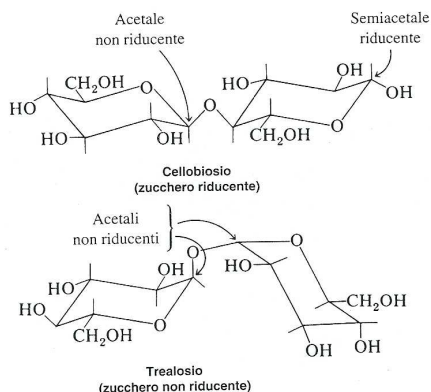
*Il Reattivo di Benedict è di uso più pratico in quanto la soluzione di  $\text{Cu}^+$  e la soluzione basica possono essere mescolate anche prima dell'uso. È costituito da una soluzione acquosa di Solfato rameico contenente citrato sodico e carbonato sodico; la funzione dello ione citrato è identica a quella dello ione tartrato nel Reattivo di Fehling.*

*In ambiente basico la funzione aldeidica viene ossidata al corrispondente acido carbossilico, mentre lo ione rameico complessato viene ridotto ad ossido rameoso solido di colore rosso.*

*I Saggi di Benedict e di Fehling sono analoghi al Saggio di Tollens, perciò consentono anch'essi di distinguere le aldeidi dai chetoni: se i test sono positivi, nel composto in esame è presente la funzione aldeidica in grado di ridurre in ambiente basico lo ione rameico presente in entrambi i reattivi.*

*Questi saggi sono molto utili per distinguere le aldeidi alifatiche, soprattutto quelle con catena idrocarburica di 5-6 atomi di carbonio, da quelle aromatiche, perché le prime reagiscono più velocemente essendo più solubili nell'ambiente di reazione. Infatti la reazione di Fehling avviene in soluzione acquosa, perciò non fornisce risultati significativi per le aldeidi alifatiche superiori e per quelle aromatiche che sono, in genere insolubili in acqua; per queste aldeidi si ottengono risultati più attendibili con il Saggio di Tollens.*

*Il Reattivo di Fehling è costituito da due soluzioni che vanno mescolate solo al momento dell'uso, per evitare alterazioni col tempo. La soluzione A è una soluzione acquosa di Solfato rameico, mentre la soluzione B è una soluzione acquosa basica di Tartrato sodico potassico (sale di Seignette) che, formando un complesso chelato con lo ione rameico mediante gli -OH tartarici, impedisce la precipitazione dell'Idrossido rameico.*

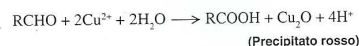


### 1. SAGGIO DI BENEDICT PER GLI ZUCCHERI RIDUCENTI

Il saggio di Benedict viene eseguito in condizioni leggermente basiche. È positivo con tutti gli zuccheri riducenti e forma un precipitato rosso di ossido rameoso come già descritto a pagina 40. Questo saggio sarà positivo anche con tutte le aldeidi idrosolubili, anche se non si tratta di zuccheri. Anche i chetosi, per esempio il fruttosio, reagiscono con il reagente di Benedict. Il saggio è uno dei saggi classici che servono per determinare la presenza di un gruppo funzionale aldeidico.

### 2. SAGGIO DI BARFOED PER I MONOSACCARIDI RIDUCENTI

Il saggio di Barfoed distingue i monosaccaridi riducenti dai disaccaridi riducenti per mezzo della diversa velocità di reazione. Il reagente è costituito da ioni rameici, come il reagente di Benedict. Però, in questo saggio, il reagente reagisce con i monosaccaridi riducenti e produce ossido rameoso più rapidamente che quando la sostanza incognita è un disaccaride riducente.



## Procedimento

### Reattivi necessari

#### ► CARBOIDRATO INCOGNITO

#### ► CARBOIDRATI NOTI (*esempi*)

1. un non carboidrato solubile in acqua *acido ossalico*
2. un carboidrato non riducente *fruttosio*
3. un disaccaride non riducente *saccarosio*
4. un polisaccaride non riducente *amido, destrina*
5. un carboidrato riducente *glucosio*
6. un monosaccaride riducente *galattosio*
7. un disaccaride riducente *lattosio*
8. un aldoso *arabinosio*
9. un chetoso *sorbosio*
10. un aldoesoso *mannosio*
11. un aldopentoso *xilosio*

#### ► REATTIVO ALLO IODIO

In un becher da 250 mL pesare 2 g di iodio, aggiungere alcool etilico 95° fino a 100 mL e mescolare per sciogliere il solido.

#### ► REATTIVO DI BARFOED

In un becher da 250 mL pesare 15 g di acetato rameico, aggiungere acqua distillata fino a 200 mL e 1 mL di acido acetico glaciale e mescolare per sciogliere il solido.

#### ► REATTIVO DI BENEDICT (*qualitativo*)

Soluzione A - In un becher da 600 mL pesare 47 g di sodio carbonato e 80 g di sodio citrato, aggiungere acqua distillata per sciogliere i solidi e diluire fino a 400.

Soluzione B - In un becher da 100 mL pesare 8 g di solfato rameico pentaidrato, aggiungere acqua distillata per sciogliere il solido e diluire fino a 70 mL.

Soluzione di lavoro - Mescolare le soluzioni A e B.

#### ► REATTIVO DI BIAL

In un becher da 400 mL pesare 0,8 g di orcinolo (o 5-metilresorcina), aggiungere acido cloridrico concentrato fino a 250 mL, 20 gocce di una soluzione al 10% in acqua di cloruro ferrico precedentemente preparata e mescolare per sciogliere il solido.

#### ► REATTIVO DI FEHLING

Soluzione A - In un becher da 400 mL pesare 17 g di solfato rameico pentaidrato e sciogliere con acqua distillata fino a 250 mL.

Soluzione B - In un becher da 400 mL pesare 87 g di tartrato di sodio e potassio e 25 g di idrossido di sodio e sciogliere con acqua fino a 250 mL.

Soluzione di lavoro - Al momento dell'uso mescolare volumi uguali delle soluzioni A e B.

#### ► REATTIVO DI FOULGER

In un becher da 250 mL pesare 2 g di cloruro stannoso e 40 g di urea, aggiungere 70 mL di acqua distillata e, mescolando, 30 mL di acido solforico concentrato.

#### ► REATTIVO DI MOLISCH

In un becher da 250 mL pesare 15 g di 1-naftolo, aggiungere alcool etilico 95° fino a 100 mL e mescolare per sciogliere il solido.

#### ► REATTIVO DI SELIWANOFF

In un becher da 400 mL pesare 0,015 g di resorcina, aggiungere acqua fino a 100 mL, aggiungere 80 mL di acido cloridrico concentrato, mescolare per sciogliere il solido, quindi portare a 250 mL con acqua distillata.

Reattivo	costituito da	specificità	variazione di colore
Molisch	$\alpha$ -naftolo + HCl	tutti i carboidrati	violetto
Iodio	iodio	oligo e polisaccaridi	rosso/violetto
Benedict	CuSO <sub>4</sub> /NaOH	carboidrati riducenti	verde/giallo/rosso
Barfoed	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu/CH <sub>3</sub> COOH	monosaccaridi riducenti	precipitato rosso scuro
Seliwanoff	resorcinolo/HCl	chetosi e saccarosio	rosso o precipitato rosso
Foulger	SnCl <sub>2</sub> /urea/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	chetosi	blu
Bial	orcinolo/HCl/FeCl <sub>3</sub>	pentosi	verde