70

APLICACIONES ANALITICAS DIVERSAS DEL REACTIVO DE FEHLING.

OFELIA FALCON DIAZ

MEXICO, D. F.

1 9 8 2

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Escuela Nacional de Ciencias Químicas

U.N.A.M.

• Aplicaciones Analíticas Diversas del Reactivo de Fehling.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a :
OFELIA FALCON DIAZ

México, D. F. 1957

A LA DULCE Y BENDITA MEMORIA DE MI MADRE.

A ti va el libro, madre, tú que fuiste la fuente primordial de mi ternura, recíbelo en tu pecho, donde ansia un corazón radiante de blancura.

A la memoria de mi querida abuelita.

A mi querido padre, con todo cariño, respeto e infinita gratitud.

SR. INOCENCIO FALCON GUERRERO.

Al Sr. Dr. en Química JOSE GIRAL Y PEREIRA, con todo respeto y sincero agradecimiento, por su acertada dirección en la realización de este trabajo.

A mi querida UNIVERSIDAD.

Respetuosamente a los Maestros que integran mi jurado:

Sr. Químico Técnico Rafael Illescas F.
Sr. Químico Othón Canales V.
Sr. Doctor José Giral P.
Srita. Q. F. B. Emma Guillermina Balboa M.
Srita. Q. F. B. Margarita Jaubert M.

Al Rvdo. Padre Francisco Armada Abella.

Cariñosamente a toda mi Familia.

A mis Compañeros y Amigos.

SUMARIO.

I.- GENERALIDADES, HISTORIA E IMPORTANCIA.

II.- FORMAS DIVERSAS DEL REACTIVO FEHLING Y SU CRITICA.

III.-PREPARACION DE LOS REACTIVOS DE FEHLING, BARFOED Y BENEDICT.

IV.- SUBSTANCIAS ORGANICAS QUE REDUCEN ESOS REACTIVOS. CUERPOS QUE SE FORMAN EN LA REDUCCION.

V.- APLICACIONES PARA CUANTEO DE SUBSTANCIAS NO AZU - CARADAS.

VI.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.

VII.-BIBLIOGRAFIA.

CAPITULO I.

GENERALIDADES, HISTORIA E IMPORTANCIA.

El nombre de Fehling(1812-1885), un profesor en la Escuela Tecnológica de Stuttgart se asoció con los reactivos de reducción del cobre tan íntimamente como está el de Clerget - con los cálculos polarimétricos de azúcar.

Browne(1) consignó que Trommer(2) aplicó la reducción de una solución alcalina de sulfato de cobre a las pruebas cualitativas y Barreswil(3) ideó añadir tartrato de potasio al -- reactivo para evitar la precipitación de hidróxido cuproso.

Fehling(4) no obstante, fué el primero en establecer propiamente los ingredientes colocando el método sobre una sólida base analítica.

Soxhlet(5) (1848), un profesor en la Escuela Tecnológica de Munich y Director de la Estación de Agricultura Experimental de Baviera, reveló que el óxido cuproso formado en la reducción no es estrictamente proporcional al contenido de azúcar, de aquí la necesidad de una prueba preliminar para averiguar el contenido de azúcar aproximado antes de hacer un análisis volumétrico actual, en una concentración definida del azúcar, ó de determinar el peso de cobre reducido en una concentración progresiva y de éstos datos deriva una fórmula de cálculo para interpolación en tablas de cálculos para usar en conexión con un método volumétrico convencional.

El método volumétrico de Bertrand(6) es esencialmente una modificación al método de reducción del cobre difiriendo de los anteriores en que el cobre precipitado se recoge en un filtro y se disuelve en disolución de sulfato ácido férrico y se titula con solución de permanganato.

Ejemplos de menor uso de métodos volumétricos dependiendo en otros de la reducción del cobre, es el método yodométrico de Romijn(7) y el metodo de ferricianuro de Gentele.

En los métodos gravimétricos de reducción de cobre, el peso del azúcar correspondiente al de cobre, óxido cuproso ú óxido cúprico se obtiene mediante tablas de cálculo tal como la de Munson y Walker Unificada para dextrosa, azúcar invertida, lactosa y maltosa; ó la de Allhin para dextrosa, la de Soxhlet y Wein para lactosa ó la de Neissl para azúcar invertida.

Es forzoso en el uso de fórmulas y tablas seguir estrictamente el método de los autores.

Muchas otras fórmulas de Líquido Fehling han sido propuestas tales como la de Pasteur y la de Violette muy empleadas en Francia; en la primera se utilizan hidróxidos sódico y potásico.

La solución preparada por Fehling contenía el mismo porcentaje de sulfato de cobre ó hidróxido de sodio tal como se usa hoy; pero el tartrato fué de potasio en lugar de sal desal de la Rochela, además los tres ingredientes fueron disueltos en la misma solución.

El reactivo de Fehling con todas sus modificaciones tan numerosas por cierto tiene una importancia capital para el reconocimiento y cuanteo de azúcares diversos bien se trate de pentosas como de hexosas, de aldosas y cetosas, de monosacáridos y polisacáridos. Pero también se utiliza para reconocimiento y cuanteo de muchos cuerpos, ya que en esencia el reactivo de Fehling es oxidante y por lo tanto puede actuar sobre muchas substancias que son reductoras. Unasde ellas poseen grupos funcionales de aldehido ó de cetona, pero otras varias tienen grupos nitrogenados que son también reductores.

Por éstas razones hemos considerado que un estudio completo de éste reactivo y de las substancias que pueden actuar sobre él, sería de gran importancia y por éso lo hemos adoptado como tema de nuestra tésis.

CAPITULO II

FORMAS DIVERSAS DEL REACTIVO FEHLING Y SU CRITICA.

Ya hemos indicado en el capítulo anterior algunas de las variantes que se adoptan del reactivo Fehling y vamos a ampliar ahora lo dicho anteriormente.

A pesar de su antiguedad, la idea de Barreswil de determinar los azúcares reductores por su acción sobre la solución alcalina de tartrato cúprico, no ha podido ser substituída por otra mejor. No obstante, se han ideado numerosísimas modificaciones al reactivo de Fehling en lo que se refiere a las substancias y cantidades empleadas en su preparación.

Líquido original de Fehling. (8)

Sulfato de cobre cristalizado	34.639g.
Tartrato de Potasio.....	173g.
Sosa.....	50g.

Disolución de los tres ingredientes en la misma solución

Este líquido original de Fehling tiene el inconveniente de que consta de una sola disolución en donde se encuentran el sulfato de cobre con el tartrato potásico y el hidróxido de sodio juntamente. Se ha podido observar que no es estable y con el tiempo se altera dejando un depósito de óxido cuproso.

Modificación de Soxhlet.(9)

Solución (A).

Sulfato de cobre cristalizado..... 34.639g.

Agua ..... 500cc.

Solución (B).-

Tartrato sódico potásico cristalizado.....173g.

Sosa..... 50g.

Agua.....500cc.

Aquí el reactivo se prepara en dos soluciones separadas las cuales se mezclan en volúmenes iguales al momento de usarlas. El inconveniente está en poder apreciar netamente el final de la reacción con la substancia azucarada si ésta es coloreada.

Solución de Benedict.(10)

Citrato de sodio dihidratado.....173g.

Carbonato de sodio.....100g.

Agua caliente.....800cc.

Filtrar y diluir a 850cc.

Sulfato de cobre cristalizado .....17.3g.

Agua..... 100cc.

Se vierte la primera solución a la segunda.

Esta solución contiene sulfato de cobre como los típicos de Fehling; pero ya no tiene tartrato ni hidróxidos alcalinos y están substituídos por citrato y carbonato de sodio.

La reacción que dá, difiere de la que producen los reactivos de Fehling y de Barfoed como consignamos en el cuadro - correspondiente.

Solución de Bertrand. (8)

Solución (A).-

Sulfato cúprico..... 40g.

Agua c.b.p.....1000cc.

Solución (B).-

Disolver 200g. de tartrato sódico potásico, 150g. de sosa en agua y aforar a un litro.

Puede observarse que la solución (A), contiene menos cantidad de sulfato de cobre que el líquido Fehling, en cambio - la solución (B), tiene menor cantidad de Tartrato sódico potásico y mayor de sosa.

Modificación de Sichert y Bleyer. (8)

Solución (A).- Solución de sulfato de cobre.

Disolver 69.28g. de sulfato de cobre cristalizado en -- agua y aforar a un litro.

Solución (B).- Solución alcalina de tartrato.

Disolver 346g. de tartrato sódico potásico cristalizado y 106g. de sosa en agua y aforar a un litro.

Se emplea ésta solución para la determinación de dextrosa, maltosa y dextrina.

Los reactivos son sensiblemente iguales en cantidad y calidad a los de la solución Fehling-Soxhlet.

Modificación Tul'Chinskiĭ. (8)

Solución (A).- 20ml. de solución al 4% de sulfato de cobre cristalizado.

Solución (B).- 15 ml. de solución de potasa al 20%.

Solución (C).- 5 ml. de solución de glicerol (212g. por litro).

Se emplea ésta modificación para determinar dextrosa.

Consta, como puede verse, de tres soluciones, la de sulfato de cobre que es mucho más diluída que la de Fehling Soxhlet, la de álcali es más concentrada y se utiliza potasa en lugar de hidróxido sódico, tiene además una disolución de glicerina o glicerol que suple al tartrato sódico potásico. Esta modificación no tiene ventaja sobre las soluciones clásicas.

Modificación de Phillips. (8)

Solución (A).- Solución de sulfato de cobre al 20%

Solución (B).- 50g. de sal de la Rochela, 40g. de bicar-

bonato de sodio anhidro se disuelven en agua y se aforan a un litro.

Se emplea para determinar dextrosa, levulosa y sacarosa.

La solución (A) de sulfato de cobre es más concentrada - que la del líquido Fehling-Soxhlet. En cambio la de tartrato- es más diluída y no contiene hidróxido alcalino, sino una mezcla de carbonato y bicarbonato sódico. No se aprecia ninguna- ventaja por ésta substitución. Unicamente se emplea para un - semimicro análisis por el método de Bertrand.

Modificación de Nyns. (8)

Solución de Ost.- 250g. de carbonato de potasio se di -- suelven en 700 ml.de agua caliente, añadir 100g. de bicarbonato de potasio pulverizado y se agita. Enfriar y añadir con agitación una solución de 25.3g. de sulfato de cobre cristalizado en 150 ml. de agua, aforar a un litro.

Se emplea para determinar glucosa y levulosa.

Contiene también carbonato y bicarbonato alcalino que en éste caso es potásico en lugar de álcali y tartrato.

En un sólo líquido lleva el sulfato de cobre, en proporción muy inferior a la de los líquidos clásicos de Fehling. - Tampoco se aprecia ventaja alguna en ésta modificación.

Modificación Yodométrica de Strepkov. (8)

Carbonato de potasio..... 250g.

Bicarbonato de potasio (polvo fino)..... 100g.

Sulfato de cobre cristalizado..... 15g.

Disolverlos en agua, enfriar a 15° y completar a un volumen de un litro y filtrar.

Modificación de Pasteur (11)

Hidróxido de sodio..... 130g.

Acido tartrico..... 105g.

Hidróxido de potasio..... 80g.

Sulfato de cobre cristalizado..... 40g.

Diluir todo en agua y aforar a un litro.

Esta fórmula tiene los inconvenientes de consistir en un solo líquido y por lo tanto ser alterable por la acción del tiempo; no emplea tartrato sódico potásico sino el ácido y el álcali correspondientes.

Modificación de Violette (11)

Disolver 34.46g. de sulfato de cobre cristalizado puro en 140cc. de agua. Por otra parte se disuelven 200g. de sal de la Rochela en 500 ml. de lejía de sosa 24° Bé, se vierte la primera solución sobre la segunda poco a poco, agitando y se aforan a un litro.

Esta solución es empleada para la determinación de glucosa anhidra, fructuosa anhidra, lactosa hidratada, maltosa anhidra, maltosa hidratada y lactosa anhidra.

Realmente es la típica fórmula de Fehling-Soxhlet; pero- con el inconveniente de estar en un sólo líquido.

Reactivo de Fehling para determinar
Glucosa en sangre por el método de Folín-Wu (15)

Carbonato de sodio anhidro puro..... 36.46g.

Agua..... 400ml.

Añadir a ésta solución 7.5g. de ácido tartárico, 4.5g.de sulfato de cobre cristalizado y aforar a un litro.

Se le aplica a ésta solución igual comentario al que se le dió a la solución anterior.

Reactivo de Fehling para determinar glucosa
en sangre por el método de Shaffer-Hartmann. (15)

Sal de la Rochela..... 25g.

Bicarbonato de sodio..... 20g.

Carbonato de sodio anhidro..... 2g.

Disolver ésta substancias completamente mediante adición de 600ml. aproximadamente de agua templada con agitación .

Pesar aparte 7.5g. de sulfato de cobre cristalizado y di solverlo en 100ml. de agua; calentando si es necesario.Verter la disolución primera sobre ésta agitando y aforar a un litro.

En ésta modificación el reactivo de Fehling no utiliza - hidróxidos alcalinos sino una mezcla de carbonato y bicarbona

to sódico y además todo en un sólo líquido.

Reactivo de Folín-Mc.Ellroy (13)

Solución (A).-

Pirofosfato de sodio ..... 100g.

Fosfato de sodio..... 30g.

Carbonato de Sodio..... 50g.

Agua.....1000cc.

Se disuelven calentando suavemente.

Solución (B).-

Sulfato de cobre..... 13g.

Agua..... 20cc.

Verter ésta solución sobre la primera agitando.

La característica de éste reactivo es la de prescindir - de tartratos, álcalis y utilizar carbonato sódico, fosfato y pirofosfato de sodio.

Reactivo de Hainer (13)

Sulfato de cobre..... 8.314g.

Agua..... 400cc.

Añadir 40cc. de glicerina y 500cc de solución de potasa- al 5% y se agita.

Lo típico de éste reactivo es el de prescindir de tartrato y utilizar como álcali el hidróxido de potasio añadiendo - además glicerina.

Reactivo de Benedict (14)

Sulfato de cobre cristalizado..... 18g.
Carbonato de sodio cristalizado.....200g.
Citrato de sodio y potasio.....200g.
Sulfocianato de potasio.....125g.
Ferrocianuro de potasio.....5cc.(sol.al 5%)
Agua c.b.p. .....1000cc.

Esta fórmula difiere de la consignada anteriormente, en- que se emplea carbonato sódico en lugar de álcali y citrato - sódico potásico en lugar de tartrato; pero además se utiliza- sulfocianato y ferrocianuro. Constituyendo por lo tanto un - reactivo cúprico diferente de los demás.

Reactivo de Fehling para determinar glucosa en sangre y en orina por el método de Ivar Bang. (14)

Bicarbonato de potasio..... 160g.
Carbonato de potasio..... 100g.
Cloruro de potasio..... 66g.
Solución al 4.4% de sulfato de cobre cristalizado..... 100cc.
Agua c.b.p..... 1000cc.

También éste reactivo es muy diferente de los clásicos - de Fehling porque no contiene álcali y en su lugar se emplea- carbonato de potasio y bicarbonato de potasio, ni tampoco tie ne tartratos empleándose en su lugar cloruro de potasio. Pro-

piamente es un reactivo adecuado para micro-análisis.

Reactivo de Barfoed. (8)

Acetato de cobre..... 24g.

Acido láctico..... 25cc. (Sol.8.5%)

Agua c.b.p.....500cc.

Este reactivo difiere fundamentalmente de los típicos - reactivos de Fehling porque no lleva ningún álcali; la sal cúprica es acetato y el líquido está acidificado con ácido láctico. Consta por lo tanto de un sólo líquido y se recomienda- para diferenciar monosacáridos de disacáridos porque tan sólo los primeros reducen al reactivo.

COMENTARIO:

Muchos de los reactivos consignados anteriormente están- confeccionados con vistas al método de utilización.

Estos métodos son muy variados porque en unos se pesa el óxido cuproso formado, en otros éste se reduce a cobre metálico que es el que se pesa; otros son volumétricos en los cuales el óxido cuproso formado se hace reaccionar con una solución de sulfato férrico y luego se titula con permanganato la sal de fierro excedente.

Todas éstas modificaciones en la forma de cuanteo del - azúcar ó del cuerpo reductor, llevan parejas unas tablas de - cálculo en donde se expresan las cantidades equivalentes al- metal ú óxido cuproso de los diferentes azúcares con lo cual-

se demuestra que la reacción de reducción no es siempre exacta y varía según el reactivo usado y el azúcar empleado. No es - nuestro objeto estudiar éstos métodos sino simplemente seleccionar tres de los reactivos típicos y ensayar con ellos cualitativa y cuantitativamente muy diversas substancias reductoras (azúcares y otros cuerpos).

CAPITULO III

PREPARACION DE LOS REACTIVOS DE FEHLING, BARFOED Y BENEDICT.

De todas las modificaciones hechas al reactivo de -- Fehling preparamos para su estudio tres de las soluciones - que consideramos de mayor importancia y a continuación damos a conocer la forma en que fueron preparadas.

Reactivo de Fehling-Soxhlet. (9)

Preparación por mezcla inmediata de igual volúmen de -- (A) y (B).

Solucion (A).-Solución de sulfato de cobre.

Disolver 34.639g. de sulfato de cobre cristalizado en - agua, calentando hasta completa disolución y diluír a 500cc. -

filtrando a través de asbesto preparado.

Solución (B).- Solución de tartrato alcalino.

Disolver 173g. de sal de la Rochela (tartrato sódico potásico) y 50g. de sosa en agua, diluír a 500cc y dejar reposar por dos días, filtrar a través de asbesto preparado.

En ésta forma se conserva por más tiempo estando separado en dos soluciones, mezclándose partes iguales de (A) y (B) en el momento de emplearse.

Reactivo de Barfoed.(8)

Es preparado éste reactivo por disolución de 24g. de acetato de cobre en 450cc. de agua fría y adicionado de una vez 25cc. de ácido láctico al 8.5%. El material es agitado, enfriado, diluído a 500cc. y filtrado.

Reactivo de Benedict.(10)

El reactivo de Benedict se prepara disolviendo 173g. de citrato de sodio (citrate.$2H_2O$) y 100g. de carbonato de sodio anhidro en 800cc. de agua caliente. Filtrar y diluír a un volúmen de 850cc.

Por otra parte se disuelven 17.3g. de sulfato de cobre cristalizado puro en 100cc. de agua y se adiciona lentamente la primera solución sobre ésta, enfriando. Diluír a un litro.

Guardado éste reactivo en perfectas condiciones es extremadamente seguro para el examen de cantidades patológicas de azúcar en la orina.

CAPITULO IV.

SUBSTANCIAS ORGANICAS QUE REDUCEN ESOS REACTIVOS.

CUERPOS QUE SE FORMAN EN LA REDUCCION.

Entre las substancias que ensayamos con los reactivos de Fehling, Barfoed y Benedict, que nos dieron reacción positiva y que por lo tanto redujeron a esos reactivos, mencionaremos a continuación las siguientes:

Substancia.	Reactivo Fehling-Soxhlet.	Reactivo Benedict.	Reactivo Barfoed.
Diacetilo.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Metil etil cetona.	Reacción (+)	Reacción (-)	Reacción (-)
Acetil acetona.	Reacción (+)	Reacción (-)	Reacción (-)
Acetaldehido.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
Formaldehido.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Paraformaldehido.	Reacción (+)	Reacción (-)	Reacción (-)
Alizarina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Menadiona.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
Glucuronolactona.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Citral.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Aldehido anísico.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Glucosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Arabinosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Galactosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Algodón pólvora o piroxilina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
Lactosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
Maltosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
d-Xilosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Levulosa.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)

Substancia.	Reactivo Fehling-Soxhlet.	Reactivo Benedict.	Reactivo Barfoed.
Hidroquinona.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Dioxifenil-alanina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Acido ascórbico.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
l-cistina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (-)
Furfural	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Acido úrico.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Xantina.	Reacción (-)	Reacción (+)	Reacción (+)
Clorhidrato de hidroxil amina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Clorhidrato de fenil hidrazina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)
Difenil-amina	Reacción (+)	Reacción (-)	Reacción (-)
Benciliden - anilina.	Reacción (+)	Reacción (-)	Reacción (-)
Aureomicina cristalina.	Reacción (+)	Reacción (+)	Reacción (+)

Cuerpos que se forman en la reducción.

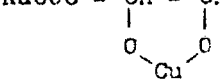
Como ya dijimos el reactivo de Fehling-Soxhlet es preparado en dos disoluciones (A) y (B) que se mezclan en el momento de usarlas, resulta de color azul intenso porque en él ya

no existe el ión cúprico sino el ión tartro-cúprico que es de dicho color; sobre este ión complejo no ejerce acción precipitante el hidróxido alcalino como la ejercería si se tratase de una sóla solución de sulfato de cobre. Pero desde el momento de que se pone el reactivo en contacto con una substancia reductora dicho ión tartro-cúprico pasa a ión cuproso y sobre él ya el hidróxido alcalino determina su precipitación al estado primeramente de hidróxido cuproso de color amarillo verdoso y finalmente, por deshidratación de éste, a óxido cuproso de color rojo.

Estas transformaciones del reactivo se pueden explicar por las fórmulas siguientes: (12).

$NaOOC - CHOH - CHOH - COOK.4\ H_2O$

Tartrato de sodio y potasio o sal de Seignette.



Tartrato sódico potásico cúprico.

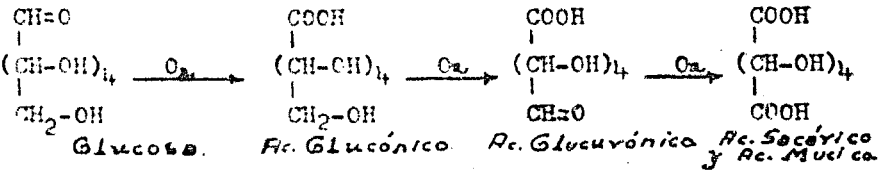
- OOC - CHO - Cu - OHC - COO -

Ión tartro-cúprico de color azul intenso.

Modernamente se ha pretendido explicar la formación de este ión complejo suponiendo que se origina una combinación de las llamadas quelatos entre el tartrato sódico potásico y el ión cúprico; es decir que la sal de Seignette secuestra propiamente al ión cúprico reteniéndolo mediante valencias secundarias en la molécula.

Como en la aplicación del reactivo Fehling-Soxhlet,tie - ne lugar una reducción suya es evidente que también se produce una oxidación.Sin embargo en los conceptos modernos elec - trónicos de lo que hasta ahora debe entenderse por oxidación- y reducción sí podemos considerar los cuerpos que se originan al oxidarse la substancia que se ensaya.

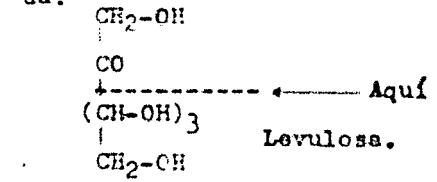
En el caso de la glucosa es donde las investigaciones se han llevado a cabo con mayor intensidad y amplitud sin que -- hasta ahora se hallan podido precisar todos los cuerpos que - se originan en dicha oxidación.Desde luego se originan ácidos glucónico,glucurónico,sacárico y mucico,conforme al esquema - siguiente:



Pero además se ha encontrado un cuerpo o cuerpos que reciben el nombre de reductonas cuya estructura química no está bien definida.

Unas transformaciones análogas experimentan todos los monosacárdos que son aldosas,bien sean hexosas como la glucosa- y la galactosa ó pentosas.Tratándose de la galactosa el diácido final es un isómero del sacárico que se denomina ácido mucico y se caracteriza por su insolubilidad.Entre las pentosas tenemos la arabinosa y la xilosa que también sufren transformaciones.

Si el monosacárido es una cetosa (levulosa) los cuerpos producidos por su oxidación son los que resultan de oxidarse las fracciones que se producen al partirse la molécula por el grupo cetónico cuya estructura química no está bien dilucidada.



Si se trata de disacáridos, como la reacción se produce en caliente y en medio alcalino se hidroliza el cuerpo y produce moléculas de monosacárido a las cuales se les aplican las consideraciones anteriores. Tal sucede con la lactosa, maltosa y sacarosa.

Se ignora por completo los cuerpos que puedan originarse por oxidación de los aldehidos, cetonas, quinonas y demás que se consignan en el cuadro que dan reacción positiva con la solución de Fehling-Soxhlet. Claro es que pudiera aplicarse lo dicho a los monosacáridos en muchos casos. Por ejemplo los aldehidos deben pasar a los ácidos correspondientes: (el formaldehido a ácido fórmico, el acetaldehido a ácido acético, el aldehido anísico a ácido anísico etc.).

Lo mismo decimos de las cetonas que son casos análogos al de la levulosa. Analogamente los aminoácidos pierden un grupo ácido (descarboxilación) y su grupo amígeno (desaminación) quedando el aldehido ó el ácido de un átomo de carbono menos.

En lo que se refiere al reactivo de Bendict que hemos ensayado, el ión cúprico del sulfato que contiene, debe también dormar un ión complejo citro-cúprico con el citrato sódico y puede por lo tanto aplicarse a él todo cuanto dijimos acerca-del reactivo de Fehling-Sochlet. Pero nos encontramos con que éste reactivo de Benedict dá reacción positiva con azúcares - de todas clases, pero no la dá con todos los aldehidos y cetonas como se indica en el cuadro. Evidentemente es un reactivo menos oxidante que el de Fehling-Soxhlet sin que se haya ideado ninguna explicación de las citadas diferencias.

El reactivo de Barfoed contiene sal cúprica al estado de acetato y no contiene ni tartrato ni álcali. Aunque no se han hecho estudios detallados de éste reactivo quizá pudieran aplicarse las mismas consideraciones que hemos hecho a propósito de las transformaciones que sufre el reactivo de Fehling - Soxhlet en presencia de substancias reductoras. Pero también-debemos señalar que es de aplicación todavía más limitada que el reactivo de Benedict ya que no produce reacción con los - aldehidos y cetonas ni tampoco con los disacáridos lo cual es muy interesante para diferenciarlos de los monosacáridos.

CAPITULO V.

APLICACIONES PARA CUANTEO DE SUBSTANCIAS NO AZUCARADAS.

Como los reactivos de Fehling-Soxhlet, Barfoed y Bene -- dict son susceptibles de ser reducidos por sustancias no azucaradas, hemos cuanteado algunas de ellas con el reactivo de Fehling-Soxhelt y con el de Benedict, no así con el reactivo de Barfoed porque al efectuar el cuanteo con éste el final de la reacción es incierto.

Ahora bien los reactivos empleados se titularon en la -- forma siguiente:

Reactivo de Fehling-Soxhlet.

Para efectuar la titulación se requiere solución stan -

dard de glucosa al 0.1% y como indicador solución acuosa de - azul de metileno al 1%.

Procedimiento.- Se hace en primer lugar una prueba pre - suntiva colocando en una bureta la solución de azúcar y en - una cápsula se colocan 5cc. de solución (A) y 5cc. de solu - ción (B) medidos con pipeta volumétrica y con toda precisión, ésta mezcla se calienta a ebullición sobre una tela metálica- sin asbesto durante dos minutos, adicionamos después de 2 a 5 gotas del indicador y en seguida dejamos caer gota a gota la solución azucarada y agitamos la mezcla con una varilla de vi drio sin dejar de calentar el contenido de la cápsula (con - flama pequeña para evitar que se tire la mezcla), dándose - por terminada la titulación cuando la solución sobrenadante - esté incolora. Después de efectuar ésta prueba presuntiva se efectúa una nueva titulación, y como ya sabemos aproximadamen te los centímetros cúbicos gastados de solución de azúcar ne- cesarios para efectuar la reducción del cobre, añadimos sobre la mezcla fría contenida en la cápsula el total de la solu - ción azucarada de tal manera que se necesite de 0.5 a 1ml pa- ra completar la titulación. Se calienta la mezcla fría a ebu- llición moderada por dos minutos y adicionamos de 2 a 5 gotas del indicador, dando por terminada la titulación, después de adiciones pequeñas de solución de azúcar hasta decoloración - del indicador.

Resultados:

1ra. Titulación : 52.85cc. gastados de solución de azúcar.

2da. Titulación: 53cc. gastados de solución de azúcar.

3ra. Titulación: 53cc. gastados de solución de azúcar.

Sacando la media obtenemos el número exacto de centímetros cúbicos empleados de azúcar, es decir:

52.95cc.

Para obtener el título del reactivo basta con hacer el siguiente cálculo:

Para preparar la solución de azúcar se pesaron 1000 miligramos de glucosa y se disolvieron en agua aforando a un litro, por lo tanto en un centímetro cúbico de solución hay un miligramo de azúcar. Como hemos empleado 10cc. de Fehling serán éstos equivalentes a los centímetros cúbicos gastados de solución de azúcar y por consiguiente también son equivalentes a los miligramos de azúcar contenidos en la solución.

Siendo el resultado de la titulación el siguiente:

10cc de Fehling-Soxhlet corresponden a :

52.95 Mg. de glucosa.

Reactivo de Benedict.

Se titula ésta solución en la misma forma que el reactivo de Fehling-Soxhlet, empleando el mismo indicador y la solución de glucosa al 0.1%.

Resultados obtenidos:

1ra.Titulación 33cc. de solución de azúcar.

2da.Titulación 32.9cc. de solución de azúcar.

3ra.Titulación 32.9cc de solución de azúcar.

Sacando la media obtuvimos como resultado:

32.9cc. de la solución de azúcar son necesarios para reducir todo el cobre presente en el reactivo.

El título de la solución de Benedict se obtiene en la forma que se obtuvo el de Fehling-Soxhlet.

Siendo el título el siguiente:

10cc. de Benedict corresponden a 32.9 Mg.de glucosa.

Despues de titular éstos reactivos procedimos a cuantear algunos de los cuerpos que nos dieron reacción positiva con ellos.

Con cada substancia vamos a efectuar varias titulaciones poniendo en cada una de ellas, cantidades crecientes de reactivo con el objeto de ver la sensibilidad del mismo y por consiguiente vamos a trazar gráficas necesitando como datos los miligramos de cobre presentes en el reactivo y los miligramos de substancia por ensayar presentes en la solución que se prepare.

Primeramente calculamos los miligramos de cobre presentes en los reactivos.

Miligramos de cobre presentes en el reactivo de Fehling-Soxhlet.

En la preparación del reactivo, como ya indicamos en el Capítulo III, la solución (A) es la que contiene el sulfato de cobre, (34.639g. en 500cc.de agua). Ahora bién, como al efectuar la titulación empleamos 5 cc. de ésta solución, vamos a calcular la cantidad de sulfato de cobre presente en esos 5cc. y también los miligramos de cobre.

500cc.de solución de Fehling--34.639g.de Sulfato de cobre.
5cc. " " " " -- X

X 0.34639g. de Sulfato de Cobre.

Cálculo de la cantidad de cobre:

Necesitamos como datos el peso molecular del sulfato de cobre y el peso del cobre.

Peso molecular del Sulfato de Cobre 159.63g.
Peso del cobre. 63.57g.

159.63g. de Sulfato de Cobre--63.57g. de cobre.
0.34639g. " " " -- X

X 0.13794g. de cobre. Es decir: 137.94 mg.

Como al titular empleamos 5cc. de la solución A y 5cc.de la solución B, en esos 10cc. de solución estará contenida la cantidad mencionada anteriormente.

Por lo tanto el resultado es el siguiente:
10cc. de Fehling-Soxhelt contienen 137.94mg.de cobre.

Miligramos de cobre que contiene el reactivo de Benedict

Preparamos un litro de éste reactivo conteniendo 17.3g.-

de Sulfato de Cobre.

1000cc. de Benedict--17.3g.de Sulfato de Cobre.
10cc. " " -- X

X 0.173g. de Sulfato de Cobre.

159.63g.de Sulfato de Cobre--63.57g. de cobre.
0.173g. " " " -- X

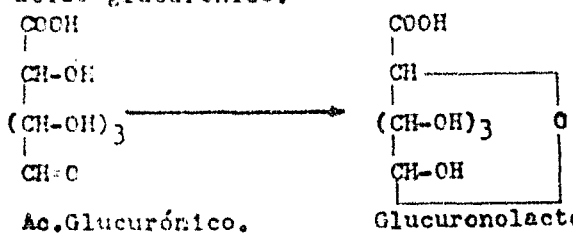
X .0688g. de cobre. Es decir: 68.8 mg.

Por lo tanto:

10cc. de Benedict contienen 68.8 mg. de cobre.

TITULACION DE GLUCURONOLACTONA.

La Glucuronolactona como su nombre lo indica es la lactona del ácido glucurónico.



Ac.Glucurónico. Glucuronolactona.

Por la acción de los reactivos cúpricos, éste cuerpo origina ácido glucónico y otros que se mencionaron cuando hablamos de los productos originados por oxidación de la glucosa.

Preparamos una solución acuosa de glucuronolactona al -- 0.5% empleando como indicador el azul de metileno al 1%.

Se tituló esta substancia siguiendo la misma técnica que para los reactivos de Fehling y de Benedict como ya se indicó.

Efectuamos cinco titulaciones empleando en cada una de - ellas, cantidades diferentes del reactivo; calculando en cada

titulación los miligramos de cobre presentes en la cantidad - de reactivo empleado y los miligramos de glucuronolactona presentes en los centímetros gastados de la solución.

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOXHLET.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 5cc. de sol. A + 5cc. de sol.B+ 10cc.de agua.

Gastamos 10.6cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling.-----137.9mg. de cobre.

Cantidad de glucuronolactona: Como la solución es al -- 0.5%, quiere decir que en 100cc. de solución existen 500mg. - de glucuronolactona, ahora bien vamos a calcular los miligramos contenidos en los centímetros cúbicos gastados de dicha - solución.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
10.6cc. " ".---- X

X = 53mg. de glucuronolactona.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 6cc. de sol.(A) + 6cc. de sol.(B) + 12cc. de

agua.

Gastamos 12.7cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling.----137.9mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
12.7cc. " " ---- X

X=63.5mg. de glucuronolactona.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 7.5cc. de sol (A) + 7.5cc. de sol.(B)+15cc.- de agua.

Gastamos 16cc de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X=206.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
16cc. " " ---- X

X = 80mg. de glucuronolactona.

4ta. TITULACION.

Datos:

Empleamos:10cc. de sol.(A)+10cc.de sol.(B)+20cc.de agua.

Gastamos 21cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 275.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
21cc. " " ---- X

X = 105.0mg. de glucuronolactona.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de sol.(A)+15cc. de sol.(B)+30cc.de agua.

Gastamos 32cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
32cc. " " ---- X

X = 160mg. de glucuronolactona.

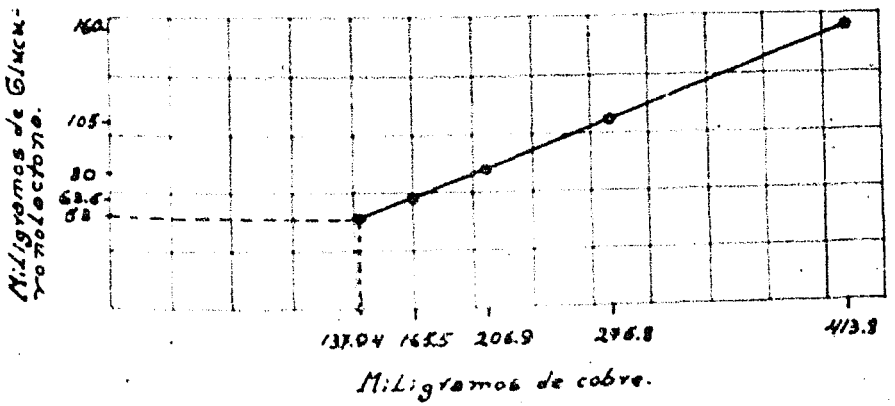
Teniendo ya los miligramos de cobre y los de glucurono - lactona, podemos trazar la gráfica sobre papel milimétrico colocando los miligramos de cobre en el eje de las abscisas y - los de glucuronolactona en el eje de las ordenadas. Tomamos - como escala la siguiente: 150 cuadritos equivalen a 500mg.Pro

cedemos después a localizar los puntos.

Como puede observarse la curva de calibración es una recta lo cual indica que la reacción sigue la ley de Beer; es decir que las cantidades del líquido Fehling reducido son directamente proporcionales a las cantidades gastadas de glucuronolactona. Puede por lo tanto utilizarse ésa gráfica para cuanteos de glucuronolactona siguiendo en la muestra que se ensaye la misma técnica que hemos descrito.

De los miligramos de cobre reducidos (eje de abscisas) se levanta una vertical hasta que se encuentre la recta de calibración y desde el punto de intersección se traza una horizontal hacia la izquierda hasta que se encuentre el eje de ordenadas en cuyo punto se leerá la cantidad de glucuronolactona.

A continuación presentamos la curva de calibración:



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 10cc de Benedict + 10cc. de agua.

Gastamos 6.5cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.——68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.——500mg. de glucuronolactona.
6.5cc. " " —— X

X=32.5mg. de glucuronolactona.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.

Gastamos 7.8cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.——68.8mg. de cobre.

12cc. " " —— X

X = 82.65mg. de cobre.

100cc. de sol.——500mg. de glucuronolactona.
7.8cc. " " —— X

X = 39mg. de glucuronolactona.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de Benedict + 15cc. de agua.

TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 10cc de Benedict + 10cc. de agua.

Gastamos 6.5cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
6.5cc. " " ---- X

X=32.5mg. de glucuronolactona.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.

Gastamos 7.8cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.

12cc. " " ---- X

X = 82.65mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
7.8cc. " " ---- X

X = 39mg. de glucuronolactona.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de Benedict + 15cc. de agua.

Gastamos 9.5cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.20mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
9.5cc. " " ---- X

X = 47.5mg. de glucuronolactona.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 12.55cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X=137.6mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
12.55cc. " ---- X

X = 62.7mg. de glucuronolactona.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 18.5cc. de sol. de glucuronolactona.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

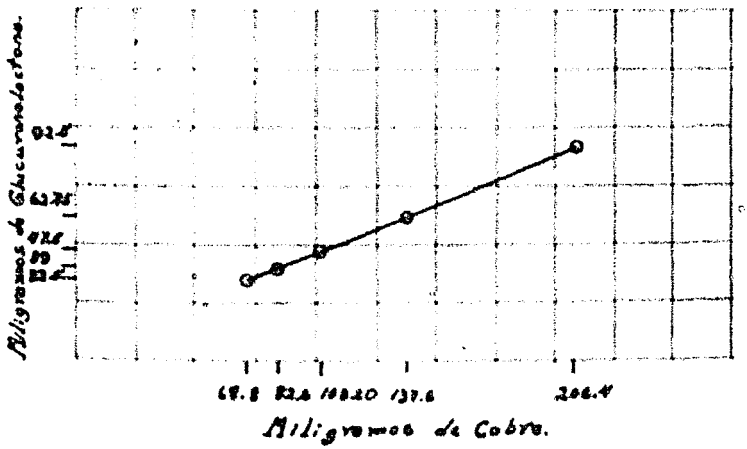
X = 206.4mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de glucuronolactona.
18.5cc. " " ---- X

X=92.5mg. de glucuronolactona.

La gráfica resultó ser una línea recta que puede utilizarse en la misma forma como ya explicamos para la encontrada empleando el reactivo de Fehling-Soxhelt.

A continuación presentamos la curva de calibración:



TITULACION DE CLORHIDRATO DE HIDROXILAMINA.

$HO - NH_2 . HCL$

Por oxidación mediante los reactivos cúpricos éste cuerpo se debe transformar en nitrógeno y agua.

Preparamos una solución acuosa de clorhidrato de hidroxilamina al 0.5%

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOXHLET.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 5cc.de sol.(A) + 5cc. de sol.(B)+10cc.de agua

Gastamos 5.5cc. de sol. de clorhidrato de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
5.5cc. " " ---- X

X = 27.5mg. de clorh. de hidroxilamina.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:6cc.de sol.(A)+6cc. de sol.(B)+12cc.de agua.

Gastamos 6.5cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling.----137.9mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol. ----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
6.5cc. " " ---- X

X=32.5mg. de clorh. de hidroxilamina.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:7.5cc. de sol.(A)+7.5cc.de sol.(B)+15cc.de agua

Gastamos 8.2cc. de sol. de clorh. de hidroxilamina.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 206.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh de hidroxilamina.
8.2cc. " " ---- X

X = 41 mg. de clorh. de hidroxilamina.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:10cc. de sol.(A)+10cc.de sol.(B)+20cc.de agua.

Gastamos 10.7cc. de sol. de clorh. de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 275.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
10.7cc. " " ---- X

X = 53.5mg.de clorh de hidroxilamina.

5a. TITULACION

Datos:

Empleamos:15cc. de sol.(A)+15cc.de sol.(B)+30cc.de agua.

Gastamos 15.7cc. de sol.de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

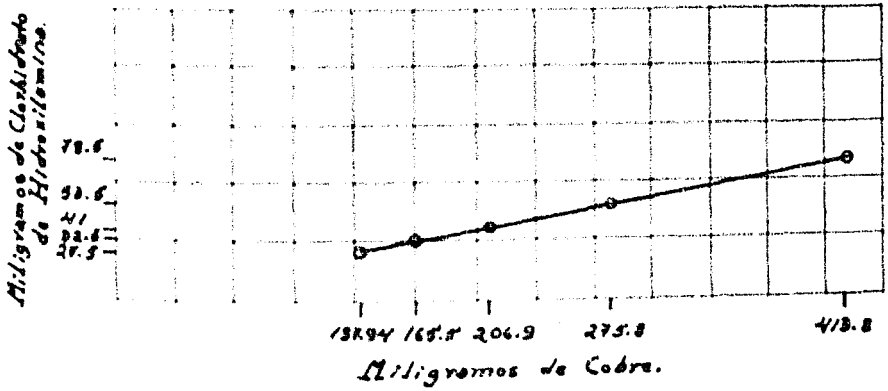
10cc. de Fehling-----137.9mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

. = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol.-----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
15.7cc. " " ---- X

X = 78.5mg. de clorh.de hidroxilamina.

Como se observa la gráfica resultante es una recta y a - la que se le dan las mismas aplicaciones que a las rectas anteriores.



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos :10cc. de Benedict + 10cc. de agua.

Gastamos 13.15cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
13.15cc." " ---- X

X = 65.75mg. de clorh. de hidroxilamina.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.
Gastamos 15.1cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre
12cc. " " ---- X

X = 82.65mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh. de hidroxilamina.

15.1cc. " " ---- X

X = 75.5mg. de clorh. de hidroxilamina.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de Benedict + 15 cc. de agua.

Gastamos 18.7cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.20mg. de cobre.

100cc. de sol. ----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
18.7cc. " " ---- X

X = 93.5mg. de clorh.de hidroxilamina.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 25.2cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 137.6mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh. de hidroxilamina.
25.2cc. " " ---- X

X = 126.mg. de clorh. de hidroxilamina.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 36.8cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.20mg. de cobre.

100cc. de sol. ----500mg. de clorh.de hidroxilamina.
18.7cc. " " ---- X

X = 93.5mg. de clorh.de hidroxilamina.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 25.2cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 137.6mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh. de hidroxilamina.
25.2cc. " " ---- X

X = 126.mg. de clorh. de hidroxilamina.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 36.8cc. de sol. de clorh.de hidroxilamina.

Cálculos y resultados.

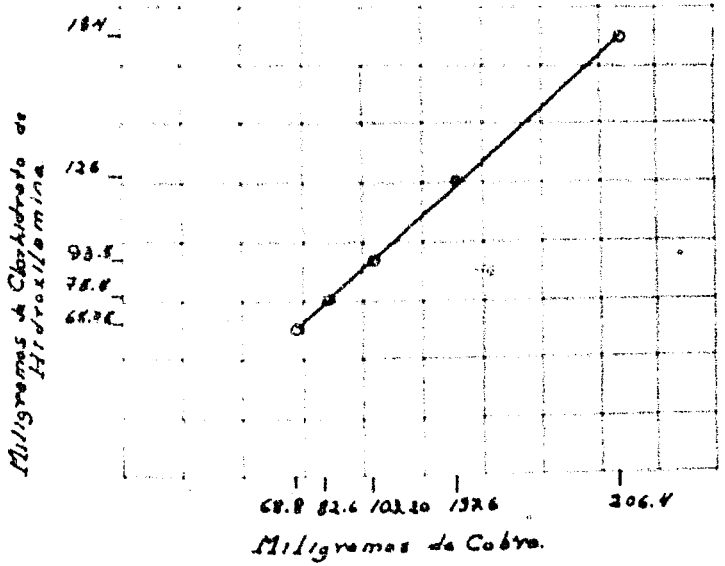
10cc. de Benedict.-----68.8mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 206.4mg. de cobre.

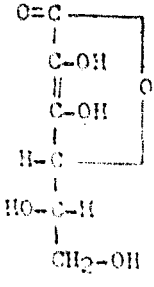
100cc. de sol.-----500mg. de clorh. de hidroxilamina,
36.8cc. " " ---- X

X = 184mg. de Clorh. de hidroxilamina.

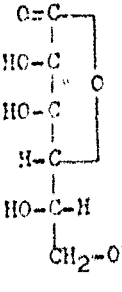
La grafica resultó ser una recta, teniendo las mismas aplicaciones que las anteriores.



TITULACION DE ACIDO ASCORBICO.



Ac.d-Ascórbico.



Ac.l-Ascórbico.

Este cuerpo por oxidación del reactivo se cambia también en ácidos glucónico, glucurónico y otros derivados de oxidación.

Se preparó una solución acuosa de ácido ascórbico al 0.5%.

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOXHLET.

Ira. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 5cc. de sol.(A) + 5cc.de sol.(B) + 10cc.de agua.

Gastamos 19.1cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
19.1cc. " " ---- X

X = 95.5mg. de ácido ascórbico.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 6cc. de sol.(A) +6cc. de sol.(B)+12cc.de agua

Gastamos 20.6cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol.---500mg. de ácido ascórbico.
20.6cc " " --- X

X = 103mg. de ácido ascórbico.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 7.5cc. de sol.(A)+7.5cc. de sol.(B)+15cc.de - agua.

Gastamos 23cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 206.9mg. de cobre.

100cc. de sol. ----500mg. de ácido ascórbico
23cc. " " ---- X

X = 115mg. de ácido ascórbico.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 10cc. de sol.(A)+10cc.de sol.(B)+20cc.de agua.

Gastamos 27cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 275.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
27cc. " " ---- X

X = 135mg. de ácido ascórbico.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de sol.(A)+15cc. de sol.(B)+30cc.de agua

Gastamos 35.5cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

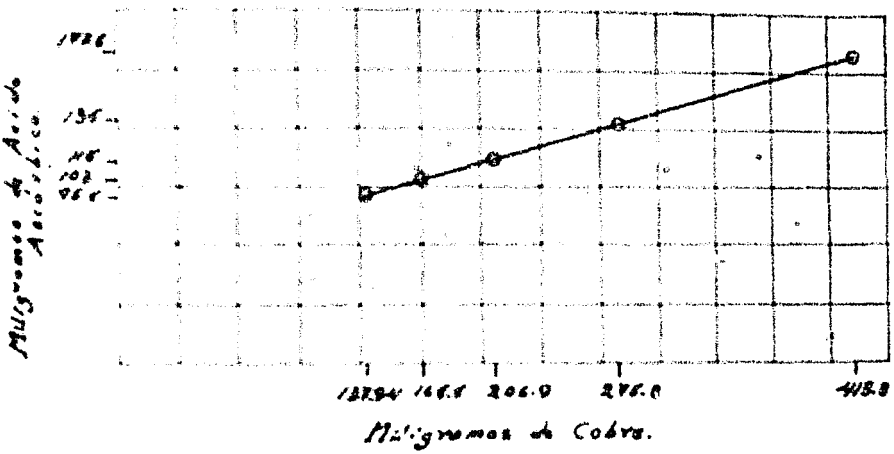
10cc. de Fehling.----137.94mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol. ----500mg. de ácido ascórbico.
35.5cc. " " ---- X

X = 177.5mg. de ácido ascórbico.

La gráfica resultó ser una recta con las mismas aplica - ciones que las anteriores.



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

Datos:

Empleamos:10cc. de Benedict + 10cc. de agua.

Gastamos 6.7cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
6.7cc. " " ---- X

X = 33.5mg. de ácido ascórbico.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.

Gastamos 8cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict ----68.8mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 82.65mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
8cc. " " ---- X

X = 40mg. de ácido ascórbico.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 15cc. de Benedict + 15cc. de agua.

Gastamos 10.1cc. de sol: de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.6mg. de cobre.

100cc. de sol.-----500mg. de ácido ascórbico.
10.1cc. " " ---- X

X = 50.5mg. de ácido ascórbico.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 12.8cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 137.6mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
12.8cc. " " ---- X

X = 64mg. de ácido ascórbico.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 20cc. de sol. de ácido ascórbico.

Cálculos y resultados:

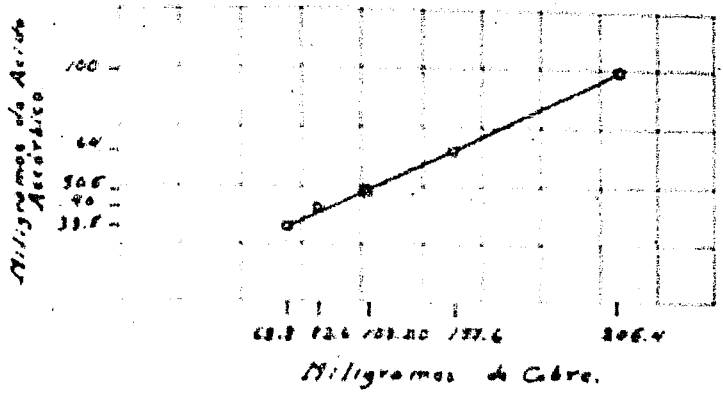
10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 206.4mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido ascórbico.
20cc. " " ---- X

X = 100mg. de ácido ascórbico.

La gráfica resultó una recta con igual aplicación que - las anteriores.



TITULACION DE CLORHIDRATO DE FENILHIDRAZINA.

$$C_6H_5 - NH - NH_2.HCl$$

Este cuerpo se transforma en amoniáco, benceno, fenil amina, y nitrógeno libre. Preparamos con ésta substancia una solución acuosa al 0.5%.

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOXHLET.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 5cc.de sol.(A)+5cc.de sol.(B)+10cc.de agua.

Gastamos 6.4cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de fenilhidrazina.
6.6cc. " " ---- X

X = 33mg.de clorh. de fenilhidrazina.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos 6cc.de sol.(A)+6cc.de sol.(B)+12cc.de agua.

Gastamos 7.6cc.de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados.

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
12cc. " " ------ X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh. de fenilhidrazina.
7.6cc. " " ---- X

X = 38mg. de clorh de fenilhidrazina.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 7.5cc.de sol.(A)+7.5cc.de sol.(B)+15cc. de agua

Gastamos 9.7cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 206.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de fenilhidrazina.
9.7cc. " " ---- X

X = 48.5mg. de clorh.de fenilhidrazina.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 10cc. de sol. (A) + 10cc. de sol.(B)+20cc. de agua.

Gastamos 12.6cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 405.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de fenilhidrazina.
12.6cc. " " ---- X

X = 63mg. de clorh. de fenilhidrazina.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de sol.(A) + 15cc. de sol. (B) + 30cc.de agua.

Gastamos: 19.2cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

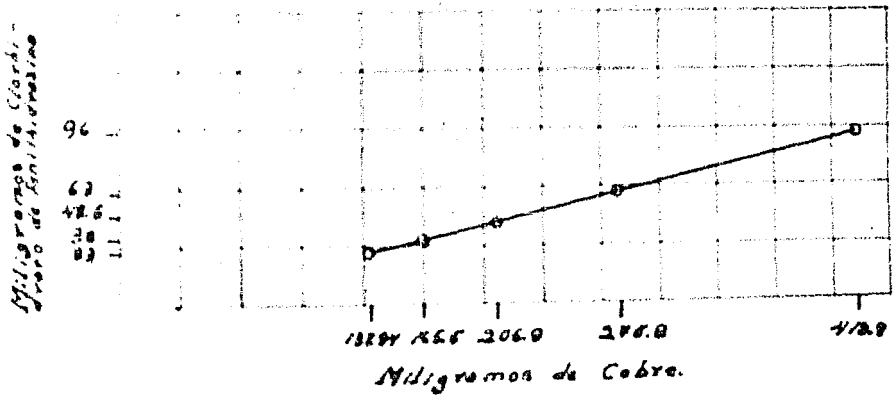
10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
30cc. de Fehling---- X

X = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de fenilhidrazina.
19.2cc. " " ---- X

X = 96mg. de clorh.de fenilhidrazina.

La gráfica resultó ser una recta también, con la misma - aplicación que las demás.



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT

1ra. TITULACION

Datos:

Empleamos:10cc. de Benedict + 10cc. de agua.

Gastamos:3cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados.

10cc. de Benedict---68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de clorh.de fenilhidrazina.
3cc. " " ---- X

X = 15mg.de clorh.de fenilhidrazina.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.

Gastamos 3.85cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 82.65mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg.de clorh.de fenilhidrazina.
3.85cc. " " ---- X

X = 19.25mg.de clorh.de fenilhidrazina.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 15cc. de Benedict+15cc. de agua.

Gastamos 5.85cc. de sol.de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict.----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.20mg. de cobre.

100cc. de sol.---500mg. de clorh.de fenilhidrazina.

5.85cc. de sol.--- X

X = 29.25mg. de clorh.de fenilhidrazina.

4a.TITULACION.

Datos:

Empleamos:20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 9.7cc. de sol. de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre
20cc. " " ---- X

X = 137.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg.de clorh.de fenilhidrazina.
9.7cc. " " ---- X

X = 47.5mg.de clorh.de fenilhidrazina.

5a.TITULACION.

Datos:

Empleamos:30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 16.2cc. de sol.de clorh.de fenilhidrazina.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

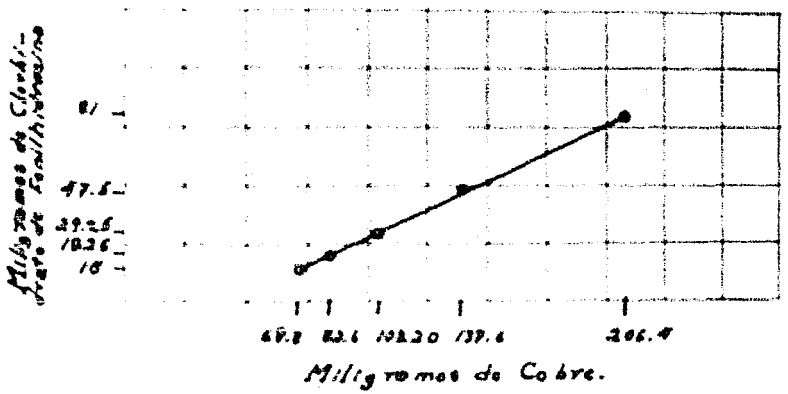
X = 206.4mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg.de clorh.de fenilhidrazina.

16.2cc. " " ---- X

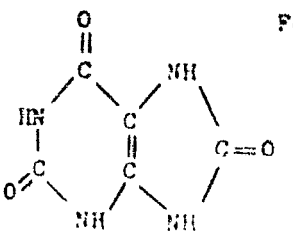
X = Mi.mg.de clorh.de fenilhidrazina.

Como puede observarse la gráfica resultó ser una recta - de igual aplicación que las anteriores.

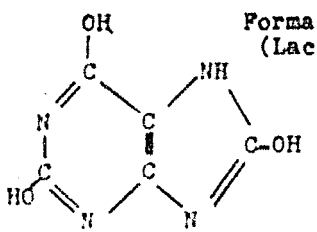


TITULACION DE ACIDO URICO.

Forma Ceto. (Lactama).



Forma Enol. (Lactima).



Esto cuerpo por oxidación cúprica se transforma definitivamente en anhídrido carbónico y amoniáco.

En la preparación de la solución de ácido úrico procedimos en la siguiente forma:

Pesamos 0.5g. de ácido úrico y le añadimos un poco de - agua y gotas de sosa al 5% hasta total disolución y aforamos-

con agua hasta 100cc.

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOCHLET.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:5cc. de sol.(A)+5cc.de sol.(B)+10cc.de agua.

Gastamos 7.1cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
7.1cc. " " ---- X

X = 35.5mg. de ácido úrico.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:6cc. de sol.(A)+6cc. de sol.(B)+12cc.de agua.

Gastamos 8.2cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
8.2cc. " " ---- X

X = 41mg. de ácido úrico.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:7.5cc. de sol.(A)+7.5 de sol.(B)+15cc. de agua

Gastamos 10.2cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 206.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
10.2cc. " " ---- X

X = 51mg. de ácido úrico.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 10cc. de sol.(A)+10cc. de sol (B)+20cc.de agua

Gastamos 13.2cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 275.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
13.2cc. " " ---- X

X = 66mg. de ácido úrico.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 1[illegible]cc. de sol.(A)+15cc.de sol.(B)+30cc. de agua

Gastamos 20.05cc. de sol. de Ácido úrico.

Cálculos y resultados.

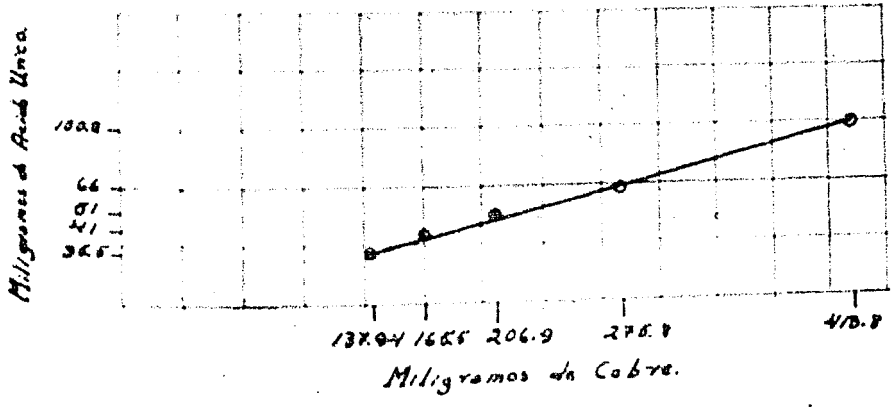
10cc. de Fehling----137.9[illegible]mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
20.05cc." " ---- X

X = 100.25mg. de ácido úrico.

Como se observa la gráfica que resultó es una recta de - igual aplicación que las anteriores.



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:10cc. de Benedict+10cc. de agua.

Gastamos 9cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc.de Benedict----68.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico
9cc. " " ---- X

X = 45mg. de ácido úrico.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc. de Benedict + 12cc. de agua.

Gastamos 11.55cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 82.65mg.de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
11.55cc." " ---- X

X = 57.7mg.de ácido úrico.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc. de Benedict + 15cc. de agua.

Gastamos: 14.7cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 103.20mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
14.7cc " " ---- X

X = 73.7mg. de ácido úrico.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:20cc. de Benedict + 20cc. de agua.

Gastamos 20.5cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 137.6mg. de cobre.

100cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
20.5cc. " " ---- X

X = 102.5mg. de ácido úrico.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos: 30cc. de Benedict + 30cc. de agua.

Gastamos 31.8cc. de sol. de ácido úrico.

Cálculos y resultados:

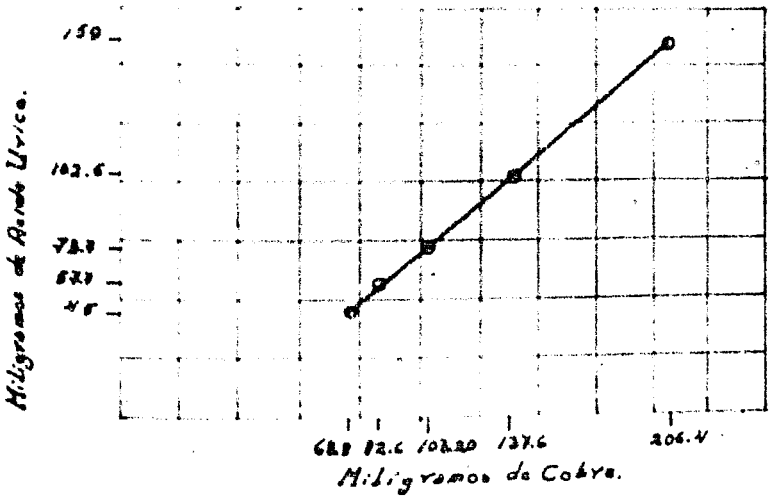
10cc. de Benedict----68.8mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 206.4mg. de cobre.

10cc. de sol.----500mg. de ácido úrico.
31.8mg. " " ---- X

X = 159mg. de ácido úrico.

La gráfica resultante es una recta con igual aplicación - que las anteriores.



TITULACION DE DIACETILO.

$CH_3 - CO - CO - CH_3$

Este cuerpo por oxidación rompe su molécula y se origina- ácido acético.

Preparamos una solución acuosa de diacetilo al 0.2%.

TITULACION EMPLEANDO FEHLING-SOXHLET.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:5cc.de sol.(A)+5cc.de sol.(B)+10cc.de agua.

Gastamos 9.3cc. de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----200mg. de diacetilo.
9.3cc. " " ---- X

X = 18.6mg. de diacetilo.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:6cc. de sol.(A)+6cc.de sol.(B)+12cc. de agua.

Gastamos 11.5cc. de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.9mg. de cobre.
12cc. " " ---- X

X = 165.5mg. de cobre.

100cc. de sol.----200mg. de diacetilo.
11.5cc. " " ---- X

X = 23mg. de diacetilo.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:7.5cc. de sol.(A)+7.5cc.de sol.(B)+15cc.de agua

Gastamos 15.6cc. de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
15cc. " " ---- X

X = 206.9mg. de cobre.

100cc. de sol.----200mg. de diacetilo.
15.6cc. " " ---- X

X = 31.2mg. de diacetilo.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:10cc. de sol.(A)+10cc.de sol.(B)+20cc.de agua

Gastamos 20.4cc. de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
20cc. " " ---- X

X = 275.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----200mg. de diacetilo.
20.4cc. " " ---- X

X = 40.8mg. de diacetilo.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc.de sol.(A)+15cc.de sol.(B)+30cc.de agua.

Cálculos y resultados:

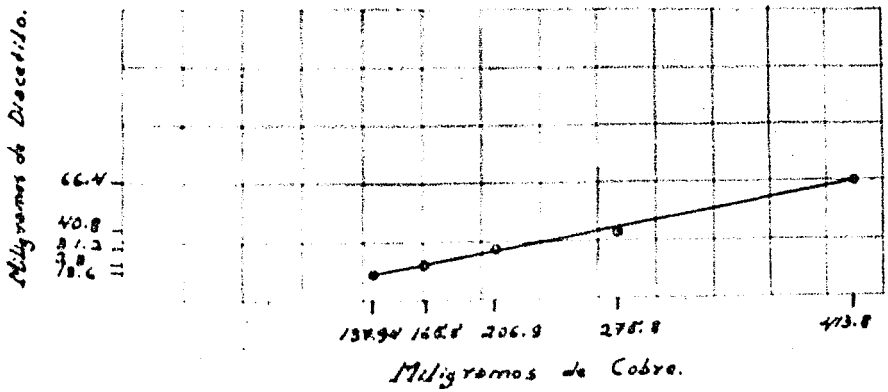
10cc. de Fehling----137.94mg. de cobre.
30cc. " " ---- X

X = 413.8mg. de cobre.

100cc. de sol.----200mg. de diacetilo.
33.2cc. " " ---- X

X = 66.4mg. de diacetilo.

La gráfica resultante es una recta de igual aplicación - que las demás.



TITULACION EMPLEANDO EL REACTIVO DE BENEDICT.

1ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:10cc de Benedict + 10cc de agua.

Gastamos 11.4cc de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc de Benedict----68.8mg. de cobre.

100cc de sol. ----200mg. de diacetilo.
11.4cc " " ---- X

X = 22.8mg. de diacetilo.

2da. TITULACION.

Datos:

Empleamos:12cc de Benedict + 12cc de agua.

Gastamos 13.7cc de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc de Benedict.----68.8mg. de cobre.
12cc " " ---- X

X 82.65mg. de cobre.

100cc de sol.----200mg. de diacetilo.
13.7cc " " ---- X

X = 27.4mg. de diacetilo.

3ra. TITULACION.

Datos:

Empleamos:15cc de Benedict. + 15cc de agua.

Gastamos 16.5cc de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc de Benedict.----68.8mg. de cobre
15cc " " ---- X

X 103.20mg. de cobre.

100cc de sol.----200mg. de diacetilo.
16.5cc " " ---- X

X = 33mg. de diacetilo.

4a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:20cc de Benedict + 20cc de agua.

Gastamos 22.5cc de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

10cc de Benedict.----68.8mg. de cobre.
20cc " " ---- X

X 137.6mg. de cobre.

100cc de sol.----200mg. de diacetilo.
22.5cc " " ---- X

X = 45mg. de diacetilo.

5a. TITULACION.

Datos:

Empleamos:30cc de Benedict. + 30cc de agua.

Gastamos 34.3cc de sol. de diacetilo.

Cálculos y resultados:

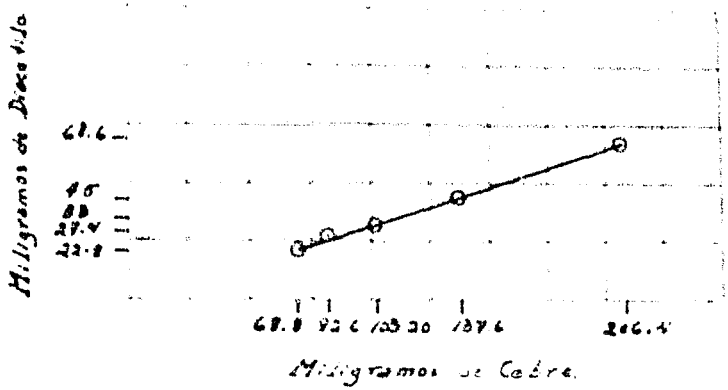
10cc de Benedict.----68.8mg. de cobre.
30cc " " ---- X

X 206.4mg. de cobre.

100cc de sol.----200mg. de diacetilo.
34.3cc " " ---- X

X = 68.6mg. de diacetilo.

La gráfica resultó ser también una recta de explicación - igual que las anteriores.



Nota:Cuando se empleo el reactivo de Benedict con las - substancias ya mencionadas, al trazar la gráfica sobre papel - milimétrico se tomo una escala diferente ,que la usada para - las titulaciones con el reactivo de Folling,siendo la siguiente: 200 cuadritos equivalen a 500 miligramos.

CAPITULO VI

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Resumen.

1.-El llamado reactivo de Fehling es de un uso amplísimo en el análisis químico tanto cualitativo como cuantitativo.

Se conocen varias docenas de prescripsiones ó fórmulas - de él con el objeto de mejorar su sensibilidad.

2.-Todas cuantas fórmulas se han propuesto para el reactivo Fehling han sido objeto de estudio comparativo, insistiendo en los tres tipos llamados de Fehling-Soxhlet, de Barfoed - y de Benedict.

3.-Se han considerado también las formas diversas de operar con estos reactivos cúpricos habiendo hecho un estudio -- crítico de ellos.

Conclusiones.

1ra.Hemos confeccionado un cuadro detallado en donde se consignan las aplicaciones de las tres modificaciones de los reactivos antes mencionados a muchas sustancias orgánicas sean azucaradas o nó.

2da.Dichos reactivos cúpricos son siempre reactivos de oxidación y por lo tanto pueden utilizarse para oxidar a muchas sustancias reductoras.Hemos explicado en diversos casos en qué se transforman estas sustancias al oxidarse,ya sabemos que los líquidos cúpricos que sirven de reactivo,se reducen todos a óxido cuproso.

3ra.También estudiamos la estructura química del compuesto que se origina en el típico reactivo de Fehling al mezclar la solución (A) con la (B).

4a.Hemos hecho aplicación de estos reactivos para el cuanteo de diversas substancias orgánicas confeccionando las curvas de calibración correspondientes que resultaron ser todas líneas rectas y que permiten determinar la cantidad de substancia averiguando la cantidad del reactivo que las reduce.

Aplicamos lo dicho anteriormente al cuanteo de glucuronolactona,clorhidrato de hidroxilamina,ácido ascórbico,clorhidrato de fenilhidrazina,ácido úrico y al diacetilo.Los resultados han sido muy exactos;pero el método no es comparable en sensibilidad a otros establecidos para las mismas sustancias.

Conclusiones.

1ra.Hemos confeccionado un cuadro detallado en donde se consignan las aplicaciones de las tres modificaciones de los reactivos antes mencionados a muchas sustancias orgánicas sean azucaradas o nó.

2da.Dichos reactivos cúpricos son siempre reactivos de oxidación y por lo tanto pueden utilizarse para oxidar a muchas sustancias reductoras.Hemos explicado en diversos casos en qué se transforman estas sustancias al oxidarse,ya sabemos que los líquidos cúpricos que sirven de reactivo,se reducen todos a óxido cuproso.

3ra.También estudiamos la estructura química del compuesto que se origina en el típico reactivo de Fehling al mezclar la solución (A) con la (B).

4a.Hemos hecho aplicación de estos reactivos para el cuanteo de diversas substancias orgánicas confeccionando las curvas de calibración correspondientes que resultaron ser todas líneas rectas y que permiten determinar la cantidad de substancia averiguando la cantidad del reactivo que las reduce.

Aplicamos lo dicho anteriormente al cuanteo de glucuronolactona,clorhidrato de hidroxilamina,ácido ascórbico,clorhidrato de fenilhidrazina,ácido úrico y al diacetilo.Los resultados han sido muy exactos;pero el método no es comparable en sensibilidad a otros establecidos para las mismas sustancias.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA.

(1) Browne and Zerban: Physical and Chemical.
Methods of sugar analysis, New York, 3rd Ed.
Page, 744 (1941).

(2) Trommer: Ann, 39, 360 (1841).
In. A.L Winton y K.B Winton.
The Analysis of Foods.
Page, 170 (1945).

(3) Barreswil: J. Pharm. 6, 301 (1844).

(4) Fehling: Ann, 72, 106; 106, 75.
In Winton. Loc. Cit.

(5) Soxhlet: J. Prakt. Chem. 21, 227 (1878).
In. Winton. Loc. Cit.

(6) G. Bertrand: Manipulations de Chimie Biologique.
Pag, 67 et suiv. (Paris).
Bull soc. Chim, 35, 1285 (1906).

(7) Romijn: Z.anal.Chem,36,349 (1897).

(8) Winton y Winton.

The Analysis of Foods.

Pag,170-202.

(9) E.M.Bailey (Chairman),L,B Warren,J,W,GG,Frory,H,A,Lepper y Marion E.Lopp.

Methods of Analysis A.O.A.C.

Pag.498,499.

(10) Sumner y Somers.

Laboratory Experiments in Biological Chemistry.

Second Edition.(1949).

Pag.32,33.

(11) Denigés.

Précis de Chimie,Analytique.

Cinquieme Edition.

Paris 1920.

Pag.540-564.

(12) Giral y Fernández.

Tratado de Química pura y aplicada a las ciencias Médicas.

Tomo II.

Toledo 1928.

Pag.333.

(13) Hawk y Bergeim.

Practical Physiological Chemistry.

IIth.Edition. (1942).

Pag.609.

(14)Rondoni.

Compendio de Bioquímica.

Segunda edición española.

Pagina 805.

(15)Harrow.

Tratado y Practicas de Bioquímica.

Segunda edición (1950).

Pag.17,666-670.