



Experimento 01 Testes para carboidratos

Carboidratos são desidratados quando tratados com ácidos fortes, sob condições não oxidantes. Os grupamentos aldeídicos ou cetônicos livres de monossacarídeos, ou dissacarídeos, são facilmente oxidados por soluções moderadamente alcalinas de íons cúpricos. Estes carboidratos são chamados de açúcares redutores porque reduzem os íons cúpricos para formar Cu_2O , um precipitado vermelho tijolo. As aldoses são oxidadas a ácidos aldônicos e cetoses a produtos de oxidação de baixa massa molecular.

Procedimento: testes poderão ser feitos com diferentes carboidratos, amidos, frutas, vegetais, feijões etc

01 - **Teste de Molisch:** teste geral para carboidratos.

Adicione 10 gotas das soluções 1% de glicose, sacarose e amido em três tubos de ensaio distintos. Dilua cada solução com 2mL de água. Adicione duas gotas de solução de α -naftol em cada um dos tubos e agite.

Incline o tubo de ensaio e adicione lenta e cuidadosamente 3 mL de ácido sulfúrico concentrado para formar uma fase abaixo da solução de açúcar. **Não agite o tubo de ensaio!** A formação de um anel púrpura na interface indica a presença de carboidrato. Fazer o teste para todos os carboidratos que fazem parte da tabela (página 5).

Preparação da solução de α -naftol: dissolva 10 g de alfa naftol em 100 mL de etanol 95%.

02 - **Teste de Barfoed:** teste geral para distinguir monossacarídeos de dissacarídeos.

Adicione 2,5mL do reagente de Barfoed a diferentes tubos de ensaio e junte a estes tubos 2,5 mL de solução 1% de diferentes carboidratos. Agite e coloque os tubos (todos ao mesmo tempo) em banho de água fervente! Aqueça os tubos por cerca de 3 min. Durante este tempo observe os tubos e anote qualquer mudança de cor. Teste positivo para monossacarídeos indica a formação de precipitado vermelho tijolo de Cu_2O dentro de 1 a 2 min! A não formação de precipitado neste tempo indica a presença de dissacarídeo. Anote os tempos em que as mudanças

de coloração aconteceram! Com o intuito de comparar as cores, é aconselhável usar um tubo controle (branco) contendo somente água.

Preparação do reagente de Barfoed: dissolva 66,5 g de acetato de cobre II em 800 mL de água, adicione 6,0 mL de ácido acético glacial e complete, com água destilada, o volume até 1000 mL.

03 - Teste de Benedict para açúcares redutores:

Faça os testes usando soluções de carboidrato a 1%. Adicione 2,5 mL do reagente de Benedict e 1 mL da solução de cada carboidrato em diferentes tubos de ensaio e agite. Coloque os tubos em banho-maria (todos ao mesmo tempo). Após 5-6 min observe o que aconteceu. Anote qualquer mudança de coloração (turbidez) ou formação de precipitado.

Adicione 4-5 gotas de solução de HCl 3M a 5 mL de solução de sacarose e aqueça em banho-maria por 5 min. Faça o mesmo com uma solução 1% de amido mas deixe aquecer por cerca de 30 min. Faça o teste de Benedict usando 1-2 mL das soluções acidificadas (sacarose e amido) e compare os resultados obtidos com as soluções sem a adição de ácido.

04 - Teste de Bial: *distingue pentoses de hexoses.*

Transfira 4 mL de cada uma das soluções de carboidrato a 1% para diferentes tubos de ensaio. A cada um dos tubos adicione 2mL do reagente de Bial e 5mL de ácido clorídrico concentrado. Agite e coloque os tubos de ensaio em banho-maria por 10 min. Um teste positivo para pentose é indicado pelo desenvolvimento de cor verde a azul intenso. Hexoses produzem cor marrom ou marrom esverdeada.

Preparação do reagente de Bial: dissolva 6 g de orcinol em 200 mL de etanol 95% e adicione 40 gotas de solução 10% de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$.

05 - Teste de Seliwanoff distingue cetoses de aldoses:

Coloque 2-3 gotas de soluções de carboidratos em diferentes tubos de ensaio. Adicione 5 mL de solução de resorcinol (dissolva 0,05 g de resorcinol em 100 mL de solução de HCl diluído HCl:H₂O, 1:2). Coloque todos os tubos em banho-maria. Anote a cor em cada tubo de ensaio após 1 min e após 4 min. O desenvolvimento de cor vermelha após 4 min constitui teste positivo para cetoses. Aldoses reagem mais lentamente.

Ceto-hexoses: solução vermelho-cereja

Cetopentoses: solução azul esverdeada.

Aldoses: não há desenvolvimento de cor.

Dissacarídeos: não há desenvolvimento de cor.

06 - Reação com Iodo

Reação do amido: Em um tubo de ensaio colocar 5,0 ml de água destilada, 10 gotas de **amido 1%** e uma gota de Lugol (solução iodo-iodetada). Verificar o aparecimento de uma intensa coloração azul, que desaparece pelo aquecimento brando (banho maria), e reaparece, porém, mais fraca, pelo resfriamento rápido.

Anote as mudanças observadas.:

1. No relatório, não deixe de explicar o porquê da “coloração azul”.
2. Procure na literatura, a estrutura do glicogênio, e responda se o teste daria positivo ou negativo, justificando sua resposta.
3. Qual a diferença estrutural entre:
 - 3.1. amilose e celulose
 - 3.2. amilose e amilopectina
 - 3.3. amilopectina e glicogênio
 - 3.4. celulose e quitina

07 - Reação de hidrólise do amido (chapa de aquecimento, temperatura baixa):

O amido, polissacarídeo não redutor, sofre uma sucessão de hidrólise quando tratado por HCl a quente, até se transformar na sua unidade mais simples, a glicose, passando pelos seguintes graus intermediários de quebra, os quais reagem com Lugol, dando soluções de cores diferentes:

Amido.....	coloração azul intensa (turvação)
Amido solúvel.....	coloração azul intensa
Amilodextrina.....	coloração roxa
Eritrodextrina.....	coloração avermelhada
Acrodextrina.....	não observa-se coloração com iodo
Maltose.....	teste positivo com reativo de Benedict
Glicose.....	teste positivo com reativo de Benedict

Experimento

Colocar *ca.* de 20,0 ml de solução de **goma de amido 1%** em um frasco erlenmeyer de 100 ml.

Adicionar 1,0 ml de ácido clorídrico concentrado (**realizar a operação na capela!**), agitar e transferir imediatamente 1,0 ml da mistura para um tubo de ensaio.

Acrescentar à esta 1 gota de Lugol e verificar a cor. Colocar o erlenmeyer sobre a chapa metálica, em banho maria, (**não esqueça das pedras de ebulição!!!**) de modo a manter a **ebulição branda**.

Iniciada a ebulição, retirar cerca de 1,0 ml da amostra, a cada 4 minutos, em tubos de ensaio previamente numerados (serão necessários 6 a 7 tubos).

Adicionar em cada tubo, *com exceção do último tubo*, 1 gota de Lugol.

Verificar:

- O enfraquecimento gradual das cores;
- Aparecimento da coloração roxa, passando para um tom avermelhado e que se torna cada vez mais atenuado nos tubos sucessivos;
- Persistência da cor própria do iodo, nos últimos tubos;
- Fazer o teste com o reativo de Benedict com a solução do último tubo (**assegure-se que haja reativo suficiente, pois o meio deve estar básico**).

Anote as mudanças.

Escreva o mecanismo da hidrólise da maltose à glicose.

08 - Reação de hidrólise da sacarose. (Inversão da Sacarose)

Preparar 50 mL de uma solução de sacarose 10%. Medir a rotação ótica da solução preparada no polarímetro. Calcule a sua rotação específica.

Transferir a solução (**ca. 40 ml**) para um erlenmeyer e adicionar 20 gotas de ácido clorídrico concentrado, tapar com um filme, não esquecendo de fazer um furo no filme.

Colocar em **banho-maria** contendo água fervente, por ca. de 10 - 15 minutos (*ou até que a solução fique levemente amarelada*). Esfriar e medir a rotação ótica novamente.

Transferir 2,0 ml desta solução para um tubo de ensaio e fazer o teste de Benedict. *Compare com o teste 1.b.*

Anote as mudanças

Escreva o mecanismo da hidrólise da sacarose. Por que a solução passa de dextrógira para levógira?

Carboidrato	Molisch	Barfoed	Benedict	Bial	Seliwanoff
Lactose					
Maltose					
Sacarose					
Amido					
Frutose					
Dextrose					
Galactose					
Manose					
Arabinose					
Sorbitol					