

Uniwersytet Medyczny *im. Piastów Śląskich* we Wrocławiu

Wydział Farmaceutyczny

Katedra i Zakład Chemii Organicznej i Technologii Leków

ORGANICZNA ANALIZA JAKOŚCIOWA

**Skrypt do ćwiczeń laboratoryjnych
z *chemii organicznej*
dla studentów I roku DIETETYKI
v.2.0.0**

Wrocław, 2025

Autorzy:

- **Dr Iwona Bryndal**
- **Mgr Ewa Drozd-Szczygieł**
- **Dr inż. Beata Tylińska**

Uwagi:

- Niniejszy skrypt został opracowany na podstawie podręcznika pt.: „Skrypt do ćwiczeń z chemii organicznej” będącego pracą zbiorową wydanego przez Akademię Medyczną we Wrocławiu w 1972 r.
- *Skrypt przeznaczony tylko do użytku wewnętrznego studentów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.*

Spis treści

1. WPROWADZENIE	6
2. PRÓBY WSTĘPNE	7
2.1. OZNACZANIE WŁASNOŚCI FIZYCZNYCH I USTALENIE CZYSTOŚCI BADANEJ SUBSTANCJI	7
2.1.1. Oznaczenie temperatury wrzenia	7
2.1.2. Oznaczenie temperatury topnienia	8
2.2. JAKOŚCIOWE OZNACZANIE PIERWIASTKÓW	8
2.2.1. Wykrywanie węgla i wodoru	8
2.2.2. Wykrywanie azotu, siarki i fluorowców	9
2.2.2.1. Wykrywanie azotu	10
2.2.2.2. Wykrywanie siarki	11
2.2.2.3. Wykrywanie fluorowców	12
3. BADANIE ROZPUSZCZALNOŚCI	14
3.1. Stosowane rozpuszczalniki	15
3.2. Wykonanie oznaczenia rozpuszczalności	16
3.2.1. Grupy rozpuszczalności	17
3.2.2. Omówienie poszczególnych grup rozpuszczalności	19
3.2.2.1. Grupa E ₁	19
3.2.2.2. Grupa E ₂	19
3.2.2.3. Grupa Kw ₁	20
3.2.2.5. Grupa Z	20
3.2.2.6. Grupa R	21
3.2.2.7. Grupa N	21
3.2.2.8. Grupy O ₁ i O ₂	21
4. REAKCJE GRUPOWE	21
4.1. REAKCJE GRUPOWE ZWIĄZKÓW KARBONYLOWYCH	23
4.1.1. Reakcja z 2,4-dinitrofenylohydrazyną	23
4.1.2. Reakcja z fenylohydrazyną	24
4.1.3. Reakcja z chlorowodorkiem hydroksyloaminy	24
4.1.4. Wykrywanie metyloketonów	25
4.1.4.1. Próba jodoformowa	25
4.1.5. Odróżnienie aldehydów od ketonów	25
4.1.5.1. Próba Tollensa	25
4.1.5.2. Reakcja z odczynnikiem Fehlinga	26
4.1.5.3. Reakcja z fuksyną /odczynnik Schiffa/	27
4.1.6. Odróżnienie aldehydów alifatycznych od aromatycznych	28
4.1.6.1. Reakcja z odczynnikiem Benedicta	28
4.2. REAKCJE GRUPOWE ALKOHOLI	28
4.2.1. Reakcja z metalicznym sodem	28
4.2.2. Reakcja acetylowania	29
4.2.3. Reakcja benzoilowania	29
4.2.4. Rozróżnianie alkoholi I-, II- i III-rzędowych	30
4.2.4.1. Próba Lucasa – reakcja z kwasem solnym i chlorkiem cynku(II)	30
4.2.4.2. Próba ze stężonym kwasem solnym	31

4.2.4.3.	Reakcja z kwasem nitrochromowym - utlenianie alkoholi	31
4.2.4.4.	Reakcja z kwasem chromowym	32
	- reakcja z odczynnikiem Bordwella-Wellmana	32
4.2.4.5.	Próba jodoformowa	32
4.3.	REAKCJE GRUPOWE FENOLI	33
4.3.1.	Reakcja z bromem	33
4.3.2.	Reakcja z chlorkiem żelaza(III)	34
4.3.3.	Reakcja acylowania i benzoilowania	34
4.3.4.	Reakcja Liebermanna – próba indofenolowa	35
4.3.5.	Reakcja Millona	36
4.4.	REAKCJE GRUPOWE KWASÓW KARBOKSYLOWYCH	37
4.4.1.	Próba ogólna na kwasy	37
4.4.1.1.	Próba ze wskaźnikiem uniwersalnym	37
4.4.1.2.	Próba z fenoloftaleiną	37
4.4.1.3.	Reakcja z wodorowęglanem sodu	38
4.4.2.	REAKCJA ESTRYFIKACJI	38
4.4.3.	REAKCJA Z REZORCYNĄ – wykrywanie kwasów 1,2-dikarboksylowych	38
4.5.	REAKCJE GRUPOWE AMIN	39
4.5.1.	Wykrywanie zasadowego charakteru amin	40
4.5.1.1.	Próba z oranżem metylowym	40
4.5.1.2.	Próba wobec papierka Kongo	40
4.5.2.	ROZRÓŻNIANIE RZĘDOWOŚCI AMIN	40
4.5.2.1.	Metoda Hinsberga (reakcja z chlorkiem kwasu benzenosulfonowego)	40
4.5.2.2.	Reakcja z kwasem azotowym(III)	42
4.5.2.3.	Reakcja tworzenia barwników azowych	44
4.5.2.4.	Reakcja Schotten-Baumann - benzoilowanie amin	45
4.5.2.5.	Reakcja z siarczanem miedzi(II)	46
4.6.	REAKCJE GRUPOWE AMINOKWASÓW	46
4.6.1.	Reakcja z ninhydriną	47
4.6.2.	Reakcja z kwasem azotowym(III) – wykrywanie wolnej grupy aminowej	48
4.6.3.	Reakcja aminokwasów z CuSO_4	49
4.6.4.	Reakcja ksantoproteinowa	49
4.6.5.	Reakcja cystynowa	50
4.6.6.	Reakcja Millona - wykrywanie tyrozyny	50
4.7.	REAKCJE CHARAKTERYSTYCZNE CUKRÓW	51
4.7.1.	Wstęp	51
4.7.2.	Próba Molischa	56
4.7.3.	Właściwości redukujące cukrów	57
4.7.3.1.	Reakcja lustra srebrowego (próba Tollensa)	57
4.7.3.2.	Próba Trommera	58
4.7.3.3.	Reakcja z odczynnikiem Fehlinga	58
4.7.3.4.	Próba Benedicta	59
4.7.4.	Odróżnianie ketoz od aldoz	60
4.7.4.1.	Próba z wodą bromową	60
4.7.4.2.	Próba Seliwanowa	61
4.7.4.3.	Próba z mocznikiem i chlorkiem cynku	62
4.7.5.	Odróżnianie pentoz od heksoz	62

4.7.5.1.	Próba Biala na pentozy	62
4.7.5.2.	Reakcja z floroglucyną	63
4.7.5.3.	Reakcja Taubera z benzydyną	63
4.7.5.4.	Próba Dischego na deoksyrybozę	63
4.7.6.	Odróżnianie monosacharydów od disacharydów	64
4.7.6.1.	Reakcja z molibdenianem amonu	64
4.7.6.2.	Próba Barfoeda	64
5.	PRZYKŁADY PROTOKOŁÓW W POSTĘPOWANIU ANALITYCZNYM PRZY IDENTYFIKACJI SUBSTANCJI	65
6.	LITERATURA	67
7.	Instrukcje do ćwiczeń i wzory sprawozdań do ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej	68
7.1.	Instrukcja do ćwiczenia - Krystalizacja z wody	68
7.2.	Wzór sprawozdania 1 – Oczyszczanie związku organicznego	70
7.3.	Wzór sprawozdania 2 - Identyfikacja i reakcje charakterystyczne cukrów	71
7.4.	Wzór sprawozdania 3 - Określenie grupy funkcyjnej	74

1. WPROWADZENIE

Najbardziej istotnym zadaniem chemii organicznej jest niewątpliwie wyodrębnianie i określanie budowy związków zarówno pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego. Zadanie to w swojej istocie ma charakter analityczny. Dlatego też analiza związków organicznych odgrywa tak wielką rolę we wszelkich poczynaniach chemika organika.

Identyfikacja związku organicznego jest często zadaniem trudnym i skomplikowanym. Ze względu na wielką liczbę i ogromną różnorodność związków organicznych nie można tutaj zastosować tak prostego schematu postępowania, jak ma to miejsce w przypadku analizy związków nieorganicznych. Nie mniej jednak postępowanie analityczne należy prowadzić w sposób systematyczny, umożliwiając kolejną eliminację tych grup połączeń, do których badana substancja na pewno nie należy.

Wiadomo, że poszczególne człony danego szeregu homologicznego ulegają podobnym przemianom, za które odpowiedzialna jest charakterystyczna grupa funkcyjna. Wiadomo, że w danym szeregu homologicznym zmieniają się właściwości fizyczne takie jak np. temperatura wrzenia lub temperatura topnienia w zależności od długości łańcucha. Określenie wymienionych właściwości pozwala więc wyeliminować szereg związków, do których badana substancja nie należy i zawęzić zakres badań.

Ogólnie przyjęty schemat postępowania analitycznego można ująć w następujących punktach:

1. Wykonanie prób wstępnych, do których należą:
 - a) oznaczanie własności fizycznych i ustalanie czystości badanego związku,
 - b) jakościowe i ilościowe oznaczenie pierwiastków,
 - c) badanie rozpuszczalności.
2. Wykonanie tzw. reakcji grupowych w celu wykrycia grup funkcyjnych i zaszeregowania badanego związku do danej klasy /danego szeregu homologicznego/.
3. Otrzymanie i określenie właściwości pochodnych badanej substancji.
4. Zestawienie wszystkich dotychczasowych wyników analizy i wniosków i porównanie ich z odpowiednimi danymi z piśmiennictwa chemicznego. Całkowita zgodność tych danych stanowi zakończenie identyfikacji.

Należy podkreślić, że przedstawiony schemat jest tylko ogólnym przewodnikiem do metod postępowania. Warunkiem koniecznym dla uzyskania dobrych wyników jest umiejętność zastosowania w każdej sytuacji nabytych wiadomości z chemii organicznej oraz zdolność prawidłowej oceny zaobserwowanych faktów.

W tym miejscu trzeba dodać, że przy identyfikacji związków organicznych obecnie coraz częściej stosuje się metody fizyczne. Należą do nich spektroskopia w nadfiolecie /UV/, spektroskopia w podczerwieni /IR/, magnetyczny rezonans jądrowy /NMR/, spektroskopia mas i rentgenowska analiza strukturalna.

2. PRÓBY WSTĘPNE

2.1. OZNACZANIE WŁASNOŚCI FIZYCZNYCH I USTALENIE CZYSTOŚCI BADANEJ SUBSTANCJI

Do najważniejszych własności fizycznych, które są pomocne w toku identyfikacji związku organicznego należą: w przypadku ciał stałych – temperatura topnienia, zaś w przypadku cieczy – temperatura wrzenia, a ponadto współczynnik załamania światła i gęstość.

Pewne znaczenie ma także barwa i zapach. Wiadomo bowiem, że przeważająca większość czystych substancji jest bezbarwna. Jeśli badana próbka jest zabarwiona, należy sprawdzić, czy zabarwienie to nie pochodzi od zanieczyszczeń, czy nie ulega zmianie po destylacji lub krystalizacji.

Barwne są następujące ważne grupy związków: związki nitrowe, związki azowe, chinony oraz związki nitrozowe (tylko w formie monomerycznej). Ponadto trzeba pamiętać, że fenole i aminy aromatyczne, szczególnie wielofunkcyjne, wykazują zazwyczaj zabarwienie żółte do brunatnego, spowodowane obecnością śladowych ilości produktów utlenienia.

Wiele związków organicznych ma specyficzny, charakterystyczny zapach. Przykładowo można wymienić estry alkoholi alifatycznych, które charakteryzują się zapachem owocowym, albo nitrozwiązki aromatyczne o zapachu gorzkich migdałów.

Jest oczywiste, że obserwacja zarówno barwy jak i zapachu pozwala wyeliminować szereg związków, do których badana substancja należeć nie może.

2.1.1. Oznaczenie temperatury wrzenia

Temperatura wrzenia cieczy stanowi charakterystyczny parametr fizyczny, za pomocą którego można wstępnie ocenić jednorodność badanej substancji. Oznaczenie temperatury wrzenia wykonuje się zazwyczaj przez przeprowadzenie zwykłej destylacji pod normalnym ciśnieniem.

W przypadku, gdy próbka analizowanej substancji jest bardzo mała, stosuje się oznaczenie temperatury w skali mikro, metodą Siwolobowa. Wykonanie takiego oznaczenia przedstawia się następująco: w probówce umieszcza się kapilarę (taką, jakiej używa się do oznaczania temperatury topnienia) zatopionym końcem do góry. Do próbki wprowadza się kilka kropli badanej substancji. Probówkę przymocowuje się do termometru, tak, aby jej dno znajdowało się w połowie wysokości zbiorniczka z rtęcią i całość umieszcza się w zlewce w odpowiednią cieczą grzejącą (olej parafinowy lub silikonowy). Następnie ogrzewa się nad koszem grzewczym. Podczas stopniowego ogrzewania z końca kapilary wydobywają się powoli pęcherzyki powietrza, a w chwili gdy ciecz osiągnie temperaturę wrzenia, obserwuje się szybki i ciągły strumień pęcherzyków.

Dokładniejszy wynik można otrzymać, jeśli w chwili pojawienia się ciągłego strumienia pęcherzyków zaprzestać ogrzewania. Szybkość wydobywania się pęcherzyków maleje, a gdy pojawi się ostatni pęcherzyk mający tendencję do cofania się, należy natychmiast odczytać temperaturę, która odpowiada temperaturze wrzenia.

2.1.2. Oznaczenie temperatury topnienia

Na podstawie temperatury topnienia można ocenić stopień czystości badanego (stałego) związku organicznego. Temperatura topnienia to temperatura, w której substancja przechodzi ze stanu stałego do ciekłego. Z termodynamicznego punktu widzenia jest to temperatura, w której następuje ustalenie równowagi między stanem stałym i ciekłym danej substancji. Sposób wykonania oznaczenia temperatury topnienia został szczegółowo omówiony w części ogólnej.

W tym miejscu należy jedynie przypomnieć, że ostra temperatura topnienia np. w granicach 0.5-1 °C jest jedną z najbardziej charakterystycznych cech czystego związku organicznego. Istnieją substancje, które rozkładają się w swojej temperaturze topnienia. Można wówczas zaobserwować w kapilarze, wydzielenie się pęcherzyków gazu lub obecność produktów rozkładu. Nie można jednak substancji uznać za czystą na podstawie jednego tylko oznaczenia. Czystość może być ustalona dopiero na podstawie obserwacji, czy po oczyszczeniu badanej substancji przez krystalizację lub sublimację temperatura topnienia nie ulega zmianie.

2.2. JAKOŚCIOWE OZNACZANIE PIERWIASTKÓW

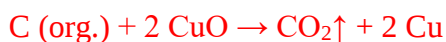
W skład związków organicznych wchodzi zawsze węgiel, a obok niego najczęściej spotykanymi pierwiastkami są: wodór, tlen, azot, siarka i chlorowce. Rzadziej występują fosfor, arsen, antymon, rtęć i inne. Spośród wymienionych pierwiastków tylko tlen nie może być oznaczony bezpośrednio wobec braku odpowiedniej metody.

Ponieważ w związkach organicznych pierwiastki występują najczęściej w postaci niejonowej, analizę rozpoczyna się od prób mających na celu całkowity rozkład związku organicznego z równoczesnym przeprowadzeniem obecnych w nim pierwiastków w proste związki nieorganiczne. Tak więc węgiel przeprowadza się w dwutlenek węgla, wodór w wodę, azot w amoniak albo nieorganiczne cyjanki lub wolny azot, siarkę w siarczki lub siarczany, fosfor w nieorganiczne fosforany, a chlorowce w nieorganiczne halogenki.

2.2.1. Wykrywanie węgla i wodoru

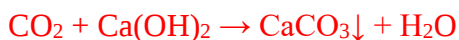
Liczne związki organiczne, np. cukry podczas prażenia ulegają zwęgleniu. Inne palą się mniej lub bardziej kopącym płomieniem. Zwęglenie próbki lub wydzielanie sadzy jest oczywistym dowodem obecności węgla.

Istnieją jednak takie połączenia jak np. kwas szczawiowy, które podczas ogrzewania ulatniają się nie pozostawiając osadu węglowego mimo, że węgiel jest w nich obecny. W przypadkach wątpliwych wykonuje się dodatkową próbę na węgiel i wodór. Stosuje się wówczas ogrzewanie badanej substancji z tlenkiem miedzi(II) (wg starszego nazewnictwa – tlenek miedziawy).



Wykonanie:

Badaną substancję w ilości 0,1 g miesza się w probówce z 1-2 g sproszkowanego i uprzednio wyprażonego tlenku miedzi(II). Probówkę zamyka się korkiem z umieszczoną w nim zgiętą rurką szklaną, której koniec zanurza się w klarownym roztworze wodorotlenku baru lub w wodzie wapiennej. Podczas prażenia węgiel prawie ilościowo przechodzi w dwutlenek węgla, który powoduje zmętnienie wody wapiennej względnie barytowej:



lub



Opisana próba pozwala na jednoczesne wykrycie wodoru. Jeżeli w chłodniejszej części tej probówki pojawiają się na ścianach kropelki wody, która osadza się na chłodnych ściankach probówki w postaci kropelek rosy, świadczą one o obecności wodoru w badanej substancji:



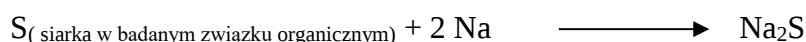
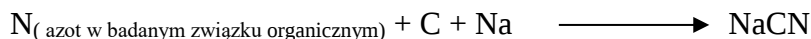
Podczas próby spalania należy zwrócić uwagę na następujące fakty:

- jeśli badana substancja jest stała, czy topi się i czy topnieniu towarzyszy rozkład,
- czy badana substancja jest palna; jaki daje płomień i jaki jest zapach wydzielających się par i gazów,
- czy po spaleniu pozostaje popiół. Jeżeli tak, to do pozostałości należy dodać kilka kropli wody i zbadać odczyn za pomocą papierka lakmusowego lub uniwersalnego. Z kolei dodaje się nieco rozcieńczonego kwasu solnego i obserwuje czy zachodzi pienienie i czy pozostałość się rozpuszcza. Następnie w celu wykrycia pierwiastków metalicznych bada się otrzymany roztwór w płomieniu używając drucika platynowego.

2.2.2. Wykrywanie azotu, siarki i fluorowców

Stapianie badanej substancji z metalicznym sodem

Pierwiastki takie jak: siarka, azot czy fluorowce są połączone najczęściej w związku organicznym z atomem węgla wiązaniem kowalencyjnym spolaryzowanym. W celu wykrycia azotu, siarki i chlorowców w związkach organicznych należy najpierw przeprowadzić je w stan jonowy. Najczęściej w tym celu wykonuje się próbę Lassaigne'a polegającą na stopieniu badanego związku z metalicznym sodem. Tworzą się przy tym cyjanek sodu, siarczek sodu i halogenki sodu, które łatwo można zidentyfikować.



Sód jest bardzo reaktywnym metalem, przechowywanym pod warstwą nafty. Reaguje z gazami zawartymi w powietrzu, pokrywając się warstwą tlenku, wodorotlenku, a także

węglanami i wodorowęglanami. Wykrywanie powstałych jonów (CN^- , S^{2-} , Cl^- , Br^- , I^-) przeprowadza się metodami klasycznej analizy jakościowej nieorganicznej.

Stapianie z sodem

Uwaga! W pracy z sodem należy zachować szczególną ostrożność. Sód gwałtownie reaguje z wodą. Stapianie z sodem przeprowadza się w okularach ochronnych i pod dygestorium z opuszczoną szybą.

Wykonanie:

W małej probówce z miękkiego szkła osadzonej w łapie lub szczypcach umieszcza się około 0,04 g metalicznego sodu /wielkości ziarna grochu/ i ostrożnie wprowadza 0,02 g badanej substancji. Probówkę z zawartością ogrzewa się aż do stopienia sodu i kiedy jego pary podejną 1-2 cm w górę probówki, ostrożnie dodaje następne 0,02 g badanej substancji, uważając, aby całą substancję wprowadzić na dno, a nie na ścianki probówki /może przy tym nastąpić słaby wybuch, szczególnie w przypadku CCl_4 , CHCl_3 , nitroalkanów i połączeń azowych/.

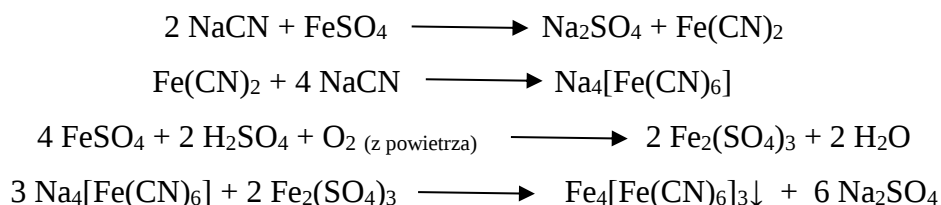
Probówkę ponownie ogrzewa się, najpierw ostrożnie, a następnie mocno, aż jej dno rozżarzy się do czerwonego żaru i utrzymuje w tej temperaturze przez 1-2 minut. Po oziębieniu dodaje się około 1 ml etanolu w celu usunięcia nadmiaru sodu i ponownie ogrzewa. Gorącą probówkę wrzuca się do parowniczkę zawierającej 10 ml wody destylowanej. Jeżeli probówka nie pęknie, rozbija się ją szklaną bagietką.

Otrzymany roztwór po dokładnym wymieszaniu należy przesączyć. Przesącz, który służy do dalszych badań na azot, siarkę i chlorowce powinien być przezroczysty, bezbarwny i alkaliczny. Jeżeli przesącz jest ciemny, próbę stapiania z sodem należy powtórzyć, gdyż rozkład badanej substancji nie był całkowity.

2.2.2.1. Wykrywanie azotu

Próba Lassaigne'a

Około 1 cm³ przesączonego roztworu otrzymanego po stopieniu badanej substancji z sodem ogrzewa się do wrzenia z 1-2 kryształkami bezwodnego lub uwodnionego siarczanu żelaza(II) (FeSO_4 lub $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Po ochłodzeniu dodaje się rozcieńczonego kwasu siarkowego do odczynu kwaśnego. Wytrącenie się osadu błękitu pruskiego (heksacyjanożelazian(II) żelaza(III)), $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, bądź pojawienie się niebieskiego zabarwienia, świadczy o obecności azotu:



Próba na błękit pruski może być negatywna m.in. w przypadku gdy badana próbka zawiera w swym składzie siarkę i azot i gdy dodano niedostateczną ilość sodu użytą w procesie stapiania. Stąd w badanym przesączu znajdują się jony tiocyjanianowe (SCN^- , jony

rodankowe), które np. po zadaniu roztworem FeCl_3 dają kolor krwistoczerwony, pochodzący od powstałego tiocyjanianu żelaza(III).

Próba Lassaigne'a daje negatywny rezultat w przypadku związków azowych, diazowych, niektórych pochodnych pirolu a także lotnych amin.

Próba z benzydynam

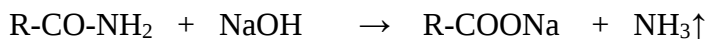
Około 3 ml alkalicznego przesączu otrzymanego po stopieniu badanej substancji z sodem zakwasza się kwasem octowym, po czym mieszając dodaje 2 krople 1% roztworu benzydiny w 50% kwasie octowym, a następnie kroplę 1% roztworu CuSO_4 , siarczanu(VI) miedzi(II). Jeżeli substancja zawiera azot, wytrąca się niebieski osad lub pojawia się niebieskie zabarwienie.

Reakcja z benzydynam ma szersze zastosowanie m.in. w analizie chemicznej cukrów (odróżnianie pentoz od heksoz), czy też w kryminalistyce do wykrywania śladów krwi.

Próba na azot luźno związany

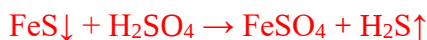
Szereg związków organicznych zawierających w swym składzie azot ulega rozkładowi w odpowiednim środowisku z wydzieleniem amoniaku (NH_3), który może być wykryty po charakterystycznym zapachu, ewentualnie za pomocą zwilżonego papierka uniwersalnego, który trzymany jest u wylotu probówki. Metodą tą można wykrywać azot związany w postaci łatwo lotnych grup, takich jak: grupa aminowa ($-\text{NH}_2$), iminowa ($=\text{NH}$), amidowa ($-\text{CONH}_2$) lub imidowa ($-\text{CONHCO}-$).

Do 0,1 g badanej substancji dodaje się 2-3 ml rozcieńczonego roztworu wodorotlenku sodu lub potasu. Po dłuższym wytrząsaniu sprawdza się czy substancja wydziela amoniak (zapach, próba z papierkiem lakmusowym lub z odczynnikami Nesslera). Następnie ogrzewa się przez chwilę i ponownie sprawdza czy wydziela się amoniak. Spostrzeżenie to pozwoli w dalszym toku analizy na określenie sposobu wiązania azotu. W zależności od związku organicznego ulegającego hydrolizie zasadowej, powstają odpowiednie sole (mocznik hydrolizuje do węglanu sodu, z kolei amid do soli sodowej kwasu karboksylowego) oraz wydziela się amoniak:



2.2.2.2. Wykrywanie siarki

Obecność siarki można potwierdzić jeśli obserwuje się wytrącanie czarnego osadu siarczku żelaza(II), FeS , po dodaniu FeSO_4 do roztworu po stapianiu z sodem. Osad FeS rozpuszcza się po dodaniu rozcieńczonego H_2SO_4 , z wydzieleniem siarkowodoru (nieprzyjemny zapach).



Do wykrywania siarki występującej w związkach organicznych w postaci grup tiolowej (-SH) lub tioeterowej (-S-) można wykorzystać reakcje hydrolizy alkalicznej i reakcje charakterystyczne jonu S^{2-} z nitroprusydkiem sodu lub octanem ołowiu(II).

Reakcja z nitroprusydkiem sodu

Do około 1 ml alkalicznego przesączu otrzymanego po stopieniu badanej substancji z sodem dodaje się 4-5 kropli świeżo przygotowanego 0,1% - owego roztworu nitroprusydku sodu [wg IUPAC: pentacyjanonitrozylżelazanu(III) disodu]. Pojawienie się ciemnopurpurowego zabarwienia /nie trwałe/ na skutek powstania związku kompleksowego z nitroprusydkiem sodu wskazuje na zawartość siarki w badanym związku:



Reakcja z octanem ołowiu(II)

Do 2 ml roztworu otrzymanego po stopieniu badanej substancji z sodem, zakwaszonego rozcieńczonym kwasem octowym dodaje się kilka kropli roztworu octanu ołowiu(II). Wydzielenie się czarnego osadu siarczku ołowiu(II) świadczy o obecności siarki:



2.2.2.3. Wykrywanie fluorowców

Fluorowce obecne w związkach organicznych mogą występować w formie jonowej (np. w solach amoniowych) lub związane wiązaniem kowalencyjnym o różnym stopniu spolaryzowania.

Próba Beilsteina

Jest to ogólna próba na fluorowiec jonowy i niejonowy, którą wykonuje się w następujący sposób: na wyprażonym druciku miedziowym umieszcza się odrobinę substancji i wprowadza do niekopcącej części płomienia palnika gazowego. W tych warunkach związki organiczne zawierające fluorowiec tworzą przy ogrzewaniu lotne halogenki miedzi barwiące płomień palnika gazowego na kolor:

- **zielony** – sugeruje obecność **jodu**,
- **intensywnie niebieskozielony** – obecność **chloru**,
- **w zielonym płomieniu niebieskie serduszko** – obecność **bromu**.

Pozytywny wynik reakcji można również otrzymać, gdy badany związek nie zawiera fluorowca, zawiera natomiast azot związany w postaci CN^- lub CNS^- . Tutaj zabarwienie płomienia jest wynikiem tworzenia się lotnego cyjanku lub rodanku miedzi(II). Ponadto pozytywną próbę Beilsteina dają: mocznik, tiomocznik, niektóre kwasy organiczne oraz niektóre pochodne pirydyny i chinoliny.

Próba na obecność fluorowca jonowego - reakcja z azotanem srebra

Dodatni wynik próby Beilsteina wymaga potwierdzenia rodzaju fluorowca oraz sposobu jego połączenia w związku organicznym.

Potwierdzeniem obecności fluorowca związanego jonowo w związku organicznym jest reakcja z jonami Ag^+ , co jednak nie wyklucza obecności dodatkowego fluorowca związanego niejonowo.

1. *Jeżeli badana substancja nie zawiera azotu i siarki - to fluorowce wykrywamy w przesączu otrzymanym po stopieniu z sodem.*

2 ml alkalicznego przesączu zakwaszamy rozcieńczonym kwasem azotowym i dodajemy kilka kropli roztworu azotanu srebra. Wytrącanie się osadu od białego do żółtego wskazuje na obecność jonu Cl^- , Br^- lub I^- . W celu sprawdzenia czy wytrącony osad jest chlorkiem, bromkiem lub jodkiem srebra, obserwuje się jego kolor oraz przeprowadza się próby rozpuszczania.

Chlorki powodują powstanie białego osadu (lub zmętnienie roztworu) AgCl , który po krótkim czasie zmienia kolor na fioletowy. Osad ten rozpuszcza się w 10% amoniaku, nie rozpuszcza się w 10% HNO_3 .



Bromki dają jasnożółty osad AgBr , który zielenieje na świetle. Osad ten trudno rozpuszcza się w 10% amoniaku, a nie rozpuszcza się w 10% HNO_3 .



Jodki tworzą żółty osad AgI , który nie rozpuszcza się w 10% amoniaku oraz w 10% HNO_3



2. *Jeżeli natomiast badana substancja zawierała azot lub siarkę – to należy usunąć jony siarczkowe i cyjanowe poprzez zakwaszenie alkalicznego przesączu (około 1 cm^3) rozcieńczonym kwasem siarkowym (15%) i ogrzewa się do wrzenia przez kilka minut do całkowitego odpędzenia lotnego siarkowodoru i cyjanowodoru. Pozostałość rozcieńczyć kilkoma cm^3 wody destylowanej i postępować jak przy wykrywaniu fluorowca jonowego.*

Próba z tlenkiem wapnia

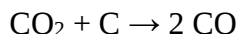
Próba ta daje dobre wyniki niezależnie od obecności azotu i siarki.

Wykonanie:

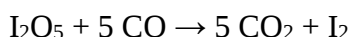
0,05 g badanej substancji miesza się dokładnie w probówce z nadmiarem czystego tlenku wapnia i zawartość praży w płomieniu aż do czerwonego żaru. Gorącą probówkę rozbija się w parownicy zawierającej 10 ml wody destylowanej, otrzymany roztwór zakwasza się kwasem azotowym, sączy i dodaje roztworu azotanu srebra. Wydzielenie się serowatego osadu świadczy o obecności chlorowca.

Obecność innych pierwiastków można stwierdzić dopiero po całkowitym rozłożeniu i zniszczeniu części organicznej badanego związku przez utlenienie kwasem azotowym. W dalszym postępowaniu stosuje się metody znane z analizy związków nieorganicznych.

W 1939 r. Schütz opracował metodę bezpośredniego oznaczania tlenu w substancjach organicznych. Badaną próbkę substancji poddaje się pirolizie w rurze kwarcowej w strumieniu czystego azotu. Tlen zawarty w substancji organicznej przechodzi częściowo w CO₂, a częściowo w CO. Gazy te przepuszcza się nad węglem ogrzanym do 1100 °C i następuje redukcja CO₂ do tlenku węgla(II):



Otrzymany tlenek węgla(II) wprowadza się do aparatu zawierającego I₂O₅, w wyniku czego utlenia się do CO₂:



Powstały CO₂ oznaczyć można wagowo i z jego masy obliczyć zawartość tlenu.

3. BADANIE ROZPUSZCZALNOŚCI

Po oznaczeniu własności fizycznych i ustaleniu czystości badanego związku oraz po wykonaniu jakościowej analizy pierwiastków kolejnym etapem w postępowaniu analitycznym jest oznaczenie rozpuszczalności. Jest to oznaczenie bardzo istotne, ponieważ może dać szereg wskazówek na temat polarności związku i na temat obecności określonych grup funkcyjnych.

Wiadomo, że pomiędzy budową chemiczną, a rozpuszczalnością istnieją pewne zależności. Istnieje np. reguła, która mówi, że o rozpuszczalności decyduje podobieństwo budowy chemicznej substancji rozpuszczalnej do rozpuszczalnika. Z reguły tej wynika, że związki o większej cząsteczce, o dłuższych łańcuchach węglowych będą się rozpuszczać w węglowodorach, benzenie, benzynie, a są nierozpuszczalne w wodzie. Wiadomo, że np. alkohole o dłuższych łańcuchach (od butylowego już począwszy) źle rozpuszczają się w wodzie, ale dobrze w węglowodorach. Przeważa tu bowiem wpływ łańcucha o charakterze hydrofobowym. Natomiast alkohole niższe, gdzie przeważa wpływ grupy hydroksylowej o charakterze hydrofilowym są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Wiadomo także, że w miarę nagromadzenia w cząsteczce grup wodorotlenkowych i karboksylowych (alkohole wielowodorotlenowe, kwasy wielokarboksylowe) rozpuszczalność w wodzie wyraźnie wzrasta, maleje natomiast rozpuszczalność w eterze. Chlorowcopochodne z reguły dobrze rozpuszczają się w węglowodorach lub w eterze, są natomiast nierozpuszczalne w wodzie.

Podobnych przykładów świadczących o pewnych zależnościach między budową i rozpuszczalnością można by przytoczyć znacznie więcej.

W toku wykonywania analizy organicznej oprócz rozpuszczalników obojętnych posługujemy się także tzw. rozpuszczalnikami „reaktywnymi”, to znaczy takimi, w których rozpuszczenie badanej substancji następuje w wyniku reakcji chemicznej. Należą tu np. kwasy lub zasady, w których rozpuszczanie polega na tworzeniu odpowiednich soli. Tak więc pojęcie rozpuszczalności w postępowaniu analitycznym w chemii organicznej jest pojęciem umownym i obejmuje zarówno właściwe rozpuszczenie jak też rozpuszczanie będące wynikiem reakcji chemicznych.

W toku analizy bada się rozpuszczalność w niżej wymienionych rozpuszczalnikach:

1. Woda
2. Eter
3. 5-procentowy roztwór wodorotlenku sodu
4. 5-procentowy roztwór wodorowęglanu sodu
5. 5-procentowy roztwór kwasu solnego
6. Stężony kwas siarkowy(VI)
7. 85-procentowy kwas fosforowy (V)

3.1. Stosowane rozpuszczalniki

Rozpuszczalniki obojętne

Proces rozpuszczania w rozpuszczalniku obojętnym polega na przewyciężeniu sił przyciągania pomiędzy jednostkami strukturalnymi substancji rozpuszczanej przez siły przyciągania pomiędzy nimi a cząsteczkami rozpuszczalnika. Przewidując rozpuszczalność substancji w rozpuszczalnikach chemicznie obojętnych, można kierować się ogólną zasadą „podobne rozpuszcza podobne”. Rozpuszczalniki ze względu na ich właściwości fizyczne dzielimy na polarne i niepolarne, zatem substancje polarne rozpuszczają się dobrze w polarnych rozpuszczalnikach, natomiast substancje niepolarne - w niepolarnych. Wynika to z różnicy oddziaływań powstających w roztworach pomiędzy cząsteczkami związków polarnych i niepolarnych.

Woda

Rozpuszczalnik polarny, rozpuszcza związki organiczne silnie polarne – należące do niższych członów homologicznych, zawierające polarne grupy funkcyjne.

Eter dietylowy

Rozpuszczalnik o mniejszej zdolności do tworzenia wiązań wodorowych niż woda, spośród związków rozpuszczalnych w wodzie rozpuszcza te o stosunkowo niewielkim wpływie grup polarnych.

Rozpuszczalniki reaktywne

Badanie rozpuszczalności obejmuje także próby z zastosowaniem rozpuszczalników reaktywnych chemicznie, co pozwala na określenie charakteru chemicznego substancji. Rozpuszczanie zachodzi w tym przypadku w wyniku reakcji chemicznej.

5% wodny roztwór wodorotlenku sodu

Rozpuszcza nierozpuszczalne w wodzie kwasy, które w reakcji z zasadą sodową dają sole.

5% roztwór wodorowęglanu sodu

Rozpuszcza kwasy mocniejsze od kwasu węglowego.

5% roztwór kwasu solnego

Rozpuszcza związki o charakterze zasadowym, które w reakcji z kwasem solnym dają chlorowodorki.

Stężony kwas siarkowy(VI)

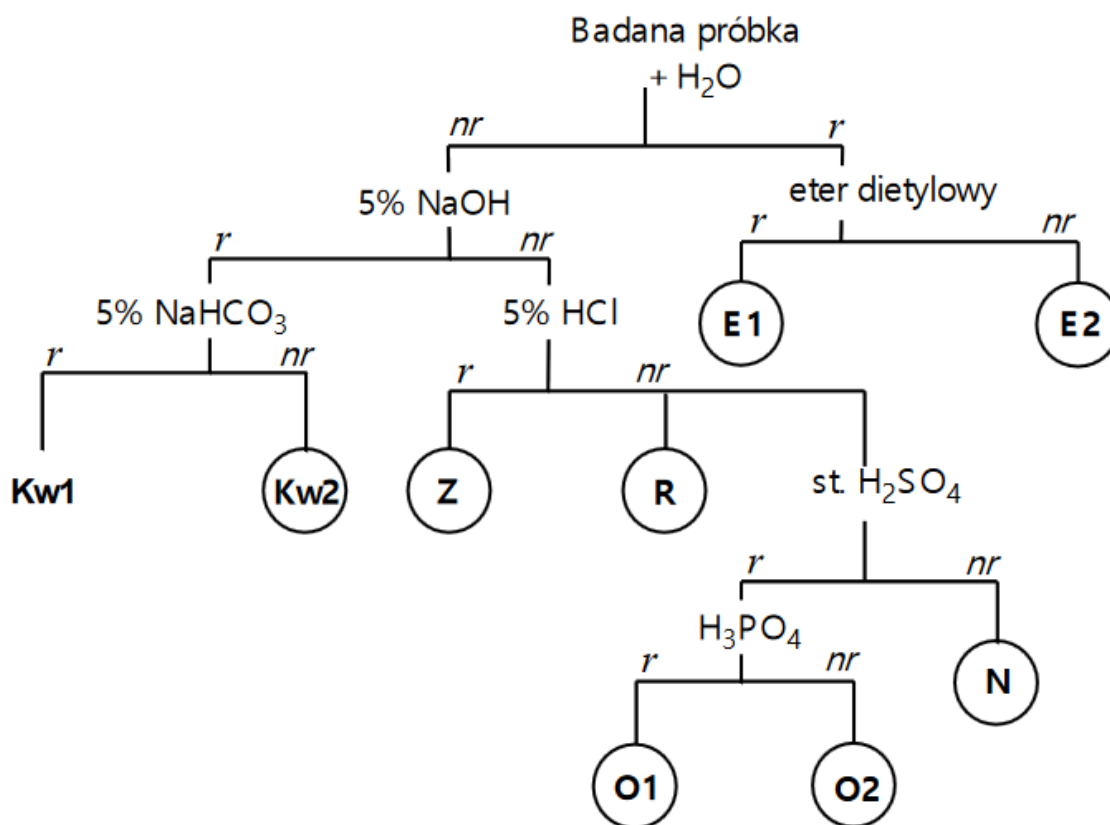
Rozpuszcza większość związków organicznych, z wyjątkiem typowo niereaktywnych substancji niepolarnych.

85% kwas fosforowy(V)

Spółród związków rozpuszczalnych jedynie w stężonym H_2SO_4 , rozpuszcza te o wyrównanym stosunku części polarnej i niepolarnej.

3.2. Wykonanie oznaczenia rozpuszczalności

Uzyskanie prawidłowego wyniku przy oznaczaniu rozpuszczalności zależy od wykonania badań w ściśle określonych warunkach i z dużą dokładnością. Dodatkowo, szczególną uwagę należy zwrócić na kolejność przeprowadzanych prób (Rys. 2.3.2) oraz użycie dokładnych ilości badanej próbki związku oraz rodzaju stosowanego rozpuszczalnika. W praktycznym wykonaniu, do umieszczonej w probówce substancji rozpuszczalnik dodaje się porcjami dokładnie wstrząsając.



Rys. 3.2. Oznaczanie grup rozpuszczalności. (skrót st. oznacza stężony, nr – nie rozpuszcza się, r – rozpuszcza się).

Wykonanie: Około 0,1 g substancji stałej lub 0,2 ml cieczy umieścić w probówce, a następnie dodać 3 ml określonego rozpuszczalnika. Rozpuszczalnik wprowadza się stopniowo (po 1 ml), energicznie wstrząsając i obserwuje czy próbka rozpuściła się całkowicie w 3 ml rozpuszczalnika.

UWAGI: Substancję uważa się za rozpuszczalną, jeżeli 0,1 g (ciało stałe) lub 0,2 ml (ciecz) rozpuści się w 3 ml rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej. Podczas badania rozpuszczalności w roztworze wodorowęglanu sodu należy zwracać uwagę na ewentualne wydzielanie się dwutlenku węgla. W przypadku badania rozpuszczalności w eterze dietylowym oraz stężonym H_2SO_4 albo 85% H_3PO_4 należy próbę wykonywać pod dygestorium oraz pamiętać o użyciu suchej probówki!

3.2.1. Grupy rozpuszczalności

Na podstawie wykonanego oznaczenia rozpuszczalności w warunkach wzorcowych z odpowiednio wybranymi rozpuszczalnikami można badaną substancję zakwalifikować do odpowiedniej grupy rozpuszczalności. Pozwala to wyeliminować wszystkie substancje nie należące do tej grupy i tym samym znacznie zawęzić zakres dalszych badań.

Wykonanie rozpuszczalności w kilku określonych rozpuszczalnikach dostarcza informacji na temat budowy oraz właściwości chemicznych badanego związku i pozwala na przyporządkowanie go do jednej z dziewięciu grup według podziału Shrinera, Fusona i Curtina (patrz Tabela 3.2.1). Ułatwia to identyfikację substancji poprzez ograniczenie ilości koniecznych do wykonania reakcji charakterystycznych.

Wszystkie związki organiczne dzielimy na rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie. Rozpuszczalne w wodzie dzielimy następnie na dwie grupy: rozpuszczalne w eterze (E_1) i nierozpuszczalne w eterze (E_2).

Związki nierozpuszczalne w wodzie, w zależności od zachowania się wobec 5% roztworu wodorotlenku sodu i 5% roztworu kwasu solnego, dzielimy na trzy grupy, a mianowicie na związki kwaśne, zasadowe i obojętne.

Związki kwaśne, w zależności od zachowania się wobec 5% roztworu wodorowęglanu, sodu dzieli się znowu na dwie grupy. Te, które rozpuszczają się w tym roztworze są silnymi kwasami (Kw_1), te zaś, które są nierozpuszczalne mają charakter słabych kwasów (Kw_2).

Związki rozpuszczalne w 5% roztworze kwasu solnego mają charakter zasadowy (Z).

Związki o charakterze obojętnym dzieli się dalej zależnie od ich składu pierwiastkowego. Te, które oprócz węgla, wodoru, tlenu i chlorowców zawierają jeszcze inne elementy tworzą grupę R. Należą tutaj związki obojętne zawierające azot, siarkę i inne rzadziej spotykane pierwiastki.

Pozostałe związki, tzn. te, które zawierają tylko C, H, O i chlorowce dzieli się według zachowania w stężonym kwasie siarkowym(VI). Nierozpuszczalne w nim stanowią grupę N, zaś rozpuszczalne dzieli się znowu na dwie grupy, w zależności od zachowania wobec 85% kwasu fosforowego(V). Te związki, które się w nim rozpuszczają stanowią grupę O_1 ; nierozpuszczalne - grupę O_2 .

Tabela 3.2.1. Podział związków organicznych na grupy rozpuszczalności (czcionką pogrubioną oznaczono grupy związków, które należy uwzględnić w analizie)

Grupa rozpuszczalności	Rozpuszczalnik i rozpuszczalność	Związki organiczne
E₁	Rozpuszczalne w wodzie i eterze etylowym	Niższe człony homologiczne – obojętne, kwasowe, zasadowe: alkohole, aldehydy, ketony, kwasy , estry, (do 4 atomów węgla), aminy , amidy, nityle (do 5 atomów węgla), pirydyna
E₂	Rozpuszczalne tylko w wodzie	Związki polarne: kwasy polihydroksylowe, hydroksykwas, glikole, alkohole polihydroksylowe, cukry , kwasy sulfonowe, aminokwasy , niższe amidy, aminoalkohole, poliaminy
Kw₁	Rozpuszczalne w 5% NaOH i 5% NaHCO ₃ , nierozpuszczalne w wodzie	Związki kwasowe: kwasy karboksylowe o większej masie cz., kwasy sulfonowe, fenole z podstawnikami elektronoakceptorowymi (np. nitrowymi), aminokwasy aromatyczne i alifatyczno- aromatyczne
Kw₂	Rozpuszczalne w 5% NaOH, nierozpuszczalne w wodzie i w 5% NaHCO ₃	Związki słabo kwasowe: fenole , <i>beta</i> -diketony i <i>beta</i> -ketonoestry pierwszo- i drugorzędowe nitrozwiązki, oksymy, tiofenole, tiole, sulfonamidy (z wyjątkiem pochodnych amin drugorzędowych), niektóre bezwodniki i chlorki kwasowe
Z	Rozpuszczalne w 5% HCl, nierozpuszczalne w wodzie	Związki zasadowe: aminy pierwszorzędowe alifatyczne i aromatyczne, drugorzędowe aminy alifatyczne i alifatyczno-aromatyczne, trzeciorzędowe aminy alifatyczne i alifatyczno-aromatyczne , hydrazyny
R	Nierozpuszczalne w wodzie, 5% NaOH i w 5% NaHCO ₃	<u>Zawierają oprócz węgla, wodoru, tlenu i chlorowców jeszcze inne pierwiastki, azot lub siarkę:</u> nitrozwiązki aromatyczne i trzeciorzędowe, amidy, nityle, aminy z dwoma lub trzema podstawnikami aromatycznymi , związki nitrozo, azoksy, azo i hydrazo, sulfotlenki, sulfony, sulfonamidy amin drugorzędowych, tioetery, niektóre: aminy z podstawnikami elektronoakceptorowymi
O₁	Nierozpuszczalne w wodzie, rozpuszczalne w stężonym H ₂ SO ₄ i 85% H ₃ PO ₄	Związki obojętne o liczbie atomów węgla mniejszej niż 9, nie zawierające azotu i siarki: alkohole, aldehydy, ketony oraz estry
O₂	Nierozpuszczalne w wodzie i 85% H ₃ PO ₄ , rozpuszczalne w stężonym H ₂ SO ₄	Związki obojętne o liczbie atomów węgla większej niż 9, nie zawierające azotu i siarki: alkohole, aldehydy, ketony oraz estry, etery, węglowodory nienasycone, niektóre węglowodory aromatyczne
N	Nierozpuszczalne	Związki nie zawierające azotu i siarki, nasycone węglowodory alifatyczne, cykloalkany, węglowodory aromatyczne, pochodne chlorowcowe węglowodorów, etery diarylowe.

3.2.2. Omówienie poszczególnych grup rozpuszczalności

3.2.2.1. Grupa E₁

Do tej grupy należą małowcząsteczkowe związki rozpuszczalne w wodzie i w eterze. Grupa ta dzieli się na 4 podgrupy zależnie od odczynu na lakmus i od składu elementarnego substancji:

A. Związki obojętne na lakmus

W grupie tej występują związki niezawierające azotu i siarki. Chlorowec może być obecny.

W zakresie tej grupy rozpuszczalności znaleźć mogą się następujące typy połączeń:

1. Aldehydy i ketony
2. Estry
3. Alkohole
4. Acetale
5. Laktony

Próby należy wykonać w kolejności wyżej podanej, aby uniknąć pomyłek. Jeżeli związek daje ujemną reakcję na aldehydy i ketony oraz estry, oznacza to, że może być alkoholem.

B. Związki o charakterze kwaśnym

Rzadko występują związki zawierające azot lub siarkę. Chlorowec może być obecny. Wykonujemy reakcje grupowe na obecność kwasów, hydrokys kwasów i chlorokwasów, fenoli, chlorków i bezwodników kwasowych.

C. Związki zasadowe na lakmus

Występują związki zawierające azot. Chlorowec i siarka mogą być obecne. Należy wykonać próby na aminy. Mogą być związki o więcej niż jednej grupie funkcyjnej zawierające grupę aminową.

D. Związki obojętne zawierające azot lub siarkę

Występują tutaj związki kilku typów: amidy proste, alkilowane, imidy, nitryle, karbaminiany oraz związki siarki.

3.2.2.2. Grupa E₂

Do grupy E₂ należą związki rozpuszczalne w wodzie, lecz nierozpuszczalne w eterze. Należą tu związki zawierające dwie lub więcej grup polarnych, ułatwiających rozpuszczanie w wodzie np. związki zawierające grupę –OH, –COOH, SO₃H, jak również sole amin i kwasów.

A. Związki o odczynie kwaśnym niezawierające azotu, siarki i chlorowca

Występują tu kwasy wielozasadowe i hydrokys kwasy.

B. Związki o odczynie obojętnym niezawierające azotu, siarki i chlorowca

Występują tu alkohole wielowodorotlenowe, 1,2 – glikole, hydroksyaldehydy i hydroksyketony, 1,2 – diketony, formalina i cukry.

C. Związki azotowe

Występują tu związki o konsystencji stałej. Wykonujemy próby na sole amoniowe, amidy, tioamidy, aminy, aminokwasy.

D. Związki siarkowe

Występują tu ciała stałe, a mianowicie kwasy sulfonowe i ich sole.

E. Sole.

Występują tu: sole amin, sole kwasów karboksylowych.

3.2.2.3. Grupa Kw₁

Do grupy Kw₁ należą związki nierozpuszczalne w wodzie, ale rozpuszczalne w roztworze NaOH i w roztworze wodorowęglanu sodu.

A. Związki bezazotowe

Należą do nich:

1. Kwasy karboksylowe
2. Kwasy sulfonowe
3. Kwasy alkilosiarkowe
4. Hydroksykwasy
5. Fenolokwasy, fenole zawierające elektroujemne podstawniki (np. -NO₂)
6. Ketokwasy

B. Związki zawierające azot, rzadziej siarkę i chlorowce

Należą do nich:

1. Cyjanokwasy i aminokwasy
2. Chlorowcokwasy
3. Nitrokwasy

3.2.2.4. Grupa Kw₂

Do grupy tej należą związki nierozpuszczalne ani w wodzie, ani w roztworze wodorowęglanu sodu, a rozpuszczalne w rozcieńczonym roztworze NaOH.

A. Związki niezawierające azotu i siarki

Należą tu przede wszystkim fenole, poza tym inne związki o charakterze słabo kwaśnym: β – ketoestry, diketony, fenole zawierające grupę ketonową.

B. Związki azotowe

Należą tu oksymy, amidy, związki nitrowe I – rzędowe i II – rzędowe, fenole zawierające grupę CN i NO₂.

C. Związki siarkowe

Należą tu merkaptany, tiofenole i pochodne sulfonamidowe amin pierwszorzędowych.

3.2.2.5. Grupa Z

Do tej grupy należą związki nierozpuszczalne w wodzie, ale rozpuszczalne w rozcieńczonym kwasie solnym. Związki te zawierają azot. Siarka i chlorowiec mogą być w nich obecne. Grupa ta zawiera aminy wszystkich trzech rzędów /alifatyczne i aromatyczne/. Mogą się znaleźć pochodne hydrazyny oraz związki posiadające dodatkowe grupy funkcyjne: -OH, -CO, -CN, -NO₂.

3.2.2.6. Grupa R

Do tej grupy należą związki nierozpuszczalne w wodzie, w rozcieńczonym kwasie solnym i w rozcieńczonych alkaliach. Zawierają one azot i czasem siarkę.

Należą tu:

1. Amidy proste i podstawione
2. Nitryle
3. Aminy aromatyczne podstawione grupami elektroujemnymi
4. Azotany (III) i azotany (V)
5. Związki nitrowe III – rzędowe
6. Alkohole
7. Aldehydy
8. Estry
9. Hydrazony i semikarbazony.

3.2.2.7. Grupa N

Do tej grupy należą związki niezawierające azotu ani siarki nierozpuszczalne w kwasie siarkowym(VI) i fosforowym(V). Należą tu węglowodory alifatyczne, cykloalkany, węglowodory aromatyczne i chlorowcopochodne tych wszystkich węglowodorów oraz diaryloetery.

3.2.2.8. Grupy O₁ i O₂

Należą tu związki obojętne nierozpuszczalne w wodzie, lecz rozpuszczalne w stężonym kwasie siarkowym i fosforowym – O₁; lub nierozpuszczalne w H₃PO₄ – O₂.

Grupy te obejmują następujące połączenia:

1. Węglowodory nienasycone
2. Alkilowane węglowodory aromatyczne
3. Alkohole, aldehydy, ketony, estry
4. Bezwodniki kwasowe
5. Etery i acetale
6. Laktony

4. REAKCJE GRUPOWE

Wykonanie prób wstępnych, a w szczególności jakościowe oznaczenie pierwiastków oraz określenie rozpuszczalności dostarcza wielu cennych informacji na temat charakteru badanej substancji. Należy jednak pamiętać, że w danej grupie rozpuszczalności mogą się znaleźć związki zawierające różne grupy funkcyjne. Z drugiej strony związki z tą samą grupą funkcyjną mogą należeć do różnych grup rozpuszczalności /np. w zależności od długości łańcucha węglowego/. Dlatego też w toku postępowania analitycznego należy w dalszej kolejności wyjaśnić jaką grupę lub grupy funkcyjne zawiera badana substancja. Do tego celu służą pewne reakcje chemiczne zwane reakcjami grupowymi.

Każdą taką reakcję należy wykonywać bardzo starannie według podanego przepisu, a wyprowadzając wnioski – pamiętać, że niewiele jest odczynników swoistych tylko dla danej grupy funkcyjnej. Czasem wskutek różnych reakcji obocznych niektóre związki mogą dawać reakcje charakterystyczne z odczynnikiem grupowym, sugerującym obecność grupy, której wcale nie zawierają. Dlatego też dla ustalenia czy badana substancja zawiera określoną grupę funkcyjną należy wykonać co najmniej dwie niezależne reakcje grupowe. W przypadku, gdy dwie różne reakcje grupowe dają różne wyniki – jedna wynik pozytywny, a druga negatywny – należy starannie rozważyć ich wartość.

Większe trudności sprawiają zazwyczaj związki wielofunkcyjne. Poszczególne grupy funkcyjne mogą tu bowiem na siebie wzajemnie oddziaływać tak, że zachowanie się badanego związku wobec odczynnika grupowego staje się nietypowe. Wiadomo np. że fenole nie rozpuszczają się w 5% roztworze wodorowęglanu sodu, ale jeśli w położeniu *orto* lub *para* w stosunku do grupy hydroksylowej znajdzie się podstawnik o charakterze silnie elektroujemnym, fenole takie będą rozpuszczalne w roztworze wodorowęglanu.

Prawidłowe wykonanie reakcji grupowych oraz wyprowadzenie właściwych wniosków zawęży zakres dalszych badań tak dalece, że pozostaje do wyboru zazwyczaj kilka lub kilkanaście możliwości.

Dalsze postępowanie polega na przygotowaniu odpowiednich pochodnych, które należy dokładnie oczyścić i oznaczyć temperaturę topnienia. Podejmując decyzję o wyborze odpowiedniej pochodnej należy wziąć pod uwagę następujące elementy:

- a) wybrana pochodna powinna być ciałem stałym krystalicznym o temperaturze topnienia w zakresie 50-250 °C. Związki niskotopliwe wykazują bowiem często skłonności do wydzielania się w formie oleju i trudno krystalizują – natomiast związki o wysokich temperaturach topnienia często ulegają rozkładowi, co utrudnia oznaczenie właściwej temperatury topnienia,
- b) wybrana pochodna powinna tworzyć się łatwo, z dobrą wydajnością i nie nastręczać trudności przy oczyszczaniu,
- c) wybrana pochodna powinna charakteryzować się właściwościami zdecydowanie różnymi od właściwości substancji wyjściowej /szczególnie istotne są wyraźne różnice w temperaturach topnienia/,
- d) wybrana pochodna powinna wyraźnie różnić się temperaturą topnienia od pochodnej związku najbardziej zbliżonego w swoich własnościach do badanej substancji.

Aby lepiej to zrozumieć rozpatrzmy następujący przykład: wszystkie dotychczasowe próby i reakcje grupowe wskazują, że badana substancja może być aldehydem *orto*- lub *meta*-chlorobenzoesowym. Przeglądając dane z piśmiennictwa stwierdzamy, że temperatury topnienia semikarbazonów obu aldehydów różnią się tylko o trzy stopnie. Natomiast fenylohydrazony wymienionych aldehydów topią się odpowiednio w temperaturach 86 °C i 134 °C. Jest oczywiste, że przygotowanie semikarbazonu jest w tym przypadku niecelowe, natomiast przygotowanie fenylohydrazonu jest wskazane, ponieważ dostarczy jednoznacznej informacji.

4.1. REAKCJE GRUPOWE ZWIĄZKÓW KARBONYLOWYCH

Związkami z grupą karbonylową są **aldehydy i ketony**. Ich reaktywność wiąże się z występowaniem w obu związkach silnie spolaryzowanej grupy karbonylowej (C=O), tym samym atom węgla posiada deficyt elektronów i jest podatny na atak odczynników nukleofilowych. Jednocześnie grupa karbonylowa aktywuje atomy wodoru przy węglu alfa (α).

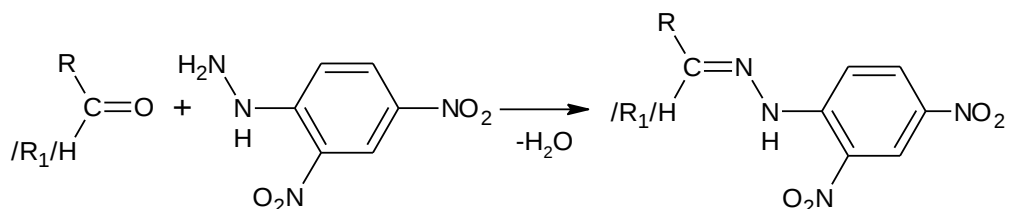
Grupa aldehydowa (–CHO) ma obojętny charakter chemiczny, tzn. nie odszczepia, ani nie przyłącza protonów. Obecna w cząsteczkach aldehydów i ketonów grupa karbonylowa sprawia, że związki te wykazują podobne własności chemiczne, m.in. ulegają reakcji addycji nukleofilowej. Zarówno aldehydy jak i ketony zawierają funkcję karbonylową, dlatego też do wykrywania i identyfikacji obu tych grup związków służą te same ogólne reakcje.

Identyfikację należy zacząć od potwierdzenia, że w badanej próbce występuje grupa karbonylowa (reakcje z pochodnymi hydrazyny lub aminami – roz. 3.1.1-3.1.3). Dopiero w następnej kolejności należy rozstrzygnąć, czy badana substancja należy do aldehydów, czy też ketonów, wykorzystując różnice w reaktywności tych grup związków (reakcja utleniania, substytucja na węglu α).

Należy pamiętać, że dla wiarygodnej analizy należy wykonać co najmniej dwie niezależne reakcje grupowe.

4.1.1. Reakcja z 2,4-dinitrofenylohydrazyną

Najczęściej stosowanym odczynnikiem do wykrywania połączeń karbonylowych jest 2,4-dinitrofenylohydrazyna. W wyniku reakcji powstają najczęściej krystaliczne, rzadziej oleiste 2,4-dinitrofenylohydrazony (Rys. 4.1.1).



Rys. 4.1.1. Reakcja aldehydu lub ketonu z 2,4-dinitrofenylohydrazyną

Wykonanie:

Do 3 ml przygotowanego roztworu odczynnika z 2,4-dinitrofenylohydrazyną dodaje się 2 krople /0,1 g/ badanej substancji i mocno wytrząsa. Wydzielenie się osadu lub oleju od razu lub po upływie 5-10 minut świadczy o obecności grupy karbonylowej.

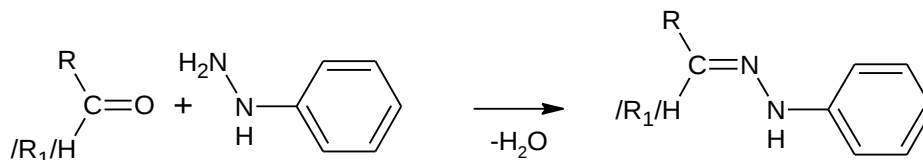
Próba ta daje jednoznaczną odpowiedź, tzn. jeśli w badanym związku występuje grupa karbonylowa, obserwuje się wytrącanie żółtopomarańczowego lub nawet czerwonego osadu.

Odczynnik:

- 2,4-Dinitrofenylohydrazyna r-r (odczynnik)

4.1.2. Reakcja z fenylohydrazyną

Fenylohydrazyna jest odczynnikiem stosowanym obok jej dinitropochodnej do wykrywania połączeń karbonylowych. W jej wyniku powstają najczęściej krystaliczne fenylohydrazony (Rys. 3.1.2).



Rys. 3.1.2. Reakcja aldehydu lub ketonu z fenylohydrazyną

Wykonanie:

- dla substancji rozpuszczalnych w wodzie: Do 2 ml odczynnika (roztwór fenylohydrazyny) dodaje się 3-5 kropli (0,1-0,5 g) badanej substancji. Osad lub olej może się wytrącić już na zimno albo po lekkim ogrzaniu na łaźni wodnej i ponownym ochłodzeniu.
- dla substancji nierozpuszczalnych w wodzie: 0,1-0,5 g badanej substancji rozpuszcza się w 2 ml etanolu i powoli wkrapla wodę do pierwszego trwałego zmętnienia. Do tak przygotowanego roztworu dodaje się ok. 0,2 ml czystej fenylohydrazyny. Jeżeli w ciągu 15 minut nie wytrąci się osad, dodaje się kroplę kwasu octowego i ogrzewa kilka minut na łaźni wodnej.

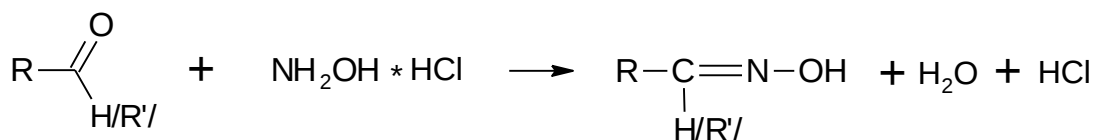
Wytrącenie się osadu lub oleju w a) lub b) po ochłodzeniu świadczy o obecności ugrupowania karbonylowego.

Odczynniki:

- Fenylohydrazyna r-r (odczynnik)
- Etanol

4.1.3. Reakcja z chlorowodorkiem hydroksyloaminy

W reakcji kondensacji grupy karbonylowej z hydroksyloaminą powstaje oksym, który nie posiada własności zasadowych. Próba ta polega na obserwacji zmiany barwy wskaźnika /oranżu metylowego, błękitu bromotymolowego lub papierka uniwersalnego/ występującej wskutek wydzielania się chlorowodoru (Rys. 3.1.3).



Rys. 3.1.3. Reakcja z chlorowodorkiem hydroksyloaminy

Wykonanie:

Przed wykonaniem tej próby należy zawsze sprawdzić odczyn badanej substancji.

- jeżeli substancja ma charakter obojętny – do kilku kropli odczynnika (r-r chlorowodoru hydroksyloaminy) dodaje się kryształek lub jedną kroplę badanej substancji i ogrzewa się do wrzenia. Zmiana barwy z pomarańczowej na czerwoną wskazuje na obecność grupy karbonylowej,

- b) jeżeli ma charakter kwaśny lub zasadowy – do 1 ml roztworu wskaźnika dodaje się około 0,2 g lub kilka kropli badanej substancji, doprowadza odczyn substancji do obojętnego (poprzez dodanie roztworu rozcieńczonej zasady lub kwasu) i dalej postępuje jak w punkcie a).

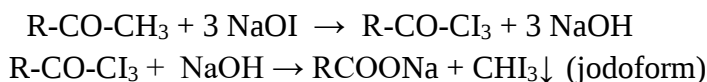
Odczynnik:

- Chlorowodorku hydroksyloaminy r-r (odczynnik)

4.1.4. Wykrywanie metyloketonów

4.1.4.1. Próba jodoformowa

Reakcję tę dają związki zawierające ugrupowania $\text{CH}_3\text{-CO-}$ związane z wodorem, alkilem, arylem lub alkohole, które w warunkach reakcji utleniają się do wyżej wymienionych połączeń:



Uwaga: Reakcja ta zachodzi też dla II-rzędowych alkoholi o wzorze ogólnym R-CH(OH)-CH_3 .

Wykonanie:

0,1 g lub 5 kropli badanej substancji rozpuszcza się w 2 ml wody. Jeśli substancja nie jest rozpuszczalna w wodzie należy ją rozpuścić w mieszaninie wody i dioksanu. Do tak otrzymanego roztworu dodaje się 2 ml 5% roztworu wodorotlenku sodu, a następnie przy częstym wstrząsaniu dodaje się roztwór **jodu w jodku potasu** aż do uzyskania trwałego zabarwienia i pozostawia na 2-3 min. Jeżeli jodoform nie wydzieli się w temperaturze pokojowej, wówczas próbkę należy ogrzać w temp. 60 °C. Produkt reakcji, po rozcieńczeniu równą objętością wody, pozostawia się na 10 minut. Wydzielenie się żółtego osadu o charakterystycznym zapachu świadczy o obecności wyżej wymienionych ugrupowań.

Odczynniki:

- 5% roztworu wodorotlenku sodu
- Jod w jodku potasu (I_2 w KI)

4.1.5. Odróżnienie aldehydów od ketonów

Wszystkie metody prowadzące do odróżnienia aldehydów od ketonów oparte są na wykorzystaniu redukcyjnych własności aldehydów. Aldehydy, w przeciwieństwie do ketonów, ulegają utlenieniu do kwasów przy użyciu nawet słabych utleniaczy (Ag_2O , CuO).

4.1.5.1. Próba Tollensa

Próba Tollensa polega na redukcji amoniakalnego roztworu tlenku srebra(I) do metalicznego srebra, które osadza się na probówce – stąd też nazwa „próba lustra srebrowego”.



Reakcję tę dają zarówno aldehydy alifatyczne jak i aromatyczne. Redukcja ta najłatwiej przebiega w przypadku aldehydów alifatycznych o małej masie cząsteczkowej; w miarę wzrostu długości łańcucha przebieg reakcji staje się wolniejszy. Aldehydy aromatyczne zawierające grupy hydroksylowe /np. aldehyd salicylowy/ reagują bardzo powoli. Próby Tollensa nie można przeprowadzić wobec związków, które tworzą sole srebrne. Pozytywny wynik tej próby dają również cukry redukujące. Kwas mrówkowy podobnie jak aldehydy, zawiera ugrupowanie -CHO i ma właściwości redukujące, a anion mrówczanowy utlenia się w trakcie próby Tollensa do anionu węglanowego, jednak efekt tej próby jest słabszy, niż w przypadku reakcji z aldehydami.

Wykonanie:

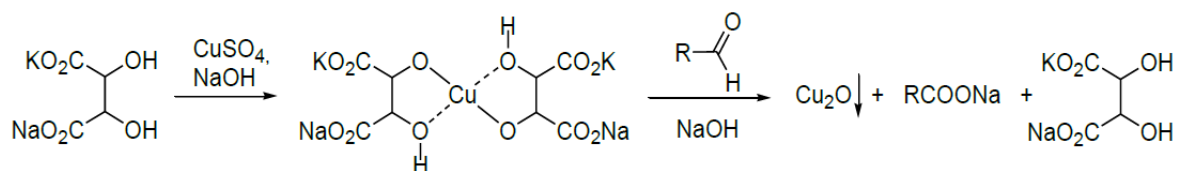
1. Przygotowanie odczynnika: W czystej probówce miesza się 2 ml 5% roztworu azotanu srebra i jedną kroplę 10% wodorotlenku sodu. Następnie przy ciągłym mieszaniu dodaje się kroplami 15% roztwór amoniaku aż do zaniku osadu tlenku srebra (Ag_2O).
Odczynnik powinien być świeżo przyrządzony i nie może być przechowywany /tworzą się związki wybuchowe/.
2. Wykonanie próby: Do 3 ml odczynnika dodaje się 3 krople badanej substancji /gdy badana substancja jest nierozpuszczalna w wodzie, należy ją rozpuścić w jak najmniejszej objętości alkoholu/. Po zmieszaniu pozostawia się w temperaturze pokojowej i obserwuje powstanie tzw. lustra, które świadczy o obecności aldehydów.

Odczynniki:

- Azotan srebra(I) 5%
- Wodorotlenek sodu 10%
- Amoniak 15%

4.1.5.2. Reakcja z odczynnikiem Fehlinga

Odczynnik Fehlinga jest mieszaniną roztworu CuSO_4 w kwasie siarkowym (Fehling I) i alkalicznego roztworu winianu sodowo-potasowego (Fehling II). Utlenia on aldehydy alifatyczne, czego wynikiem jest powstawanie ceglastego osadu Cu_2O (jony Cu^{2+} redukują się do jonów Cu^+). Formaldehyd będący silnym reduktorem w reakcji tej redukuje jony Cu^{2+} do miedzi metalicznej. Winian sodowo-potasowy tworzy z jonami Cu^{2+} związek kompleksowy, tym samym zapobiega to powstawaniu osadu $\text{Cu}(\text{OH})_2$.



Rys. 4.1.5.2. Reakcja z odczynnikiem Fehlinga

Reakcji tej ulegają zazwyczaj aldehydy alifatyczne oraz także cukry redukujące. Większość aldehydów aromatycznych oraz ketony dają negatywny wynik tej reakcji. Dla aldehydów aromatycznych w środowisku zasadowym zachodzi szybsza reakcja Cannizarro.

Wykonanie:

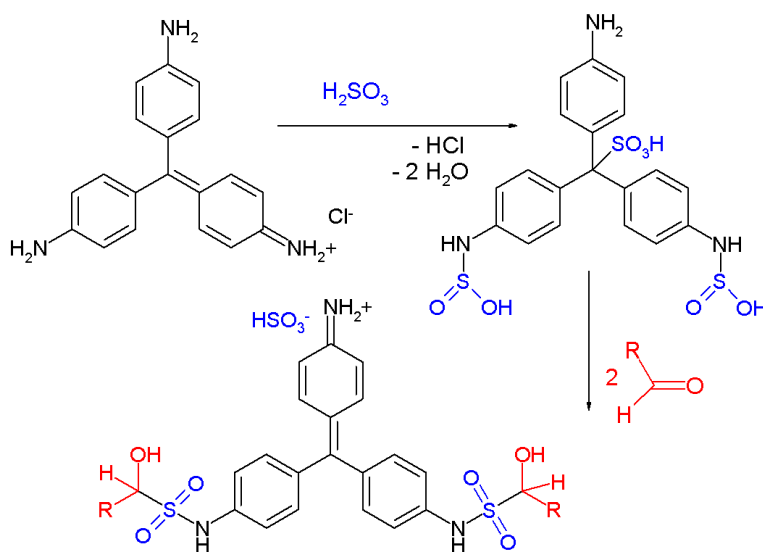
Około 0,2 g badanej substancji rozpuszcza się w 5 ml wody i dodaje 2,5 ml **Fehlinga I** i 2,5 ml **Fehlinga II**, miesza i ogrzewa przez kilka minut na łaźni wodnej.

Wydzielenie ceglastoczerwonego osadu tlenku miedzi(I) świadczy o obecności aldehydów.

Odczynniki:

- *Fehling I* (CuSO_4 w wodzie zakwaszonej H_2SO_4)
- *Fehling II* (winianu sodowo-potasowego /sól Seignerra/, NaOH , H_2O)

4.1.5.3. Reakcja z fuksyną /odczynnik Schiffa/



Rys. 4.1.5.3. Reakcja z fuksyną

[<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SchiffReagentMechanismI.png>-dostęp 09.11.2023]

Reakcja z odczynnikiem Schiffa stosowana jest do jakościowego wykrywania aldehydów. Może być również wykorzystana dla cukrów redukujących. W próbie tej wykorzystuje się fuksynę, która jest czerwonym barwnikiem z grupy trójfenylometanu. Pod wpływem SO_2 fuksyna odbarwia się dając tzw. odczynnik Schiffa, który reaguje z aldehydami dając nietrwały produkt przyłączenia, który traci kwas siarkowy(IV) i powstaje kation trytyliowy o zabarwieniu purpurowofioletowym (odczynnik Schiffa przy pozytywnym wyniku próby zmienia barwę z bezbarwnej lub bladożółtej na purpurowofioletową).

Wykonanie:

Do 1 ml roztworu badanej substancji dodać 5 kropli roztworu fuksyny. Zawartość probówki ostrożnie wymieszać. Jeśli analizowany związek jest aldehydem, w czasie 5 min pojawia się purpurowofioletowe zabarwienie. Nie należy próbki ogrzewać.

Odczynnik:

- roztwór fuksyny (odczynnik Schiffa)

4.1.6. Odróżnienie aldehydów alifatycznych od aromatycznych

4.1.6.1. Reakcja z odczynnikiem Benedicta

Odczynnik Benedicta redukują tylko aldehydy alifatyczne, służy on także do wykrywania większości cukrów redukujących.



lub



Rys. 3.1.7.1. Reakcja zachodząca w przebiegu próby Benedicta.

Wykonanie:

Około 0,1 g badanej substancji rozpuszcza się w 2 ml wody i dodaje 2 ml odczynnika Benedicta. Po zmieszaniu ogrzewa się do wrzenia. Wytrącenie się ceglastoczerwonego osadu świadczy o obecności aldehydu alifatycznego.

Odczynnik:

- Odczynnik Benedicta (zawiera: cytrynianu sodu, węglanu sodu, siarczanu miedzi)

4.2. REAKCJE GRUPOWE ALKOHOLI

Alkohole to pochodne węglowodorów alifatycznych zawierające grupę -OH połączoną z atomem węgla o hybrydyzacji sp^3 . Alkohole są substancjami ciekłymi lub stałymi, a ich temperatura wrzenia jest znacznie wyższa niż temperatura wrzenia węglowodorów, halogenków alkilowych (fluorowców węglowodorów), czy eterów o tej samej liczbie atomów węgla. Jest to związane z możliwością tworzenia wiązań wodorowych, w których uczestniczy obecna w strukturze grupa hydroksylowa.

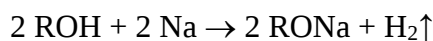
W analizie wykorzystuje się różnice w reaktywności alkoholi o różnej rzędowości w reakcjach substytucji nukleofilowej ($\text{S}_{\text{N}}1$ i $\text{S}_{\text{N}}2$). Zdolność reagowania z odczynnikami nukleofilowymi, a więc i zasadowość, rośnie wraz z rzędowością, natomiast kwasowość maleje. Charakterystyczne, zależne od rzędowości zachowanie alkoholi obserwuje się również w reakcjach utlenienia.

4.2.1. Reakcja z metalicznym sodem

W pierwszym etapie, informację o możliwości występowania alkoholu w badanej próbce można uzyskać (dla związków ciekłych), obserwując jej zachowanie po dodaniu sodu w procesie stapiania z sodem (wydzielają się pęcherzyki powstającego wodoru), jest to jednak reakcja niespecyficzna gdyż dają ją również także inne związki, np. kwasy i fenole.

Uwaga: Reakcję prowadzi się tylko w uzasadnionych przypadkach po porozumieniu z asystentem! Reakcję należy wykonać pod wyciągiem! Doświadczenie wymaga ostrożności i ścisłego trzymania się poleceń zawartych w przepisie.

Reakcja ta pozwala na wykrycie obecności aktywnego wodoru:



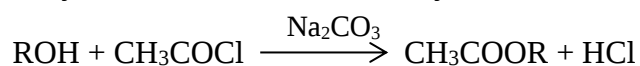
Oprócz alkoholi, kwasów i fenoli pozytywny wynik reakcji dają także tioalkohole, aminy II-rzędowe, acetylen i jego pochodne typu $\text{RC}\equiv\text{CH}$, związki z czynną grupą metylenową oraz substancje zawierające nawet ślady wilgoci. Alkohole o większej masie cząsteczkowej reagują z sodem bardzo wolno.

Wykonanie:

Do 1 ml badanej substancji dodaje się cienki skrawek metalicznego sodu i obserwuje czy wydzielają się pęcherzyki wodoru. Ponadto w przypadku obecności alkoholi po ochłodzeniu powinien wydzielić się osad alkoholanu.

4.2.2. Reakcja acetylowania

W celu wykrycia obecności grupy hydroksylowej stosuje się najczęściej reakcję acetylowania chlorkiem acetylu lub bezwodnikiem octowym:



Wykonanie:

W probówce wytrząsa się 1 ml badanej substancji z 1 ml chlorku acetylu. W przypadku obecności alkoholu obserwuje się efekt cieplny i wydzielenie chlorowodoru, natomiast po wylaniu zawartości probówki do około 5 ml wody wydziela się olej lub osad. Po zobojętnieniu nadmiaru kwasu węglanem sodu (NaHCO_3) często pojawia się przyjemny owocowy zapach.

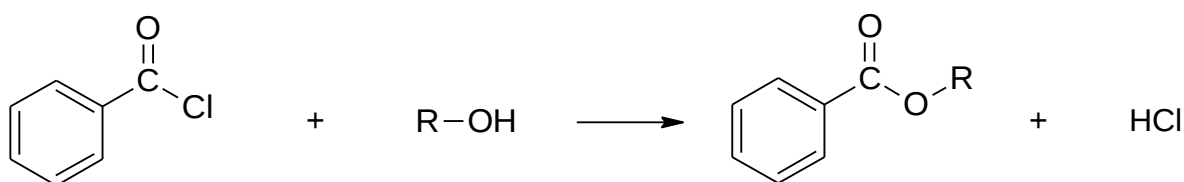
Uwaga ! Reakcję należy wykonać pod dygestorium !

Odczynniki:

- Chlorek acetylu
- NaHCO_3

4.2.3. Reakcja benzoilowania

Obok reakcji acetylowania wykorzystuje się często reakcję benzoilowania za pomocą chlorku benzoilu:



Rys. 4.2.3. Reakcja alkoholu z chlorkiem benzoilu

Wykonanie:

W probówce umieszcza się 1 ml badanej substancji i 0,5 ml chlorku benzoilu, a następnie ostrożnie dodaje 2,5 ml 10% roztworu wodorotlenku sodu. Probówkę zamyka się korkiem i energicznie wstrząsa, aż do zaniku zapachu chlorku benzoilu.

Wydzielenie się oleju lub osadu świadczy o obecności alkoholu.

Uwaga ! Reakcję należy wykonać pod dygestorium !

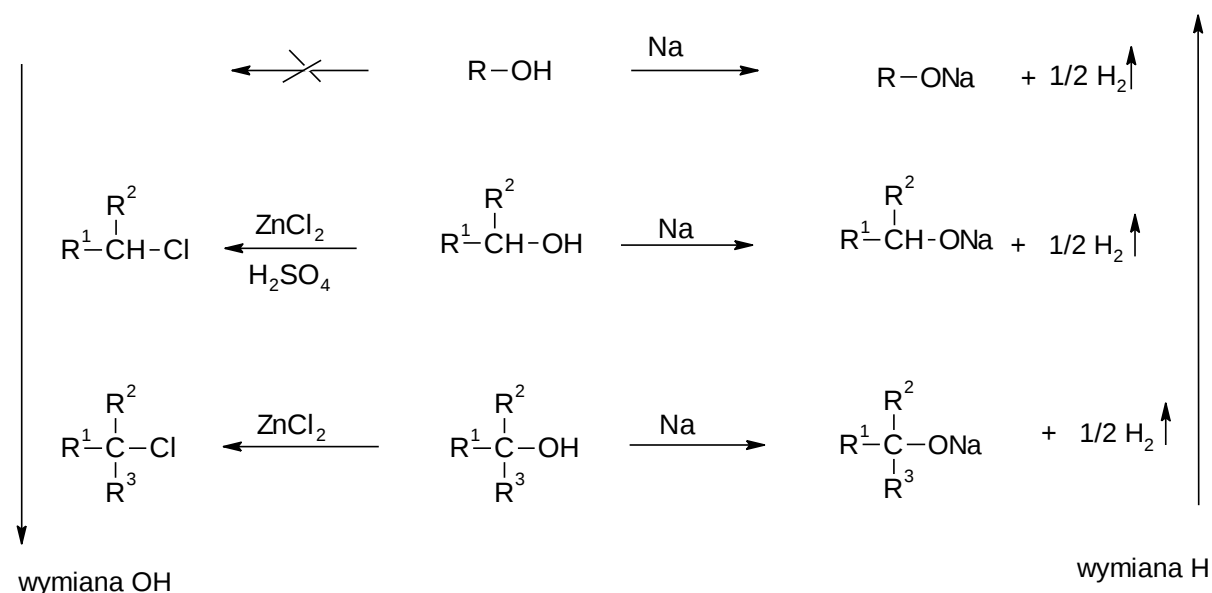
Odczynniki:

- Chlorek acetylu
- NaOH 10%

4.2.4. Rozróżnianie alkoholi I-, II- i III-rzędowych

4.2.4.1. Próba Lucasa – reakcja z kwasem solnym i chlorkiem cynku(II)

- próba na alkohole II- i III-rzędowe



Rys. 4.2.4.1. Próba Lucasa (z lewej) oraz reakcja z sodem (z prawej) (patrz roz. 3.2.1) dla alkoholi I-, II- i III-rzędowych.

W reakcji alkoholi z roztworem ZnCl_2 w kwasie solnym można odróżnić ich rzędowość. Jest to tzw. próba Lucasa. Próbę tę należy stosować tylko dla alkoholi o mniejszej masie cząsteczkowej /do C_6 /. Wyższe alkohole nie rozpuszczają się w odczynniku Lucasa i przy wstrząsaniu tworzą emulsję, która może powodować mylną interpretację wyniku.

Po dodaniu do alkoholu roztworu ZnCl_2/HCl roztwór staje się początkowo klarowny i w trakcie reakcji wytrąca się nierozpuszczalny w wodzie chlorek alkilu.

Wykonanie:

1 ml badanej substancji miesza się z 10 ml odczynnika Lucasa. Probówkę zamyka się korkiem i mocno wytrząsa przez chwilę, a następnie pozostawia w spokoju i obserwuje po jakim czasie pojawi się zmętnienie lub rozwarstwienie cieczy wskutek wydzielania się halogenku alkilu.

Alkohole III-rzędowe reagują najszybciej – od razu powstaje zmętnienie i w krótkim czasie widoczne jest rozwarstwienie cieczy. Alkohole II-rzędowe reagują wolniej, zmętnienie powstaje po 5 minutach, a dopiero po 10 minutach widoczne są 2 warstwy. Alkohole I-rzędowe w tych warunkach nie reagują, za wyjątkiem alkoholu benzyłowego, allylowego i cynamonowego.

Odczynnik:

- odczynnik Lucasa (chlorku cynku(II) w stężonym HCl)

W przypadku gdy próba Lucasa nie daje jednoznacznego wyniku należy dodatkowo wykonać próbę ze stężonym kwasem solnym.

4.2.4.2. Próba ze stężonym kwasem solnym

W przypadku gdy próba Lucasa nie daje jednoznacznego wyniku należy dodatkowo wykonać próbę ze stężonym kwasem solnym.

Wykonanie:

W probówce umieścić 2 ml stężonego kwasu solnego i 2 krople badanego alkoholu.

Zmętnienie lub utworzenie się dwóch warstw ciągu 2-10 minut wskazuje na obecność alkoholu III-rzędowego. W przypadku alkoholi I- i II-rzędowych nie obserwuje się widocznych zmian.

Odczynnik:

- stężony kwas solny

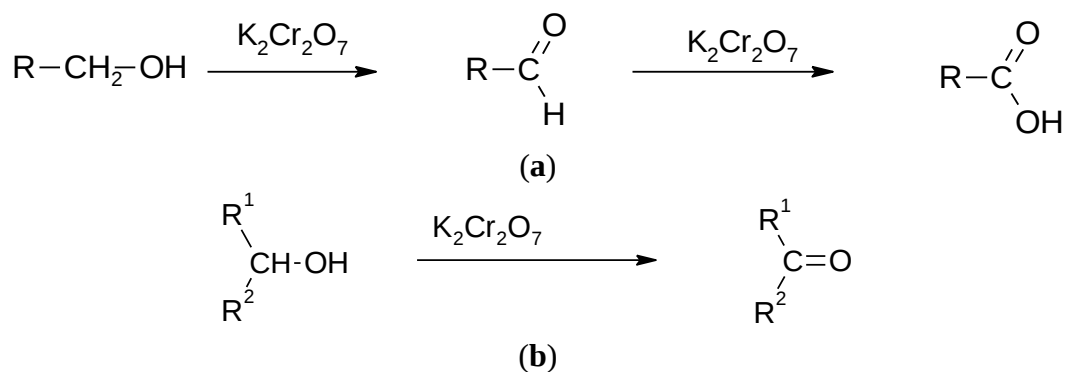
4.2.4.3. Reakcja z kwasem nitrochromowym - utlenianie alkoholi

- próba na alkohole I- i II-rzędowe

Większość alkoholi I i II-rzędowych ulega utlenieniu pod wpływem kwasu nitrochromowego, który tworzą mieszanina $K_2Cr_2O_7$ i HNO_3 . Reakcji tej towarzyszy pojawienie się ciemnoniebieskiego lub niebieskozielonego zabarwienia.

Alkohole III-rzędowe się nie utleniają.

Próbkę tą wykonuje się tylko w przypadku, konieczności rozróżnienia rzędowości alkoholi, a nie stwierdzenia ich obecności, ponieważ pozytywny wynik reakcji daje większość związków ulegających reakcji utleniania.



Rys. 4.2.4.3. Utlenianie alkoholi w reakcji z $K_2Cr_2O_7$: (a) I- i (b) II-rzędowych

Wykonanie:

Do 1 ml r-r kwasu azotowego(V) dodaje się 2-3 krople 5% wodnego roztworu $K_2Cr_2O_7$, a następnie 0,5-1 ml badanego związku (związki nierozpuszczalne w wodzie dodaje się do mieszaniny kwasu i dwuchromianu w ilości 0,2 ml lub 0,2 g po zmieszaniu z 1 ml acetonu) i starannie wytrząsa. Probówkę pozostawia się pod dygestorium na kilka minut. Pojawienie się niebieskiego (lub niebieskoszafirowego) zabarwienia (w ciągu 5 min) wskazuje na obecność I- lub II-rzędowego alkoholu.

Uwaga: Reakcję należy wykonać pod wyciągiem! Doświadczenie wymaga ostrożności i ścisłego trzymania się poleceń zawartych w przepisie.

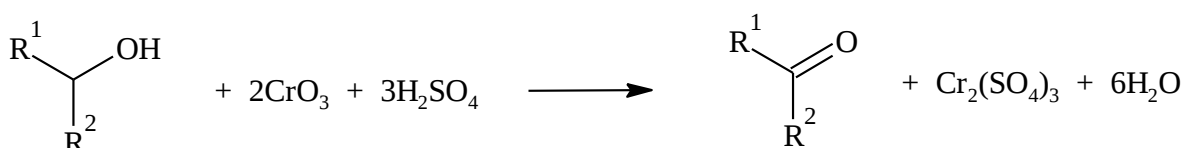
Odczynniki:

- Kwas azotowy(V) 7,5 mol/dm³
- $K_2Cr_2O_7$ 5% r-r

4.2.4.4. Reakcja z kwasem chromowym

- reakcja z odczynnikiem Bordwella-Wellmana

Alkohole I i II- rzędowe w tych warunkach ulegają utlenieniu i obserwuje się zmianę barwy na zieloną.



Rys. 4.2.4.4.. Reakcji alkoholi II-rzędowych z odczynnikiem Bordwella i Wellmana (z kwasem chromowym)

Wykonanie:

Rozpuścić 10 kropli badanego alkoholu (lub 0,2 g zmieszanego w 1 ml acetonu) i dodać 1 kroplę odczynnika Bordwella-Wellmana. Mieszaninę wytrząsać przez 10 sekund, a następnie zaobserwować zmianę barwy. Alkohole I- i II-rzędowe dają zabarwienie zielonożółte, zielonobrunatne lub błękitnozielone, natomiast alkohole III rzędowe nie powodują zmiany zabarwienia roztworu.

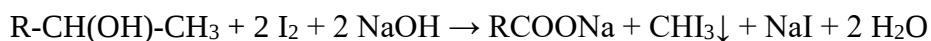
Odczynnik:

- Odczynnik Bordwella-Wellmana (CrO_3 w H_2SO_4)

4.2.4.5. Próba jodoformowa

- próba na alkohole II-rzędowe

Alkohole II-rzędowe, posiadające grupę metylową przy tym samym atomie węgla co grupę hydroksylową, dają analogicznie do metyloketonów pozytywny wynik próby jodoformowej wytrącić się żółty osad jodoformu (CHI_3) (wykonanie patrz roz. 4.1.4.1).



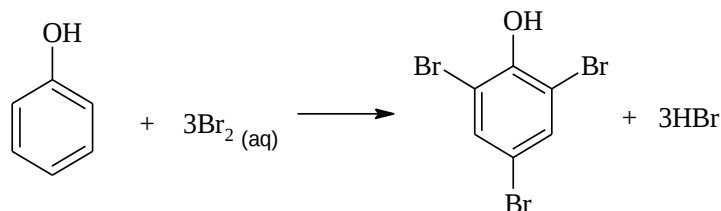
4.3. REAKCJE GRUPOWE FENOLI

Fenolami nazywamy związki, które powstają przez podstawienie w benzenie (lub innym pierścieniu aromatycznym) jednego lub kilku atomów wodoru grupami wodorotlenowymi. Związki te zatem odpowiadają alkoholom w szeregu alifatycznym. Fenole, za wyjątkiem: *o*-bromofenolu (2-bromofenolu), *o*-chlorofenolu (2-chlorofenolu), *m*-krezolu (3-metylofenol) i 3-metoksyfenolu, są krystalicznymi substancjami stałymi. Słabo rozpuszczają się w wodzie i najczęściej mają charakterystyczny, ostry zapach. Ich rozpuszczalność rośnie wraz ze wzrostem liczby grup wodorotlenkowych w strukturze związku. W odróżnieniu od alkoholi rozpuszczają się w 5% roztworze wodorotlenku sodu. Jednak nie rozpuszczają się w 5% roztworze wodorowęglanu sodu, w przeciwieństwie do kwasów karboksylowych.

Fenole, analogicznie do związków aromatycznych, łatwo ulegają na skutek aktywującego wpływu grupy -OH, typowym reakcjom substytucji elektrofilowej, w tym w szczególności reakcje bromowania oraz sprzęgania ze związkami diazoniowymi (tworzenie barwników azowych) są wykorzystywane w analizie. Dodatkowo do identyfikacji fenoli wykorzystywana jest reakcja z FeCl₃ (powstają barwne kompleksy) czy reakcja Liebermanna z mieszaniną kwasu azotowego(III) i stężonego siarkowego(VI).

4.3.1. Reakcja z bromem

Fenole reagują z roztworem bromu w czterochlorku węgla, dając produkty podstawienia z równoczesnym wydzielaniem bromowodoru. Jeżeli reakcję bromowania przeprowadza się za pomocą wody bromowej, wówczas bardzo często wytrąca się od razu trudno rozpuszczalny, bezbarwny lub żółty produkt.



Rys. 4.3.1. Reakcja fenolu z wodą bromową (powstaje 2,4,6-tribromofenol).

Produkty reakcji bromowania są również używane do identyfikacji fenoli jako ich stałe pochodne. Monohydroksylowe fenole tworzą mono-, di- i tribromopochodne. Z kolei fenole polihydroksylowe w reakcjach bromowania ulegają równocześnie bromowaniu i utlenieniu do chinonów. Reakcję tę można wykorzystać do otrzymania krystalicznych bromopochodnych.

Wykonanie:

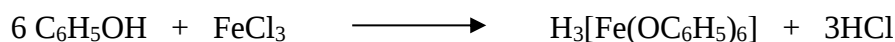
Do próbki dodać 0,2 g badanego związku i 5 ml wody (lub etanolu), po rozpuszczeniu dodawać kroplami wodę bromową, aż do utrzymania się jasnożółtej barwy. Na obecność fenolu wskazuje początkowe odbarwienie wody bromowej i następnie wydzielanie osadu produktu bromowania. Dodanie większej ilości odczynnika pozwala na otrzymanie osadu tribromopochodnej fenolu.

Odczynnik:

- Woda bromowa

4.3.2. Reakcja z chlorkiem żelaza(III)

Większość fenoli, enoli, kwasów hydroksamowych i niektóre oksymy reagują z FeCl_3 tworząc barwne związki kompleksowe. Barwa tych połączeń zależy od rodzaju fenolu, użytego rozpuszczalnika i stężenia reagentów. Zabarwienie to często jest nietrwałe i należy je obserwować w chwili dodawania odczynnika. Niektóre fenole z chlorkiem żelazowym reagują tylko w roztworze alkoholowym. Większość fenoli daje zabarwienie niebieskie, zielone lub fioletowe.



Rys. 4.3.2. Reakcja fenolu z FeCl_3 .

Wykonanie:

3 krople /0,05 g/ badanej substancji rozpuszcza się w 3 ml wody (lub 40% etanolu), a następnie dodaje 1 kroplę 2,5% roztworu FeCl_3 i obserwuje pojawienie się zabarwienia (czasem tylko przejściowego).

Fenole dają kompleksy o barwie zielonej, niebieskiej, fioletowej lub purpurowej. Jeżeli w roztworze wodnym próba jest negatywna (powstanie żółtego lub pomarańczowego zabarwienia), można próbę powtórzyć w roztworze alkoholowym.

Uwaga: Można wstępnie zidentyfikować związek w zależności od zabarwienia:

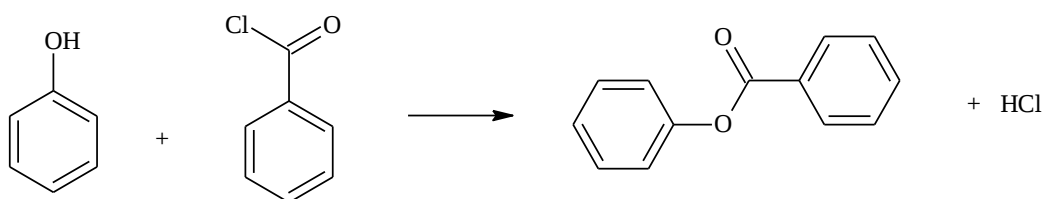
- **fioletowe:** fenol, rezorcyna, 4-hydroksybenzaldehyd, 2-hydroksybenzaldehyd, 1-naftol, aldehyd salicylowy,
- **niebieskofioletowe:** 2,3-dimetylofenol,
- **niebieskie:** o-krezol, m-krezol, p-krezol, 2,3-dwumetylofenol, hydrochinon, floroglucyna,
- **zielone:** pirokatechina (o-dihydroksybenzen), aldehyd 3,4-dwuhydroksybenzenowy, 2-naftol,
- **niebieskozielone:** kwas 3,4-dihydroksybenzoowy,
- **czerwone:** kwasy nitrosalicylowe, kwas o-hydroksyizoftalowy

Odczynnik:

- FeCl_3 2,5% r-r

4.3.3. Reakcja acylowania i benzoilowania

Reakcję tę można wykorzystać do otrzymania benzoilowych pochodnych krystalicznych (octanów i benzoesanów).



Rys. 3.3.3. Reakcja fenolu z chlorkiem benzoilu – otrzymywanie benzoesanu fenylu.

Wykonanie:

W probówce do 1 ml chlorku benzoilu (lub chlorku acetylu) dodaje się kroplami 0,2 g badanej substancji, następnie całość dokładnie wytrząsa się i obserwuje czy wydziela się chlorowodór.

Jeśli reakcja nie zaszła mieszaninę ogrzewa się na łaźni wodnej przez kilka minut. Następnie po ochłodzeniu całość wylewa się do 5 ml wody. W przypadku obecności fenolu wytrąci się osad lub olej.

Uwaga: Reakcję należy wykonać pod dygestorium!

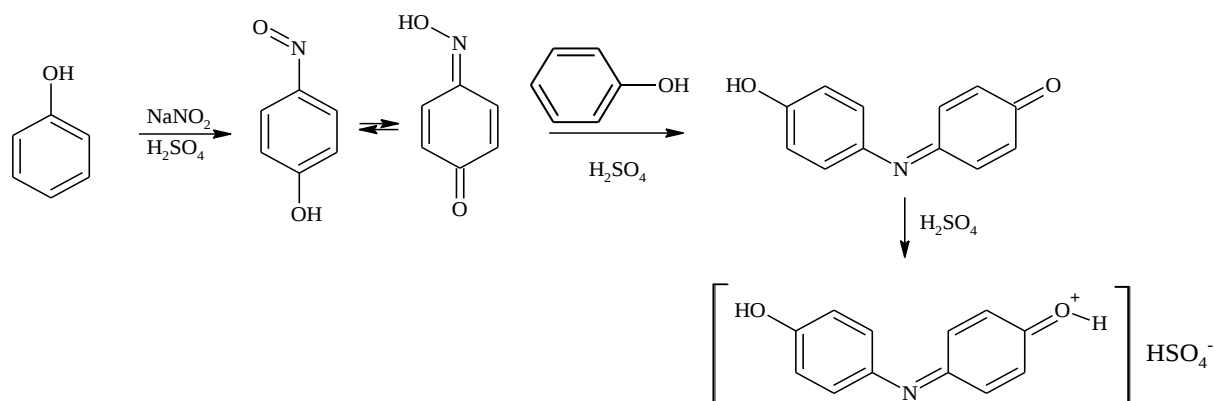
Odczynnik:

- chlorek benzoilu (lub acetylu)

4.3.4. Reakcja Liebermanna – próba indofenolowa

- dla fenoli nieposiadających podstawników jednocześnie w pozycji *orto* i *para*

Reakcję tę dają zarówno fenole jak i fenoloetery niepodstawione w położeniu *para*. Fenole w mieszaninie kwasów azotowego(III) i stężonego siarkowego(VI) tworzą barwne produkty C-nitrozowania w położeniu *para*. Pozytywny wynik tej reakcji dają też związki aromatyczne z grupami dialkiloaminowymi. Z kolei negatywny wynik próby dają nitrofenole i fenole podstawione grupami -CHO, -COOH i -COCH₃.



Rys. 3.3.4. Reakcja Liebermana.

Wykonanie:

Uwaga: Reakcję należy wykonać pod dygestorium!

W probówce rozpuszcza się kryształek azotanu(III) sodu (nazwa zwyczajowa: azotynu sodu) w kilku kroplach stężonego kwasu siarkowego(VI), a następnie do tak sporządzonego roztworu dodaje się 0,02 g (lub 2 krople) badanej substancji i pozostawia na kilka minut.

W przypadku obecności fenolu lub eteru fenolu mieszanina zabarwi się na kolor niebieski, zielony lub purpurowy (po dodaniu kilku kropli wody barwa się pogłębia).

Po ochłodzeniu próbkę alkalinizuje się 20% roztworem wodorotlenku sodowego.

W przypadku obecności fenoli barwa zazwyczaj pozostaje zielona lub niebieska.

Odczynniki:

- Azotyn sodu (azotan(III) sodu)
- Kwas siarkowy
- NaOH r-r 20%

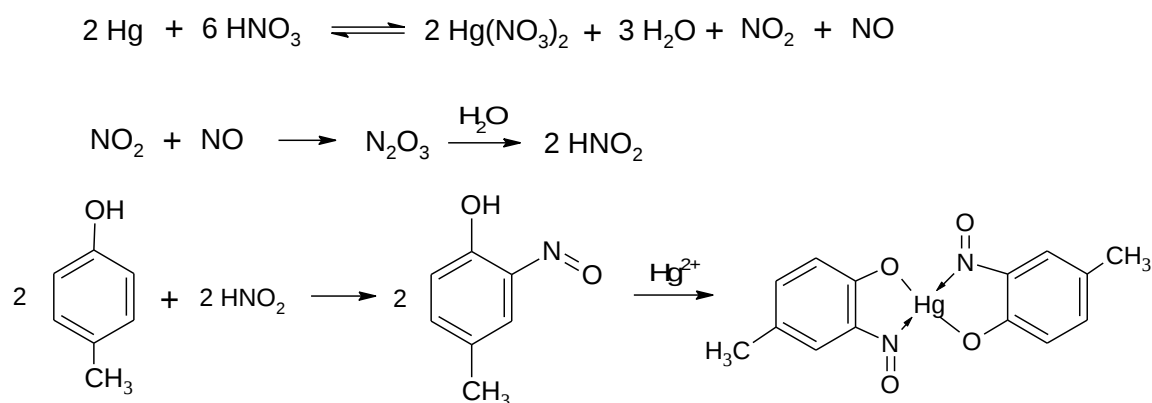
4.3.5. Reakcja Millona

Próba ta jest szczególnie ważna dla fenoli podstawionych w położeniu *para*, które nie dają reakcji Liebermanna.

Monofenole o **niepodstawionej** pozycji *orto*- (minimum jednej) reagują w temperaturze pokojowej lub po ogrzaniu z roztworem kwasu azotawego(V) wobec azotanu(V) rtęci(II) dając czerwone zabarwienie lub żółty osad nierozpuszczalny w kwasie azotowym.

Monofenole o **podstawionej** pozycji *orto*- z odczynnikiem Millona ulegają reakcji nitrozowania w pozycji *orto*, której produkt, *o*-nitrozopochodna, tworzy barwny kompleks z jonami Hg^{2+}). Pozytywny wynik reakcji Millona dają także etery fenoli i anilina.

Reakcji tej nie dają *diorto*- i *dimeta*-podstawione fenole np. kwas pikrynowy.



Rys. 3.5.5. Reakcja Millona na przykładzie *p*-krezolu(IUPAC: 4-metylofenol).

Wykonanie:

Uwaga: Reakcję prowadzi się tylko w uzasadnionych przypadkach po porozumieniu z asystentem! Reakcję należy wykonać pod dygestorium!

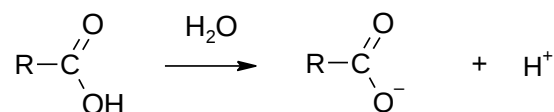
Kroplę roztworu (etanolowego, wodnego lub eterowego) badanej substancji miesza się z kroplą odczynnika Millona. Jeśli pojawi się kolor czerwony świadczy to o obecności fenolu. Jeżeli nie obserwuje się żadnych zmian, należy mieszaninę krótko ogrzać w łaźni wodnej. Pojawienie się czerwonego zabarwienia lub żółtego osadu wskazuje na obecność fenolu, eterów fenoli lub aniliny.

Odczynniki:

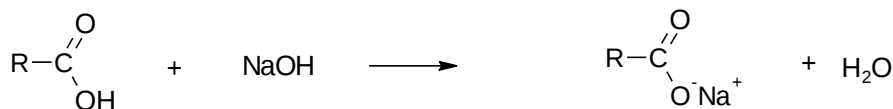
- odczynnik Millona (Hg w HNO_3)
- etanol

4.4. REAKCJE GRUPOWE KWASÓW KARBOKSYLOWYCH

Kwasy rozpuszczalne w wodzie wykazują kwaśny odczyn roztworu dzięki dysocjacji.



Kwasy karboksylowe są rozpuszczalne w 5% roztworze wodorotlenku sodu i 5% roztworze wodorowęglanu sodu; tej ostatniej reakcji towarzyszy wydzielanie się dwutlenku węgla.



kwasy karboksylowe

sól sodowa kwasu karboksylowego

W analizie tych związków najważniejszą rolę spełniają reakcje zachodzące w obrębie grupy karboksylowej. W tym celu są wykorzystywane te, które wiążą się bezpośrednio z ich charakterem kwasowym, m.in. próba ze wskaźnikami kwasowo-zasadowymi, próba jodan-jodek, próba z NaHCO_3 . Znaną reakcją charakterystyczną jest też estryfikacja. Inne reakcje analityczne związane są z indywidualnymi właściwościami różnych rodzajów kwasów.

4.4.1. Próba ogólna na kwasy

– badanie kwasowości/odczynu

4.4.1.1. Próba ze wskaźnikiem uniwersalnym

Wykonanie:

Niewielką ilość związku umieścić w probówce, a następnie rozpuścić w jak najmniejszej ilości wody. W przypadku gdy związek nie rozpuszcza się w wodzie, należy najpierw rozpuścić go w niewielkiej ilości acetonu lub alkoholu, a następnie dodać wody. Próbę należy wykonać z papierkiem uniwersalnym, który zanurza się na sekundę w wodnym roztworze badanego związku, odczeka chwilę i porównuje zabarwienie z wzorcową skalą barw odpowiadających określonej zakresowi pH.

4.4.1.2. Próba z fenoloftaleiną

Wykonanie:

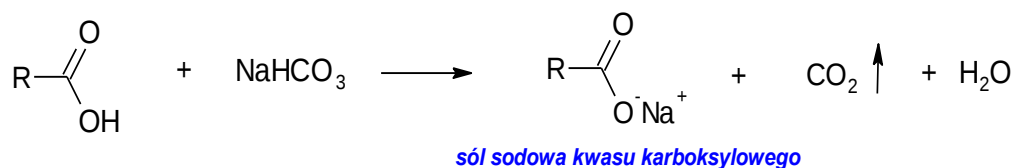
Na szkiełku zegarkowym (lub szalce Petriego) umieszcza się 1-2 krople 0,01 n roztworu wodorotlenku sodu, dodaje kroplę alkoholowego roztworu fenoloftaleiny, a następnie kroplę lub kryształek badanej substancji. Odbarwienie roztworu wskazuje na kwaśny charakter substancji.

Odczynniki:

- *NaOH r-r 0,01 n*
- *Fenoloftaleina (alkoholowy r-r)*

4.4.1.3. Reakcja z wodorowęglanem sodu

W reakcji tej można odróżnić kwasy od większości fenoli.



Wykonanie:

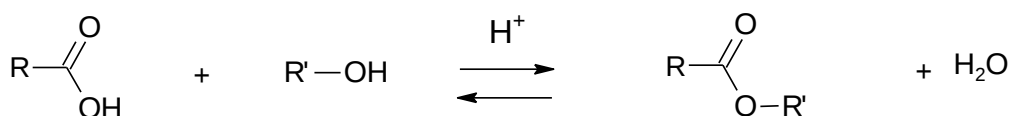
W probówce umieszcza się 1 ml 5% roztworu wodorowęglanu sodu i dodaje 1 kroplę lub niewielką ilość sproszkowanej badanej substancji. Wydzielanie się pęcherzyków dwutlenku węgla świadczy o obecności kwasu.

Odczynnik:

- *NaHCO₃ 5% r-r*

4.4.2. REAKCJA ESTRYFIKACJI

Niższe kwasy tłuszczowe oraz kwasy aromatyczne tworzą z niższymi alkoholami estry o przyjemnym owocowym zapachu. Kwasy o wyższych masach cząsteczkowych tworzą zazwyczaj estry bezwonne.



Rys. 3.4.2. Reakcja kwasów z alkoholami – otrzymywanie estrów.

Wykonanie:

0,1 g badanego kwasu ogrzewa się z 2 ml absolutnego etanolu i 1 ml stężonego kwasu siarkowego przez 2 minuty, po czym chłodzi i wlewa ostrożnie do parowniczk/szalki Petriego zawierającej roztwór węglanu sodu.

Wydzielenie się oleju o przyjemnym owocowym zapachu świadczy o obecności kwasu.

Odczynniki:

- *Kwas siarkowy stężony*
- *Etanol*
- *NaHCO₃ 5% r-r*

4.4.3. REAKCJA Z REZORCYNĄ – wykrywanie kwasów 1,2-dikarboksylowych

Kwasy 1,2-dikarboksylowe oraz ich pochodne – estry, bezwodniki, imidy dają z rezorcyną w obecności kwasu siarkowego barwniki typu fluoresceiny. Związki te w środowisku alkalicznym wykazują żółtoczerwoną fluorescencję w świetle dziennym i zieloną lub niebieską w świetle nadfioletowym. Kwasy 1-hydroksy-1,2-dwukarboksylowe w warunkach reakcji tracą dwutlenek węgla i wodę. Utworzony aldehyd reaguje z rezorcyną tworząc pochodne 5-hydroksykumaryny.

Wykonanie:

Uwaga: Reakcję prowadzi się tylko w uzasadnionych przypadkach po porozumieniu z asystentem!

Niewielką ilość (około 10 mg) badanej substancji miesza się z niewielką ilością rezorcyny, dodaje kilka kropli stęż. H_2SO_4 , po czym mieszaninę ogrzewa się przez 10 min we wrzącej łaźni wodnej (utrzymanie stałej temperatury jest konieczne dla właściwego przebiegu reakcji). Uzyskaną mieszaninę rozpuszcza się ostrożnie w wodzie, a następnie wkrapla się 20% roztwór NaOH do uzyskania odczynu zasadowego. Pojawienie się fluorescencji, szczególnie intensywnej w świetle nadfioletowym, wskazuje na obecność kwasu 1,2-dikarboksylowego. Równoległe do próby badanej przeprowadza się ślepą próbę z tymi samymi odczynnikami ale bez badanej substancji, gdyż produkty rozpadu samej rezorcyny dają zieloną fluorescencję.

Odczynniki:

- NaOH r-r 20%
- kwas siarkowy stężony
- rezorcyna

4.5. REAKCJE GRUPOWE AMIN

Dzięki obecności wolnej pary elektronowej przy atomie azotu aminy wykazują w mniejszym lub większym stopniu charakter zasadowy, należą do związków organicznych, pochodnych amoniaku. Aminy mają ogólny wzór RNH_2 , R_2NH lub R_3N , gdzie R jest grupą alkilową lub aryłową. Aminy dzielą się na pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowe, w zależności od ilości grup związanych z atomem azotu. Ponadto znane są czwartorzędowe związki (sole, kationy) amoniowe (R_4N^+). Własności fizykochemiczne amin zależą w dużej mierze od ich rzędowości. Aminy I i II-rzędowe tworząc wiązania wodorowe ulegają asocjacji, co wpływa na zmniejszenie ich lotności w porównaniu z lotnością węglowodorów o podobnej budowie łańcucha. Aminy o krótkich łańcuchach rozpuszczają się w wodzie lepiej niż alkohole o takich samych łańcuchach węglowodorowych co jest wynikiem powstania szczególnie mocnych wiązań wodorowych między azotem grupy aminowej a wodorem cząsteczki wody.

W celu stwierdzenia obecności aminy w badanej próbce należy najpierw potwierdzić obecność azotu w analizie elementarnej.

Aminy w większości należą do grup rozpuszczalności E1 lub Z.

Zależnie od rzędowości i rodzaju podstawników wykazują silniejszy lub słabszy charakter zasadowy, aminy alifatyczne mają zasadowość zbliżoną do amoniaku, z kolei aminy aromatyczne są znacznie mniej zasadowe - próba z *papierkiem Kongo*.

Aminy reagują różnie z określonymi odczynnikami, m.in. chlorkiem benzenosulfonylowym, kwasem azotowym (III), chlorkiem fluoresceiny. Ponadto, obecność większości amin można rozpoznać po charakterystycznym intensywnym i bardzo nieprzyjemnym zapachu.

4.5.1. Wykrywanie zasadowego charakteru amin

4.5.1.1. Próba z oranżem metylowym

Wykonanie:

Na szalce Petriego umieszcza się 1-2 krople 0,01 N kwasu solnego, dodaje 1-2 krople roztworu oranżu metylowego, a następnie 2 krople badanej substancji.

Związki słabo rozpuszczalne w wodzie należy rozpuścić lub sporządzić zawiesinę w 3 kroplach etanolu.

Zmiana zabarwienia z różowego na żółte wskazuje na zasadowy charakter związku.

4.5.1.2. Próba wobec papierka Kongo

Wykonanie:

Jedną kroplę lub kilka miligramów badanej substancji umieszcza się na papierku Kongo zabarwionym uprzednio na niebiesko za pomocą 0,1 mol/dm³ kwasu solnego.

Zmiana niebieskiego zabarwienia papierka na czerwony wskazuje na zasadowy charakter badanego związku. Aminy aromatyczne II-rzędowe reagują słabo, a III-rzędowe nie wykazują w tej próbie odczynu zasadowego. Negatywny wynik tej reakcji wykazują również aminy z podstawnikami silnie elektroujemnymi.

Uwaga: Reakcję prowadzi się tylko w uzasadnionych przypadkach po porozumieniu z asystentem!

Odczynniki:

- Kwas solny 0,1 mol/dm³
- Papierek Kongo

[czerwień Kongo to barwnik azowy stosowany m.in. jako chemiczny wskaźnik pH. Zmiana barwy z niebieskiej (odczyn kwasowy) na czerwoną lub pomarańczowoczerwoną (odczyn zasadowy) następuje w zakresie pH 3,0-5,2 (czułość wskazań wynosi 0.0005 mol/dm³ HCl)].

4.5.2. ROZRÓŻNIANIE RZĘDOWOŚCI AMIN

4.5.2.1. Metoda Hinsberga (reakcja z chlorkiem kwasu benzenosulfonowego)

Chlorek benzenosulfonylu reaguje z aminami I i II-rzędowymi, dając podstawione sulfonamidy. Jeśli tworzy się produkt (olej lub osad), badana amina jest aminą pierwszorzędową lub drugorzędową, ponieważ aminy III-rzędowe nie tworzą stabilnych sulfonamidów. Pochodne amin I-rzędowych są rozpuszczalne w roztworach wodorotlenku sodu (lub potasu), ponieważ zawierają atom wodoru związany z azotem, w wyniku czego powstaje sól sodowa sulfonamidu. Natomiast pochodne amin II-rzędowych są nierozpuszczalne w rozcieńczonych silnych zasadach /brak odpowiedniego atomu wodoru/.

Analogiczny, a nawet lepszy wynik daje użycie chlorku kwasu 4-toluenosulfonowego, który ma tę zaletę, że jest związkiem stałym, a jego pochodne mają wyższe temperatury topnienia, a więc tym samym lepiej nadają się do identyfikacji amin.

Wyników reakcji Hinsberga nie można przyjąć na jedyną podstawę ustalenia rzędowości amin. Niektóre aminy II-rzędowe zawierające grupę: hydroksylową, nitrową lub karboksylową mogą w reakcji Hinsberga zachowywać się nietypowo; np. sulfonamidy pochodne kwasu 4-N-metyloaminobenzoowego /CH₃-NH-C₆H₄-COOH/ rozpuszczają się w alkaliach, a więc zachowują się tak jak aminy I-rzędowe.

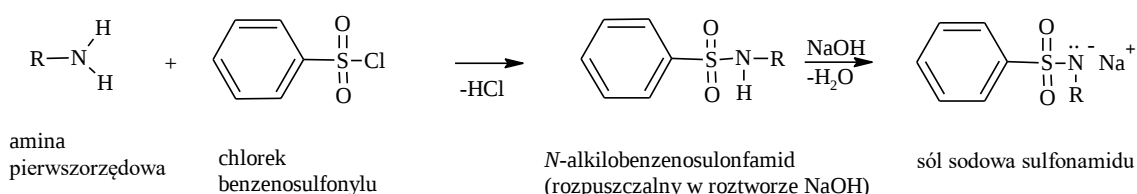
Wykonanie:

Uwaga: Reakcję należy wykonać pod dyktando!

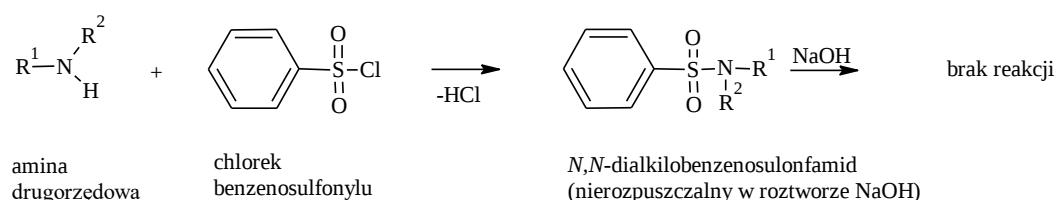
W probówce umieszcza się 0,3 g (lub 0,5 ml) badanej substancji, 5 ml 10% roztworu wodorotlenku sodu i 0,4-0,5 g chlorku kwasu benzenosulfonowego (lub 4-toluenosulfonowego). Zabezpiecza się wylot probówki, po czym mocno wstrząsa do zaniku zapachu chlorku.

W przypadku odczuwalnie silnego rozgrzania się mieszaniny reakcyjnej, należy ją krótko ochłodzić w zimnej wodzie (lub wodzie z lodem). Natomiast jeśli reakcja przebiega zbyt wolno (zwłaszcza dla amin II-rzędowe), mieszaninę należy lekko ogrzać. W czasie prowadzenia reakcji należy sprawdzać odczyn, który przez cały czas powinien być zasadowy.

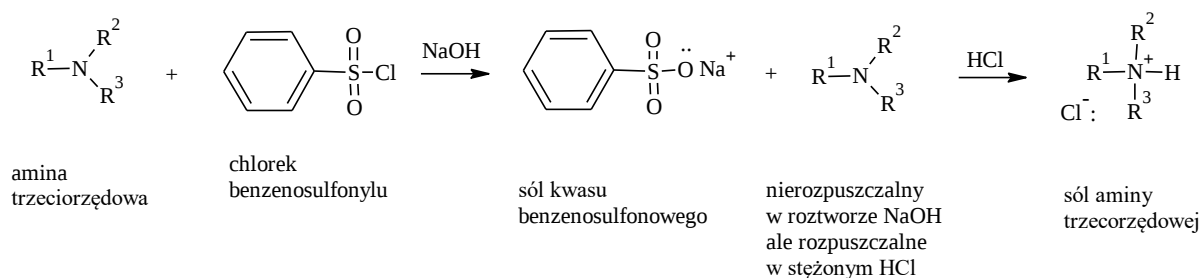
Amina pierwszorzędowa



Amina drugorzędowa



Amina trzeciorzędowa



Rys. 4.5.2.1. Reakcja aminy I-, II- i III-rzędowej z chlorkiem kwasu benzenosulfonowego.

Po skończonej reakcji chłodzi się zawartość probówki i bada zachowanie produktu:

- Amina I-rzędowa – osad powstaje dopiero po zakwaszeniu mieszaniny. Wytrącony osad rozpuszcza się w roztworach NaOH lub KOH.
- Amina II-rzędowa – powstały osad lub olej nie rozpuszcza się w H₂O, rozcieńczonym HCl ani w roztworach NaOH i KOH.
- Amina III-rzędowa – nie powstaje osad (ani olej). Czasami powstaje osad, który jest rozpuszczalny w stężonym HCl, ale nierozpuszczalny w roztworze NaOH.

Odczynniki:

- chlorek kwasu benzenosulfonowego
- 10% NaOH

4.5.2.2. Reakcja z kwasem azotowym(III)

Reakcja ta pozwala na rozróżnienie rzędowości amin i określenie czy badany związek jest aminą alifatyczną czy aromatyczną.

W próbie tej wykorzystuje się większą trwałość związków diazoniowych aromatycznych niż alifatycznych.

Wykonanie:

W probówce 0,2-0,3 g (lub 0,5 ml) aminy rozpuszcza się z 5 ml 10% roztworu kwasu solnego, a następnie chłodzi się w mieszaninie oziębiającej (lód z NaCl) do około 0 °C. Do tak przygotowanego roztworu dodaje się kroplami (około 1 ml) ochłodzonego 10% roztworu azotynu sodu (NaNO₂). Przez cały czas dodawania roztworu z NaNO₂, temperatura reakcji nie może przekraczać 5 °C.

Należy dokładnie zaobserwować zmiany jakie zachodzą w probówce, bo na ich podstawie można w większości wypadków określić rzędowość aminy i stwierdzić czy jest to amina alifatyczna czy aromatyczna.

Poniżej przedstawiono możliwe do zaobserwowania efekty reakcji różnych amin z kwasem azotowym(III):

- ✓ Jeżeli już w niskiej temperaturze, z przygotowanej (w sposób opisany powyżej) mieszaniny wydziela się azot w postaci bezbarwnego gazu, badana próbka jest **I-rzędową aminą alifatyczną**. Aminy te od wpływem kwasu azotowego(III) (nazwa zwyczajowa: kwas azotawy) przekształcają się w alkohole z równoczesnym wydzieleniem azotu:

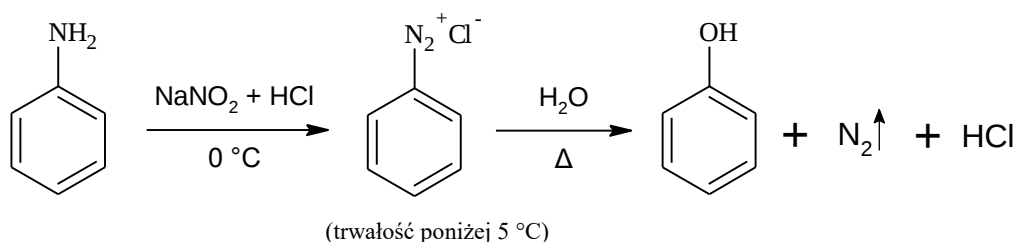


W celu upewnienie się czy zawartość probówki jest aminą I-rzędową alifatyczną, należy jedną część uzyskanego uprzednio roztworu ogrzać do wrzenia, a po ochłodzeniu wykonać próbę potwierdzającą obecność alkoholu (patrz roz. 4.2).

- ✓ Jeżeli nie zaobserwowano wydzielania się pęcherzyków gazu na zimno, należy zakończeniu dodawania otrzymany roztwór podzielić na **dwie części**, przy czym drugą część nadal chłodzić:

- a) Pierwszą połowę ogrzać w ciepłej wodzie - wydzielanie się azotu w podwyższonej temperaturze oraz obecność charakterystycznego zapachu fenolu może świadczyć o obecności **I-rzędowej aminy aromatycznej**.

W wysokiej temperaturze sole diazoniowe ulegają hydrolizie do **fenolu**:



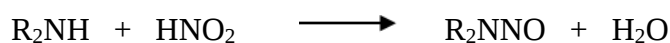
Następnie po ochłodzeniu próbówki, wykonać próbę potwierdzającą obecność fenolu (patrz roz. 4.3).

- b) Do drugiej części świeżo otrzymanego roztworu soli diazoniowej (chlorku benzenodiazoniowego), nadal chłodząc, dodaje się roztwór 2-naftolu (β -naftolu). Wydzielenie się osadu o intensywnym zabarwieniu (pomarańczowym lub czerwonym) wskazuje na obecność **I-rzędowej aminy aromatycznej** - **tworzy się barwnik azowy** (patrz rozdział 3.9.2.3)

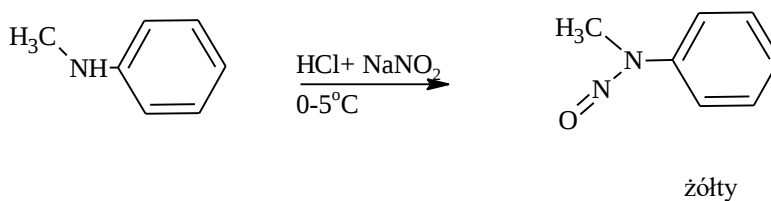
*Potwierdzeniem obecności aminy I-rzędowej aromatycznej jest utworzenie **barwnika azowego**!*

- ✓ Jeżeli z kolei na zimno i na ciepło nie wydziela się azot, natomiast pojawia się żółty osad lub olej, to możemy mieć do czynienia z **aminą II-rzędową (alifatyczną lub aromatyczną)**.

II-rzędowe aminy alifatyczne pod wpływem kwasu azotawego przechodzą w trudno rozpuszczalne nitrozoaminy (N-nitrozopochodne):



II-rzędowe aminy alifatyczno-aromatyczne z HNO_2 dają pochodne nitrozowe w postaci żółtego oleju:

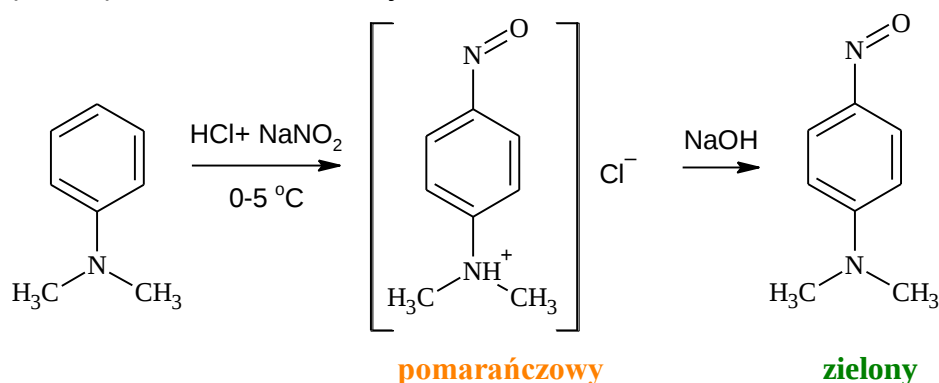


- ✓ Jeśli nie ma widocznych efektów reakcji, sugeruje to obecność **III-rzędowej aminy alifatycznej**. W tym przypadku ogrzanie mieszaniny reakcyjnej powoduje wydzielanie się brunatnych tlenków azotu, będących produktami rozkładu HNO_2 .

Należy pamiętać, że tlenki azotu mogą pojawić się w obecności innych amin jeżeli w przeprowadzonej reakcji został użyty nadmiar NaNO_2 .

- ✓ Z koeli pojawienie się pomarańczowego osadu lub zabarwienia wskazuje na obecność **III-rzędowej aminy alifatyczno-aromatycznej**, która z kwasem azotowym(III) ulega nitrozowaniu w pierścieniu w pozycji para (jeśli ta pozycja jest wolna) - powstaje chlorek *p*-nitrozoaminy.

W celu potwierdzenia próby, odsącza się wydzielony osad chlorowodoru *p*-nitrozoaminy, rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody i alkalizuje 10% roztworem wodorotlenku sodu. Zmiana zabarwienia potwierdza obecność **III-rzędowej aminy alifatyczno-aromatycznej**, który w środowisku zasadowym daje wolną zasadę o zabarwieniu zielonym:



Odczynniki:

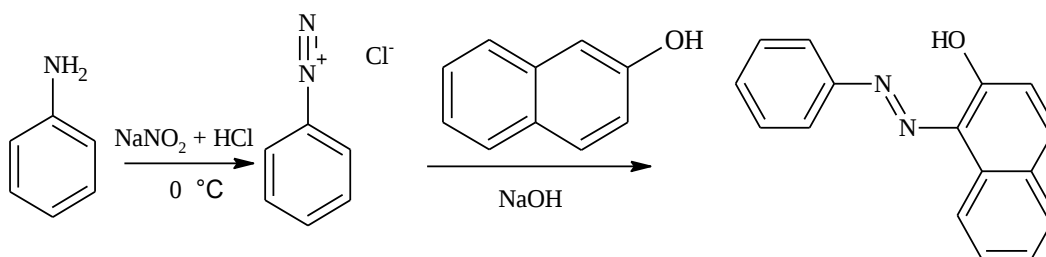
- 10% HCl (kwas solny)
- 10% NaNO_2 (azotyn sodu/azotan(III) sodu)
- 10% NaOH
- 2-naftol r-r

Uwaga! Wyników próby Hinsberga nie można przyjąć za jedyną podstawę ustalenia rzędowości amin.

4.5.2.3. Reakcja tworzenia barwników azowych

Reakcja ta jest charakterystyczna tylko dla amin aromatycznych I-rzędowych i pozwala odróżnić je od innych typów amin.

Aminy aromatyczne I-rzędowe w reakcji z kwasem azotowym(III) tworzą nietrwałe powyżej $5\text{ }^\circ\text{C}$ sole diazoniowe, które w niskiej temperaturze ulegają reakcji sprzęgania z fenolami, tworząc trwałe **barwniki azowe**.



Wykonanie:

Wykonujemy gdy wyniki otrzymane dla reakcji opisanej w pkt. 4.5.2.2. były niejednoznaczne!

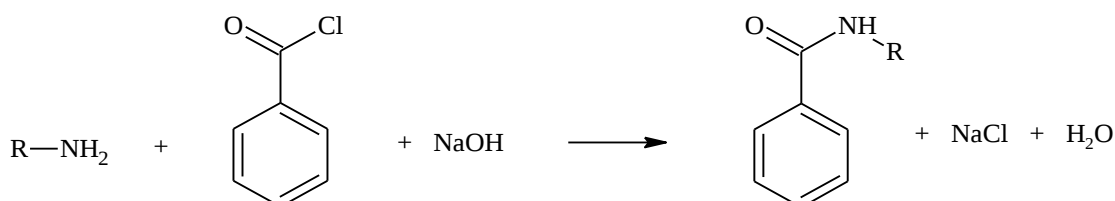
W probówce 0,2-0,3 g (lub 0,5 ml) aminy rozpuszcza się z 5 ml 10% roztworu kwasu solnego, a następnie chłodzi się w mieszaninie oziębiającej (lód z NaCl) do około 0 °C. Do tak przygotowanego roztworu dodaje się kroplami (około 2 ml) ochłodzonego 10% roztworu azotynu sodu (NaNO₂), tak aby temperatura reakcji nie może przekraczać 5 °C.

Odczynniki:

- 10% HCl (kwas solny)
- 10% NaNO₂ (azotyn sodu/azotan(III) sodu)
- 2-naftol r-r

4.5.2.4. Reakcja Schotten-Baumann - benzoilowanie amin

Zarówno aminy pierwszo- jak i drugorzędowe ulegają benzoilowaniu tworząc trudno rozpuszczalny osad lub olej. Benzoilowanie metodą Schottena-Baumann jest również metodą na otrzymywanie krystalicznych pochodnych benzoilowych (amidów).



Rys. 3.9.2.4. Reakcja aminy z chlorkiem benzoilu – tworzenie benzoilopochodnych.

Wykonanie:

Do 0,3 ml badanej substancji, umieszczonej w probówce, dodaje się 6 ml 2N roztworu wodorotlenku sodu i około 15 kropli chlorku benzoilu. Probówkę zamyka się korkiem i mocno wstrząsa przez kilka minut. Po tym czasie powinien zniknąć zapach chlorku benzoilu, roztwór powinien cały czas wykazywać odczyn zasadowy (w razie odczynu kwaśnego lub obojętnego należy dodać dodatkowo odpowiednią ilość zasady). Wydzielenie się trudno rozpuszczalnego osadu lub oleju o konsystencji półstałej wskazuje na obecność amin I- lub II-rzędowych.

Uwaga: Reakcję należy wykonać pod dygestorium!

Odczynniki:

- c) 2N NaOH
- d) chlorek benzoilu

4.5.2.5. Reakcja z siarczanem miedzi(II)

Wykonanie:

W probówce umieszcza się 1 kroplę badanej aminy oraz 2 ml 10% r-r CuSO_4 .

Jeśli po wstrząśnięciu powstanie zielony osad, wskazuje to na obecności aminy I-rzędowej.

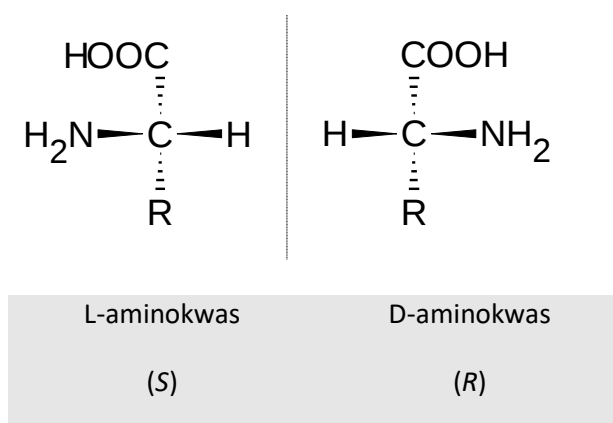
Odczynnik:

- siarczan miedzi(II) 10% r-r

4.6. REAKCJE GRUPOWE AMINOKWASÓW

Aminokwasy to podstawowe składniki budulcowe białek, enzymów, hormonów peptydowych, glikopeptydów, alkaloidów peptydowych oraz szeregu innych produktów naturalnych. W budowie ich cząsteczek oprócz grupy aminowej i karboksylowej mogą znajdować się inne grupy funkcyjne, np. grupa hydroksylowa, tiolowa, guanidynowa, czy też dodatkowa grupa aminowa lub karboksylowa.

Aminokwasy białkowe (inaczej biogenne) są rozpoznawane przez kod genetyczny. Naturalne białka są najczęściej zbudowane z 19 α -aminokwasów oraz iminokwasu - proliny; powszechnie nie do końca poprawnie określanych, jako 20 α -aminokwasów. Każdy z nich jest zbudowany z centralnego atomu węgla, węgla α , posiadającego budowę tetraedryczną. Do węgla α przyłączony jest kolejno atom wodoru, grupa aminowa i karboksylowa oraz inna grupa o zróżnicowanej budowie, stanowiącą łańcuch boczny (R), charakterystyczna dla danego aminokwasu. Z wyjątkiem glicyny, której łańcuch boczny stanowi atom wodoru, we wszystkich innych aminokwasach węgiel α jest asymetryczny, a tym samym związki te są optycznie czynne (chiralne). Ustalono, poprzez analizę korelacyjną względem aldehydu L-glicerynowego, że aminokwasy wchodzące w skład białek należą do szeregu konfiguracyjnego L, zgodnie z projekcją Fischera. Z kolei, zgodnie z regułami konfiguracji absolutnej (inaczej bezwzględnej), określanej na podstawie konwencji Cahna-Ingolda-Preloga, aminokwasy białkowe, za wyjątkiem cysteiny, należą do szeregu S (Rys. 3.11).



Rys. 4.6. Konfiguracja aminokwasów w projekcji Fischera: D i L oraz bezwzględna (R i S).

Łańcuchy boczne (R) aminokwasów białkowych różnią się między sobą budową, w tym wielkością, kształtem oraz obecnością dodatkowych grup funkcyjnych. Ze względu na charakter i budowę grupy R można je podzielić na siedem grup głównych:

- 1 - aminokwasy alifatyczne (glicyna (Gly), alanina (Ala), walina (Val), leucyna (Leu), izoleucyna (Ile) i prolina (Pro)), homologi glicyny z alifatycznymi łańcuchami bocznymi,
- 2 - aminokwasy aromatyczne (fenyloalanina (Phe), tryptofan (Trp) i tyrozyna (Tyr)), posiadające w swej budowie pierścień o charakterze aromatycznym,
- 3 - hydroksyaminokwasy (seryna (Ser) i treonina (Thr)), zawierające alifatyczne łańcuchy boczne z grupą hydroksylową,
- 4 - aminokwasy kwasowe (kwas asparaginowy (Asp) i glutaminowy (Glu)), z dodatkową grupą karboksylową,
- 5 - aminokwasy imidowe (asparagina (Asn) i glutamina (Gln)), zawierające grupę karboksamidową,
- 6 - aminokwasy zasadowe (lizyna (Lys), arginina (Arg) i histydyna (His)), zawierające dodatkowo grupę aminową, guanidynową lub pierścień imidazolowy,
- 7 - aminokwasy siarkowe (cysteina (Cys) i (metionina (Met))), posiadające w swej budowie ugrupowanie -SH lub -SCH₃.

Aminokwasy ze względu na obecność w swej budowie grupy aminowej i karboksylowej mogą ulegać wielu reakcjom charakterystycznym z jednej strony dla amin, a z drugiej dla kwasów karboksylowych. Dodatkowa każda inna grupa znajdująca się w łańcuchu bocznym aminokwasu może ponadto dawać specyficzną dla niej reakcję.

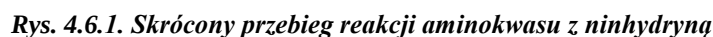
Do najważniejszych ogólnych reakcji należy:

- reakcja z kwasami i zasadami - tworzenie soli,
- reakcja z chlorkami kwasowymi - wykorzystywana przy blokowaniu grupy aminowej,
- reakcja z alkoholami - otrzymywanie estrów,
- reakcja z aminami – tworzenie amidów,
- reakcja kondensacji - synteza peptydów,
- reakcja dekarboksylacji,
- reakcja dezaminacji.

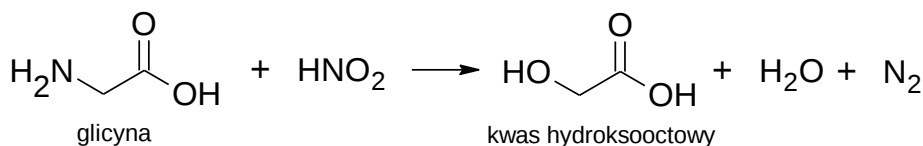
4.6.1. Reakcja z ninhydryną

Aminokwasy, zarówno wolne, jak i związane, pod wpływem ninhydryny ulegają utlenieniu. W środowisku kwasowym, w reakcji tej przejściowo powstaje iminokwas oraz zredukowana forma ninhydryny. W kolejnym etapie przemian ulegają deaminacji i dekarboksylacji (następuje uwolnienie się NH₃ i CO₂ – ten drugi w przypadku peptydów i białek nie uwalnia się) oraz utworzenie aldehydu uboższego o jeden atom węgla. W obecności amoniaku dochodzi do kondensacji formy utlenionej i zredukowanej ninhydryny i powstania kompleksu o fioletowo-niebieskiej barwie, zwanym purpurą Ruhemana. Kompleks posiada maksimum absorpcji przy $\lambda = 570$ nm, jednocześnie jego natężenie jest proporcjonalne do zawartości azotu aminowego aminokwasu, dlatego reakcja z ninhydryną może posłużyć do ilościowego oznaczania aminokwasów metoda spektrofotometryczna.

Prolina, które nie ma grupy α -aminowej – tworzy z ninhydryną kompleksy innego typu o barwie żółtej i maksimum absorpcji przy $\lambda = 440$ nm. Dodatni odczyn ninhydrynowy dają obok aminokwasów i ich reszt, także amoniak, sole amoniowe oraz aminocukry.



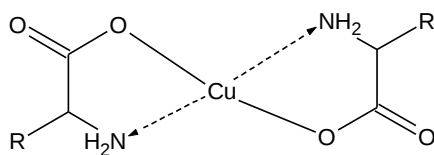
- 1% r-r ninhydryny



- 10% HCl (kwas solny)
- 10% NaNO₂ (azotyn sodu/azotan(III) sodu)

4.6.3. Reakcja aminokwasów z CuSO₄

Alifatyczne, jak i aromatyczne aminokwasy z wolną grupą aminową tworzą ciemnoniebieskie kompleksy o następującej budowie:



Wykonanie:

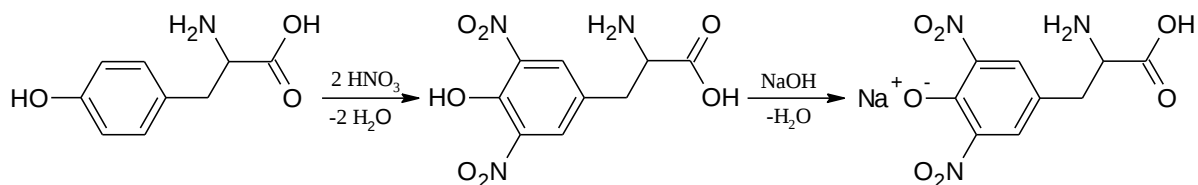
Do 1-2 ml badanej próbki (0,1 g rozpuścić w wodzie) i dodać kroplami 10% roztwór CuSO₄. Pojawienie się ciemnoniebieskie zabarwienie świadczy o obecności aminokwasu. Należy unikać nadmiaru siarczanu miedzi(II), gdyż sam roztwór ma niebieską barwę.

Odczynnik:

- 10% r-r CuSO₄

4.6.4. Reakcja ksantoproteinowa

Obecność aromatycznych aminokwasów (fenyloalaniny, tryptofanu, tyrozyny), zarówno wolnych jak i wchodzących w skład peptydów i białek, można wykryć za pomocą reakcji ksantoproteinowej. Polega ona na powstaniu pod wpływem stężonego kwasu azotowego(V) aromatycznych pochodnych nitrowych o barwie żółtej, przyjmujących w środowisku zasadowym zabarwienie pomarańczowe. Reakcja ta jest charakterystyczna dla fenoli oraz aminokwasów aromatycznych wolnych, jak i związanych w białku.



Rys. 4.6.4. Reakcja ksantoproteinowa na przykładzie tyrozyny.

Wykonanie:

Odmierzyć do jednej probówki 1 ml roztworu badanej próbki (0,2 g rozpuścić w wodzie) i dodać po 5-6 kropli stężonego kwasu azotowego, wymieszać (w przypadku obecności fenyloalaniny może zajść konieczność dodania 1 kropli stężonego H₂SO₄). Probówkę ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez 3-5 min, ostudzić i dodawać stopniowo 3,5 ml wodorotlenku sodowego.

W obecności aminokwasu aromatycznego wytrąca się osad, który po podgrzaniu żółknie. Pod wpływem temperatury powstają pochodne nitrowe aminokwasów aromatycznych o barwie żółtej, które następnie po zalkalizowaniu przechodzą w sole o barwie pomarańczowej.

Uwaga: Reakcję wykonywać ostrożnie i pod wyciągiem!

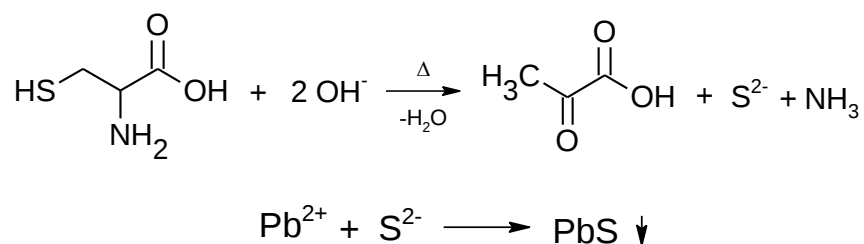
Odczynniki:

- HNO_3 st.
- H_2SO_4 st.

4.6.5. Reakcja cystynowa

- z solami ołowiu – wykrywanie aminokwasów siarkowych

W obecności substancji białkowej zawierającej reszty cysteiny, jak i cystyny, jak i wolnych aminokwasów siarkowych, podczas ogrzewania w środowisku alkalicznym w obecności jonów Pb^{2+} powstaje czarny osad siarczku ołowiu(II), PbS . Metionina nie daje pozytywnego wyniku w tej reakcji.



Rys. 4.6.5. Reakcja cystynowa.

Wykonanie:

Metoda I: W probówce umieścić około 1 ml i 1% roztworu octanu ołowiu(II) i dodawać kroplami 10% roztwór NaOH aż do momentu rozpuszczenia się wytrącającego się początkowo osadu wodorotlenku ołowiu(II) - $\text{Pb}(\text{OH})_2$. W kolejnym etapie dodać około 6 kropeł roztworu badanej próbki badanego roztworu (0,1 g rozpuścić w wodzie) i całość ostrożnie ogrzać na łaźni wodnej. Ilość osadu, jak i intensywność zabarwienia jest uzależniona od ilości reszt aminokwasów siarkowych, bądź stężenia aminokwasu.

Metoda II: Do 1 ml badanego roztworu (0,1 g rozpuścić w wodzie) dodać 1 ml 10% NaOH i kilka kropeł nasyconego roztworu octanu ołowiu(II). Po dłuższym ogrzewaniu roztwór staje się brunatny, a następnie z roztworu wydziela się czarny osad siarczku ołowiu(II), PbS .

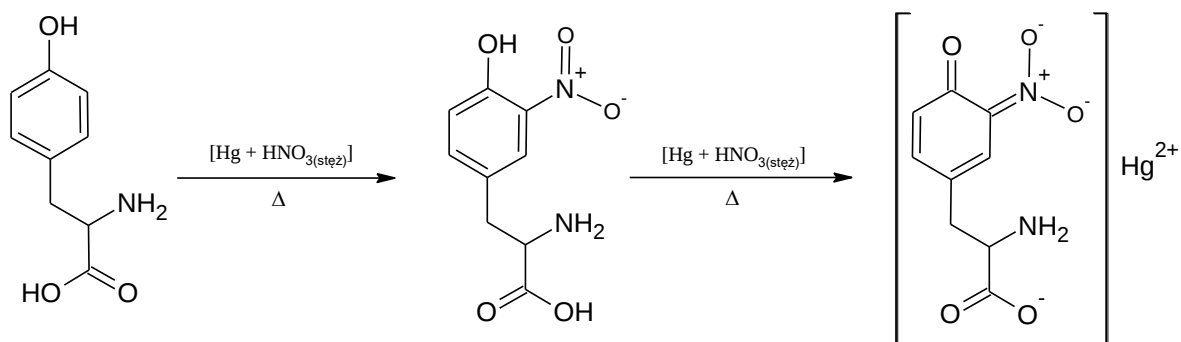
Uwaga: Reakcje wykonywać ostrożnie i pod wyciągiem!

Odczynniki:

- 1% r-r octanu ołowiu(II)
- 10% NaOH

4.6.6. Reakcja Millona - wykrywanie tyrozyny

Odczynnik Millona, otrzymany w wyniku rozpuszczenia metalicznej rtęci w stężonym kwasie azotowym(V), barwi na kolor czerwony substancje zawierające w swym składzie tyrozinę. Reakcje tą daje zarówno wolna tyrozyna, jak i związana w peptydzie czy białku oraz fenole.



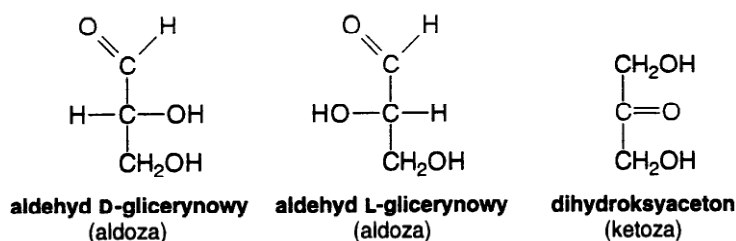
Rys. 4.6.6. Reakcja tyrozyny z odczynnikiem Millonna.

Powyższa reakcja może służyć także do ilościowego oznaczania tyrozyny metodą kolorymetryczną. Pozytywny wynik tej próby dają również związki niebiałkowe zawierające reszty fenolowe, a jej wykonie opisano w roz. 4.3.5.

4.7. REAKCJE CHARAKTERYSTYCZNE CUKRÓW

4.7.1. Wstęp

Cukry (monosacharydy) klasyfikuje się wg grup funkcyjnych (aldozy, ketozy) i ilości atomów węgla w cząsteczce (triozy, tetrozy, pentozy, heksozy, itd.). Najprostsze monosacharydy to trójwęglowe triozy: aldehyd glicerynowy (aldoza) i dihydroksyaceton (ketoza).



Rys. 4.7.1 Przykłady prostych monosacharydów - triozy.

Aldehyd glicerynowy posiada jeden asymetryczny atom węgla i dlatego występuje w postaci dwóch izomerów przestrzennych: D i L. Do szeregu konfiguracyjnego D zalicza się te cukry, które w formie łańcuchowej (przedstawionej wzorami rzutowymi Fischera), przy węglu asymetrycznym o najwyższej numeracji (przy przedostatnim licząc od grupy aldehydowej lub ketonowej) mają po prawej stronie grupę hydroksylową. Jeśli grupa ta

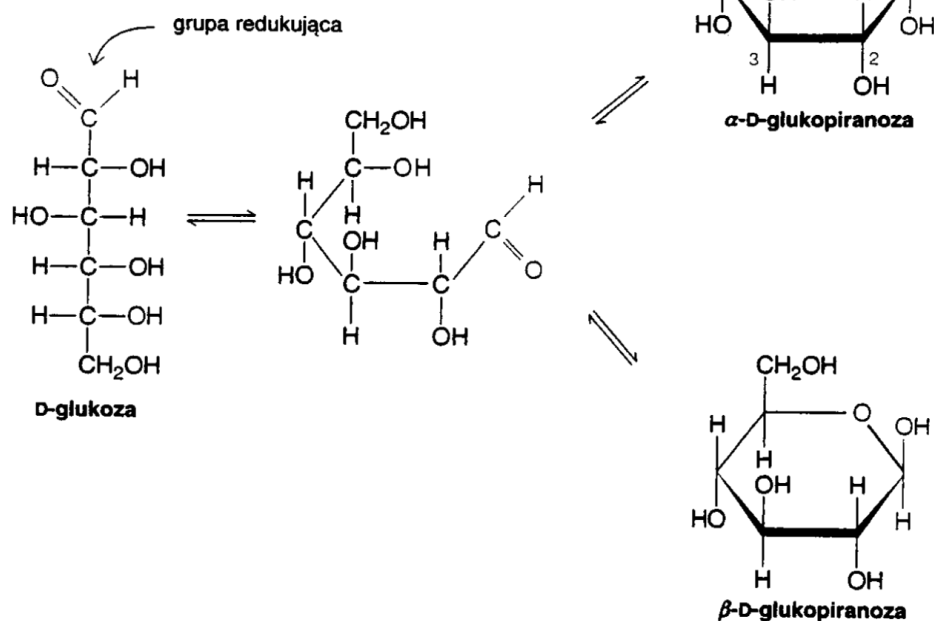
znajduje się po lewej stronie, związek taki należy do szeregu L. Trzy podstawowe aldoheksozy (glukoza, galaktoza i mannoza) posiadają cztery asymetryczne atomy węgla i dlatego całkowita ilość stereoizomerów wynosi 2^4 , czyli 16. Związki takie wykazują aktywność optyczną, która umożliwia skręcanie płaszczyzny światła spolaryzowanego.

Monosacharydy zawierające cztery lub więcej atomów węgla w cząsteczce, występują w postaci pierścieniowych odmian tautomerycznych, tworzących się w wyniku powstawania wewnątrzcząsteczkowych wiązań półacetalowych. Formy otwartego łańcucha w roztworach ulegają cyklizacji, tworząc struktury pierścieniowe i, zarówno w stanie stałym jak i w roztworze, nie zawierają one wolnej grupy aldehydowej lub ketonowej. Rotacja wokół wiązania między C-4 i C-5 D-glukozy przenosi grupę hydroksylową C-5 do grupy aldehydowej C-1, co powoduje utworzenie cyklicznego półacetalu. Forma otwartego łańcucha glukozy i innych aldoheksoz w roztworach wodnych istnieje tylko w bardzo małych ilościach (<1%). Reakcja grupy hydroksylowej C-5 z grupą karbonylową C-2 daje cykliczny półketal.

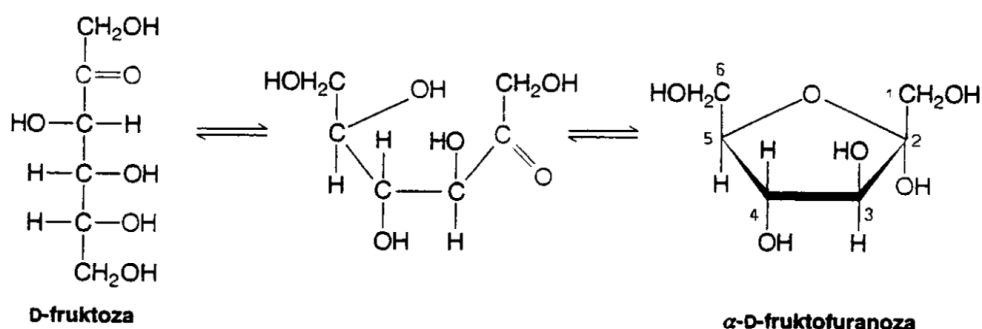
Niezależnie od konfiguracji przy pozostałych asymetrycznych atomach węgla, która w formie pierścieniowej jest taka sama jak w łańcuchowej, możliwe są dwie formy pierścieniowe każdego monosacharydu, różniące się położeniem grupy -OH przy półacetalowym atomie węgla (w formie łańcuchowej węgiel ten nie jest asymetryczny).

Zjawisko istnienia dwóch odmian tej samej cyklicznej postaci monosacharydu, różniących się tylko orientacją przestrzenną pierwszego atomu węgla w cząsteczce aldoz lub drugiego atomu węgla w cząsteczce ketoz, nosi nazwę **anomerii**. Takie odmiany związków nazywa się anomerami, a atomy węgla, warunkujące występowanie tej odmiany izomerii, atomami anomerycznymi. Formy α i β różnią się od siebie przede wszystkim skręcalnością optyczną. Każdy z dwóch trwałych w stanie krystalicznym anomerów w roztworze przechodzi w równowagową mieszaninę obu tych odmian. α -D-glukopiranoza o skręcalności właściwej $[\alpha]_D = +112^\circ$, a β -D-glukopiranoza o skręcalności właściwej $[\alpha]_D = +19^\circ$, w roztworze osiągają stan równowagi, aż do uzyskania skręcalności właściwej $[\alpha]_D = +52^\circ$.

a)

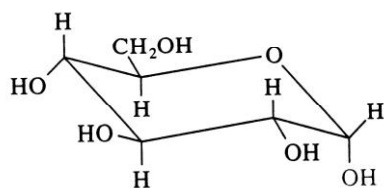


b)

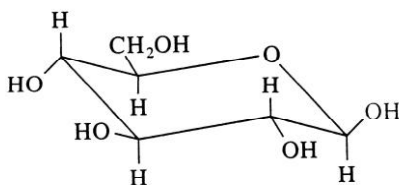


Rys. 4.7.2. Formy łańcuchowa w projekcji Fischera (z lewej) i cykliczna w projekcji Hawortha (z prawej dla):
a) glukozy i b) fruktozy

Zjawisko to nosi nazwę mutarotacji. W pH 7,0 wodny roztwór glukozy zawiera 36% α -D-glukopiranozy i 64% β -D-glukopiranozy. Takie odmiany anomeryczne przedstawiane są za pomocą wzorów Hawortha. α i β określają położenie grupy $-\text{OH}$ przy pierwszym pólacetalowym atomie węgla (α – grupa $-\text{OH}$ poniżej płaszczyzny, β – grupa $-\text{OH}$ powyżej płaszczyzny). W pełni przestrzenny kształt cząsteczki cukru oddaje konformacja krzesłkowa (wg niej podstawniki umieszczone są aksjalnie i ekwatorialnie).



α -D-glukopiranoza

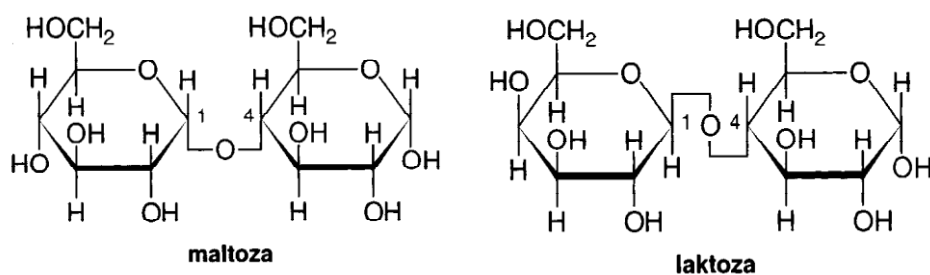


β -D-glukopiranoza

Rys. 4.7.3. Formy pierścieniowe glukozy – projekcja stereoskopowa.

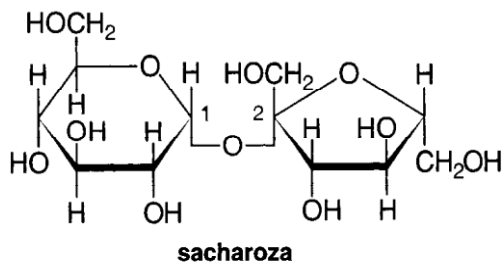
Oligosacharydy to związki, które powstają przez połączenie od dwóch do dziewięciu reszt monosacharydów. Najczęściej występują disacharydy, czyli dwa cukry połączone wiązaniem glikozydowym, w którym uczestniczy półacetalowy atom węgla jednej cząsteczki cukru oraz dowolny atom węgla drugiej cząsteczki. Jeśli w jednym z cukrów znajduje się wolna grupa –OH przy półacetalowym atomie węgla, to disacharyd zachowuje się pod wieloma względami jak monosacharyd. Wykazuje m.in. właściwości redukujące. Do takich cukrów należy laktoza i maltoza.

Cukry nieredukujące to disacharydy, w których grupy –OH przy półacetalowym atomie węgla obu monosacharydów biorą udział w wiązaniu glikozydowym (np. sacharoza).



maltoza

laktoza



sacharoza

Rys. 4.7.4. Przykłady disacharydów

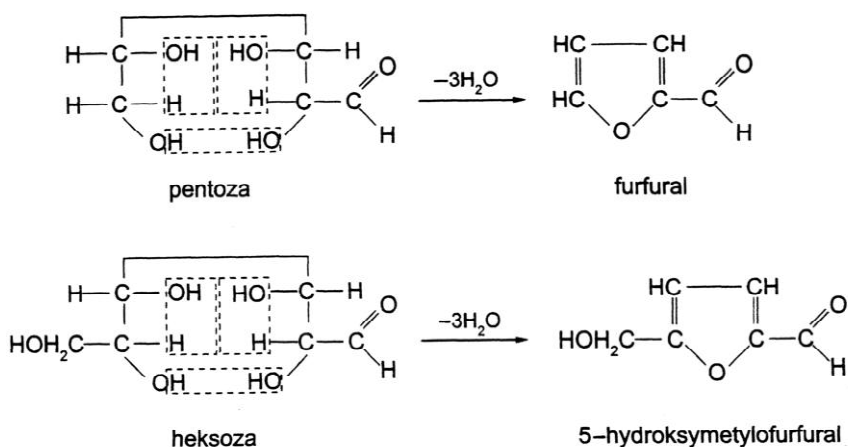
Wpływ zasad na cukry

Cząsteczki cukrów występujące w środowisku obojętnym w formie pierścieniowej, przekształcają się w środowisku zasadowym w formy łańcuchowe. W obecności słabych zasad (0,05 M) formy łańcuchowe ulegają enolizacji. Zostają zniesione różnice konfiguracji między C-1 i C-2. Glukoza przekształca się w mannozę i fruktozę i te trzy cukry epimeryczne są w stanie równowagi. Epimery różnią się tylko konfiguracją wokół jednego atomu węgla (np. D-glukoza i D-mannoza przy C-2, D-glukoza i D-galaktoza przy C-4). Stężone zasady (>0,5 M) powodują przemieszczanie wiązania enolowego w inne pozycje łańcucha węglowego, a podczas ogrzewania ze stężonymi zasadami dochodzi do rozerwania łańcucha i utworzenia dwuwęglowych oraz trójwęglowych fragmentów o silnych właściwościach redukujących (m.in. erytrozy, aldehydu glikolowego).

Wpływ stężonych kwasów na cukry

Ogrzewanie cukrów z silnymi kwasami (stężony kwas siarkowy (VI) lub solny) powoduje dehydratację, a nawet rozpad łańcucha węglowego. Z pentoz w środowisku silnie kwaśnym powstaje furfural, a z heksoz 5-hydroksymetylofurfural.

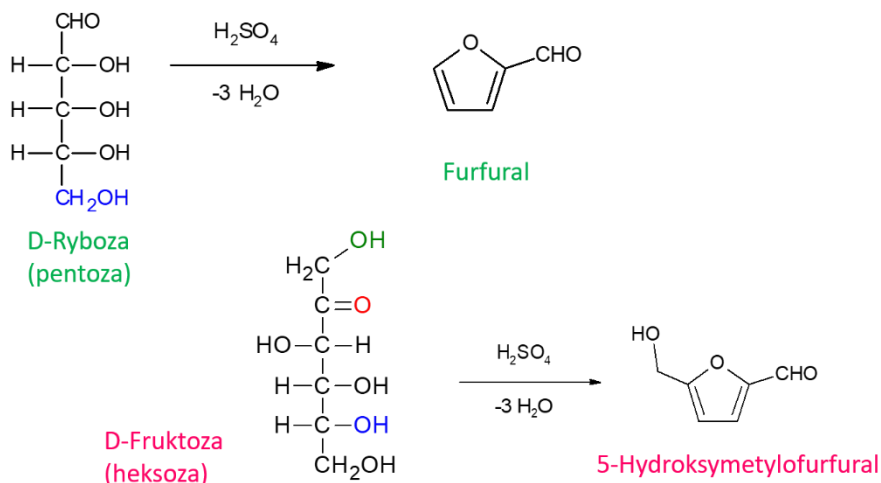
Najszybciej reagują monosacharydy, natomiast disacharydy i polisacharydy wcześniej ulegają hydrolizie. Furfural i 5-hydroksymetylofurfural, kondensując z jednowodorotlenowymi fenolami (np. z 1-naftolem) tworzą połączenia triarylometanowe, w których układ chinoidowy stanowi grupę chromoforową, decydującą o barwie powstałego kompleksu. Wielowodorotlenowe fenole (np. rezorcyna, orcyna, floroglucyna) tworzą połączenia ksantenowe. W reakcje kondensacji z pochodnymi furfuralu mogą też wchodzić inne związki aromatyczne, np. antron, benzydyna, difenylamina. Wszystkie cukry reagują z 1-naftolem. Wolne pentozy, ich estry fosforanowe oraz ryboza związana w nukleozydach i nukleotydach purynowych dają reakcję dodatnią z orcyną i jonami żelaza (Fe^{3+}). Ryboza i deoksyryboza związane z zasadami pirymidynowymi, dają bardzo słaby odczyn. Deoksyryboza ogrzewana w środowisku silnie kwaśnym tworzy niebieski kompleks z difenylaminą. Ryboza i inne pentozy nie dają tego odczynu. Ketozy natomiast reagują z rezorcyną.



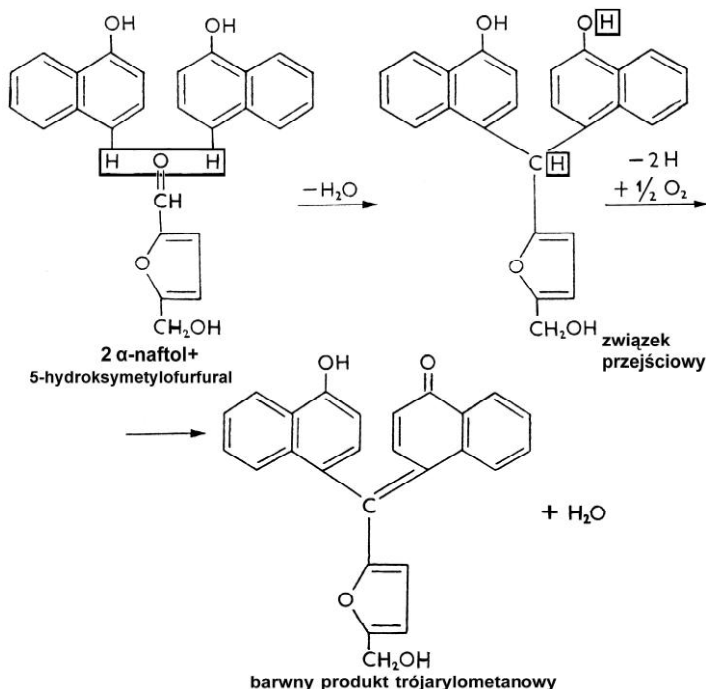
Rys. 4.7.5. Reakcja odwodnienia pentoz i heksoz.

4.7.2. Próba Molischa

Jest to ogólna próba na wszystkie cukry i glikozydy. Dodatnią próbę Molischa wykazują wszystkie cukry, a także aldehydy, aceton i kwasy organiczne. W obecności stężonego kwasu siarkowego dochodzi do odwodnienia i cyklizacji cukrów oraz powstania furfuralu lub 5-hydroksymetylofurfuralu. Związki te w reakcji kondensacji z 1-naftolem tworzą barwne kompleksy. Ujemna próba Molischa wyklucza obecność cukru.



Rys. 4.7.2.1. Reakcje cukrów z kwasami



Rys. 4.7.2.2. Reakcja Molischa

Wykonanie:

1. Do 2 ml badanego roztworu dodać 2 krople odczynnika Molischa, zmieszać i następnie ostrożnie po ściance ukośnie trzymanej probówki dodaje się 1 ml stężonego kwasu siarkowego, tak aby kwas utworzył warstwę.

2. Jeżeli badaną substancją jest cukier, na granicy faz powstaje czerwono-fioletowy krążek (obraczka).
3. Następnie zawartość probówki wstrząsa się, pozostawia na 2 minuty i rozcieńcza 5 ml wody. W obecności cukrów natychmiast wytrąca się ciemnofioletowy osad.
4. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

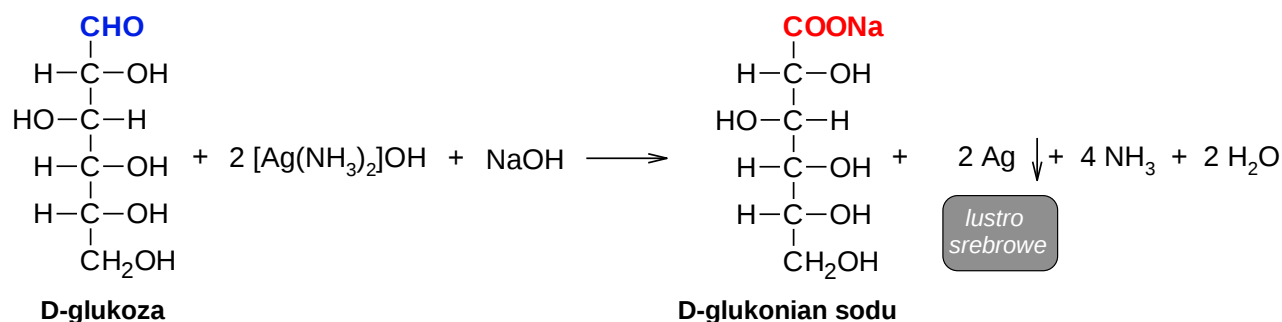
- odczynnik Molischa: 10% roztwór 1-naftolu w etanolu
- H_2SO_4 st.

4.7.3. Właściwości redukujące cukrów

Za właściwości redukujące cukrów odpowiedzialna jest wolna grupa aldehydowa lub ketonowa. W środowisku zasadowym formy pierścieniowe cukrów przechodzą w łańcuchowe i grupa aldehydowa odtwarza się przy C-1 w glukopiranozie, a grupa ketonowa przy C-2 we fruktofuranozie. Cukry redukujące zawierają zawsze wolne grupy aldehydowe lub ketonowe i należą do nich wszystkie cukry proste oraz oligosacharydy. Cukry takie podczas ogrzewania w środowisku zasadowym tworzą silnie redukujące produkty. W większości prób redukcyjnych wykorzystuje się redukcję jonów miedzi(II) do jonów miedzi(I). W środowisku zasadowym cukry ulegają także izomeryzacji i degradacji.

4.7.3.1. Reakcja lustra srebrowego (próba Tollensa)

Odczynnik Tollensa stanowi roztwór związku kompleksowego, wodorotlenku diaminasrebra, $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$, który przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem. Cukry redukujące redukują na gorąco amoniakalny roztwór soli srebra(I), do metalicznego srebra, które osadza się na ściankach naczynia tworząc lustro srebrowe. Reakcję tę dają także proste aldehydy. Cukry redukujące utleniają się do soli kwasów aldonowych.



Rys. 4.7.3.1. Próba Tollensa dla D-glukozy

Wykonanie:

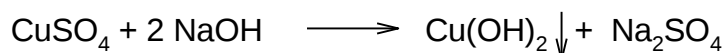
1. Do czystej i odtłuszczonej probówki odmierza się 1 ml 5% (0.1 M) roztworu AgNO_3 , 1 kroplę 10% roztworu NaOH i wkrapla ostrożnie 15% roztwór amoniaku. Najpierw powstaje zmętnienie i osad AgOH , który po dodaniu dalszych kropli roztworu amoniaku rozpuszcza się wskutek powstania związku kompleksowego $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$.
2. Do przyrządzonego w ten sposób odczynnika dodaje się 8 kropli badanego roztworu cukru, miesza i ogrzewa na wrzącej łaźni wodnej.
3. Po pewnym czasie na ściankach probówki wydziela się metaliczne srebro w postaci lustra.
4. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

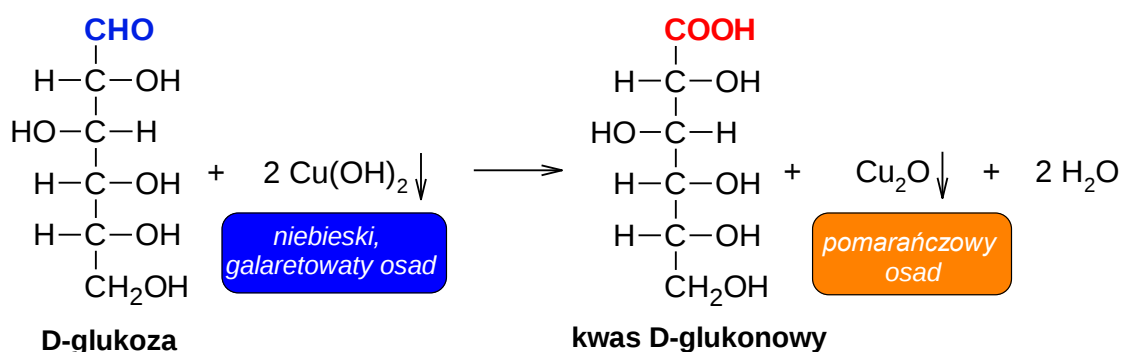
- 5% r-r AgNO_3
- 10% r-r NaOH
- 15% r-r amoniaku

4.7.3.2. Próba Trommera

Związki posiadające właściwości redukujące ulegają próbie Trommera. Odczynnikiem Trommera jest świeżo strącony wodorotlenek miedzi(II) o zabarwieniu niebieskim:



W obecności cukrów redukujących, niebieski galaretowaty osad wodorotlenku miedzi(II) podczas ogrzewania przechodzi w tlenek miedzi(I), który wytrąca się pod postacią pomarańczowego (aż do czerwonego) osadu.



Rys. 4.7.3.2. Próba Trommera dla D-glukozy

Wykonanie:

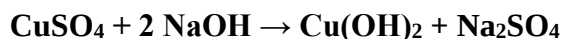
1. Do 2 ml badanego roztworu dodać równą objętość 2 M wodorotlenku sodu i kroplami, wstrząsając probówkę po dodaniu każdej kropli, 0,25 M roztwór siarczanu (VI) miedzi (II). Dodawanie siarczanu przerwać po kropli, która się już nie rozpuszcza.
2. Następnie ogrzać w łaźni wodnej.

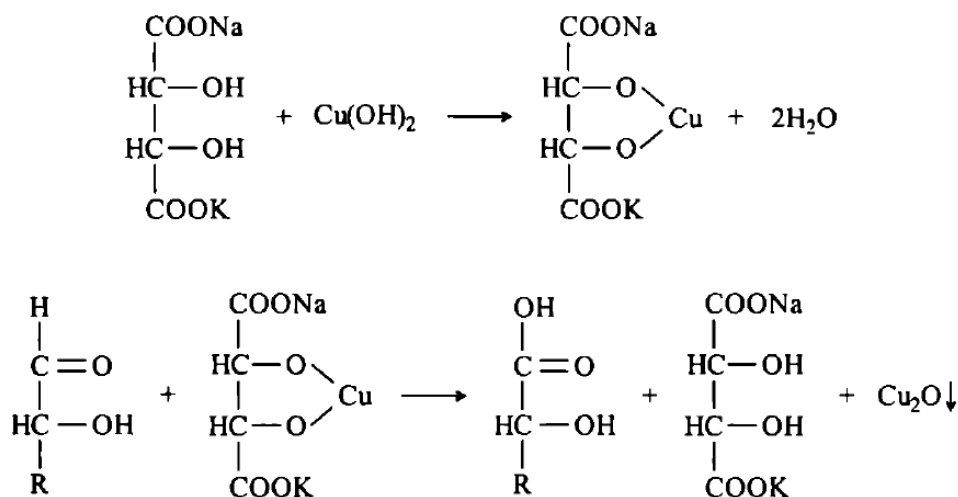
Odczynniki:

- 0,25 M r-r CuSO_4
- 2 M NaOH

4.7.3.3. Reakcja z odczynnikiem Fehlinga

Pozytywny wynik reakcji z odczynnikiem Fehlinga dają monosacharydy, zarówno aldozy, jak i ketozy (wskutek epimeryzacji w środowisku zasadowym) oraz disacharydy redukujące (np. maltoza, laktoza, celobioza). W reakcji z odczynnikiem Fehlinga redukcji ulegają jony Cu^{2+} do Cu^+ . Używa się odczynnika Fehlinga I, który zawiera CuSO_4 oraz odczynnika Fehlinga II, który zawiera NaOH i winian sodowo-potasowy. Winian sodowo-potasowy zapobiega wytrącaniu się osadu Cu(OH)_2 , co może nastąpić przy małej ilości cukru. Sól ta wiąże jony Cu^{2+} tworząc kompleksową sól kwasu winowego.





Rys. 4.7.3.3. Reakcja z odczynnikiem Fehlinga

Wykonanie:

1. Do 2 ml badanego roztworu dodaje się po 1 ml odczynnika Fehlinga I i II (najlepiej wcześniej w osobnej probówce zmieszać 1 ml roztworu Fehlinga I i 1 ml roztworu Fehlinga II, a następnie dodać do próbki z roztworem badanym) i ogrzewa się do wrzenia przez kilka minut.
2. Wydzielanie ceglastoczerwonego osadu tlenku miedziowego, Cu_2O , wskazuje na obecność cukru redukującego.
3. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

- odczynnik Fehlinga I (patrz roz. 4.1)
- odczynnik Fehlinga II (j.w.)

4.7.3.4. Próba Benedicta

Próba ta stanowi jeden z najczulszych odczynów redukcyjnych na cukry. Barwa powstającego osadu tlenku miedziowego zależy od wielkości cząsteczek wypadających z roztworu. Cząstki najdrobniejsze dają barwę zieloną, a największe czerwoną. Próba ta może służyć do przybliżonego określania stężenia cukru w badanym roztworze (tabela poniżej).

Tabela 4.7.3.4. Zależność odczynu Benedicta od zawartości cukru

barwa	ocena redukcji	przybliżona zawartość cukru (g/100 ml)
bez zmian	—	0
zielona, brak osadu	+/-	0,1–0,3
zielona, osad	+	0,5
żółto-zielona, osad	++	1,0
pomarańczowa, osad	+++	1,5
czerwona, osad	++++	2,0 i powyżej

Wykonanie:

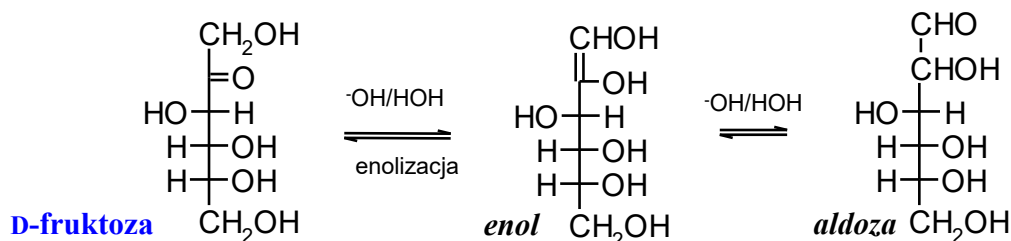
1. Do 2 ml odczynnika Benedicta dodać 4 krople badanego roztworu, zmieszać i wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 5 min.
2. Po oziębieniu w strumieniu bieżącej wody, roztwór zmienia barwę i mętnieje.
3. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

- odczynnik Benedicta: (patrz roz. 4.1)

4.7.4. Odróżnianie ketoz od aldoz

Nie jest możliwe jednak jednoznaczne odróżnienie aldoz, które zawierają grupę aldehydową, od ketoz, które zawierają grupę ketonową w próbach redukcyjnych cukrów (omówionych w rozdz. 4.7.3). Większość ketoz, jak np. fruktoza, ulega tautomerii keto-enolowej. Wynikiem tej izomeryzacji jest przekształcenie ketozy w enol, a następnie utworzenie aldozy (formy aldehydowej cukru), która może ulec utlenieniu do kwasu aldonowego.



Reakcją odróżniającą ketozy od aldozy jest próba z wodą bromową, której pozytywny wynik dają wyłącznie aldozy.

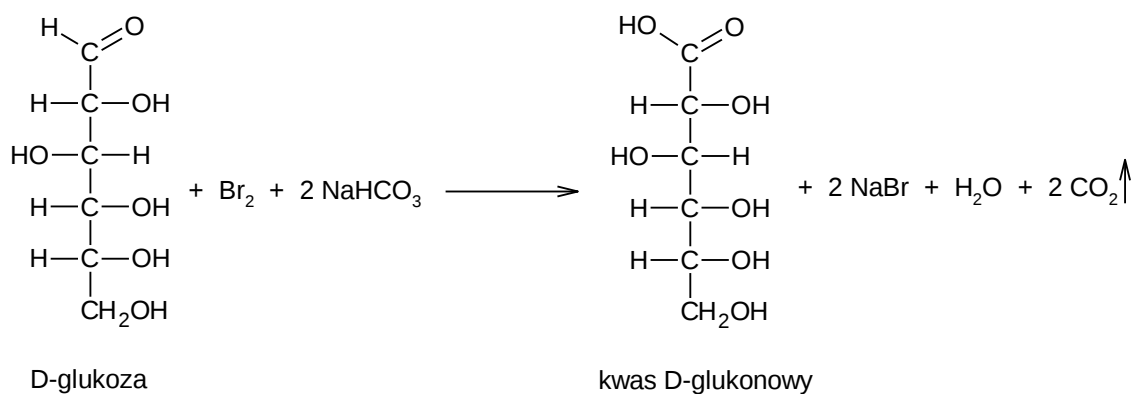
Z kolei, w próbie Seliwanowa oraz w reakcji z mocznikiem w obecności kwasu solnego czy ZnCl_2 reagują ketozy.

4.7.4.1. Próba z wodą bromową

Reakcja z wodą bromową jest przeprowadzona w obecności wodorowęglanu sodu, NaHCO_3 . Jest selektywną próbą pozwalającą wykryć aldozy, a odbarwienie wody bromowej w przypadku ich obecności następuje prawie natychmiast. Ketozy nie reagują w tych warunkach. Produktem utleniania aldozy jest kwas aldonowy, np. glukoza utlenia się do kwasu D-glukonowego.

Wykonanie:

1. Do próbki wlać około 2 ml próbki i dodać 1 ml 10% roztworu NaHCO_3 oraz 1 ml wody bromowej.
2. Odbarwienie się próbki, najpóźniej po około 2 minutach, świadczy o obecności aldozy.
3. Opisać wynik próby.



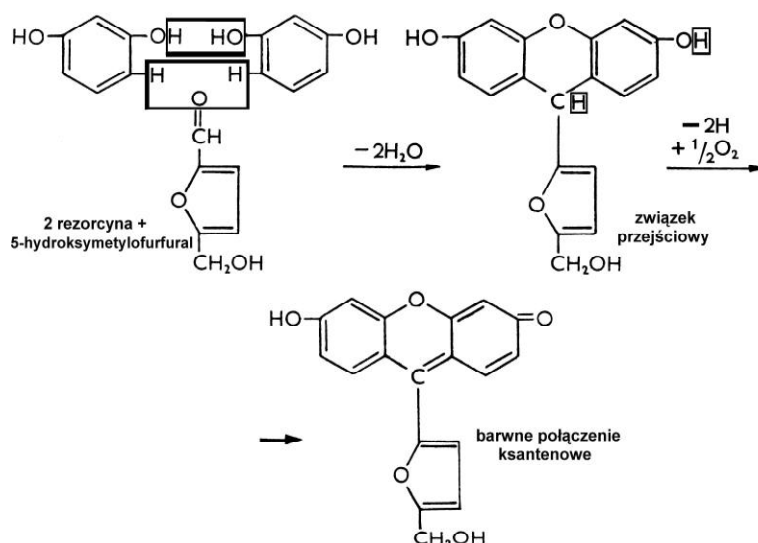
Rys. 4.7.4.1. Reakcja glukozy z wodą bromową

Odczynniki:

- woda bromowa
- 10% roztwór NaHCO_3

4.7.4.2. Próba Seliwanowa

Dodatni odczyn Seliwanowa wykazują ketozy. Po odwodnieniu tych cukrów w obecności stężonego kwasu solnego powstaje furfural lub 5-hydroksymetylofurfural, które z rezorcyną tworzą barwne kompleksy. Inne cukry dają dodatni odczyn Seliwanowa po dłuższym ogrzewaniu.



Rys. 4.7.4.2. Reakcja Seliwanowa.

Wykonanie:

1. Do 1 ml odczynnika Seliwanowa dodać 1 ml badanego roztworu cukru. Zmieszać i wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 1-2 min.
2. Wyjąć i oziębic. Pojawienie się czerwonego zabarwienia świadczy o obecności ketozy.
3. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

- odczynnik Seliwanowa (rezorcyna rozpuszczona w HCl)

4.7.4.3. Próba z mocznikiem i chlorkiem cynku

Pod wpływem ogrzewania z roztworem mocznika w kwasie siarkowym w obecności ZnCl_2 ketozy tworzą połączenie o barwie niebieskozielonej. Odczyn dodatni w tej próbie dają ketoheksozy w stanie wolnym lub związanym np. w sacharozie. Aldoheksozy w tych warunkach dają zabarwienie czerwone i dopiero po dłuższym ogrzewaniu.

Wykonanie:

1. Do probówki dodać 1 ml roztworu badanego cukru oraz 3 ml odczynnika, a następnie ogrzewać przez kilka minut.
2. Niebieskozielone zabarwienie roztworu osadu wskazuje na obecność ketoheksozy.
3. Opisać wynik próby.

Odczynnik:

- odczynnik z mocznikiem i chlorkiem cynku (4 g mocznika, 0,2 g ZnCl_2 rozpuścić w 10 ml 40% kwasu siarkowego(VI))

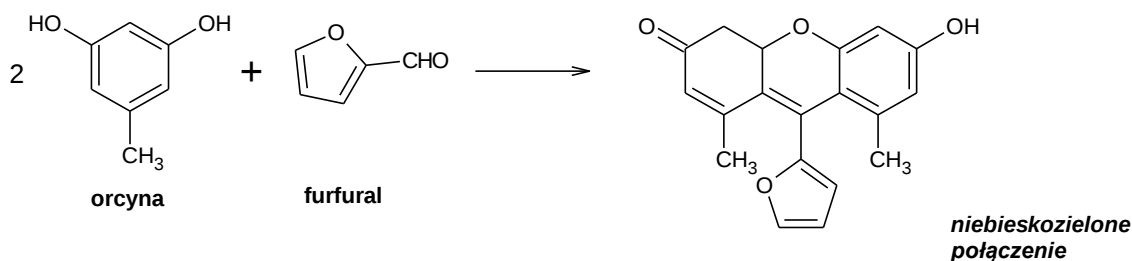
4.7.5. Odróżnianie pentoz od heksoz

4.7.5.1. Próba Biała na pentozy

Próba Biała również wykorzystuje reakcję odwodornienia cukru (pentozy) do furfuralu pod wpływem stężonego kwasu chlorowodorowego. Powstały furfural reaguje z orcyną tworząc kompleks o **niebieskozielonym zabarwieniu**. Deoksyryboza oraz ryboza związana z zasadami pirymidynowymi dają bardzo słaby odczyn. Natomiast heksozy tworzą z orcyną żółtobrazowy produkt.

Wykonanie:

1. Do probówki dodać 1 ml roztworu badanego cukru oraz 1-2 ml odczynnika Biała oraz 1-2 krople roztworu FeCl_3 , a po ostrożnym wymieszaniu zawartości probówki wstawić do łaźni wodnej i utrzymywać we wrzeniu około 5 minut.
2. Obserwować kolor pojawiającego się zabarwienia, pamiętając że w obecności pentoz powstaje niebieskozielony kompleks.
3. Opisać wynik próby.



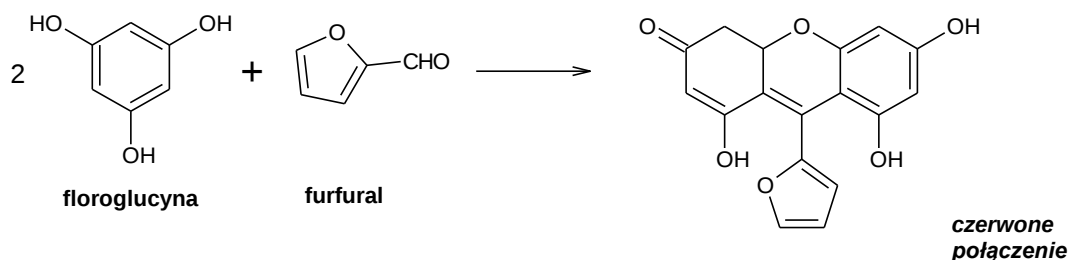
Rys. 4.7.5.1. Próba Biała

Odczynniki:

- odczynnik Biała (w 100 ml stężonego kwasu solnego rozpuścić 0,5 g orcyny (lub 0,2% roztwór orcyny w 20% roztworze HCl))
- 1% roztwór chlorku żelaza (III)

4.7.5.2. Reakcja z floroglucyną

Pentozy pod wpływem ogrzewania z kwasem solnym przekształcają się w furfural, który z floroglucyną daje produkt kondensacji o barwie od różowej do fioletowoczerwonej.



Rys. 4.7.5.2. Reakcja z floroglucyną

Wykonanie:

1. Do probówki dodać 1 ml roztworu badanego cukru. Następnie do probówki dodać 2 ml stężonego HCl i 4 krople roztworu floroglucyny.
2. Probówki umieścić we wrzącej łaźni wodnej.
3. Opisać wynik próby.

Odczynniki:

- stężony kwas solny
- roztwór fluoroglucyny (2% etanolowy roztwór floroglucyny)

4.7.5.3. Reakcja Taubera z benzydynam

Reakcja ta może być stosowana do wykrywania pentozy w mieszaninach (np. w moczu), gdyż obecność innych związków nie ma wpływu na wynik reakcji. Heksozy w powyższych reakcjach dają zabarwienie żółte lub brązowe, dzięki czemu można odróżnić pentozy od heksoz.

Wykonanie:

Uwaga: Reakcję prowadzi się tylko w uzasadnionych przypadkach po porozumieniu z asystentem!

Do 1 ml roztworu cukru dodać 1 ml odczynnika Taubera. Obserwować zabarwienie, w razie konieczności ogrzać do wrzenia. Wystąpienie czerwono-czerwonego zabarwienia świadczy o obecności pentozy.

Odczynnik:

- odczynnik Traubera (0,5 g benzydyny rozpuścić w roztworze 80 ml etanolu (absolutnego) i 20 ml lodowatego kwasu octowego)

4.7.5.4. Próba Dischego na deoksyrybozę

Deoksyryboza ogrzewana w środowisku silnie kwaśnym odwadnia się do furfuralu, który tworzy niebieski kompleks z difenylaminą. Ryboza i inne pentozy nie dają tego odczynu.

Wykonanie:

1. Do probówki dodać 1 ml badanego cukru oraz 1 ml odczynnika Dischego, zamieszać i wstawić na okres 10 minut do wrzącej łaźni wodnej.
2. Obserwować kolor pojawiającego się zabarwienia.
3. Opisać wynik próby.

Odczynnik:

- odczynnik Dischego (1 g difenyloaminy rozpuścić w 2,5 ml stężonego kwasu siarkowego (VI) i uzupełnić do 100 ml kwasem octowym lodowatym)

4.7.6. Odróżnianie monosacharydów od disacharydów

4.7.6.1. Reakcja z molibdenianem amonu

Próba ta pozwala na odróżnienie cukrów prostych od cukrów złożonych. Monosacharydy redukują obojętny roztwór molibdenianu amonu w podwyższonej temperaturze, wskutek czego roztwór przyjmuje zielone lub niebieskie zabarwienie. Przebieg reakcji hamuje obecność zasad. Cukry złożone nie dają zabarwienia. Jedynie maltoza ogrzewana przez 5 minut daje zabarwienie jasnozielone. Pozytywny wynik przy dłuższym ogrzewaniu dają też glicerol, kwas szczawiowy i winowy.

Wykonanie:

1. Do próbówki dodać 1 ml badanego cukru oraz 1 ml odczynnika, zamieszać i wstawić na okres 3 minut do wrzącej łaźni wodnej.
2. Obserwować kolor pojawiającego się zabarwienia. Pojawienie się niebieskiego zabarwienia wskazuje na obecność cukru prostego.
3. Opisać wynik próby.

Odczynnik:

- 8% r-r molibdenianu(VI) amonu.

4.7.6.2. Próba Barfoeda

Próba ta pozwala na odróżnienie monosacharydów od disacharydów redukujących na podstawie reakcji redukcji w środowisku lekko kwaśnym. Monosacharydy łatwo wykazują właściwości redukujące, natomiast disacharydy dopiero po dłuższym ogrzewaniu, gdy zostanie rozerwane wiązanie glikozydowe.

Wykonanie:

1. Do 1 ml odczynnika Barfoeda dodać 1 ml roztworu cukru i po wymieszaniu wstawić do łaźni wodnej na 3 min.
2. Pojawia się czerwony osad tlenku miedziawego (Cu_2O) w próbówce z monosacharydem, a w próbowkach z disacharydami dopiero po ogrzewaniu kilkunastominutowym.

Odczynnik:

- odczynnik Barfoeda (13,3 g octanu miedzi rozpuścić w 200 ml wody, przesączyć i dodać 1,8 ml kwasu octowego lodowatego)

5. PRZYKŁADY PROTOKOŁÓW W POSTĘPOWANIU ANALITYCZNYM PRZY IDENTYFIKACJI SUBSTANCJI

Przykład 1

Próby i obserwacje	Wnioski
<i>Oznaczanie własności fizycznych</i>	
Badana substancja jest bezbarwna, krystaliczna, nie ma żadnego charakterystycznego zapachu. Topi się w temperaturze 155-156°C	Badana substancja jest prawdopodobnie czystym związkiem.
<i>Jakościowe oznaczanie pierwiastków</i>	
Analiza elementarna wykazała tylko obecność węgla i wodoru. Nie stwierdzono obecności azotu, siarki i chlorowców.	Należy wykluczyć wszystkie połączenia zawierające azot, siarkę i chlorowce.
<i>Badanie rozpuszczalności</i>	
Badana substancja nie rozpuszcza się w wodzie, rozpuszcza się w 5% roztworach wodorotlenku sodu i wodorowęglanu sodu.	Substancję można zakwalifikować do grupy K _w . Może to być kwas karboksylowy albo fenol zawierający w pozycjach orto- lub para- podstawniki elektroujemne.
<i>Reakcje grupowe</i>	
a. Badana substancja reaguje z wodnym roztworem chlorku żelazowego dając osad o zabarwieniu czerwonym. b. Badana substancja w reakcji Liebermanna daje zielono-niebieskie zabarwienie. c. Substancja ulega benzoilowaniu za pomocą chlorku benzoilu dając krystaliczny osad.	Prawdopodobnie jest to fenolokwas. Badana substancja zawiera grupę fenolową.
<i>Krystaliczne pochodne</i>	
a. Badana substancja po ogrzaniu z chlorkiem tionylu i kolejnym zadaniu stężonym amoniakiem daje amid, który po krystalizacji z etanolu topi się w temp. 137-139°C. b. Chlorek kwasowy ogrzewany z p-toluidyną (4-metyloaniliną) tworzy p-toluidyd, który po dwukrotnej krystalizacji z etanolu topi się w temp. 133-134°C.	Porównanie temperatur topnienia badanej substancji oraz jego krystalicznych pochodnych z danymi z piśmiennictwa wskazuje, że mamy do czynienia z kwasem salicylowym.

Przykład 2

Próby i obserwacje	Wnioski
<i>Oznaczenie własności fizycznych</i>	
Badana substancja jest cieczą o zabarwieniu jasnożółtym, ma charakterystyczny zapach. Temp. wrzenia /oznaczona metodą Siwolobowa/ wynosi około 237°C.	
<i>Jakościowe oznaczenie pierwiastków</i>	
Analiza elementarna wykazała obecność węgla, wodoru i azotu.	Wyklucza się wszystkie połączenia zawierające siarkę i chlorowce.
<i>Badanie rozpuszczalności</i>	
Substancja nie rozpuszcza się w wodzie ani w 5% roztworze wodorotlenku sodu. Rozpuszcza się w 5% kwasie solnym.	Substancję można zaszeregować do grupy Z.
<i>Reakcje grupowe</i>	
a. Kropla badanej substancji zabarwia papierek uniwersalny na niebiesko, a papierek Kongo na czerwono. b. Podczas stapiania soli amoniowej z rodankiem potasu obserwuje się wydzielanie siarkowodoru. c. Badana substancja nie ulega acetylowaniu ani benzoilowaniu.	Substancja ma charakter zasadowy. Prawdopodobnie jest to amina. Wynik reakcji wskazuje na obecność aminy. Substancja jest aminą III-rzędową.
<i>Krystaliczne pochodne</i>	
a. Badana amina ogrzana z równowagową ilością jodku metylu daje krystaliczną sól; metylojodek po oczyszczeniu przez krystalizację z metanolu topi się w temp. 70-72°C. b. Alkoholowy roztwór aminy ogrzany do wrzenia z nasyconym alkoholowym roztworem kwasu pikrynowego tworzy osad pikrynianu, który po krystalizacji z etanolu topi się w temp. 198-203 °C.	Porównanie temperatur topnienia metylojodku oraz pikrynianu badanej substancji z danymi z piśmiennictwa wskazuje, że badana substancja jest chinoliną.

6. LITERATURA

- Praca zbiorowa (opracowana przez pracowników Katedry i Zakładu Chemii Organicznej UM we Wrocławiu: „Skrypt do ćwiczeń z chemii organicznej”.
- Praca zbiorowa pod redakcją Zenona Chabudzińskiego *Skrypt do ćwiczeń z Chemii Organicznej Część III Analiza Jakościowa Związków Organicznych* Wrocław 1972 r.
- Zofia Jerzmanowska, *Analiza Jakościowa Związków Organicznych* PZWL Warszawa 1967 r.
- Jerzy Woliński, Jacek Terpiński *Organiczna Analiza Jakościowa* PWN Warszawa 1973 r.
- K. H. Bauer *Analiza Związków Organicznych* PWT Warszawa 1957 r.
- Barbara Drózdź *Analiza jakościowa Związków Organicznych* Wyd. Collegium Medicum UJ Kraków 2013
- Renata Siedlecka , Artur Mucha *Analiza Jakościowa Związków Organicznych* Wyd. PWr Wrocław 2018 r.
- Mohan Rao Gangula *Qualitative Analysis of Organic Compounds (Systematic Approach)* <https://www.researchgate.net/publication/356748750> December 2021 r.
- A. I. Vogel *Preparatyka Organiczna* WNT Warszawa 2006 r.
- <https://www.chemistrylearner.com/hinsberg-test.html>

7. Instrukcje do ćwiczeń i wzory sprawozdań do ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej

7.1. Instrukcja do ćwiczenia - Krystalizacja z wody

Uwaga:

Podczas ćwiczenia należy notować wszystkie wykonywane czynności w dzienniku pracy laboratoryjnej. Po zakończeniu ćwiczenia należy przedstawić do zaliczenia sprawozdanie sporządzone wg podanego wzoru.

ACETANILID

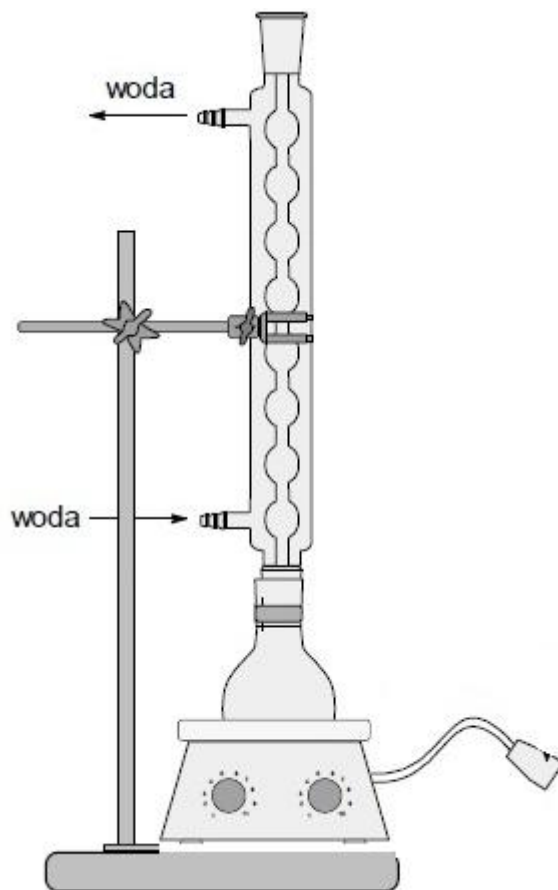
(przed przystąpieniem do wykonywania ćwiczeń proszę zapoznać się z kartą charakterystyki acetanilidu)

Odczynniki:

- acetanilid (*N*-fenyloacetamid) 5,0 g
- woda destylowana

Sprzęt laboratoryjny:

- kolba okrągłodenna 250 ml
- kolba stożkowa 250 ml
- chłodnica zwrotna
- płaszcz grzejny
- lejek szklany
- bagietka, korek szklany
- kamyczki wrzenne
- lejek Büchnera i krążek bibuły lub lejek Schotta
- łapa, mufa i kółko metalowe
- kolba ssawkowa wraz z uszczelką gumową
- szkiełko zegarkowe lub szalka Petriego

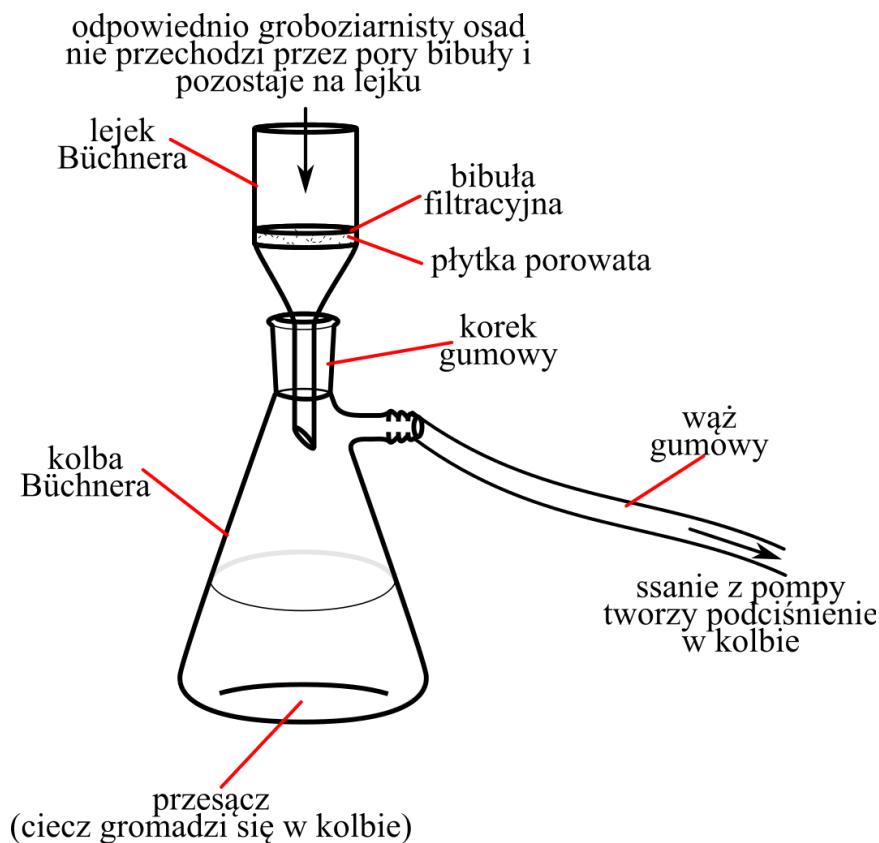


Wykonanie:

1. W kolbie okrągłodennej poj. 250 ml, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieścić 5 g acetanilidu, 120 ml wody destylowanej i kilka kamyczków wrzennych. Ogrzewać w płaszczu grzejnym do rozpuszczenia osadu. Jeżeli osad nie rozpuści się do chwili osiągnięcia przez roztwór temperatury wrzenia, należy dodać 10 ml wody destylowanej i kontynuować ogrzewanie do rozpuszczenia osadu.
2. Ostrożnie przesączyć gorący roztwór przez sączek karbowany umieszczony w lejku szklanym. Przesącz zbierać do kolby stożkowej poj. 250 ml. Po przesączeniu całego roztworu kolbę ochłodzić obracając ruchem wirowym dla zapoczątkowania krystalizacji. Odstawić do

powolnego stygnięcia i krystalizacji. Po ostygnięciu wstawić do łaźni lodowej na ok. 10 minut. (Sprawdzić rozpuszczalność substancji w wodzie o temp. 20 °C)

3. Odsączyć zawartość kolby pod zmniejszonym ciśnieniem, na lejku Büchnera zabezpieczonym zwilżonym krążkiem bibuły lub lejku Schotta. Osad przemyć zimną wodą (aby usunąć ług pokryształacyjny) i starannie odcisnąć na lejku szklanym korkiem.



4. Osad z lejka przenieść na szalkę Petriego i pozostawić do wysuszenia na powietrzu, pod lampą ogrzewającą.

5. Po wysuszeniu związek należy zważyć, oznaczyć temperaturę topnienia i obliczyć wydajność procesu krystalizacji. Temp. top. czystego acetanilidu wynosi 113-114 °C.

7.2. Wzór sprawozdania 1 – Oczyszczanie związku organicznego

Sprawozdanie z ćwiczenia: Oczyszczanie związku organicznego KRYSTALIZACJA Z WODY					
Dane ogólne substancji oczyszczanej Nazwa zwyczajowa: Nazwa chemiczna: Wzór sumaryczny: Wzór strukturalny: Właściwości fizykochemiczne (stan skupienia, barwa, rozpuszczalność itp) : Zagrożenia dla zdrowia przy kontakcie ze skórą , błonami śluzowymi, drogami oddechowymi:					
Rysunki zmontowanej aparatury laboratoryjnej wraz z opisem (ogrzewanie, sączenie na gorąco, sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem): 					
Opis wykonanych czynności (w punktach) 					
Tabela					
Masa substancji przed krystalizacją (g)	Masa substancji po krystalizacji (g)	Wydajność (%)	Temp. topnienia (°C)		
			literaturowa	przed krystalizacją	po krystalizacji
Wnioski z przeprowadzonego ćwiczenia: cel krystalizacji, obserwacje, czynniki wpływające na wydajność					
Część teoretyczna opracowana na podstawie piśmiennictwa naukowego: opisać inne metody oczyszczania związków organicznych: krystalizacja z rozpuszczalnika organicznego, destylacja prosta, destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem, destylacja z parą wodną, ekstrakcja prosta.					

Sprawozdanie należy sporządzić odręcznie w dzienniku laboratoryjnym i oddać asystentowi prowadzącemu DO ZALICZENIA na kolejnych ćwiczeniach

7.3. Wzór sprawozdania 2 - Identyfikacja i reakcje charakterystyczne cukrów

- kolejność wykonywanych reakcji jest dowolna w danym punkcie sprawozdania

Sprawozdanie z ćwiczenia: <i>Identyfikacja i reakcje charakterystyczne cukrów</i>	
1. Podać właściwości otrzymanego roztworu substancji: • Zapach: • Odczyn:	
2. Reakcje charakterystyczne cukrów (opisać przeprowadzoną reakcję, np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., <u>napisać równanie reakcji</u>): • próba Molischa Obserwacje: Wnioski:	
3. Właściwości redukujące cukrów (podać przeprowadzone reakcje dające wynik pozytywny i negatywny np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., napisać równanie reakcji). <i>Uwaga! Pierwszą wybraną reakcję należy przeprowadzić <u>równocześnie</u> dla analizowanej substancji i wzorca – glukozy.</i> • próba Tollensa Obserwacje: Wnioski:	
• próba Trommera Obserwacje: Wnioski:	
• reakcja z odczynnikiem Fehlinga Obserwacje: Wnioski:	
• próba Benedicta Obserwacje: Wnioski:	
4. Odróżnianie ketoz od aldoz (podać przeprowadzone reakcje dające wynik pozytywny i negatywny np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., napisać równanie reakcji). • próba z wodą bromową (należy równocześnie przeprowadzić ją dla analizowanej substancji i wzorca – glukozy) Obserwacje: Wnioski:	
• próba Seliwanowa (należy równocześnie przeprowadzić ją dla analizowanej substancji i wzorca – fruktozy)	

Obserwacje:	Wnioski:
• próba z mocznikiem i chlorkiem cynku	
Obserwacje:	Wnioski:
5. Odróżnianie pentoz od heksoz (podać przeprowadzone reakcje dające wynik pozytywny i negatywny np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., napisać równanie reakcji). <i>Uwaga! Pierwszą wybraną reakcję należy przeprowadzić równocześnie dla analizowanej substancji i wzorca negatywnego – glukozy.</i> • próba Biała na pentozy	
Obserwacje:	Wnioski:
• reakcja z floroglucyną	
Obserwacje:	Wnioski:
• reakcja Traubera z benzydynam <i>(reakcja wykonywana po konsultacji z prowadzącym ćwiczenia)</i>	
Obserwacje:	Wnioski:
• próba Dischego na deoksyrybozę	
Obserwacje:	Wnioski:
6. Odróżnianie monosacharydów od disacharydów (podać przeprowadzone reakcje dające wynik pozytywny i negatywny np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., napisać równanie reakcji): <i>Uwaga! Pierwszą wybraną reakcję należy przeprowadzić równocześnie dla analizowanej substancji i wzorca – laktozy.</i> • reakcja z molibdenianem amonu	
Obserwacje:	Wnioski:
• próba Barfoeda	
Obserwacje:	Wnioski:
7. Wynik analizy – na podstawie przeprowadzonych reakcji charakterystycznych należy określić czy badany cukier ma właściwości redukujące, jest ketozą czy aldozą, pentozą czy heksozą, monosacharydem czy disacharydem. Przerysuj i uzupełnij poniższą tabelę - wstaw w odpowiednie	

pole „+” lub „-”, odpowiednio dla pozytywnego lub negatywnego wyniku) Jeżeli wynik analizy wskazuje na disacharyd należy wpisać „nd” (nie dotyczy)

CUKIER REDUKUJĄCY	KETOZA	ALDOZA	PENTOZA	HEKSOZA	MONOSACHARYD	DISACHARYD

7.4. Wzór sprawozdania 3 - Określenie grupy funkcyjnej

Sprawozdanie z ćwiczenia: określenie grupy funkcyjnej
1. Podać właściwości fizykochemiczne otrzymanej substancji Analiza elementarna: Temperatura topnienia (dla ciała stałego): Stan skupienia: Zapach: Barwa: Odczyn:
2. Określenie grupy rozpuszczalności Podać rozpuszczalniki w kolejności użycia i wynik próby po dodaniu rozpuszczalnika: Grupa rozpuszczalności: Związki organiczne występujące w tej grupie rozpuszczalności:
<i>Identyfikacja grup funkcyjnych:</i> 3. Reakcje charakterystyczne ogólne i analityczne pozwalające na wykrycie grup funkcyjnych w określonej grupie (szczegółowo opisać wszystkie przeprowadzone próby dające wynik pozytywny i negatywny np. zmiana barwy, zapach, wypadający osad, wydzielający się gaz itp., <u>napisać równanie reakcji</u>) Reakcja: Obserwacje: Wnioski:
4. Wynik analizy – podać do jakiej grupy chemicznej należy badany związek, jaką ma strukturę np. rzędowność, aromatyczność, podstawniki itp., narysować wzór ogólny

Sprawozdanie należy sporządzić odręcznie w dzienniku laboratoryjnym, z zachowaniem kolejności numeracji poszczególnych części i oddać asystentowi prowadzącemu DO ZALICZENIA.