

1970
T
5643
197163

[Handwritten scribbles and lines]

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

"DETERMINACION COLORIMETRICA DE AZUCARES REDUC-
TORES UTILIZANDO TETRAZOLIUM-RED Y EVALUACION
DEL METODO".

AUTORES:

ANTONIO BUSTILLO CARMONA

FERNANDO MONTES DIMAS

Cartagena, Febrero de 1970

DEPARTAMENTO DE
BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

92377

TRABAJO DE TITULO N°

92

REALIZADO POR:

ANTONIO BUSTILLO CARMONA

FERNANDO MONTES DIMAS

PARA OPTAR EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO

PRESIDENTE DEL TRABAJO DE TITULO:

DR. YIDIOS SEDAN BECHARA

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN LOS LABORATORIOS
DE LA FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA DE LA UNI
VERSIDAD DE CARTAGENA.

LA FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA DE LA UNIVER-
SIDAD DE CARTAGENA NO SE HACE RESPONSABLE DE
LOS DATOS Y CONCEPTOS EMITIDOS EN EL PRESENTE
TRABAJO.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos al doctor Yidios Sedán Bechara y demás personas, la colaboración que nos prestaron en la elaboración del presente trabajo.

FERNANDO MONTES DIMAS

ANTONIO BUSTILLO CARMONA

-0-

Agradezco a don Carlos Gómez Anador, su colaboración en el curso de mis estudios.

ANTONIO BUSTILLO CARMONA

DEDICATORIAS:

A mis padres y hermanos

ANTONIO BUSTILLO CARMONA

A mis padres y demás familiares

FERNANDO MONTES DIMAS

"DETERMINACION COLORIMETRICA DE AZUCARES REDUCTORES
UTILIZANDO TETRAZOLIUM-RED Y EVALUACION DEL METODO"

FINALIDAD:

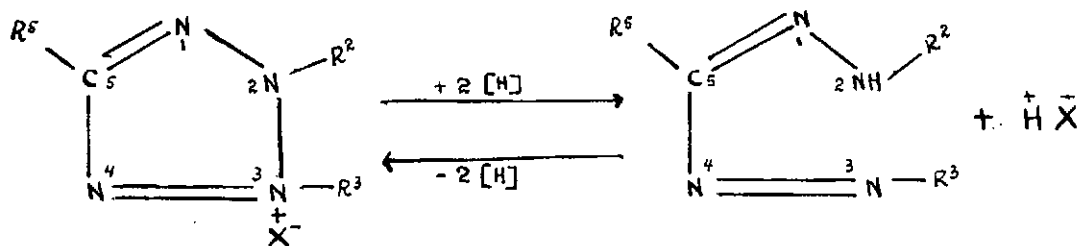
El presente trabajo ha tenido como objeto evaluar el Tetrazolium-Red como reactivo para la determinación colorimétrica de Azúcares reductores, comparándolo con el Licor de Fehling.

ORIGEN DEL MATERIAL DE TRABAJO

El material utilizado para el presente trabajo consiste en diversos productos azucarados tales como néctares, glucosa en agua destilada (Sueros dextrosados) - miel de caña, miel de abejas y gaseosas, adquiridas en las ciudades de Cartagena y San Juan Nepomuceno.

GENERALIDADES

El ensayo con el Tetrazolium-Red está basado en la siguiente reacción:



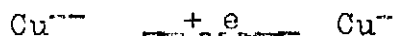
x = Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} etc; R⁻ = ARYLO

Cuando un compuesto orgánico contiene un grupo reductor y se calienta con una solución de una sal de Tetrazolium con un buffer de pH = 12,5 el color de la solución cambia a rojo violeta o azul (depende del tipo de sal de Tetrazolium utilizada) y dentro de 1 minuto se separa un precipitado llamado Formazán, las dos sales de Tetrazolium más utilizadas son: 2-3-5 Trifenil Tetrazolium Cloruro (Tetrazolium-Red) y el para anisyl tetrazolium blue.

LICOR DE FEHLING.- El ensayo con el licor de Fehling se funda en el poder reductor del grupo carbonilo que pasa a ácido, reduciendo las sales cúpricas en medio alcalino a óxido cuproso. Para evitar la precipitación previa de hidróxido cúprico se agregan sustancias (sales de hidroxiaácidos) que forman un complejo soluble de cobre. - El licor de fehling consiste en una disolución de sulfato cúprico (69,278 gramos de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ por litro de disolución) que se mezcla en el momento del ensayo con una disolución de sosa cáustica con tartrato sódio potásico, sal de Rochelle o de Seignette (100 gramos de NaOH y 346 gramos de sal de Rochelle por litro de disolución) El líquido toma color azul intenso (debido al complejo cúprico), se hierve y se agrega la disolución del azúcar. Si éste contiene un grupo de aldehido o cetone libre se forma un precipitado amarillo de óxido cuproso hidratado que pasa a un color rojo de óxido cuproso anhidro al continuar la ebullición. Realizado el ensayo cuidadosamente sirve para la determinación cuantitativa del correspondiente azúcar.

La reacción que se realiza, es como sigue:

Reacción:



PARTE EXPERIMENTAL

APARATOS UTILIZADOS:

Fotocolorímetro: KLETT SUMMERSON

Filtro Azul # 42

REACTIVOS

Hidróxido de Sodio 1 N.

Tetrazolium Red al 1%

Acido Acético

Isopropanol

Acido clorhídrico

Solución de Hidróxido de Sodio

Solución de Glucosa Q. P. al 1%

T E C N I C A: (Tetrazolium-Red). Colocar una alícuota de la solución problema que contenga 0,15 - 0,75 mg. -- de azúcar invertido (de la muestra) en un tubo de ensayo de 20 ml. y completar volumen a 4 ml. con Isopropanol; añadir 1 ml. de Hidróxido de Sodio 1 N. por 1 ml. de una solución de Tetrazolium Red al 1% y colocarla -- inmediatamente en un baño de María en ebullición, quitar el tubo exactamente a los 90 segundos e introducirlo en agua fría con la adición de 1,1 ml. de ácido acético; a los 60 segundos añadir Isopropanol hasta la marca (exactamente 20 ml.) y medir la densidad óptica con vidrio verde azulado. El color permanece hasta 24 horas

PARTE EXPERIMENTAL

REACTIVOS

Sulfato de Cobre Puro Cristalizado

Tartrato Sódico Potásico

Hidróxido de Sodio

Azul de Metileno 1%

Acido Clorhídrico

Glucosa Q. P.

Título de Fehling: 1 ml. = 0.0065 gramos

VALORACION DE LA SOLUCION DE FEHLING.- Colocar en un Erlenmeyer de 250 ml., 10 ml. de cada una de las soluciones de Fehling, calentar a ebullición y agregar sin suspender el calentamiento, mediante una bureta la solución de glucosa hasta que el color azul del Licor de Fehling se torne pálido. En este momento añadir 2 a 5 gotas de solución de azul de metileno y seguir titulando con calentamiento hasta decoloración total. Teniendo en cuenta la cantidad de solución gastada en la titulación anterior, efectuar otra agregando de una vez una cantidad de solución de glucosa de tal forma que solo falten de 0,5 a 1 ml. para terminar la titulación. Tomar este último dato para los cálculos.

CALCULOS: $\frac{N \times 0,5}{100 \times F} = \text{Título de Fehling}$

Título de Fehling es la equivalencia de 1 ml. de éste en glucosa.

N = mililitros de solución de Glucosa anhidra al 0,5% gastados.

F = mililitros de solución de Fehling tomados.

DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES (METODO FEHLING).

Para la determinación de azúcares reductores, se coloca en un erlenmeyer de 250 ml. de capacidad 5 ml. a 10 ml. de solución de Fehling y se hace la titulación como en la técnica anterior (valoración de la solución de Fehling), colocando en la bureta la solución problema.

CALCULOS: Supongamos los siguientes datos en la determinación de los azúcares reductores.

Volumen de Fehling tomado = 20 ml.

Título de Fehling = 0.0048 gramos

Solución problema gastada = 5 ml.

Cada ml. de Fehling equivale a 0,0048 gramos de azúcares reductores, los 20 ml. equivaldrán a 0.096 gramos y como se gastaron 5 ml. de solución problema para reducir los 20 ml. de Fehling, en los 5 ml. del problema habrá 0.096 gramos de azúcares reductores (expresados en glucosa). El dato anterior se relaciona a 100 ml. del problema.

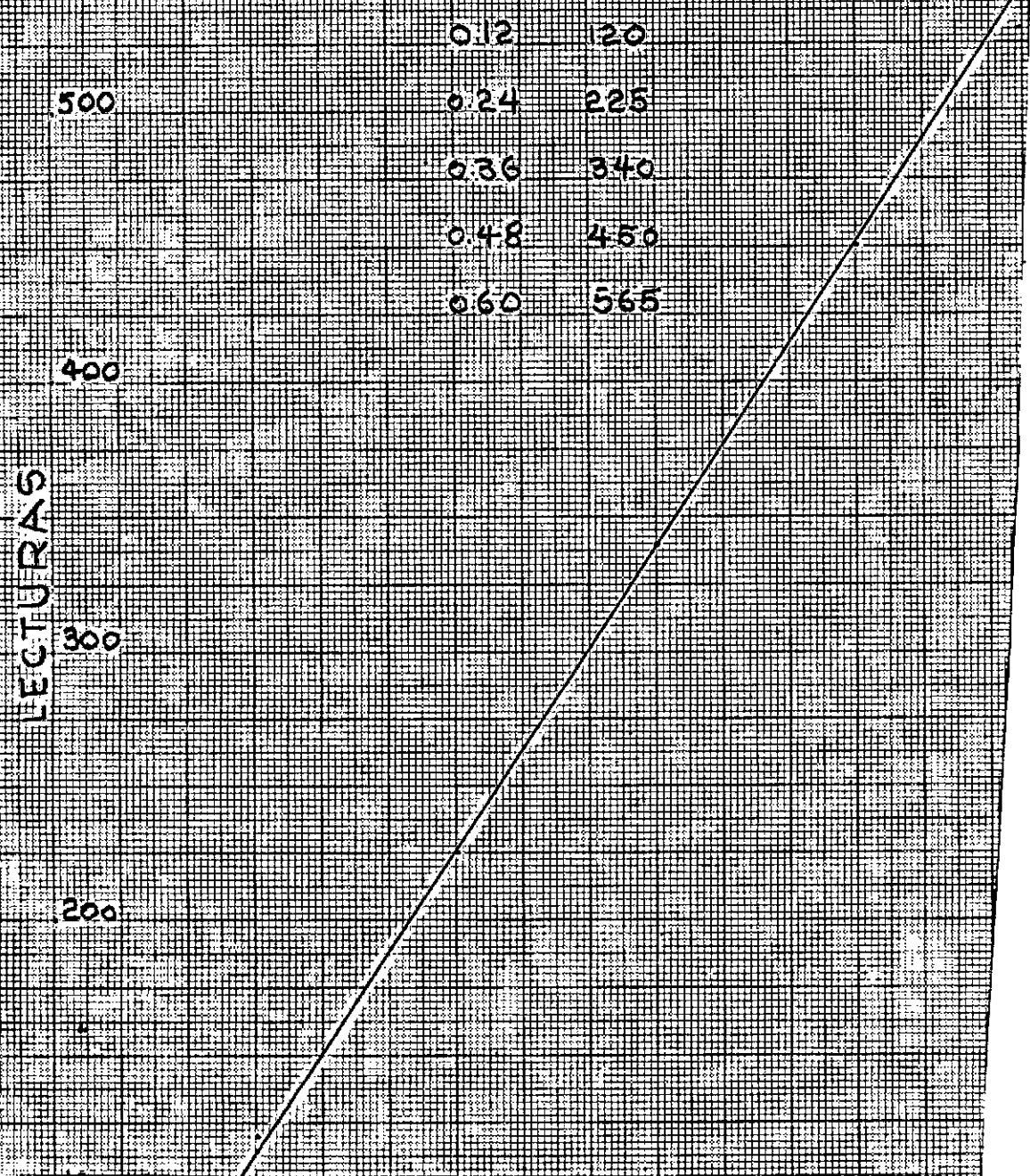
HIDROLISIS (INVERSION)

Una porción exactamente medida de la solución problema (20 ml.) se calientan a 70°C. con 5 ml. de ácido clorhídrico en Baño de María; después de 15 minutos de calentamiento se enfría el líquido y se neutraliza con solución de Hidróxido de Sodio y se completa a volumen determinado (100 ml.) con agua destilada.

Con esta solución que contiene los azúcares reductores originales y los que se forman durante la inversión, hacer la titulación con el Licor de Fehling.

CURVA DE CALIBRACION DE LA GL
METODO TETRAZOLIUM RED
FOTOCOLORIMETRO: KLETT SUMM
FILTRO AZUL 42

550 concentraciones mg vs lecturas



LECTURAS

550

500

400

300

200

0.12

120

0.24

225

0.36

340

0.48

450

0.60

565

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM - RED				F E H L I N G			
	I	II	III	%	I	II	III	%
SUERO DEXTRO-- SADO QUIBI	4,997	5,067	4,907	4,99	4,965	4,814	4,925	4,901
SUERO DEXTRO-- SADO ECAR	4,96	4,906	5,013	4,959	4,888	4,961	4,814	4,887
NECTAR DE MAN ZANA CALIFOR- NIA.	14,8	14,1	14,5	14,46	14,13	13,18	14,28	14,03
NECTAR DE DU-- RAZNO CALIFOR NIA.	14,6	14,44	14,1	14,38	14,94	14,11	14,77	14,94
NECTAR DE PI- NA CALIFORNIA	19,4	19,2	18,7	19,1	19,69	19,69	19,43	19,66

- H -

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED				FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%
NECTAR DE PERA CALIFORNIA	18,42	17,97	18,31	18,23	18,05	17,33	17,7	17,69
NECTAR DE PERA FRUCO	17,5	17,5	17,6	17,55	16,75	17,1	16,3	16,71
NECTAR DE GUAYABA FRUCO	15,4	15,2	14,9	15,16	15,13	16,25	15,72	15,70
NECTAR DE MANZANA FRUCO	16,40	16,6	16,2	16,40	16,25	15,4	15,81	15,82
NECTAR DE DURAZNO FRUCO	14,18	14,4	14,5	14,36	15,47	14,94	15,72	15,37

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED				FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%
NECTAR DE ALBARICOQUE FRUCO	15,2	15,42	15,2	15,27	15,11	15,28	14,94	15,11
NECTAR DE GUAYABA FRUGAL	14,05	13,81	13,61	13,95	14,85	13,91	14,3	14,35
NECTAR DE ALBARICOQUE FRUGAL	12,4	12,3	12,46	12,38	13,24	12,87	12,33	12,81
NECTAR DE PERA LA CONSTANCIA	14,3	14,23	14,5	14,67	14,67	13,85	14,12	14,21
NECTAR DE GUAYABA LA CONSTANCIA	14	13,8	14,2	14	13,83	13,26	14,21	13,76

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED				FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%
NECTAR DE PIÑA LA CONSTANCIA	16,4	16,3	16,5	16,4	16,66	16,66	16,59	16,63
KOLA ROMAN DECOLORADA	19,8	19,8	19,2	19,6	19,55	19,11	19,69	19,45
KOLA ROMAN SIN DECOLORAR	--	--	--	--	19,69	19,11	19,4	19,4
NARANJA POSTOBON DECOLORADA	14,4	14,3	14,5	14,4	14,13	13,97	14,44	14,18
NARANJA POSTOBON SIN DECOLORAR	--	--	--	--	14,19	14,13	14,13	14,15

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED				FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%
UVA ROMAN DECOLORADA	16,2	16,4	16,54	16,38	16,66	15,4	16,81	16,29
UVA ROMAN SIN DECOLORAR	--	---	--	--	16,70	16,66	16,58	16,64
MIEL DE ABEJAS REPIN	95,2	95,34	96,3	95,61	92,84	93,27	96,28	94,13
MIEL DE ABEJAS V. ZAPATA	68,24	67,89	68,8	68,31	66,32	65,41	67,7	66,47
MIEL DE ABEJAS SAN JUAN NEPO	71,20	70,91	71,84	71,31	70,64	72,40	71,22	71,42

NOTA: La Miel de Abejas Repin presentó una capa sacarificada antes de ser tra-
bajada.

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED				FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%
MIEL DE ABEJAS EL PANAL	68	69,6	66,4	68	70,26	68,42	72,22	70,3
MIEL DE CAÑA INGENIO LA PITA	94,8	95,46	94,72	94,99	94,36	95,56	92,84	94,25
MIEL DE CAÑA INGENIO LA PITA	96	96	96	96	97	99,22	96,34	97,52
MIEL DE CAÑA INGENIO LA PITA	97,48	95,46	93,86	96,93	96,28	94,88	97,77	96,3
MIEL DE CAÑA INGENIO LA PITA	99,2	100,26	98,12	99,19	98,48	99,22	97	98,23

ANALISIS REALIZADOS A LAS MUESTRAS Y SUS RESULTADOS

MUESTRAS	TETRAZOLIUM-RED						FEHLING			
	I	II	III	%	I	II	III	%		
MIEL DE CAÑA INGENIO GUSTAVO VELEZ	93,8	93,8	93,32	93,64	94,36	92,18	94,88	93,8		
MIEL DE CAÑA INGENIO GUSTAVO VELEZ	96	97,6	96	96,53	96,64	96,64	97	96,76		
MIEL DE CAÑA INGENIO GUSTAVO VELEZ	87,68	89,06	88	88,24	86,66	90,26	83,32	86,68		

CONCLUSIONES

Basados en los promedios de los datos obtenidos por los análisis realizados a las muestras podemos observar:

- 1º.- Que el método Tetrazolium-Red ofrece resultados tan precisos como los obtenidos por el método de Fehling, ya que éstos se hallan comprendidos entre los estipulados para dichas muestras.
- 2º.- El método Tetrazolium-Red es mucho más rápido por la facilidad que presenta la preparación de los reactivos y al mismo tiempo el desarrollo de la técnica.
- 3º.- Para los laboratorios fabricantes de sueros dextrosados, es recomendable el método del Tetrazolium-Red por la rapidez y precisión que ofrece en los resultados.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ARRAUT ESQUIVEL L. H. Y QUINTANA QUINTANA A.
BROMATOLOGIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PRACTICAS DE LABORATORIOS
PAGINAS: 12 -- 13 -- 14
1969.

- 2.- CHERONIS D. NICHOLAS
QUIMICA ORGANICA EXPERIMENTAL
MANUAL DE LABORATORIO
PAGINA 202
1960.

- 3.- BABOR A. JOSEPH
IBARZ AZNAREZ JOSE
QUIMICA GENERAL MODERNA
PAGINAS: 1.001 -- 1.002
SEXTA EDICION
1958.

- 4.- SEDAN BECHARA YIDIOS
ANALISIS QUIMICO ORGANICO APLICADO
PRACTICAS DE LABORATORIO
PAGINA: 26
1969.