

ROMUALD BOGOCZEK, CZESŁAWA TROSKIEWICZ

Katedra Chemii Organicznej

"O METODACH JAKOŚCIOWEGO I ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA  
KWASU D-GLIKOCUKROWEGO W PRODUKTACH UTLENIANIA  
WĘGLOWODANÓW KWASEM AZOTOWYM"

Streszczenie: Opisano metody jakościowego i ilościowego oznaczania kwasu d-glikocukrowego, stwierdzając, że najpewniejszą metodą wykrywania kwasów czterohydroksydypinowych w mieszaninie z innymi substancjami organicznymi, jest reakcja pirolowa. Metodą tą można się posługiwać nawet wówczas, kiedy kwasy czterohydroksydypinowe występują w badanej próbce w minimalnych ilościach i w towarzystwie innych kwasów karboksylowych. Dla ilościowego oznaczania kwasu d-glikocukrowego w mieszaninie z innymi kwasami karboksylowymi opracowano metodę, w której dzięki zastosowaniu frakcjonowanego wytrącania soli wapniowych, udaje się w określonych warunkach pH roztworu, izolować wymieniony kwas w postaci jego soli wapniowej.

Kwasy czterohydroksydypinowe, a wśród nich stosunkowo najłatwiej dostępny kwas d-glikocukrowy wzbudzają coraz większe zainteresowanie, a to z uwagi na ich zastosowanie (1,2,3,4).

Prowadzone przez nas systematyczne badania nad procesem utleniania różnych surowców węglowodanowych przy pomocy kwasu azotowego, zmusiły nas w konsekwencji do opracowania metod analitycznych, które z jednej strony pozwalały na szybkie i pewne jakościowe stwierdzenie w badanych produktach obecności wspomnianych wyżej kwasów, z drugiej na ilościowe oznaczenie wytworzonego kwasu d-glikocukrowego.

Opisane w literaturze barwne reakcje z izatyną lub karbazolem (5,6), jako charakterystyczne dla kwasów czterohydroksydypinowych nie mogły być przez nas wykorzystane, ponieważ stwierdziliśmy, że wymienione odczynniki dają podobne reakcje barwne również z innymi związkami o zbliżonej strukturze chemicznej np. z  $\alpha$ -oksykwamsami. Te ostatnie jak się okazało mogą występować razem z innymi jak np. z kwasem glikonowym, winowym, szczawio-owym itp. W produktach powstających podczas utleniania węglowodanów.

Zupełnie pewne wyniki jakościowego wykrywania kwasów czterohydroksydypinowych uzyskaliśmy wykorzystując własności chemiczne ich soli amonowych, które przy ogrzewaniu do około 200°C rozkładają się z wytworzeniem pirolu. Identycznie zachowują się także inne sole kwasów czterohydroksydypinowych, jak np. sole potasowców lub wapniowców po uprzednim zmieszaniu ich z chlorkiem wględnie siarczanem amonowym. Drewno sosnowe zwilżone kwasem solnym wprowadzone do atmosfery par wywiązujących się w czasie ogrzewania wymienionych soli przybiera zabarwienie wiśniowo-czerwone. Reakcja ta jest bardzo czuła i można się nią posługiwać nawet wówczas kiedy kwasy czterohydroksydypinowe występują w minimalnych ilościach i w towarzystwie innych substancji organicznych.

W toku badań związanych z otrzymywaniem kwasu d-glikocukrowego z różnych surowców węglowodanowych, bądź to na drodze bezpośredniego ich utleniania kwasem azotowym, bądź też po przeprowadzonej najpierw hydrolizie surowca wyjściowego, stwierdziliśmy, że do jakościowego wykrywania tego kwasu z powodzeniem można wykorzystać również własności fizyczne jego soli metalicznych. I tak zaobserwowano, że krystaliczny, kwaśny d-glikocukrzan potasowy zachowuje się charakterystycznie podczas powolnego ogrzewania, początkowo pęcznieje zwiększając bardzo znacznie swoją objętość, a następnie topnieje ulegając równocześnie rozkładowi. Również charakterystycznie zachowuje się sól wapniowa kwasu d-glikocukrowego, która bezpośrednio po wytrąceniu (np. z wodnego roztworu d-glikocukrzanu sodowego przy pomocy chlorku wapniowego) rozpuszcza się bardzo łatwo w rozcieńczonym kwasie octowym, natomiast po kilku godzinach ta sama sól nie rozpuszcza się w nim zupełnie.

Metoda ilościowego oznaczania kwasów czterohydroksydypinowych opisana przez J.V.Karabinosa i współpracowników (7), a polegająca na miareczkowaniu wodnych roztwo-

rów ich soli alkalicznych mianowanym roztworem chlorku wapniowego, okazała się w naszych warunkach również nieprzydatną. Metodą tą można się posługiwać jedynie w przypadku analizy czystych preparatów.

W poszukiwaniu pewniejszych sposobów oznaczania kwasów czterohydroksydypinowych w ich mieszaninach z innymi kwasami karboksylowymi, próbowano wykorzystać do tego celu metodę potencjometrycznego miareczkowania. Jednakże przeprowadzone w tym kierunku doświadczenia wykazały, że przy miareczkowaniu nie można wyraźnie uchwycić charakterystycznych różnic w skoku potencjału.

W rezultacie dalszych badań opracowano metodę oznaczania kwasu d-glikocukrowego w mieszaninie produktów utlenienia węglowodanów, w której zastosowano frakcjonowanie soli wapniowych, pozwalające w określonych warunkach pH roztworu, na ilościowe izolowanie d-glikocukrzanu wapniowego.

## C Z Ę Ś Ć D O Ś W I A D C Z A L N A

### I. Jakościowe oznaczanie kwasów czterohydroksydypinowych

#### a) Próba pirolowa.

Do 0,5 g badanej substancji dodawano 1 ml stężonego roztworu amoniaku i 0,5 g siarczanu amonowego. Z tak przygotowanej mieszaniny pobierano próbkę, którą umieszczano w tygielku porcelanowym i po odparowaniu do suchości ogrzewano następnie do około 200°C. Wydobywające się produkty rozkładu badano na obecność pirolu przy pomocy drewnianka sosnowego, zwilżonego kwasem solnym.

b) Próba na zachowanie się kwaśnej soli potasowej przy jej ogrzewaniu.

Badaną próbkę produktów utleniania węglowodanów neutralizowano 20%-owym roztworem wodorotlenku potasowego do osiągnięcia trwałej reakcji alkalicznej (pH = 10,0). Roztwór ogrzewano do 80°C utrzymując go w tej temperaturze przez około 10 minut, poczem oziębiano i wkraplano doń 10%-owy roztwór kwasu siarkowego do uzyskania kwaśnej reakcji (pH = 4,0). Następnie ochładzano roztwór do 0°C i zaszczerpiono czystym, kwaśnym d-glikocukrzaniem potasowym. Wykryształizowaną po pewnym czasie sól potasową odsączało i po wysuszeniu badano jej zachowanie się przy ogrzewaniu.

## II. Ilościowe oznaczenie kwasu d-glikocukrowego w postaci jego bezwodnej soli wapniowej

10 g próbkę rozpuszczono w 100 ml wody, a następnie zobojętniono 10%-wym wodorotlenkiem sodowym do pH w granicy 5,5 - 6,0 i po ogrzaniu tego roztworu do 60°C wkraplano doń 10%-wy roztwór chlorku wapniowego (uprzednio nastawiony dodatkiem kilku kropel żugu sodowego do pH 5,5 - 6,0). Dodawanie chlorku wapniowego przerywano wówczas, gdy świeżo wprowadzona kropla nie powodowała zmętnienia roztworu (należy unikać zbytniego nadmiaru odczynnika). Wytrącony w tych warunkach osad odsączono i po bardzo starannym przemyciu wodą odrzucano, natomiast filtrat razem z wodami myjącymi alkalizowano roztworem żugu sodowego do pH = 7,5. Z tak przygotowanego roztworu wytrącono w temperaturze pokojowej d-glikocukrzan wapniowy przy pomocy 10%-ego chlorku wapniowego, nastawionego również do pH = 7,5. Po dwóch godzinach, wydzielony osad zbierano na uprzednio zważonym filtrze szklanym, przemywano kilkakrotnie wodą i pozostawiono na wolnym powietrzu na okres 3-ch godzin. Po tym czasie osad ponownie przemywano, najpierw 10%-wym roztworem kwasu octowego, a następnie wodą. Wydzielony w ten sposób d-glikocukrzan wapniowy suszono w 102-105°C do stałej wagi (tej temperatury nie należy przekraczać ze względu na częściowy rozkład substancji. Procentową zawartość kwasu d-glikocukrowego w badanej próbce obliczono:

$$Z\% = \frac{210,14 \cdot 100 \cdot a}{248,20 \cdot 10} = 8,4666 \cdot a$$

gdzie a - ilość gramów osadu.

Na uwagę zasługuje fakt, że wytrącony w opisany sposób d-glikocukrzan wapniowy suszony do temperatury 80°C, zawiera jedną drobinę wody krystalizacyjnej, zaś suszony w temp. 102-105°C bezwodny.

### A n a l i z a :

dla wzoru  $C_6H_8O_5Ca$ , obliczono: 22,59% CaO  
znaleziono: 22,41% CaO

Powyższe metody zastosowano przy badaniu następujących materiałów:

1. Świeżo sporządzony wodny roztwór kwasu d-glikocukrowego.

2. Czysty kwaśny d-glikocukrzan potasowy.
3. Czysty kwas śluzowy.
4. Czysty d-glikocukrzan wapniowy.
5. Celowoprzygotowana mieszanina różnych części wagowych kwaśnego d-glikocukrzanu potasowego, kwasu d-glikocukrowego, kwasu d,l-winowego, d-winowego, mezowinowego, mezoxalowego i szczawinowego.
6. Mieszanina związków utworzonych w reakcji utlenienia glikozy kwasem azotowym.
7. Ta sama mieszanina po wyodrębnieniu kwasu d-glikocukrowego.
8. Mieszanina związków otrzymana przy utlenianiu produktów hydrolizy drewna sosnowego.

Otrzymane wyniki ilustruje Tablica 1.

Tablica 1

Oznaczenia	Badane materiały							
	1	3	3	4	5	6	7	8
jako kwaśny d-glikocukrzan potasowy	+	+	=	słabo	+	+	-	-
próba pirolowa	+	+	+	+	+	+	-	+
jako d-glikocukrzan wa-pniowy	+	+	=	+	+	+	-	+

Posługując się opracowaną metodą dla ilościowego oznaczenia kwasu d-glikosukrowego w próbkach nr 5 i 6, stwierdzono, że zgodność wyników kilkakrotnych analiz leży w granicach do 0,5%. Analiza 10 g próbki nr 6 dała 3,2570 osadu, co odpowiada 27,57% kwasu d-glikocukrowego.

## LITERATURA CYTOWANA

1. Cz.Troszkiewicz, R.Bogoczek, Pat.Pol. 43135, z dnia 23.IV.56 r.
2. C.L.Mehltretter, B.H.Alexander, C.E.Rist, Ind.Eng, Chem. 45, 2782 (1953)
3. U.S. Pat. 2, 545, 184 (1951)
4. U.S. Pat. 2, 257, 284
5. Yoder, Tollens, Ber. 34, 3461
6. Dische, Biochem. Z., 189, 79.
7. J.V.Karabinos, A.T.Ballum, R.L.McBeth, Anal.Chem. 25, 1563 (1953) C.A. 1954 str. 1203

## Резюме

### **О методах качественного и количественного определения D-глюкосахарной кислоты**

Описано методы качественного да количественного определения д-глюкосахарной кислоты. Удостоверено, что самым верным методом вскрывания тетраоксиадипиновых кислот в смеси с другими органическими субстанциями является пироловая реакция. Такой метод можна применять даже тогда, когда в исследуемой пробирке находятся тетрагидроксиадипиновые кислоты в самом малом количестве при присутствии ещё других карбоксилых кислот.

Для количественного определения д-глюкосахарной кислоты в смеси с другими карбоксилыми кислотами разработано метод, в котором благодаря применению фракционного выделения кальциевых соли, удастся в определённых условиях рН раствора, изолировать названую кислоту под видом её кальциевой соли.

## ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Methoden der qualitativen und quantitativen Bestimmung der d-Glykozuckersäure beschrieben, und es wurde festgestellt, dass die sicherste Methode zum Nachweis der Tetrahydroxyadipinsäuren in Mischungen mit anderen organischen Substanzen - die Pyrrolreaktion ist. Dieser Methode kann man sich auch dann bedienen, wenn die Tetrahydroxyadipinsäuren in der untersuchten Probe nur in Spuren vorkommen, neben anderen Hydroxycarbonsäuren. Für die quantitative Bestimmung der d-Glykozuckersäure in Mischung mit anderen Carboxylsäuren wurde eine Methode bearbeitet in der es gelingt, dank des fraktionierten Ausfällen der Calciumsalze beim bestimmten pH der Lösungen, die Säure als Calciumsalz zu isolieren.