

Nachweis für reduzierende Zucker – Fehlingprobe

Versuchsziele

- Einführung in die Chemie der Zucker
- Unterscheidung von reduzierenden und nicht reduzierenden Zuckern mit der Fehling-Probe
- Betrachtung der Nachweisreaktion als Redoxreaktion
- Erklärung der Farbveränderung beim Fehling-Reagenz durch eine Komplexreaktion
- Betrachtung von Reaktionsgleichgewichten

Grundlagen

Die Fehling-Probe wurde 1848 vom Herrmann Fehling entwickelt. Es handelt sich um eine Nachweisreaktion für reduzierende Gruppen, wie zum Beispiel Aldehyd-Funktionen. Sie ermöglicht die Unterscheidung zwischen reduzierenden und nicht reduzierenden Zuckern. Ursprünglich setzte man die Fehling-Probe auch ein, um mittels Titration den Zuckergehalt im Blut von Diabetikern zu bestimmen. Heutzutage ist die Fehling-Probe vor allem als didaktisches Beispiel von Bedeutung, anhand dessen sich die Chemie der Zucker erklären lässt.

Das Prinzip der Fehling-Probe basiert darauf, dass die Aldehydgruppe des Zuckers durch komplexierte Kupferionen zur Säure oxidiert wird. Es fällt dann rotes Kupfer-(I)-Oxid aus, welches als Nachweis für die Redoxreaktion dient.

Zucker können in wässriger Lösung in ringförmiger oder in offenkettiger Form vorliegen. Beide Formen stehen im chemischen Gleichgewicht miteinander. Das Gleichgewicht liegt allerdings bei Pentosen ($C_5H_{10}O_5$) und Hexosen ($C_6H_{12}O_6$) zu mehr als 99,9 % auf Seiten der Ringform. Es bildet sich bei

der Ringschlussreaktion ein intramolekulares Halbacetal (Abb.2).

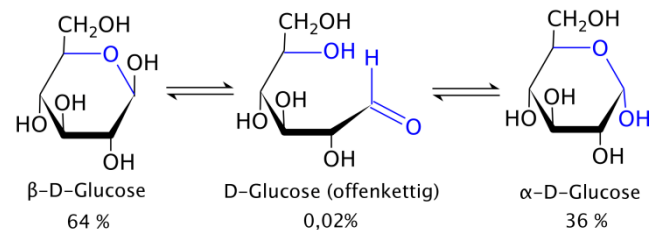


Abb. 2: Gleichgewicht zwischen offenkettiger und ringförmiger Glucose in Wasser. Beim Ringschluss entsteht ein Halbacetal.

Die offenkettige Form hat entweder eine Aldehydgruppe oder eine Ketogruppe als Kopfgruppe. Anhand dessen unterteilt man Zucker in Aldosen und Ketosen. Das Kohlenstoffatom, an dem bei der offenkettigen Form die Aldehyd oder Keto-Gruppe ist, wird bei der Ringform als anomeres Kohlenstoffatom bezeichnet, da beim Ringschluss ein neues chirales Zentrum entsteht.

Die Fehling-Probe ist ein Nachweis für Aldehyde. Ketone lassen sich nicht mit dem Fehling-Reagenz oxidieren. Dennoch



Abb. 1: Versuchsaufbau.

spricht die Fehling-Probe auch auf Ketosen an, da diese in wässriger Lösung aufgrund der Keto-Enol-Tautomerie im chemischen Gleichgewicht mit der entsprechenden Aldose liegen (Abb. 3).

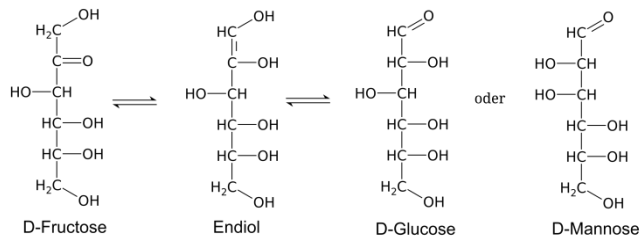


Abb.3: Keto-Enol-Tautomerie der Fructose in Wasser

Nur die offenkettige Form des Zuckers kann oxidiert werden, da die ringförmige Form keine Aldehydgruppe hat.

Ringförmige Zucker lassen sich über ihre Hydroxid-Gruppen in einer Kondensationsreaktion zu di- und polymeren Zuckern verknüpfen. Dabei entstehen Acetale, wenn die Verknüpfung am anomeren Kohlenstoffatom erfolgt. Das anomere Kohlenstoffatom hat dann keine Hydroxid-Gruppe mehr. Dadurch ist die Ringöffnungsreaktion blockiert (Abb. 4).

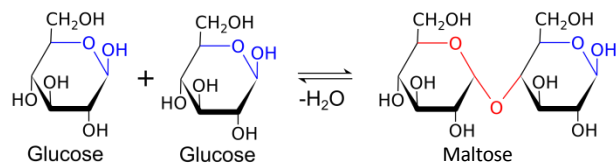


Abb. 4: Dimerisierung der Galactose. Es entsteht am anomeren Kohlenstoff des linken Glucosemoleküls ein Acetal.

Bei dimeren Zuckern sind zwei Fälle von möglichen Verknüpfungen zu unterscheiden. Die Maltose beispielsweise besteht aus zwei Glucosemolekülen, die miteinander 1,4 verknüpft sind. Es ist also das anomere Kohlenstoffatom des einen Glucosemoleküls mit dem vierten Kohlenstoffatom des anderen Glucosemoleküls verknüpft. Die Ringöffnung des ersten Glucoserings ist damit blockiert. Beim zweiten Glucosering kann die Ringöffnung aber weiterhin stattfinden, sodass die offenkettige Form oxidiert werden kann. Es handelt sich also um einen reduzierenden Zucker (Abb. 5).

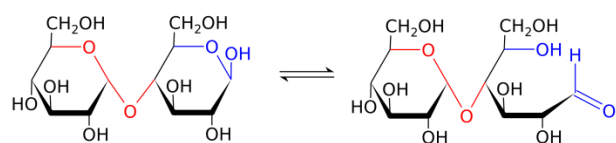


Abb.5: Ringöffnung der Galactose. Das anomere Kohlenstoffatom des linken Glucosemoleküls ist als Acetal blockiert. Das anomere Kohlenstoffatom des rechten Glucosemoleküls kann als Halbacetal geöffnet werden.

Bei der Saccharose hingegen ist ein Glucosemolekül mit einem Fructosemolekül 1,2 verknüpft. Die Verknüpfung erfolgt über die beiden anomeren Kohlenstoffatome. In diesem Fall ist die Ringöffnung an beiden Ringen blockiert. Der Zucker kann nicht oxidiert werden. Es ist deshalb ein nicht reduzierender Zucker (Abb. 6).

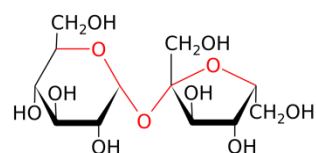


Abb.6: Struktur der Saccharose. Beide anomeren Kohlenstoffatome sind als Acetale miteinander verknüpft.

Im hier vorgestellten Versuch wird die Fehling-Probe exemplarisch mit den reduzierenden Zuckern Glucose und Fructose

und dem nichtreduzierenden Zucker Saccharose durchgeführt. Saccharose lässt sich im sauren Milieu in Glucose und Fructose spalten, die dann wiederum als reduzierende Zucker reagieren können. Auch das wird in diesem Versuch gezeigt.

Gefährdungsbeurteilung

Besondere Vorsicht beim Umgang mit Natriumhydroxid und Salzsäure walten lassen, da es sich um ätzende Stoffe handelt. Bei der Durchführung des Versuches Kittel, Schutzbrille und Handschuhe tragen.

Kupfer-(II)-Sulfat



Achtung

Gefahrenhinweise

H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

H315: Verursacht Hautreizungen.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

H410: Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

Sicherheitshinweise

P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P302+P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.

Natriumhydroxid



Gefahr

Gefahrenhinweise

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.



Sicherheitshinweise

P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P301+P330+P331: BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.

P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P308+P310: BEI Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

Salzsäure	
  Gefahr	<p>Gefahrenhinweise</p> <p>H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.</p> <p>H335: Kann die Atemwege reizen.</p> <p>H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.</p> <p>Sicherheitshinweise</p> <p>P234: Nur im Originalbehälter aufbewahren.</p> <p>P260: Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol nicht einatmen.</p> <p>P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.</p> <p>P303+P361+P353: BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.</p> <p>P304+P340: BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.</p> <p>P309+P311: BEI Exposition oder Unwohlsein: GIFTINFORMATI-ONS-ZENTRUM oder Arzt anrufen.</p> <p>P501: Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zu-führen.</p>

Geräte und Chemikalien

2	Messkolben Boro 3.3, 100 ml	665 793
1	Glasrührstab 200 mm x 8 mm Ø, Satz 10...	665 212ET10
1	Becherglas, Boro 3.3, 150 ml, hF	602 010
1	Mikro-Doppelspatel Edelstahl, 185 mm	666 961
1	Kompaktwaage 440-3N, 200 g : 0,01 g	667 7977
1	Messzylinder 100 ml, Kunststofffuß	665 754
4	Reagenzglas Fiolax, 30 x 200 mm.....	664 045
1	Reagenzglasgestell Holz, 32 mm Ø.....	667 054
1	Tropfpipette 150 x 7 mm, Satz 10.....	665 953
1	Gummikappen (Pipettenhütchen)	665 954
1	Magnetrührer mit Heizplatte, rund	666 8471
1	Thermometer, -10...+150 °C/1 K.....	382 33
1	Becherglas, Boro 3.3, 600 ml, nF	664 132
1	Messpipette 10 ml.....	665 997
1	Pipettierball (Peleusball)	666 003
1	Uhrglas 100 mm Ø.....	664 155
1	Spritzflasche PE, 500 ml.....	661 243
1	D(+)-Glucose, 100 g	672 1100
1	D(-)-Fructose, 50 g	672 0700
1	D(+)-Saccharose, 100 g.....	674 6050
1	Kaliumnatriumtartrat, 250 g	672 6710
1	Natriumhydroxid, Plätzchen, 100 g.....	673 6800
1	Kupfer(II)-sulfat-5-hydrat, 100 g.....	672 9600
1	Salzsäure konz., 25 %, 250 ml	674 6750
1	Siedesteine, 250 g	670 9160

Versuchsaufbau und -vorbereitung

Das Fehling-Reagenz besteht aus den beiden Fehling-Lösungen I und II.

1. Für die Fehling-Lösung I werden in einem 100 ml Messkolben 3,5 g Kupfer(II)-sulfat-5-hydrat in 50 ml Wasser gelöst.
2. In einem weiteren 100 ml Messkolben werden für die Fehling-Lösung II 17,5 g Kaliumnatriumtartrat und 10 g Natriumhydroxid ebenfalls in 50 ml Wasser gelöst.
3. Wird nun Fehling-Lösung II in Fehling-Lösung I gegossen lässt sich beobachten, dass sich die zuvor hellblaue Kupfersulfat-Lösung dunkelblau färbt.
4. Von jedem der 3 Zucker (Glucose, Fructose, Saccharose) werden jeweils 0,5 g abgewogen, in ein Reagenzglas gegeben und dieses entsprechend beschriftet (Es werden zwei Reagenzgläser mit Saccharose vorbereitet.). Je 50 ml destilliertes Wasser werden hinzugegeben. In eines der beiden Reagenzgläser mit Saccharoselösung werden 10 Tropfen konzentrierte Salzsäure gegeben.

Typ: Ansätze zum Lösen auf Heizplatte etwas erwärmen. Reagenzgläser zum Abwiegen in ein 150 ml Becherglas stellen.

Versuchsdurchführung

1. Das 600 ml Becherglas wird mit Wasser gefüllt und als Wasserbad auf den Magnetrührer mit Heizplatte gestellt.
2. Das Wasserbad wird unter Verwendung von Siedesteinen auf 80 °C aufgeheizt. Die Temperatur wird mit Hilfe des Thermometers verfolgt. Wenn die Temperatur erreicht ist, wird das Wasserbad von der Heizplatte genommen und die drei Reagenzgläser mit den nicht angesäuerten Zuckerlösungen hineingestellt.
3. Zu jeder der Lösungen wird mit Hilfe der Messpipette 10 ml Fehling-Reagenz gegeben. In den Reagenzgläsern mit der Fructose und der Glucose sollte sofort orange-roter Niederschlag ausfallen. Die Saccharose sollte keine Veränderung zeigen.
4. Nach einiger Zeit werden die beiden Reagenzgläser mit den reduzierenden Zuckern aus dem Wasserbad genommen und das vorbereitete Reagenzglas mit der angesäuerten Saccharose-Lösung hinzugesellt.

Hinweis: Wenn die Temperatur des Wasserbades schon zu weit gesunken ist, sollte dieses vorher nochmals erwärmt werden.

Es werden ebenfalls 10 ml Fehling-Reagenz hinzugegeben.

Bei der angesäuerten Saccharoselösung fällt ebenfalls roter Niederschlag aus, während die nicht angesäuerte Saccharoselösung keine Farbveränderung zeigt.

Beobachtung

1. Die Fehling-Lösung I ist zunächst hellblau gefärbt. Fehling-Lösung II ist farblos. Werden beide Lösungen gemischt, färbt sich das Gemisch dunkelblau.
2. Wird zu den Lösungen der beiden reduzierenden Zucker Glucose und Fructose etwas Fehling-Reagenz gegeben und diese erwärmt, fällt roter Niederschlag aus.
3. Saccharose zeigt als nicht reduzierender Zucker keine Reaktion mit dem Fehling-Reagenz.
4. Die angesäuerte Saccharoselösung hingegen zeigt eine Reaktion mit der Fehling-Lösung. Es fällt ebenfalls ein roter Niederschlag aus.

Versuchsergebnis

Die hellblaue Farbe der Fehling-Lösung I kommt zustande, weil Kupferionen in wässriger Lösung mit dem Wasser eine blaue Komplexverbindung bilden. Das Kupfer liegt also nicht als Cu^{2+} sondern als $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ oder $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ vor. Auch im festen Kupfer(II)-sulfat-5-hydrat liegt der Komplex $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ vor. Es ist daher ebenfalls blau.

Nach Zugabe der Fehling-Lösung II färbt sich die Lösung dunkelblau, da das Kupfer mit den Tartrat-Ionen reagiert. Die Wasserliganden werden durch die stärkeren Tartrat-Liganden ausgetauscht. Es bildet sich der dunkelblaue Kupfertartrat-Komplex (Abb.7).

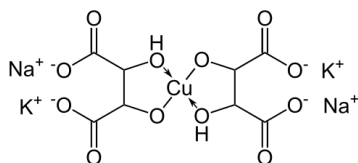
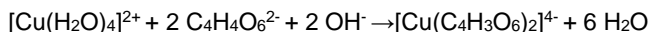
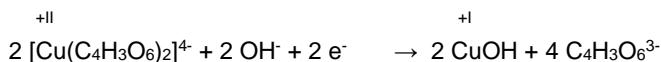


Abb.7: Kupfertartrat-Komplex.

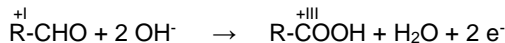
Wie bereits eingangs erwähnt handelt es sich bei der Nachweisreaktion, um eine Redoxreaktion.

Dabei wird die Aldehydgruppe des Zuckers zur Säure oxidiert und das im Kupfertartrat-Komplex gebundene Cu^{2+} zu Kupfer(I)-Oxid reduziert. Die Reduktion erfolgt über Kupfer(I)-Hydroxid als Zwischenstufe.

Reduktion:



Oxidation:

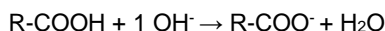


Die anschließende Dehydratisierung führt zu festem Kupfer(I)-Oxid, das als roter Niederschlag ausfällt. Die entstehende Carbonsäure wird in alkalischer Lösung sofort deprotoniert.

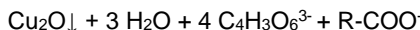
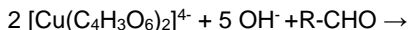
Dehydratisierung:



Deprotonierung der Carbonsäure:



Gesamtreaktion:



Obwohl, die offenkettige Form des Zuckers in wässriger Lösung nur zu weniger als 0,1 % vorliegt, reagiert der Zucker vollständig zu Gluconat, dem Anion der Gluconsäure. Das liegt daran, dass die Reaktionsprodukte Kupfer-I-Oxid und Gluconsäure beide kontinuierlich aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt werden. Kupfer-II-Oxid fällt als Feststoff aus und die Gluconsäure wird im basischen deprotoniert. Da beide Reaktionsgleichgewichte aneinander gekoppelt sind, wird solange Zucker von der Ringform in die offenkettige Form überführt, bis die Reaktion vollständig abgelaufen ist.

Wie aus der Reaktionsgleichung zu erkennen ist, ist das Ablaufen der Reaktion abhängig von der Konzentration der Hydroxidionen. Die Nachweisreaktion funktioniert daher nicht im sauren Milieu.

Die Komplexierung des Cu^{2+} als Kupfertartrat-Komplex hat die Funktion, die Bildung von unlöslichem Kupfer-(II)-Hydroxid im Basischen, zu verhindern. Dieses würde nicht vom Aldehyd reduziert werden.

Die Saccharose zeigt zunächst keine Reaktion, da es sich um einen nicht reduzierenden Zucker handelt. Die Verknüpfung der beiden anomeren Kohlenstoffatome verhindert die Öffnung des Ringes. Es liegen also keine offenkettigen Zuckermoleküle vor, die oxidiert werden könnten.

Das Ansäuern der Saccharose bewirkt die Spaltung in die monomeren Zucker Glucose und Fructose (Abb. 8). Diese wiederum können vom Fehling-Reagenz oxidiert werden.

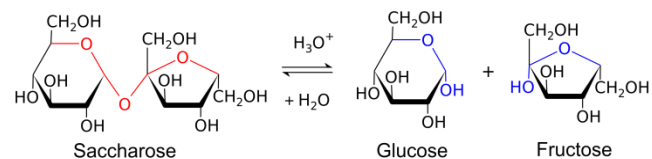


Abb.8: Spaltung der Saccharose. Es entstehen die reduzierenden Zucker Glucose und Fructose.

Reinigung und Entsorgung

Das übriggebliebene Fehling-Reagenz, kann in einem verschließbaren Gefäß für weitere Analysen aufbewahrt werden. Alle anderen Lösungen, werden aufgrund des darin enthaltenen Kupfers in den Abfallbehälter für anorganische Lösemittelabfälle gegeben. Der rote Niederschlag aus Kupfer(I)-Oxid lässt sich in konzentrierter Salzsäure lösen.