



TP – Etudes des glucides

A- Réactions colorées et identification des sucres

En milieu acide et en présence de divers phénols, les sucres donnent des réactions colorées. Le développement de la couleur est dû à la formation des produits de condensation entre les dérivés du phénol et les produits de décomposition résultant de l'action de l'acide sur les sucres.

Sur chacune des solutions sucrées à 1% mises en expérience, on étudiera les réactions suivantes :

1- Réaction de MOLISCH – Réaction générale des sucres

Cette méthode est caractéristique du radical glucidique ; elle est positive avec tous les oses libres ou combinés

Réactifs

- * Solution sucrée à 0,2%
- * Solution alcoolique d' α -naphtol à 1% (réactif de Molisch)
- * Acide sulfurique concentré (H_2SO_4)

Technique

- Dans un tube à essai, verser 2 ml de solution de glucose à 0,2% et 2 à 3 gouttes de réactif de Molisch
- Ajouter 2 à 3 ml d'acide sulfurique concentré en les versant doucement le long de la paroi du tube à essai pour qu'ils ne se mélangent pas avec la solution sucrée.

Résultat

- Il se forme rapidement un anneau violet plus au moins large à la surface de séparation des deux liquides. Une teinte verdâtre apparaît sous l'anneau violet et colore peu à peu la solution d'acide sulfurique.
- Répéter l'opération avec les solutions de lactose, saccharose et de xylose. Après 20 à 30 minutes, noter l'aspect des essais.

2- Réaction de BARFOED – différenciation des mono et des disaccharides

Réactifs

- * Solution sucrée à 1%
- * Réactif de Barfoed : solution d'acétate de cuivre en milieu acétique :
 - Acétate de cuivre 7g
 - Acide acétique 1g
 - Eau distillée, qsp 100 ml

Technique

- Dans un tube à essai, verser 4 ml de réactif de Barfoed et 1 ml de solution sucrée à 1%
- Mélanger et placer au bain-marie bouillant les différents échantillons, noter le temps nécessaire à l'apparition d'un dépôt de Cu_2O
- Après 30 minutes, noter l'aspect de chaque tube.

3- Réaction de SELIWANOFF – différenciation des aldoses et des cétooses

Réactifs

- * Solution sucrée à 1%
- * Réactif de Seliwanoff : - solution de Résorcine à 0,05% dans HCl à 25% (en volume)

Technique

- Dans un tube à essai, verser 4 ml de réactif de Seliwanoff et 1 ml de solution sucrée à 1%
- Mélanger et placer au bain-marie bouillant pendant 60 secondes.
- Observer et noter les colorations pendant et après l'immersion dans le bain-marie.

Résultat

- Les sucres cétoniques donnent une couleur rouge vif
- Cette réaction est positive aussi avec le saccharose car en milieu acide il y a un début d'hydrolyse, le saccharose donne glucose + fructose et le fructose apparu donne la réaction des cétooses.
- Réaliser l'expérience avec les solutions de fructose, saccharose et de glucose.

4- Réaction des pentoses

Il existe plusieurs réactions de caractérisation des pentoses. Au cours de ce test, on utilisera la réaction de BIAL : Réaction à l'orcineol (orcine)

Réactifs

- * Solution de xylose à 1%
- * Solution de glucose à 1%
- * Réactif de Bial : Solution à 0,2% dans l'acide chlorhydrique concentré.
Dissoudre 100 mg d'orcine dans 50 ml d'acide chlorhydrique concentré puis y ajouter 2 gouttes de chlorure ferrique à 30%.
- * Solution de chlorure ferrique à 30%

Technique

- Dans un tube à essai, mettre 3 ml de réactif de Bial, porter à l'ébullition et ajouter 3 gouttes de la solution sucrée à 1%
- Observer et noter les colorations obtenues dans les deux cas.

5- Réactions de réduction

- En milieu acide (voir réaction de Barfoed), les monosaccharides ont une activité réductrice plus intense que les disaccharides.
- En milieu alcalin, la réduction est très rapide et ne permet que le classement sommaire en sucres réducteurs et non réducteurs.

- Les réducteurs agissent sur les solutions alcalines de nombreux sels métalliques et en précipitent le métal, soit libre, soit à l'état d'oxyde au minimum.
- Dans les conditions des essais, les sucres cétoniques subissent une transformation en la forme énolique correspondante et présentent ainsi un pouvoir réducteur.

* Liquueur de Fehling

Réactifs

- * Solution sucrée à 1%
- * Liquueur de Fehling :
 - Solution A : CuSO_4 dans l'eau distillée
 - Solution B : Tartrate double de Na et K + NaOH dans l'eau distillée (sel de Seignette sodique)

A mélanger volume/volume les solutions A et B.

Technique

- Dans un erlenmeyer, prendre environ 10 ml de Liquueur de Fehling (5 ml de CuSO_4 + 5 ml de sel de Seignette sodique).
 - Chauffer et ajouter quelques gouttes de la solution sucrée.
 - Observer la précipitation du Cu_2O
- Faire un essai avec le glucose et le fructose.

* Miroir d'argent

Réactifs

- * Solution sucrée à 1%
- * Réactifs du miroir d'argent :
 - nitrate d'argent (AgNO_3) à 10% dans l'eau distillée
 - Ammoniaque (NH_4OH) dilué (environ à 25%)

Technique

- Dans un tube à essai très propre (lavé avec HNO_3 chaud puis rincé plusieurs fois à l'eau distillée) mettre 5 à 6 ml de AgNO_3 à 10% qu'on additionne d'ammoniaque (NH_4OH) diluée. Il apparaît un précipité. On continue à ajouter (NH_4OH) exactement jusqu'à redissolution du précipité (ne pas mettre d'excès).
- Ajouter quelques gouttes de la solution sucrée.
- Plonger le tube dans un bain-marie à 40 – 50°C. Après quelques minutes, il se dépose sur la paroi du tube une couche d'Ag métallique.
- Faire un essai avec chaque solution sucrée.

6- Mise en évidence de polysaccharides par l'iode

Les polysaccharides adsorbent l'iode différemment selon la grosseur de leur molécule et donnent naissance à un complexe coloré. Le complexe se détruit à la chaleur et se reforme lors du refroidissement. Eviter un excès de Lugol, dont la couleur peut masquer la couleur du complexe.

* L'amidon

Réactifs

- * Amidon
- * Lugol : - 1g de I₂ et 2g KI sont broyés dans quelques ml d'eau distillée puis amenés à 100 ml dans une fiole jaugée.

* L'empois d'amidon

- Une suspension de 1g d'amidon dans 10 ml d'eau distillée froide, est versée lentement dans un erlenmeyer de 80ml d'eau distillée en ébullition, agiter. Maintenir cette solution en ébullition jusqu'à l'obtention d'une solution opalescente (2 à 3min).
- Faire refroidir à 20°C, puis transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml. Rincer et compléter au trait de jauge par de l'eau distillée. C'est la solution d'empois d'amidon à 1% (P/V).
- A une prise d'essai de quelques ml, ajouter une goutte de lugol. Noter l'aspect du tube.

* Hydrolyse acide de l'amidon

Réactifs

- * Empois d'amidon à 1%
- * Acide chlorhydrique 2N
- * Lugol.
- * Solution de soude à 1%
- * Papier pH (de tournesol)

Technique

- Dans 11 tubes à essai, verser à la pipette 5 ml d'empois d'amidon et ajouter à chaque tube 1,5 ml d'acide chlorhydrique 2N. Bien mélanger.
- Faire l'essai au lugol sur le premier tube. Il apparaît une belle coloration bleue
- Porter les 10 autres tubes au bain-marie bouillant.
- Toutes les 3 à 4 minutes, retirer un tube et, après l'avoir refroidi sous le robinet, effectuer la réaction au lugol.
- On obtient ainsi une série de teintes : violet, rouge violacé, rouge acajou, brun clair, jaune, qui indiquent que l'hydrolyse procède par étapes. La molécule du polyholoside est rompue en fragments de poids moléculaires décroissants : les dextrines (amylodextrine, violet ; érythrodextrine, rouge acajou...). La teinte jaune finale est due au réactif de lugol. A ce stade, l'hydrolyse est terminée

Mettre en évidence la présence d'un sucre réducteur (glucose) dans l'hydrolysate par le test à la liqueur de Fehling. Pour cela, il faut neutraliser au préalable l'acide chlorhydrique présent par addition de quelques gouttes de solution de soude (vérifier au papier pH).

* Mise en évidence des sucres dans certains aliments

Le glucose dans le pain :

- Triturer avec de l'eau, dans un mortier, des fragments de mie de pain
- Exprimer la pâte à travers une mousseline
- Filtrer le liquide obtenu. Sur une portion, faire la réaction à la liqueur de Fehling

8-Hydrolyse acide de la cellulose :

En présence d'acide sulfurique concentré, La cellulose est hydrolysée à chaud en glucose.

Réactif

- Coton hydrophile ou papier filtre
- Acide sulfurique concentré
- NaOH à 10%
- Papier pH
- Liqueur de Fehling

Technique

- Triturer, dans un mortier du papier filtre avec 3 ml d'acide sulfurique concentré. On obtient une sorte de sirop épais.
- Verser le sirop obtenu dans un erlenmeyer contenant 15 ml d'eau distillée
- Mettre à chauffer au bain-marie bouillant pendant 10 – 15 minutes
- Neutraliser au moyen de NaOH à 10% (contrôler par papier pH)
- Mettre en évidence la présence du sucre réducteur (glucose) par le test à la liqueur de Fehling.