



Un Laboratorio de Química Orgánica más divertido

• Alicia Játem Lásser



PUBLICACIONES
VICERECTORADO ACADÉMICO
CODEPRE



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Autoridades universitarias

- **Rector**
Mario Bonucci Rossini
- **Vicerrectora Académica**
Patricia Rosenzweig Levy
- **Vicerrector Administrativo**
Manuel Aranguren Rincón
- **Secretario**
José María Andérez Álvarez
- **Coordinador de la Comisión de Desarrollo del Pregrado**
Cesar García

SELLO EDITORIAL

PUBLICACIONES DEL VICERRECTORADO ACADÉMICO

- **Presidenta**
Patricia Rosenzweig Levy
- **Coordinador**
Ricardo R. Contreras
- **Consejo editorial**
Ricardo R. Contreras
María Teresa Celis
Jesús Alfonso Osuna Ceballos
Alix Madrid
Rafael E. Solórzano
Marlene Bauste

- Unidad operativa
- **Supervisora de procesos técnicos**
Yelliza García
 - **Asesor editorial**
Freddy Parra Jahn
 - **Asistente**
Yoly Torres
 - **Apoyo técnico**
Lilian Torres

COLECCIÓN TEXTOS UNIVERSITARIOS
Sello Editorial
Publicaciones Vicerrectorado Académico

Los trabajos publicados en esta colección han sido rigurosamente seleccionados y arbitrados por especialistas en las diferentes disciplinas.

Primera edición digital, 2018

© Universidad de Los Andes
Sello Editorial Publicaciones del Vicerrectorado Académico de la Universidad de Los Andes con el financiamiento de la Comisión de Desarrollo del Pregrado (CODEPRE)
© Alicia Játem Lásser

Hecho el depósito de ley
Depósito Legal:
ME2017000181
ISBN: 978-980-11-1906-7
ISBN: 978-980-11-1909-8

• **Concepto de colección**
Kataliñ Alava

• **Fotografía de portada:**
Tomada de: <https://www.pixabay.com/es>

• **Diseño y diagramación**
Carlos A. Saavedra

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra sin la autorización escrita de los autores y editores.

Universidad de Los Andes
Av. 3 Independencia,
Edificio Central del Rectorado,
Mérida, Venezuela.
publicacionesva@ula.ve
publicacionesva@gmail.com
<http://www2.ula.ve/publicacionesacademico>

Editado en la República Bolivariana de Venezuela

COLECCION

TEXTOS UNIVERSITARIOS

Esta colección contempla la edición de textos académicos que sirvan de apoyo docente en las áreas del conocimiento existentes en la Universidad: Ciencias Humanísticas y Sociales. Ciencias Básicas, Tecnología y Ciencias de la Salud.

Entre los objetivos específicos de esta colección resaltan:

- Estimular la edición de libros al servicio de la docencia.
- Editar la obra científica de los profesores de nuestra Casa de Estudios.
- Publicar las investigaciones generadas en los centros e institutos de investigación.

Hasta ahora, un número considerable de textos universitarios ha sido publicado por miembros de nuestra plan profesoral, obras de las que -en la búsqueda del mejoramiento de la calidad de nuestra educación de pre y posgrado- se han beneficiado por igual estudiantes y docentes.



PUBLICACIONES
VICERRECTORADO ACADÉMICO

CODEPRE

Un Laboratorio de Química Orgánica más divertido

• Alicia Játem Lászer

Un Laboratorio de Química Orgánica más divertido

• Alicia Játem Lásser



PUBLICACIONES
VICERRECTORADO ACADÉMICO
C O D E P R E

Índice

11	Prefacio
15	La autora
1	capítulo
17	¿CÓMO SE DEBE TRABAJAR EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA?
	1.1 Trabajo con “seguridad” en el laboratorio de química
18	1.2 Sustancias tóxicas
21	1.3 Sustancias inflamables
24	1.4 Extinguidores de incendios
25	1.5 Sustancias explosivas
	1.6 Normas generales de seguridad en el Laboratorio de Química Orgánica
2	capítulo
33	¿CÓMO SE DEBE TRABAJAR UN INFORME DE LABORATORIO?
	2.1 El cuaderno de laboratorio
35	2.2 El informe de laboratorio
3	capítulo
37	¿CÓMO BUSCAR INFORMACIÓN?
	3.1 Textos de Química Orgánica (teoría)
	3.2 Textos de Química Orgánica Experimental
38	3.3 Bases de datos
4	capítulo
39	LAS TÉCNICAS DE LABORATORIO
	4.1 Recristalización

40	4.2 Extracción
45	4.3 Destilación
50	4.4 Cromatografía
53	4.5 Procedimientos auxiliares

5 capítulo

67 LAS EXPERIENCIAS PRÁCTICAS

	Experiencia práctica 1
	Química farmacéutica: Analgésicos. Recristalización de acetaminofén a partir de tabletas comerciales. Estudio del efecto de la velocidad de enfriamiento
73	Experiencia práctica 2
	Extracción de cafeína del café
80	Experiencia práctica 3
	Extracción de cafeína del té y de la hierba mate
87	Experiencia práctica 4
	Extracción de cafeína de refrescos comerciales
92	Experiencia práctica 5
	Química farmacéutica. Extracción de una mezcla ácido-base: aspirina, cafeína y fenacetina
97	Experiencia práctica 6
	Química de la visión y del color. Cromatografía en papel y en capa fina de colorantes sintéticos para alimentos
107	Experiencia práctica 7
	Extracción y estudio cromatográfico de pigmentos vegetales
115	Experiencia práctica 8
	Cromatografía en capa fina de extractos de cúrcuma, paprika, onoto, chile y curry
120	Experiencia práctica 9
	Destilación simple y fraccionada. Química de la fermentación. Biosíntesis de etanol
128	Experiencia práctica 10
	Aparatos de destilación utilizando utensilios caseros
131	Experiencia práctica 11
	Destilación simple y fraccionada de bebidas alcohólicas
136	Experiencia práctica 12
	Destilación fraccionada de petróleo

143	Experiencia práctica 13 Síntesis del polímero lucita (polimetil metacrilato o plexiglas)
153	Experiencia práctica 14 Síntesis de jabones exóticos
163	Experiencia práctica 15 Síntesis de detergentes: sulfato de lauril sódico. Estudio comparativo de propiedades de jabones y detergentes
	Experiencia práctica 16 Extracción de ADN de tejidos animales y vegetales
171	Experiencia práctica 17 Química Farmacéutica. Conversión de acetaminofén en fenacetina
174	Experiencia práctica 18 Aislamiento de productos naturales y cromatografía en capa fina. Licopeno y β -caroteno
184	Experiencia práctica 19 Propiedades químicas de los carbohidratos
205	Experiencia práctica 20 Química de las proteínas
220	Experiencia práctica 21 Análisis químico de la leche
232	Experiencia práctica 22 Síntesis electrolítica: ácido mirístico y n-hexacosano
239	Experiencia práctica 23 Química Criminalística. Síntesis de luminol y ensayos de revelado de manchas ocultas de sangre

Prefacio

Este libro es el producto de varios años de docencia en el primer curso de Laboratorio de Química Orgánica, durante los cuales intenté desarrollar experiencias prácticas atractivas e interesantes para mis estudiantes, que no sólo llenasen el objetivo de aprender y adiestrarse en el uso de las técnicas experimentales exigidas en el programa oficial de la asignatura en el Pensum de la Licenciatura en Química de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes; sino que ofrecieran también, nueva información con ilustraciones sobre temas interesantes relacionados con la Química Orgánica y generasen motivación adicional para buscar literatura y discutir estos aspectos. Es así como, las experiencias prácticas presentadas en este libro, tienen dos objetivos: permitir el adiestramiento en una técnica experimental y ofrecer nueva información al estudiante.

Las notas introductorias a cada experiencia práctica, en conjunto, constituyen un “curso paralelo” dentro del curso de Laboratorio de Química Orgánica que pueden ser útiles como lecturas adicionales en los cursos teóricos de esta asignatura.

Todas las experiencias presentadas en este libro han sido puestas en práctica y probadas varias veces en los cursos de laboratorio que he dictado, lo cual ha permitido su optimización. Se ha tratado de usar los solventes menos tóxicos y se exige a los estudiantes conocer las medidas de seguridad para el manejo de los reactivos químicos y de los desechos generados en cada experiencia práctica, como una obligación personal, grupal y ecológica. No se incluyeron en este libro, las dos experiencias prácticas "Propiedades físicas y solubilidades de los compuestos orgánicos" e "Identificación de grupos funcionales", por considerar que éstas están muy ampliamente descritas en todos los textos de Química Orgánica Experimental y resultaría repetitivo presentarlas.

Con el uso de materiales de partida adquiridos en farmacias, supermercados o ferreterías, tales como fármacos, alimentos, condimentos, polímeros, perfumes, etc., no sólo se reduce el costo económico que implica el curso de laboratorio, sino que, más importante aún, se acerca la visión del estudiante de Química Orgánica a materiales y procesos de la vida cotidiana.

Con respecto a las cantidades de los reactivos empleados, las antiguas experiencias prácticas con cantidades en gran escala, generaban no sólo mayores gastos económicos, sino mayor tiempo de ejecución y sobre todo, mayores problemas de toxicidad y contaminación ambiental. Ante la imposibilidad de reducir todas las cantidades de reactivos a escala micro (reducción proporcional de g a mg, mL a μ L), por las dificultades económicas que esto paradójicamente generaría, al tener que renovar todo el equipo de vidrio al de escala micro, más costoso y menos asequible; en el libro se presentan experiencias prácticas en escala semimicro de reactivos y algunas en escala micro, con uso de tubos de ensayo y vasos de precipitado de baja capacidad, disponibles en todos los laboratorios de Química en general. El hecho de reducir las cantidades en un factor de 5, permite usar el equipo común de vidrio y disminuir drásticamente el gasto en reactivos, el tiempo de realización de cada práctica y los riesgos de toxicidad y contaminación ambiental.

Con relación al uso de solventes, se intentó seleccionarlos bajo los criterios de: el menor potencial de toxicidad y contaminación ambiental, el menor riesgo de inflamabilidad y explosión, una alta disponibilidad en cualquier laboratorio de Química Orgánica y el menor costo económico. En primer lugar, en el libro se eliminó por completo el uso de benceno por su reconocido alto riesgo de manipulación como tóxico y cancerígeno. Sólo en muy pequeñas cantidades en la separación cromatográfica de pigmentos vegetales, se emplean tolueno y xileno, mucho menos tóxicos, como componentes minoritarios de los solventes de desarrollo.

El tetracloruro de carbono y el cloroformo, altamente tóxicos, han sido sustituidos en este libro, por diclorometano de menor potencial tóxico. El metanol se ha sustituido por etanol, con recomendaciones de precaución y medidas de seguridad en su uso por ser inflamable. También se ha evitado en el libro, usar éter dietílico debido a su doble riesgo como inflamable y explosivo (por su capacidad de formar peróxidos altamente explosivos en contacto con el aire), además de su toxicidad. En algunas experiencias se usa hexano con la advertencia de manejo de solventes inflamables. Para todos los casos, en cada experiencia práctica se señalan explícitamente los riesgos potenciales y las medidas de seguridad necesarias como, calentamiento en baño de agua para solventes inflamables y uso de campana de extracción de gases para evitar inhalación de vapores tóxicos, con el fin de prevenir de forma absoluta cualquier accidente.

Se recomienda adicionalmente y de manera muy enfática, el reciclaje de los residuos generados en cada práctica, aconsejando la recolección por separado de cada tipo de reactivo

o solvente, para su posterior purificación por el personal técnico del laboratorio y su reúso. Se prohíbe verter residuos por el desagüe de los lavaderos para evitar contaminación de aguas y suelos y se exige el trabajo bajo campana de extracción de gases y uso de lentes de seguridad, como medidas de protección personal, grupal y de contaminación ambiental de la atmósfera interna del laboratorio.

Es la intención del libro, presentar una estructura de flexibilidad potencial en su uso, al incluir varias experiencias prácticas alternativas para el aprendizaje de cada técnica de laboratorio; de esta manera, el profesor y sus estudiantes pueden seleccionar una de las prácticas presentadas, según sus intereses y posibilidades. Así, para las técnicas experimentales se presentan las siguientes alternativas:

1.- Recristalización. Se puede escoger entre las dos alternativas de la experiencia práctica 1, acetaminofén o ácido acetilsalisílico de tabletas farmacéuticas.

2.-Extracción.

a. Con solventes inertes: Experiencias prácticas 2, 3, y 4 que presentan extracción de cafeína de café, té, hierba mate y refrescos comerciales, respectivamente.

b. Con solventes químicamente activos: Experiencia práctica 5, separación por extracción ácido-base de una mezcla de analgésicos.

3.- Cromatografía. Se presentan las experiencias prácticas 6 (colorantes sintéticos para alimentos), 7 (pigmentos vegetales), 8 (extractos de cúrcuma, paprika, onoto, chile y curry) y 18 (licopeno de tomate y β -caroteno de zanahoria). La experiencia práctica 18 ilustra adicionalmente la técnica de extracción discontinua con solvente inerte.

4.- Destilación simple y fraccionada. Para estas técnicas, el libro incluye las experiencias prácticas 9 (química de la fermentación. Biosíntesis de etanol), 11 (destilación de bebidas alcohólicas) y 12 (destilación fraccionada de petróleo). Se recomienda la experiencia práctica 10 (destilación con utensilios caseros) como actividad complementaria, lúdica e instructiva.

5.- Síntesis orgánica. El libro contiene seis experiencias prácticas relativas a preparación de compuestos orgánicos: 13 (polímero plexiglás), 14 (jabones exóticos), 15 (detergente laurilsulfato de sodio), 17 (fenacetina a partir de acetaminofén), 22 (síntesis electrolítica de ácido mirístico y n-hexacosano) y 23 (síntesis de luminol).

6.- Análisis químico. El libro presenta tres experiencias prácticas (cada una de ellas, realizable en dos sesiones) concernientes a análisis químicos: 19 (Propiedades químicas de los carbohidratos), 20 (Química de las proteínas) y 21 (Análisis químico de la leche).

Este libro se puede utilizar también en un curso de Laboratorio de Química Orgánica avanzado, añadiendo el uso de métodos de análisis espectroscópico por espectroscopía de masas, de regiones visible y ultravioleta, de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, para elucidación de estructuras en las experiencias prácticas de recristalización, extracción y síntesis.

Finalmente, aprecio y agradezco profundamente las invalorable ayudas y aportes en los arduos trabajos de: la transcripción del manuscrito, elaboración de tablas y ecuaciones químicas, a mi hija, bióloga Trigal Perdomo Játem; la elaboración de dibujos de aparatos, ecuaciones adicionales y fórmulas estructurales, de gran aporte al manuscrito, a mi gran amigo, alumno y reciente colega, Lic. en Química Yojan Márquez Contreras y la labor de preedición a la estudiante tesista de la Licenciatura en Química, mi alumna y mi amiga, Alejandra Jiménez Pomárico. En verdad, no tengo palabras suficientes para darles las gracias a los tres, por su dedicación, su tiempo y su cariño.

Durante mis años de docencia no sólo he enseñado a mis alumnos, sino que he aprendido mucho de ellos. Sus preguntas y comentarios en clase, han enriquecido este libro. Les doy las gracias por siempre y les dedico con cariño y gratitud, mi esfuerzo.

La autora

Licenciada en Química, egresada de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes y profesora del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, Venezuela. Ha realizado cursos de especialización nacionales en la Universidad de Los Andes, la Universidad Central de Venezuela y la Universidad de Oriente, e internacionales del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), Subprograma Química Fina Farmacéutica en Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, México y Panamá. Ha efectuado pasantías de investigación en la Université de le Méditerranée Aix Marseille II, (Francia), en la Universidade Federal do São Paulo, (Brasil), en la Universidad Autónoma de Chapingo, (México) y en la Universidad de San Carlos, (Guatemala). Ha trabajado en el diseño, redacción y ejecución de proyectos de investigación financiados por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes y también ha dirigido proyectos de extensión de Servicio Comunitario. Ha tomado varios cursos en el Programa de Actualización Docente de la Universidad de Los Andes y de los idiomas italiano y alemán en el Departamento de Idiomas de la Facultad de Humanidades de la Universidad de Los Andes. Habla inglés e italiano y nivel medio del idioma portugués. Ha dictado cursos de Química Aplicada en la Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química, un Curso de Ampliación Curricular de Química Ambiental, un Taller Teórico-Práctico de Química en la Cocina y participa regularmente en los Encuentros de la Física, Química, Matemática y Biología, de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Ha sido ponente en congresos científicos nacionales e internacionales y ha publicado trabajos científicos.

1.1 Trabajo con “seguridad” en el laboratorio de química

La seguridad en el laboratorio es la condición óptima de trabajo, en la cual el grupo de usuarios de este espacio (estudiantes, docentes, investigadores, técnicos, etc.), maneja un conjunto de conocimientos precisos referentes a:

1. los riesgos personales y ecológicos que supone la manipulación de compuestos o mezclas de compuestos,
2. el montaje y condiciones de operación de aparatos e instrumentos y,
3. la manera más segura y ecológica de reciclar, almacenar o evacuar los desechos generados.

Para conocer los riesgos que supone la manipulación de compuestos químicos, todo usuario del laboratorio está en la obligación personal, grupal y ecológica, de investigar y saber:

1. cuáles son los compuestos químicos con los cuales va a trabajar
2. qué propiedades físicas y químicas tienen estos compuestos
3. en qué condiciones reaccionan y qué producen sus reacciones químicas
4. qué peligros conlleva la manipulación de estos compuestos
5. cómo debe manejarse y controlarse una situación de emergencia al respecto.

Únicamente sobre la base de todos estos conocimientos, se puede estar consciente de los riesgos a los cuales se está expuesto, cómo prevenirlos y cómo controlar las situaciones de emergencia.

Una actitud preventiva y de vital importancia, es la identificación y conocimiento de las sustancias que se van a utilizar, pues sólo ello permite evaluar la magnitud de los riesgos que conlleva el manejo de compuestos químicos tóxicos y peligrosos.

La mejor prevención ante cualquier riesgo es conocer y estar informado de que este riesgo existe; cumplir, aplicando los procedimientos y las precauciones de seguridad, de tal manera que el riesgo disminuya efectivamente a un nivel mínimo aceptable. Eliminar el riesgo o minimizarlo y mantenerlo bajo control, deben ser firmes objetivos de trabajo.

Los sistemas de seguridad y la aplicación de normas preventivas no eliminan completamente la probabilidad de ocurrencia de accidentes, sino que reducen el riesgo y eventual daño, a niveles muy bajos y permiten manejar efectivamente eventos de emergencia.

1.2 Sustancias tóxicas

Todas las sustancias químicas pueden ser calificadas de tóxicas: es conocido que todo compuesto químico puede alterar el delicado equilibrio fisicoquímico del organismo –dependiendo de su grado de toxicidad y de la cantidad de sustancia a la cual se está expuesto–, ocasionando un daño temporal o permanente o, incluso, la muerte. Para conocer el daño potencial que puede causar una sustancia, hay que conocer su toxicidad, es decir, sus efectos tóxicos y el grado de los mismos.

Tomando en cuenta las cantidades de las sustancias y el tiempo que se requiere para que produzcan efectos dañinos, se puede hablar de una toxicidad aguda, referida al efecto

perjudicial de una sustancia que actúa muy rápidamente sobre el organismo, por ejemplo, en segundos, minutos u horas, y una toxicidad crónica, en la que el efecto tóxico se presenta a tiempos de exposición largos como meses o años.

Para controlar con “seguridad” el ambiente de trabajo en el laboratorio, es imprescindible conocer las toxicidades agudas y crónicas de todos los materiales que allí se manipulan. Se requiere conocer la identidad química de la sustancia, los cambios que ésta genera en el organismo y las cantidades o concentraciones que provocan estos efectos. Cualquier sustancia que no produzca efectos agudos o crónicos en los niveles de concentración habituales en el laboratorio, se considerará como “carente de toxicidad significativa” y no se le calificará como “peligrosa”, hablando en términos de toxicología.

Para que una sustancia ocasione un daño, se requiere en primer lugar, que penetre al cuerpo y sea procesada dentro de éste o metabolizada. Las membranas celulares son esencialmente barreras de lípidos con una fina película secundaria formada por proteínas. La acción química de los solventes orgánicos es particularmente eficaz en sistemas biológicos ya que, estos compuestos pueden atravesar con facilidad cualquier tipo de membrana, se trate de la epidermis, el epitelio del aparato digestivo o el del aparato respiratorio.

Los compuestos químicos penetran al organismo por tres vías:

- 1. La piel** (por mecanismo fisiológico de “absorción”)
- 2. El aparato digestivo** (por mecanismo fisiológico de “ingestión”)
- 3. Las vías respiratorias** (por mecanismo fisiológico de “inhalación”).

Una vez que se ha producido la entrada al organismo, la circulación de la sangre representa un transporte eficiente por todo el cuerpo hasta los sitios donde se produce la acción tóxica.

Las propiedades físicas y químicas de la sustancia tóxica determinan el tipo de exposición que conduce al efecto dañino. Los gases, vapores y polvos, son absorbidos fácilmente por los pulmones y, el tracto respiratorio constituye la vía más vulnerable para intoxicaciones en el laboratorio. La piel es la “entrada” que sigue en vulnerabilidad. Gases, líquidos y sólidos penetran por la piel en muy altas concentraciones, si se toma en cuenta

la cantidad de sustancia en relación con la superficie de la piel. El aparato digestivo es la vía de entrada al organismo menos vulnerable ya que el peligro de una ingestión accidental, es muy reducido si se trabaja correctamente.

Según sus efectos tóxicos específicos, existen sustancias con actividades diferentes:

- 1) **Carcinogénicas:** producen cáncer, tales como el benceno, el cloroformo, etc., y deben ser proscritas en los laboratorios, cambiándolas por sustitutos más seguros.
- 2) **Corrosivas:** ocasionan quemaduras químicas, es decir, destruyen rápidamente los tejidos del cuerpo en la zona de contacto. El ataque corrosivo es consecuencia de una reacción química que puede ser de:
 - 2.1) **Deshidratación por ácidos y bases fuertes** (como por ejemplo, ácido sulfúrico, hidróxido de sodio).
 - 2.2) **Oxidación por agentes oxidantes** (como bromo, ácido nítrico, etc.).
 - 2.3) **Reducción por agentes reductores** (como sodio, potasio, etc.).
Estos metales también causan quemaduras por deshidratación ya que, en medio acuoso reaccionan formando sus respectivas bases hidróxido.
 - 2.4) **Desnaturalización de las proteínas constituyentes del organismo** (por efecto de ácidos fuertes, fenol, etc.).

La piel y los ojos son las zonas del cuerpo más expuestas al ataque por agentes corrosivos. El tracto respiratorio también sufre irritación corrosiva.

- 3) **Dermotóxicas:** producen dermatitis o inflamación no infecciosa de la piel (irritantes cutáneos primarios –como solventes grasos, petróleo, solventes clorados–; sensibilizadores cutáneos que originan una respuesta alérgica grave –como, por ejemplo, reveladores fotográficos, tintes para el cabello que contengan 1,4 diaminobenceno– y cancerígenos –ciertos minerales producen cáncer de piel–).
- 4) **Hepatotóxicas:** producen daño al hígado por necrosis o destrucción de células hepáticas; aumento en el contenido graso o aumento en el contenido acuoso del hígado. Los alcanos clorados, el bromobenceno y el cloruro de vinilo son compuestos hepatotóxicos y posibles carcinógenos, por ejemplo.
- 5) **Hematotóxicos:** tienen acción tóxica sobre la sangre por hemólisis (fenilhidracina, arsenamida) o formación de carboxihemoglobina (molécula de hemoglobina con

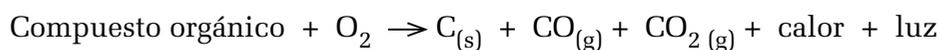
- los sitios activos para el transporte de O₂, ocupados por CO) y metahemoglobina (molécula de hemoglobina con el Fe⁺² oxidado a Fe⁺³, inactiva para transporte de O₂. Condición patológica producida por compuestos amino y nitroaromáticos).
- 6) **Nefrotóxicos:** producen daño renal (metales, iones metálicos, mercurio, cadmio, plomo, hidrocarburos clorados, entre otros).
- 7) **Tóxicos para el sistema nervioso:** los agentes tóxicos que actúan sobre el sistema nervioso central (SNC: encéfalo y médula espinal) son generalmente compuestos solubles en grasas, pues la masa del cerebro es predominantemente grasa, formada por fosfolípidos; ejemplo: solventes halogenados. También son tóxicos para el SNC, el monóxido de carbono, los compuestos nitro; el dimetilmercurio, que causa pérdida de coordinación al caminar, ceguera y sordera; los vapores de mercurio que producen temblores y desórdenes de la conducta. Sobre el sistema nervioso periférico (SNP: nervios y sus terminaciones) actúan: el sulfuro de hidrógeno, que causa pérdida del olfato; el fenol que ataca los nervios sensoriales con pérdida de la sensación de dolor; el metanol el cual daña el nervio óptico y produce ceguera, entre otros.

1.3 Sustancias inflamables

El fuego es consecuencia del calor y la luz que se generan durante las reacciones de combustión. En la gran mayoría de los fuegos, la reacción de combustión se produce a expensas del oxígeno del aire, cuando éste reacciona con un material inflamable como telas, madera, papel, solventes y, en general, compuestos orgánicos. La reacción que ocurre durante un proceso de combustión es:



La reacción descrita arriba corresponde a un proceso de **combustión completa**. Si la reacción procede sin el oxígeno suficiente, ocurrirá una **combustión incompleta**:



Como se observa, una combustión incompleta produce adicionalmente, monóxido de carbono y carbono sólido en forma de polvo negro fino. El humo generado es entonces,

una mezcla de dos gases CO y CO₂ con un sólido C (carbono) en suspensión, el cual le da el color negro. Las altas concentraciones de CO y CO₂ en el ambiente donde se produce fuego incendiario, dificultan en extremo la respiración; el humo caliente es la primera causa de la mayoría de las muertes en incendios y no las quemaduras.

Los tres factores necesarios para la producción de fuego son: el combustible inflamable, oxígeno y calor. Estos tres elementos se representan en el lenguaje simbólico de la “seguridad”, en el llamado “triángulo del fuego”:



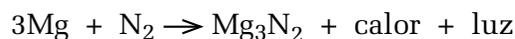
Si el triángulo está incompleto, no se produce fuego. Romper el triángulo del fuego es la base de la prevención de incendios y fuegos menores.

El oxígeno del aire no es la única fuente de oxígeno para que ocurra una reacción de combustión: algunas sustancias contienen suficientes moles de átomos de oxígeno en su estructura, para sufrir combustión sin presencia de aire y sólo requieren calor. Ejemplos de estos materiales serían el celuloide, la nitroglicerina, la nitrocelulosa y el nitrato de amonio.

Como casos especiales podemos citar, el cloro gaseoso, que al reaccionar con hidrógeno genera llama o fuego:



Y el nitrógeno, que puede arder con metales muy reactivos y sus aleaciones:



Hay que recordar que el aire contiene un 80 % de N_2 y constituye una fuente de suministro constante de reaccionante para este tipo de fuego.

Las propiedades físicas y químicas de un material determinan la posibilidad de su combustión. Por lo general, son pocos los sólidos y líquidos que arden directamente, siendo los gases y los vapores los materiales típicamente inflamables. Para prevenir incendios es imprescindible conocer la capacidad de una sustancia para formar vapores o pasar al estado gaseoso, es decir, su **volatilidad** y la temperatura requerida para que estos vapores se inflamen (punto de inflamación y temperatura de ignición). El **punto de inflamación** de una sustancia es la temperatura a la cual ésta tiene una presión de vapor que genera una concentración de vapores suficiente para que, en contacto con el oxígeno del aire y con una llama, se produzca fuego. La **temperatura de ignición** es la temperatura más baja a la cual, sin tener contacto directo con una llama, sino absorbiendo calor del medio, una sustancia se enciende.

El transporte del calor a través de un medio ocurre a través de tres mecanismos: conducción, convección o radiación.

Es de hacer notar que también existen casos de **combustión espontánea**, la cual ocurre cuando ciertas sustancias que, siendo malas conductoras del calor, lo absorben y lo atrapan en su interior, elevando su temperatura hasta la de ignición. Ejemplos de este tipo de combustión son los incendios forestales en el verano y los fuegos en los pajares. En el laboratorio, la basura con montones de paños, o papeles con desechos aceitosos (o de pinturas), desperdicios de madera, plásticos, etc., son fuentes posibles de combustión espontánea.

La energía requerida para que una sustancia entre en ignición o se inflame, está disponible en situaciones cotidianas: las llamas o chispas generadas al encender un fósforo, un mechero; al conectar aparatos eléctricos, la electricidad estática que se descarga al hacer conexión a tierra, al usar equipos de soldadura, al chocar partes metálicas; la radiación emitida por superficies calientes (planchas de calentamiento, estufas, mantas de calentamiento), o por el contacto entre éstas; la concentración de los rayos del sol a través de vidrios gruesos, como el de los ventanales del laboratorio o los de botellas que contengan líquidos inflamables.

1.4 Extinguidores de incendios

Los distintos tipos de extinguidores de incendios, diferenciados por el color de su contenedor, se emplean según la clase de fuego en cuestión. En el cuadro siguiente se esquematizan los tipos de fuego y los extinguidores apropiados para cada uno de éstos.

Tabla No. 1. Tipos de fuego y extinguidores que deben emplearse

Tipo de fuego	Extinguidor	Color del contenedor
Clase A Fuego que proviene de material orgánico sólido que forma brasas: madera, telas, papel, plásticos, goma, etc.	Agua a chorro o pulverizada	Rojo
Clase B Fuegos provenientes de líquidos (etanol, metanol, gasolina) y sólidos (ceras, parafina).	Espuma o	Amarillo
	Polvos químicos secos o	Azul
	CO ₂ ¡NUNCA AGUA!	Negro
Clase C Fuegos originados por escapes de gases. ¡Cerrar las llaves de paso!	Espuma o	Amarillo
	Polvos químicos secos o	Azul
Clase D Fuegos generados por metales muy reactivos: Na, K, Mg, catalizador de Ni finamente dividido	Polvos químicos secos (arena, NaHCO ₃ , Ca(OH) ₂) ¡NUNCA AGUA!	Azul

De esta tabla es evidente que el tipo de extinguidor con mayores aplicaciones en el laboratorio de Química Orgánica, es el de polvos químicos secos, de envase azul. Como mínimo, en el laboratorio se requiere la existencia del extinguidor de contenedor rojo y del extinguidor de contenedor azul.

1.5 Sustancias explosivas

Las explosiones se originan por reacciones de combustión muy rápidas que producen grandes volúmenes de gases y emiten sonido, por efecto de los gases comprimidos, además de calor y luz (llama).

Los líquidos que generan vapores inflamables o los gases inflamables, constituyen un riesgo de explosión. Casi todos los compuestos orgánicos empleados en el laboratorio producen atmósferas explosivas: solventes orgánicos volátiles e inflamables, polvos, como metales finamente divididos, como Al, Mg y Zn; plásticos como resinas acrílicas, poliestireno, resinas fenólicas, etc.

Los agentes oxidantes fuertes y los agentes reductores (sustancias fácilmente oxidables), deben mezclarse con mucha precaución y cuidado, sólo en pequeñas cantidades y muy lentamente. Por ejemplo, nunca se debe añadir ácido nítrico a etanol o a cualquier otra sustancia fácilmente oxidable. La reacción entre el ácido nítrico y los agentes reductores orgánicos puede ser muy violenta y generar una peligrosa explosión.

El control de las explosiones se efectúa mediante la dispersión rápida de un polvo, gas o vapor no inflamable e inerte, en la zona de la explosión.

1.6 Normas generales de seguridad en el Laboratorio de Química Orgánica

1.6.1 Conocimientos previos a la ejecución de cada práctica

1. Es imprescindible conocer y llevar anotadas en su cuaderno de laboratorio las propiedades físicas, químicas, toxicológicas y de riesgos, junto con las medidas preventivas y primeros auxilios, de todos los compuestos químicos que se van a manipular en cada sesión práctica.
2. Conocer y anotar en su cuaderno de laboratorio las reacciones químicas específicas involucradas en las experiencias prácticas, sus riesgos y medidas de precaución especiales.
3. Conocer la ubicación del botiquín de primeros auxilios, del extinguidor de incendios, de las duchas para cuerpo entero, cara y ojos, y de la(s) salida(s) de emergencia.

4. Tener elaborado en su cuaderno de laboratorio, un plan de trabajo preciso. Asegurarse de haber comprendido con exactitud el procedimiento experimental antes de comenzar a trabajar.

1.6.2 Indumentaria personal

1. Es indispensable y de carácter obligatorio, el uso protector de la bata de laboratorio, larga y de mangas ajustadas a un largo prudencial, que permita protección y a la vez un trabajo cómodo y seguro.
2. Usar lentes de seguridad mientras permanezca en el laboratorio.
3. Recoger el cabello largo, retirándolo de la cara.
4. Usar zapatos cerrados sin tacones altos.
5. No usar pulseras ni anillos durante el trabajo de laboratorio.
6. Usar pantalones largos de tela gruesa y resistente, para mayor protección.
7. Para manipular solventes, es conveniente el uso de guantes cómodos de látex.

1.6.3 Conducta dentro del laboratorio

1. Se exige la puntual asistencia a las clases de laboratorio. No se permiten salidas que interrumpan el trabajo, excepto con la previa autorización del profesor y por motivos especiales.
2. No entrar a ningún laboratorio sin permiso de las personas que estén trabajando dentro de éste.
3. Apagar su equipo de teléfono móvil (celular).
4. Está absolutamente prohibido fumar o ingerir ningún tipo de alimento o bebida, dentro del laboratorio.
5. No se aceptará la entrada de personas ajenas al laboratorio.
6. No deben tocarse la cara ni los ojos mientras esté trabajando.
7. Desplazarse con cuidado, nunca correr ni lanzar objetos dentro del laboratorio.

1.6.4 Trabajo en el laboratorio

1. Trabajar siempre bajo campana de extracción de gases.
2. Usar siempre equipo limpio y seco. Los remanentes de jabón, agua o acetona, pueden alterar los resultados de un experimento pues pueden reaccionar con los reactivos y desactivarlos, lo cual generará resultados inconsistentes y rendimientos bajos.

3. El material de vidrio de su equipo debe lavarse bien con jabón y cepillo, abundante agua corriente y enjuagarse con agua destilada. En caso de que existan residuos insolubles y difíciles de eliminar o se tenga la necesidad de tener el equipo limpio y seco con premura, efectuar un lavado con acetona y secado en estufa. El equipo de laboratorio deberá mantenerse en estas condiciones de limpieza desde el día en el cual le sea asignado hasta la fecha de su devolución al personal técnico encargado del mantenimiento del laboratorio.
4. Trabajar en condiciones de máximo orden, pulcritud y limpieza, manteniendo las zonas de trabajo: mesones, campanas de extracción de gases, balanza, lavaderos, etc., completamente limpias.
5. Cada vez que se exija el montaje de aparatos de destilación, extracción, reflujo, síntesis, etc., no se deberá comenzar a trabajar sin la previa supervisión y aprobación del personal técnico, del preparador o del profesor.
6. Para introducir termómetros en orificios de tapones, es necesario lubricar el orificio con agua de jabón o grasa lubricante.
7. Seguir estrictamente los pasos estipulados en cada práctica, a menos que el profesor solicite expresamente algunas modificaciones.
8. Si se desea hacer una modificación o alguna prueba o experimento adicional, debe consultar **obligatoriamente** al profesor para su aprobación.
9. En caso de algún accidente o ruptura de material, notificar inmediatamente al personal docente o técnico encargado del laboratorio.
10. Evitar la colocación de objetos de vidrio calientes sobre superficies frías.
11. Los solventes inflamables de punto de ebullición menor a 100 °C (por ejemplo, etanol, acetona, hexano, éter de petróleo), se deben calentar, destilar o evaporar en baño de agua hirviente, nunca directamente con mechero.
12. Nunca se deben colocar recipientes que contengan líquidos inflamables cerca de mecheros encendidos o lugares donde la irradiación solar sea intensa.
13. Nunca utilizar tapones de goma en el montaje de aparatos en los que se va a trabajar con solventes orgánicos; la gran mayoría de estos solventes atacan la goma y generan contaminación en el medio de reacción o extracción.
14. Es conveniente calibrar el termómetro de su equipo de laboratorio que va a utilizarse durante el curso, antes de comenzar el trabajo práctico de la asignatura.

1.6.5 Manipulación de reactivos

1. Leer cuidadosamente las etiquetas de frascos y botellas.
2. No agitar los reactivos.
3. Nunca introducir objetos directamente dentro de los frascos de reactivos. Para tomar los reactivos, verter aproximadamente la cantidad que necesita en un vaso de precipitado limpio y tomar la cantidad exacta requerida, con pipeta y propipeta o cilindro graduado, en el caso de líquidos, o con espátula, en caso de sólidos.
4. Nunca devolver sobrantes de reactivos o soluciones, a sus frascos originales.
5. No colocar las tapas de los reactivos directamente o boca abajo sobre el mesón; mantenerlas en la mano o emplear servilletas de papel absorbente nuevas, sobre el área de trabajo para colocarlas.
6. Cerrar los frascos de reactivos ajustando bien sus tapas después de usarlos y devolverlos al sitio de donde se tomaron. Nunca abrir dos frascos a la vez pues las tapas pueden ser confundidas y así contaminar los reactivos.
7. Las botellas que contengan compuestos volátiles como tetracloruro de carbono, cloroformo, éter, fenol, etc., deben abrirse bajo campana de extracción de gases, la cual provee una adecuada ventilación de seguridad.
8. Al calentar sustancias dentro de tubos de ensayo, desplazar el tubo lentamente sobre la llama varias veces para evitar que el calentamiento se concentre en una zona particular; luego calentar el fondo del tubo. Mantener siempre el tubo inclinado de tal manera que la boca de éste no esté dirigida hacia el experimentador ni hacia sus compañeros. Al ebullición del líquido dentro del tubo, retirarlo momentáneamente del fuego.
9. Si se derraman ácidos o bases sobre el mesón, lavar inmediatamente con agua, teniendo cuidado de que la mezcla no fluya hacia su piel o ropa.
10. Para diluir ácidos:
 - a) No verter nunca el agua sobre el ácido concentrado.
 - b) No efectuar la operación en cilindros graduados, pues el calor de dilución desprendido puede quebrar la base del cilindro. Para tal fin, emplear vasos de precipitado en baños de agua fría y adicionar lentamente el ácido sobre el agua contenida en el vaso, agitando con agitador de vidrio, a medida que se añade el ácido.
11. No almacenar ningún líquido en buretas o matraces aforados, que son equipo volumétrico y que deben ser usados sólo para fines de mediciones.

12. No acercar la nariz directamente a ningún recipiente. Pasar rápidamente la mano sobre la boca de éste, tratando de producir una corriente de aire hacia la nariz, en caso de desear oler una sustancia.
13. No colocar reactivos inflamables o explosivos en las cercanías de mecheros encendidos, planchas de calentamiento, estufas o a la luz directa del sol.

1.6.6 Manejo de desechos químicos

Es necesario tener conciencia de que no existen desechos sino materiales reciclables o transformables. Verter por el tubo de desagüe del lavadero sustancias químicas, puede tener consecuencias graves como explosiones o contaminación de suelos y aguas. La descontaminación y recuperación de suelos y aguas es un trabajo arduo, económicamente costoso y que está actualmente en investigación como área prioritaria para el planeta. Los métodos convencionales para “eliminar” residuos tóxicos son la incineración y el sistema de fosa séptica e infiltración de líquidos en terreno. Estos métodos conducen a problemas tan graves como toxicidad en humanos, animales y plantas; contaminación del aire, del suelo y de las aguas subterráneas; materias tóxicas en suelos y aguas que son resistentes a la acción biológica natural del ecosistema; peligro de perder los abastecimientos de agua y gran dificultad en el tratamiento descontaminador pues, una vez que los compuestos tóxicos se encuentran en el terreno, existe un menor control sobre las vías de transporte de los mismos y los procesos que sufren.

Resulta éticamente obligatorio, reciclar todas las sustancias generadas en el trabajo del laboratorio. Para poder reciclar o transformar estas sustancias químicas, lo primero que se requiere es almacenarlas por separado. La contaminación y mezcla de estos compuestos, conducirá a la necesidad de cambiar las opciones de manejo del “desecho” y a serias dificultades en su tratamiento. Algunos desechos pueden purificarse para usarlos de nuevo: solventes orgánicos como cloroformo, diclorometano y acetona pueden redestilarse; la sílica y la alúmina pueden someterse a lavados exhaustivos, etc.

A continuación se señalan algunas observaciones importantes para el tratamiento de desechos en el laboratorio:

1. Los desechos generados en el laboratorio nunca deben verterse por el tubo de desagüe.
2. En el tobo de la basura pueden desecharse los materiales sólidos no peligrosos como papel de filtro, papel absorbente, fósforos apagados, corchos.

3. El material de vidrio roto debe entregarse al personal técnico.
4. En el laboratorio deberán existir botellones y recipientes rotulados para recoger por separado:

a. Solventes orgánicos. En particular, es muy importante separar solventes clorados de los no clorados. Para hacer posible la recuperación, recolectar cada solvente por separado. Muchos de éstos pueden purificarse por destilación.

b. Ácidos fuertes.

c. Bases fuertes.

Los **desechos ácidos y básicos fuertes**, se pueden neutralizar (si es ácido, con una base y si es básico, con un ácido) hasta alcanzar un pH entre 6 y 8, habiéndolos previamente diluido con agua y bajo las precauciones señaladas en las normas generales, filtrar las sales precipitadas y verter por el desagüe del laboratorio el líquido filtrado, adicionando abundante agua corriente. Las sales filtradas deberán almacenarse para posterior tratamiento o uso.

d. Soluciones acuosas de sales minerales. El tratamiento para este tipo de desecho consiste: primero, en diluirlo con agua, medir su pH, neutralizarlo con una base o un ácido hasta pH entre 6 y 8, filtrar cualquier residuo sólido y verter al drenaje del lavadero el líquido filtrado, adicionando abundante agua corriente. Los sólidos filtrados deben almacenarse para tratamientos posteriores o uso directo.

e. Soluciones acuosas de metales, cianuros, sulfuros. Estos desechos peligrosos aplicar un tratamiento de precipitación, separar el sólido del líquido por filtración, determinar la ausencia del anión o catión tóxico en la fase líquida y habiéndolo comprobado, verter el líquido por el desagüe con abundante agua corriente. El residuo sólido se coloca en un envase adecuado, rotulado y bien cerrado, para tratamientos posteriores.

f. Residuos sólidos orgánicos. Depositar cada compuesto por separado. Purificación por recristalización de cada uno.

g. Residuos sólidos tóxicos de metales como mercurio y cromo, y catalizadores de Ni.

Requieren especial cuidado, almacenaje y tratamiento especializado posterior.

h. Residuos sólidos de alúmina y sílica gel. Depositar por separado, lavar exhaustivamente con tratamientos especiales y reutilizarlos.

1.6.7 La salida del laboratorio

1. Asegurarse de dejar todo en orden: mesones y campanas limpias, equipo lavado y recogido, reactivos en su lugar.
2. Asegurarse de que todas las llaves de agua y gas estén bien cerradas.
3. Lavarse muy bien las manos.
4. No quitarse la bata ni los lentes de seguridad hasta haber salido del laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Brewster, RQ, Van der Werf, C and McEwen, WE. (1990). *Curso Práctico de Química Orgánica*. (3ª Ed.) Madrid: Editorial Alhambra, S.A.
- Eweis J, Ergas S, Chang D and Schroeder, E (1999). *Principios de Biorrecuperación*. México: McGraw-Hill.
- Hackett, WJ and Robbins, GP (1997). *Manual de Seguridad Industrial*. México: Alfa Omega Grupo Editor.
- Hardman, JG, Limbird, LE, Molinoff, PB, Ruddon, R y Goodman, A (1996). *Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. (9ª Ed.) México: McGraw-Hill.
- Khattak, S et al. (1999). *On the toxicity of organic solvents*. *Journal of the American Medical Association*. 281:1106
- Martínez, H. s/f. *Guía de Laboratorio de Química Orgánica*. Mérida, Venezuela: Consejo de Publicaciones de la Universidad de Los Andes.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS and Engel, RG. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- The General Secretariat of the Organization of American States. *Métodos Experimentales de Laboratorio en Química Orgánica*. (1988). USA: Editora: Eva V. Chesnau.

2.1 El cuaderno de laboratorio

Es muy importante destinar un cuaderno para uso exclusivo como cuaderno de trabajo de laboratorio. Aprender a hacer un registro metódico de información previa, observaciones y datos experimentales, será de enorme utilidad, no sólo para el trabajo efectivo dentro del laboratorio, sino para la elaboración del informe y más aún, para el desempeño profesional futuro como investigador o empleado en la industria.

El cuaderno de laboratorio debe ser un cuaderno empastado, de tapas duras, con sus hojas numeradas y su contenido debe llevarse en tinta indeleble, no soluble en agua, para evitar pérdida de hojas (como pudiera fácilmente suceder con un cuaderno de espiral) y de información, si la hoja se moja accidentalmente, cosa muy común en el laboratorio. El cuaderno será usado en la etapa de preparación previa de la práctica, en el laboratorio, y durante la redacción del informe práctico, por lo tanto, es permisible que algunas hojas estén manchadas con salpicaduras de soluciones o compuestos químicos, con tachaduras, etc.

Antes de asistir a cada sesión práctica, el cuaderno de laboratorio debe contener la siguiente información:

1. Nombre completo del estudiante y sección en la cual cursa el laboratorio, en la primera página.
2. Índice en la segunda página, el cual se irá elaborando a medida que el curso avance.

3. Experiencias prácticas, desde la tercera página en adelante.

Para cada experiencia práctica, se debe registrar la siguiente información:

- 1. Título de la práctica**

- 2. Fecha de su realización**

- 3. Objetivos**

- 3.1. Objetivos generales

- 3.2. Objetivos específicos

- 4. Tablas de todos los compuestos químicos a utilizar en la experiencia:**

- 4.1. Constantes físicas (estado físico, color y forma cristalina; peso molecular [g/mol]; densidad [g/ml]; punto de ebullición [°C] y punto de fusión [°C]). Referir cada compuesto con su nombre, fórmula condensada y fórmula estructural

- 4.2. Solubilidades

- 4.3. Efectos tóxicos por contacto con piel, ojos, ingestión e inhalación

- 4.4. Medidas especiales de seguridad: prevención y primeros auxilios

- 5. Reacciones químicas que ocurren durante el experimento**

- 5.1. Reacción principal

- 5.2. Reacciones colaterales

- 6. Materiales**

- 6.1. Reactivos

- 6.2. Equipo

- 7. Plan de trabajo en forma de diagrama de flujo** (esquema en forma de algoritmo o secuencia lógica de los pasos a seguir)

- 8. Datos y observaciones experimentales**

- 8.1. Tabla de datos (si hay registro de datos numéricos)

- 8.2. Observaciones experimentales (incluye los cambios cualitativos observados durante la experiencia)

- 9. Manejo de los desechos generados** (esquema)

El estudio previo de la práctica y la preparación del cuaderno de laboratorio, se hacen simultáneamente. Un contenido metódico y ordenado del cuaderno de laboratorio

evita cometer errores, previene accidentes, pérdidas de tiempo por confusiones en el procedimiento (plan de trabajo), confusión al analizar datos y observaciones experimentales, informes incoherentes y posible repetición de la experiencia práctica.

2.2. El informe de laboratorio

El informe de laboratorio es un reporte completo con el procesamiento de datos experimentales para llegar a los resultados y un análisis crítico de la práctica efectuada.

Para cada experiencia práctica deben reportarse: los puntos del 1 al 9 registrados en el cuaderno de laboratorio y además los puntos siguientes:

- 10. **Cálculos** (si los hubiere)
- 11. **Cálculo de error** (si fuere necesario)

- 12. **Tabla de resultados** (si los hubiere)

13. **Discusión.** La discusión es la parte del informe donde se vierte el análisis crítico de la experiencia práctica. En primer lugar, debe efectuarse una evaluación reflexiva y crítica sobre el método experimental empleado, señalando las fuentes de errores sistemáticos o errores inherentes al método. Estos errores tienen causas específicas y definidas, son por lo general reproducibles, en muchos casos predecibles y unidireccionales, en el sentido de que afectarán el resultado con desviaciones positivas o negativas del valor esperado teóricamente. Se debe intentar sugerir modificaciones del método que reduzcan las fuentes de error o economizan tiempo de trabajo. En segundo lugar, se debe interpretar el o los resultados, considerando qué información aporta(n); compararlo(s) con el valor teórico, en el caso de que lo hubiere; calcular el error experimental y discutirlo.

Las reacciones químicas que ocurren durante el proceso deben señalarse y asociarse, cuando sea el caso, a las observaciones experimentales como: aparición de precipitados, cambios de temperatura y de color, etc. Algunos cambios observados se explican a través de propiedades físicas como, por ejemplo, la posición relativa de fases líquidas debida a diferencias de solubilidad y densidad. También debe incluirse una explicación sencilla sobre la función y mecanismos de acción de materiales “inertes” que no intervienen en la reacción, como el carbón activo, las piedras de ebullición, los agentes desecantes, etc.

- 14. **Conclusiones.** Es necesario hacer conclusiones sobre cada práctica, sintetizándolas

en fases cortas y precisas. Las conclusiones tienen relación directa con los objetivos planteados al inicio del trabajo, con la evaluación crítica del método y con los resultados y sus errores. Se presentan numeradas.

15. Referencias bibliográficas. Se debe citar las fuentes bibliográficas del experimento, de las constantes físicas, solubilidades, toxicidades, etc., y alguna otra referencia que se haya consultado para elaborar el informe, bien sean libros impresos o páginas web de Internet.

3.1 Textos de Química Orgánica (teoría)

Para aspectos teóricos y conceptuales, se aconseja consultar los textos recomendados en las asignaturas teóricas de Química Orgánica, como por ejemplo:

- McMurry, J. (2005). *Organic Chemistry*. (4th Ed.) USA: Brooks/Cole Publishing Company.
- Morrison, R.T. y Boyd, R.N. (1990). *Química Orgánica*. (8th Ed.) USA: Addison–Wesley.
- Wade, L.G. (1999). *Química Orgánica*. (3a Ed.) USA: Prentice Hall.

3.2 Textos de Química Orgánica Experimental

Las técnicas de laboratorio están amplia y exhaustivamente descritas en libros clásicos como los siguientes:

- Pavia, Donald L, Lampman, Gary M, Kriz, George S, and Engel, Randall G. (2000) *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) Saunders College Publishing. USA.
- Vogel, Arthur I. (1976). *Practical Organic Chemistry*. (3rd Ed.) London: Longmans Green and Co. Ltd.
- Wilcox, Ch.F. and Wilcox, M.F. (1998). *Experimental Organic Chemistry*. (2nd Ed). New Jersey, USA: Prentice Hall.

3.3 Bases de datos

La información sobre cada compuesto químico se obtiene de libros de referencia clásicos, citados debajo y de páginas web especializadas y confiables, como las de las listas que se suministra a continuación.

Referencias bibliográficas

- *Aldrich Catalog and Handbook of Fine Chemicals*. Aldrich Chemical Company (editado anualmente).
- *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press (editado anualmente).
- *The Merck Index*. Merck and Co. (editado anualmente)

Páginas web informativas sobre propiedades físicas, solubilidades y toxicidad de sustancias químicas.

- <http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/> (Universidad de Oxford, UK)
- <http://www.chem.qmw.ac.uk/iupac> (IUPAC)
- <http://chemfinder.cambridgesoft.co> (Chemfinder Web Server)
- <http://msds.pdc.cornell.edu/msdssrch.asp> (Cornell University Material Safety Data Sheets, USA)
- <http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/> (International Chemical Safety Cards. WHO, IPCS, ILO; World Health Organization and European Economic Community)

4.1 Recristalización

La recristalización puede definirse como el proceso repetido de cristalización, llevado a cabo con el objeto de remover impurezas dejándolas disueltas en la solución donde ocurre la precipitación del sólido.

La recristalización es la técnica más comúnmente usada para la purificación de sólidos. Se fundamenta en las diferencias en comportamiento de solubilidad del sólido en cuestión y sus contaminantes y en el hecho de que la mayoría de los sólidos aumentan su solubilidad con la temperatura, es decir, son más solubles en un solvente en caliente que en el mismo solvente si está frío.

Para utilizar esta técnica se deben cumplir los siguientes requisitos:

1. La selección del solvente de trabajo debe fundamentarse en la aplicación de las reglas generales de solubilidad de compuestos orgánicos, teniendo en cuenta la estrecha relación que existe entre estructura química y capacidad de disolución.
2. La sustancia que se desea purificar debe tener el siguiente comportamiento de solubilidad en el solvente elegido: muy soluble en caliente y muy poco soluble o totalmente insoluble en frío (caso ideal).
3. La solubilidad de las impurezas en el solvente debe ser muy alta en frío y muy baja o nula en caliente, es decir, se requiere un comportamiento de solubilidad de las impurezas muy diferente al del sólido contaminado.

4. El solvente seleccionado debe cumplir con los siguientes requisitos:

- tener un bajo punto de ebullición, de tal manera que, su excedente pueda ser fácilmente removido del sólido por volatilización durante el secado;
- debe ser químicamente inerte respecto al sólido a purificar y
- no debe ser inflamable.

El procedimiento a seguir para purificar un sólido por recristalización consiste en los siguientes pasos:

1. Disolver el sólido impuro en el solvente caliente, generalmente en su punto de ebullición.
2. Filtrar la mezcla en caliente para remover las impurezas insolubles.
3. Permitir la recristalización del sólido por enfriamiento de la solución madre filtrada.

En el caso ideal, toda la sustancia deseada debe precipitar en forma cristalina y todas las impurezas solubles en frío deben permanecer en la solución madre.

4. Finalmente, los cristales se separan por filtración y se someten a secado.

5. De ser necesario, si el procedimiento no arroja cristales puros (pureza evaluada con la medición y cálculo de desviación estándar del punto de fusión), todo el proceso se repite empleando el mismo solvente u otro (que podría ser una mezcla de solventes) que se considere más adecuado.

4.2 Extracción

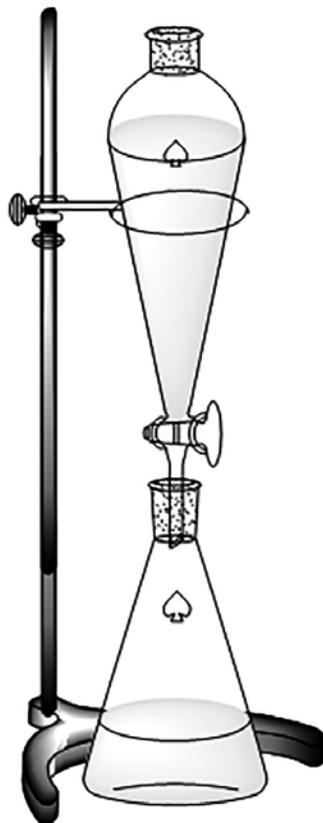
La técnica de extracción consiste en la remoción de material soluble de una mezcla sólida por medio de un solvente, o la remoción de uno o más componentes de una mezcla líquida, mediante el uso de un solvente con el cual el líquido es inmisible. Es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales, para separar compuestos orgánicos de soluciones o suspensiones acuosas en las cuales se encuentran.

4.2.1 Extracción discontinua

4.2.1.1 Extracción discontinua con solventes inertes

El procedimiento consiste en agitar, para poner en contacto, una mezcla líquida con un segundo líquido, el “**solvente extractor**”, en el cual el **componente a separar**, es soluble y el cual es inmisible con el líquido original de la mezcla. Las dos fases líquidas se separan según sus densidades relativas y los distintos solutos presentes se distribuyen entre estas fases líquidas, de acuerdo con sus solubilidades relativas. De esta manera, cierta cantidad del componente se disuelve en el solvente formando un **extracto**, mientras que la solución remanente pierde cantidades del componente en las sucesivas operaciones de extracción.

El solvente remanente se remueve posteriormente del componente, por evaporación o destilación. Repitiendo el proceso varias veces, puede extraerse todo el componente deseado.



Montaje para extracción discontinua

Coeficiente de reparto, distribución o partición

Cuando un sistema heterogéneo de dos o más fases está en equilibrio, el cociente de concentraciones de la misma especie molecular en las fases, es constante a temperatura constante. Este cociente de concentraciones se denomina coeficiente de reparto, de distribución o de partición.

Al agitar una solución acuosa de una sustancia, con un solvente orgánico X en el que la sustancia es al menos algo soluble, el compuesto se disuelve parcialmente en cada solvente. La relación de las concentraciones (expresadas en masa de soluto por unidad de volumen de solvente) en ambos solventes (C_X y C_A) –proporcionales a las respectivas solubilidades S_X y S_A –, en el estado de equilibrio a una temperatura determinada, se llama **coeficiente de distribución, de reparto o de partición**. Así, $K_{D(Y)}$ es el coeficiente de distribución de un compuesto Y en el solvente X relativo al agua:

$$K_{D(Y)} = C_X/C_A = S_X/S_A$$

Para utilizar esta técnica se emplea un **embudo de separación**, en el cual se coloca la mezcla líquida que se va a extraer y el solvente extractor. El embudo se tapa, se agita y se destapa o se abre la llave, para disminuir la presión interna liberando el exceso de vapor generado. La eficiencia de la extracción se aumenta repitiendo el procedimiento varias veces, siempre con una porción fresca de solvente.

Con bastante frecuencia, se presenta el inconveniente de la formación de **emulsiones** o dispersiones de gotitas de un medio líquido en el otro líquido. Estas emulsiones pueden romperse o eliminarse con los siguientes procedimientos:

1. Calentamiento ligero del embudo de separación.
2. Un movimiento de giro suave al líquido del embudo de separación, manteniéndolo en su posición vertical.
3. Agitación vigorosa de la interfase emulsionada con una varilla de vidrio.
4. Saturación de la capa acuosa con un electrolito fuerte como NaCl o Na_2SO_4 .

Este método tiene una doble ventaja: disminuye la solubilidad en agua de la gran

mayoría de los solutos no electrolíticos y de los solventes inorgánicos. Se fundamenta en el llamado efecto salino.

5. Adición de hexano a la fase orgánica, si el solvente es algo miscible con agua, como el diclorometano CH_2Cl_2 .
6. Centrifugación.

4.2.1.2 Extracción discontinua con solventes químicamente activos

Frecuentemente, el uso de soluciones ácidas o básicas capaces de reaccionar con algunos compuestos orgánicos generando sus sales, solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos apolares, conduce a separaciones muy efectivas. Los compuestos orgánicos originales se regeneran por la adición de bases y ácidos fuertes.

4.2.2 Extracción continua

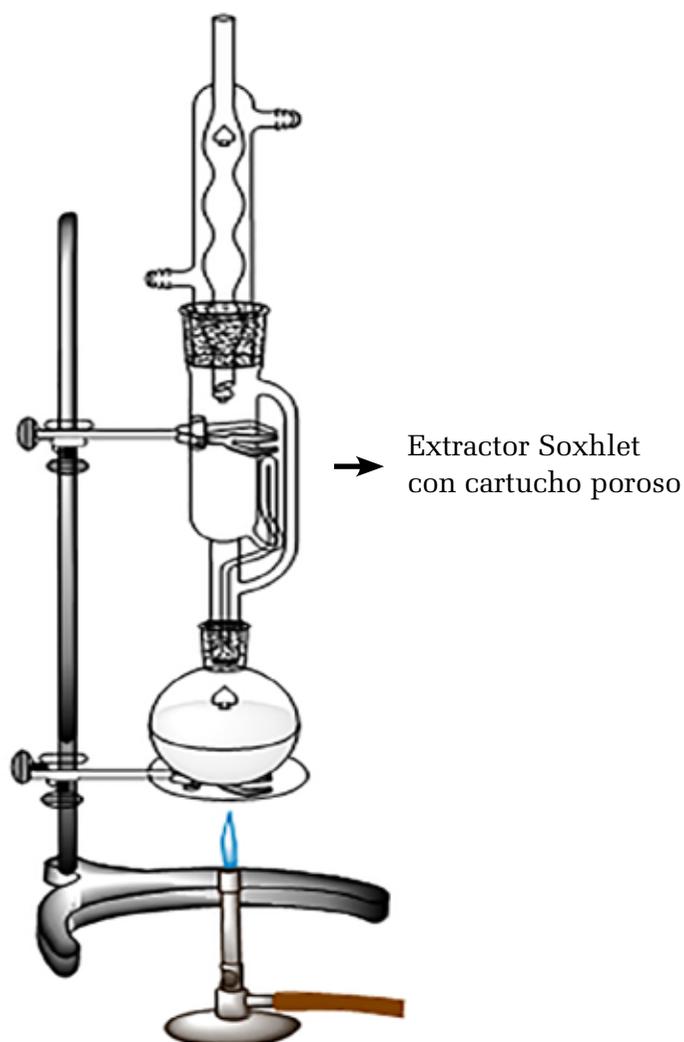
Cuando el sistema de extracción forma emulsiones intratables o cuando el compuesto orgánico que se desea separar, es más soluble en agua que en el solvente orgánico extractor, se hace necesario recurrir a un método de extracción continua. Estos métodos aumentan la eficiencia de la extracción por calentamiento y tratamiento continuo, automático de soluciones acuosas, con resultados equivalentes a los que se obtendrían con extracción discontinua efectuada un número casi infinito de veces.

4.2.2.1 Extracción líquido-líquido

En el caso de la extracción líquido-líquido, se dispone de equipos diferentes para extraer líquidos menos densos que el agua y líquidos más densos que el agua, respectivamente. En ambos casos el solvente extractor destila de modo continuo y las gotas del condensado pasan a través de la solución, retornando saturadas de soluto.

4.2.2.2 Extracción continua sólido-líquido

Para la extracción repetida y exhaustiva de un sólido con un solvente caliente, se emplea el sistema Soxhlet, donde el sólido se coloca en un dedo o cartucho. El vapor del líquido extractor en el balón de destilación, asciende por el tubo lateral, se condensa en el refrigerante y el condensado gotea atravesando el sólido. Los componentes solubles caen al balón por gravedad.



Montaje para extracción discontinua

4.3 Destilación

4.3.1 Destilación simple

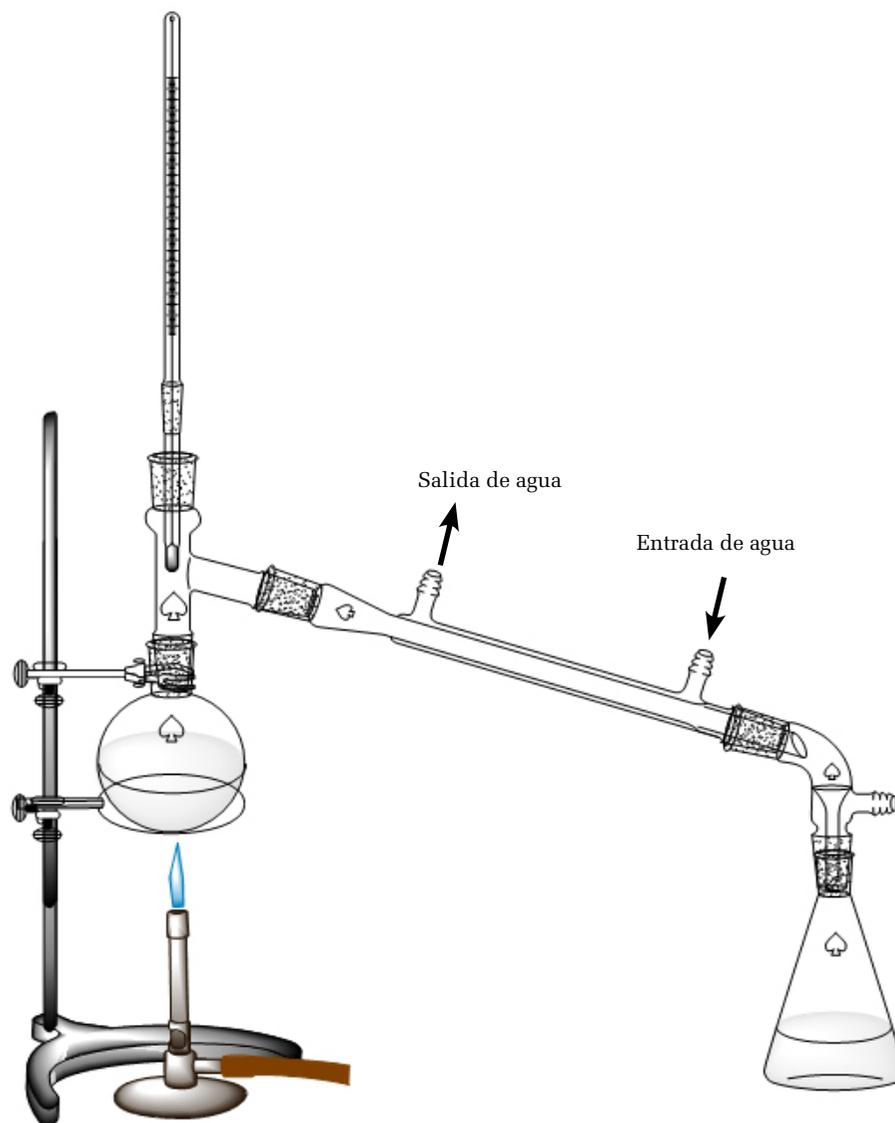
La destilación simple es una técnica mediante la cual un líquido impuro se somete a ebullición y su vapor se condensa. Constituye un método muy rápido y eficiente que se usa para purificar un líquido contaminado con otra sustancia muy poco volátil. La composición líquido-vapor se mantiene en equilibrio durante el proceso.

Para fines de efectuar la destilación, se ensambla un aparato con el siguiente equipo:

1. Balón de destilación con el líquido que se desea destilar, llenando no más de dos tercios de su volumen y piedras de ebullición. El balón se apoya sobre una rejilla metálica de calentamiento dispersora del calor, colocada sobre un aro metálico.
2. Mechero a una distancia de 7 a 8 cm por debajo del aro y rejilla metálica, para asegurar buen calentamiento.
3. Cabezal con termómetro.
4. Refrigerante o condensador, con chaqueta de enfriamiento por agua (entrada por tubo inferior, salida por tubo superior).
5. Codo colector.
6. Envase colector, lo más próximo posible al codo, de manera tal de evitar pérdidas por salpicaduras.

El aparato completo se monta sobre soportes universales metálicos con pinzas ajustables, recubiertas con tubos de goma o asbesto, para evitar la ruptura del material de vidrio por efecto de conducción del calor o ajustes excesivos.

Teóricamente, cualquier par de sustancias que no tengan presiones de vapor idénticas en todo el intervalo de temperaturas en el cual son estables, se pueden separar por destilación. En la práctica, sólo una diferencia de por lo menos 80 °C en el punto de ebullición entre dos componentes de una mezcla, permite su separación por destilación simple.



Aparato para destilación simple

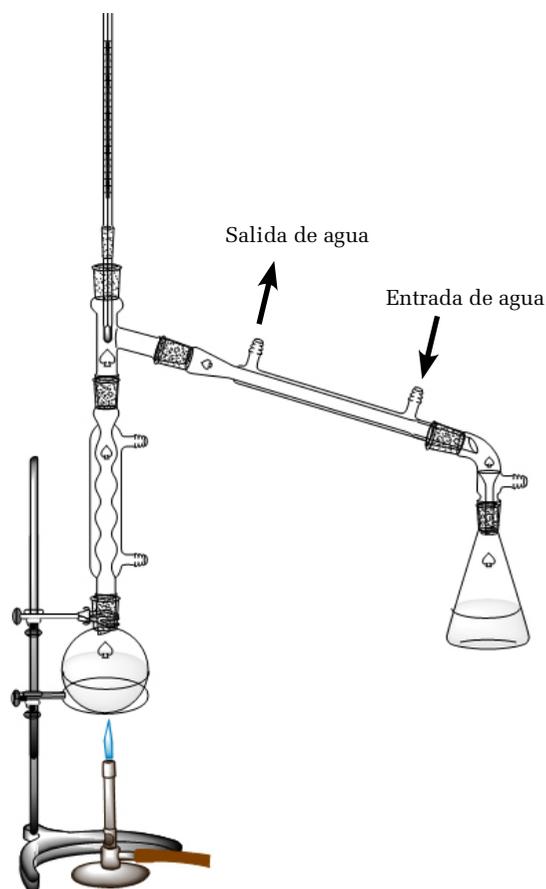
4.3.2 Destilación fraccionada

Cuando las sustancias que se desean separar poseen puntos de ebullición que difieren entre 30 y 80 °C, la separación puede efectuarse con destilaciones simples repetidas. La técnica de destilación fraccionada emplea una columna de fraccionamiento, en la cual se efectúa el intercambio de calor entre el líquido y el vapor, de tal modo que la parte superior de la columna se va enriqueciendo en el compuesto más volátil y la inferior con el menos volátil, resultando el proceso total, equivalente a la realización de múltiples destilaciones simples.

Durante la destilación fraccionada deben tomarse las siguientes precauciones:

1. **Evitar el sobrecalentamiento;** El sobrecalentamiento con ebullición a borbotones se debe a que el líquido no se calienta de manera uniforme y, por lo tanto, se pueden formar zonas con diferentes temperaturas, con la capa superior más fría que la inferior. En estos casos no se observa destilación o ésta es muy escasa; pero si se produce un cambio brusco que contribuya a mezclar el sistema (como un golpe, adición de piedra porosa) u ocurre de manera espontánea, el líquido entra en ebullición violenta y se anega la columna de fraccionamiento. El efecto de sobrecalentamiento se evita colocando piedras de ebullición que generan una corriente de burbujas de aire, la cual promueve el calentamiento uniforme del líquido.

2. **Efectuar la destilación lentamente.** Nunca se debe calentar intensamente con el fin de acelerar el proceso de destilación; para que la destilación sea efectiva, es necesario permitir que se logre el equilibrio líquido-vapor.



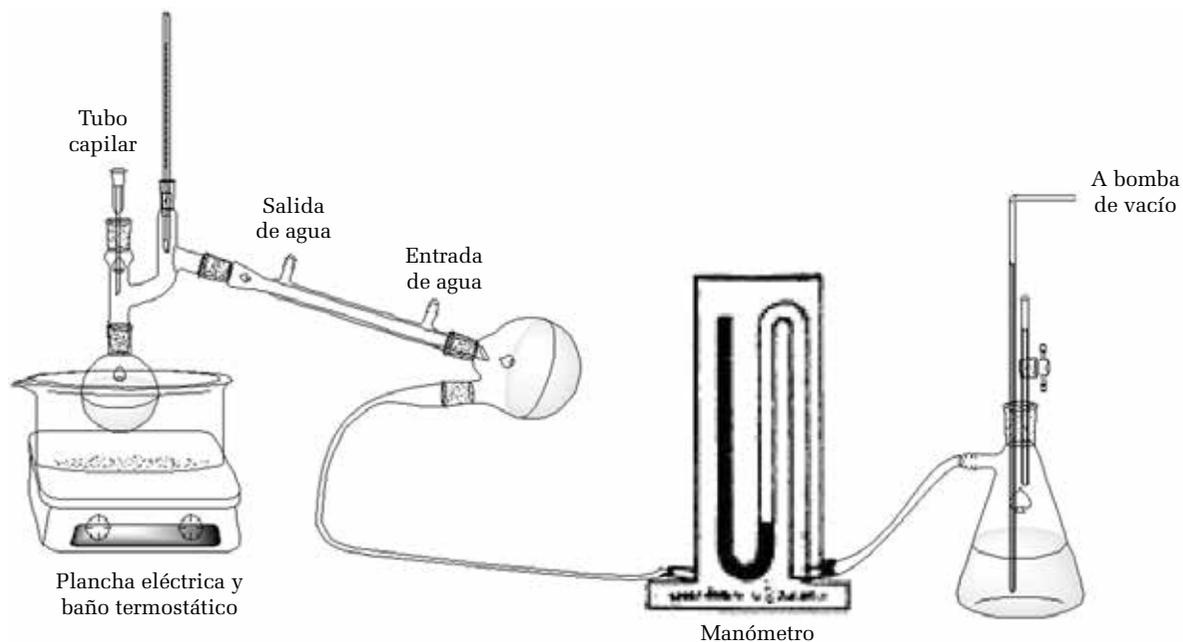
Aparato para destilación fraccionada

4.3.3 Destilación al vacío o bajo presión reducida

Muchas sustancias sufren descomposición a temperaturas inferiores a sus puntos de ebullición normales y, por esta razón, no pueden purificarse por destilación a presiones ordinarias, sino que se requiere trabajar a presión reducida. En estas condiciones, el punto de ebullición de la sustancia desciende significativamente.

Para efectuar este tipo de destilación se requiere:

- una bomba de vacío muy eficiente que logre presiones de 0,1 a 10 mm Hg,
- evitar que una parte del solvente pase a la bomba,
- un sistema para controlar la presión,
- un manómetro para medir la presión con exactitud.



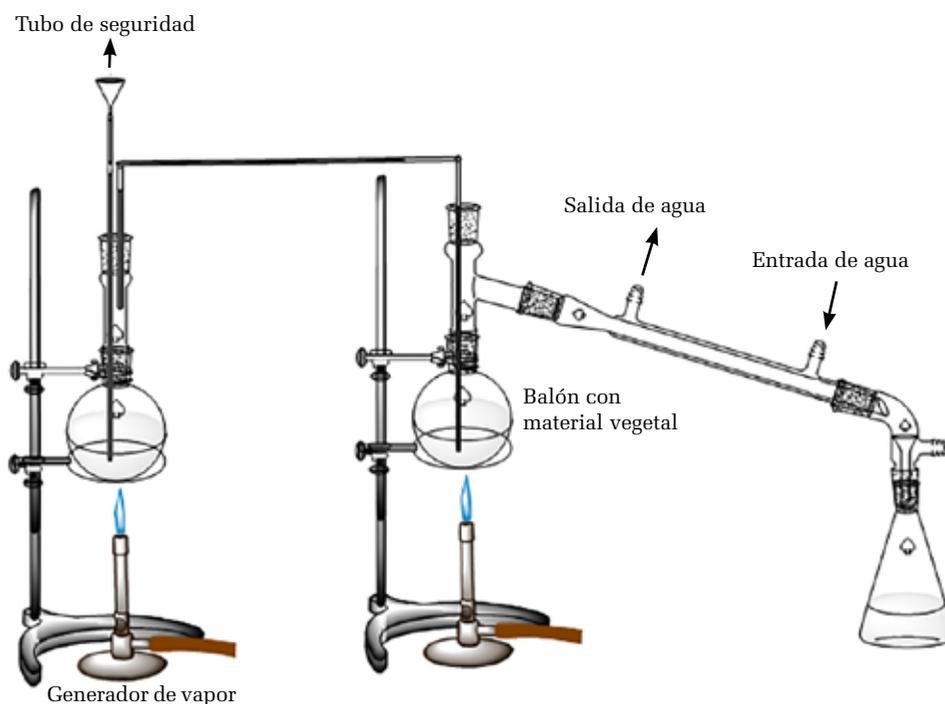
Aparato para destilación al vacío

4.3.4 Destilación por arrastre con vapor

La destilación por arrastre con vapor es una técnica que permite la separación de sustancias inmiscibles con agua y ligeramente volátiles (con presión de vapor relativamente alta), de otros compuestos no volátiles presentes en la mezcla problema. La técnica hace posible la purificación de sustancias con punto de ebullición elevado mediante una destilación a baja temperatura; particularmente cuando la sustancia o sustancias cuyo punto de ebullición es mayor de 100 °C a la presión atmosférica y se descompone antes o en su temperatura de ebullición. En estos casos, sustituye ventajosamente a la destilación a presión reducida.

En la destilación por arrastre con vapor se emplea un generador de vapor de agua; para evitar sobreebullición brusca en él, se puede verter en éste una pequeña cantidad de zinc en polvo, el cual reacciona lentamente con el agua liberando una corriente de burbujas de H₂ y evita la ebullición brusca. El generador de vapor se conecta al balón de un aparato para destilación simple y en el colector se observa la separación de dos fases líquidas inmiscibles o una dispersión en agua.

En vista de que la mayoría de los compuestos orgánicos que son susceptibles de ser arrastrados con vapor de agua, son parcialmente solubles en agua a la temperatura de destilación, es útil aprovechar el efecto salino, adicionando cloruro de sodio para saturar la fase acuosa en el balón de destilación. Esta adición reporta la doble ventaja de disminuir la solubilidad del compuesto orgánico en agua y también disminuir la presión de vapor del agua relativa a la de la fase orgánica, por la propiedad coligativa, haciendo mucho más eficientes el arrastre y la destilación.



Aparato para destilación por arrastre con vapor

4.4 Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación e identificación de compuestos químicos en mezclas, que se fundamenta en los principios generales de la distribución entre fases.

El proceso cromatográfico involucra la separación selectiva de los componentes de una **fase móvil** que fluye a través de otra **fase estacionaria** al mismo tiempo que los componentes de la mezcla se distribuyen entre estas dos fases. La fase estacionaria puede ser sólida o líquida; en este último caso, se requiere un soporte (que puede ser sólido o gel) para la inmovilización: puede soportarse sobre papel, extenderse en una capa o distribuirse en forma de película sobre vidrio o plástico inerte.

El componente de la mezcla que se desea separar, que tenga mayor afinidad con la fase estacionaria, será retenido más fuertemente por ésta y tendrá menor número de moléculas en la fase móvil. Las moléculas del componente menos retenido se moverán a través de la fase estacionaria a mayor velocidad, originándose una **migración** de los componentes de la mezcla en la dirección del flujo de la fase móvil, a diferentes zonas de la fase estacionaria, según su afinidad relativa a ambas fases.

La distribución entre las fases ocurre por fenómenos de partición y adsorción. La **partición** involucra la distribución de un soluto entre dos fases, inmiscibles, según su solubilidad relativa, y la **adsorción** implica la distribución de un soluto entre dos fases inmiscibles en función de la adherencia del soluto a la superficie de una fase sólida. Existen entonces, dos tipos generales de técnicas cromatográficas: las de partición y las de adsorción y se pueden señalar diversas formas de análisis cromatográfico:

1. cromatografía en papel
2. cromatografía en capa fina
3. cromatografía en columna
4. cromatografía gas-líquido
5. cromatografía líquida de alta presión
6. cromatografía centrífuga en capa fina
7. cromatografía de intercambio iónico
8. cromatografía de permeación por gel o de filtros moleculares

4.4.1 Cromatografía en papel

Este tipo de cromatografía se fundamenta en la **partición** o reparto de los solutos presentes en la mezcla a separar, entre dos fases líquidas:

1. la **fase móvil**, constituida por el llamado **solvente de desarrollo**, inmiscible con agua, y
2. la **fase estacionaria**, que es el **agua** soportada entre las fibras de celulosa del papel.

La técnica consiste en aplicar un volumen pequeño (1 μL) de solución de la mezcla a separar, sobre el papel en forma de hoja, tira o disco, en un lugar próximo a un borde o, en el caso de un disco, en el centro; permitiendo el secado completo de la muestra aplicada. Luego, se introduce el papel en un recipiente o **cámara de desarrollo**, el cual contiene el **solvente de desarrollo**. Este solvente de desarrollo fluye a través del papel por fuerzas de capilaridad y lo recorre de manera ascendente, descendente, radial u horizontal. Con el recorrido del solvente, los componentes de la mezcla se van separando en diferentes zonas del papel, mostrando manchas individuales y desarrollándose el **cromatograma**. El papel se extrae de la cámara de desarrollo cuando el solvente

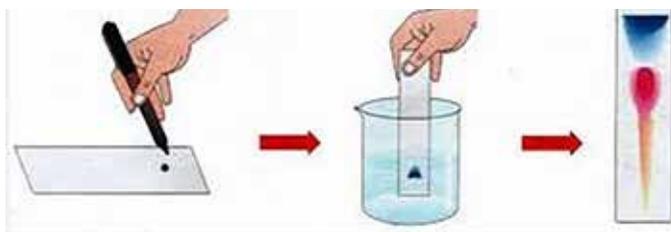
ha alcanzado el borde opuesto a la **línea de aplicación de la muestra**, se marca con un lápiz el **frente del solvente** y se somete a secado. Las manchas observadas a simple vista o con ayuda de **reactivos reveladores** o luz ultravioleta, se delínean con un lápiz. Se procede al análisis del cromatograma incluyendo el cálculo de los R_f o cocientes de distancia recorrida por cada mancha entre la distancia recorrida por el solvente, medidas ambas desde la línea de aplicación.

4.2.2 Cromatografía en capa fina

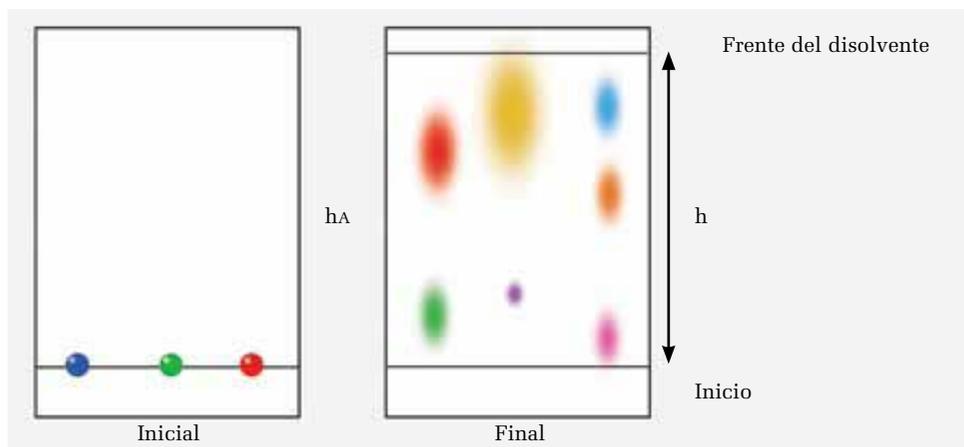
La cromatografía en capa fina es un tipo de cromatografía fundamentada en el fenómeno de adsorción, donde los solutos se distribuyen entre dos fases inmiscibles: la móvil, constituida por el solvente de desarrollo y la fase estacionaria sólida, según su grado de adsorción sobre la superficie de esta última.

El proceso de adsorción es un fenómeno de superficie fundamentado en la intensidad de fuerzas intermoleculares (atracciones electrostáticas dipolo-dipolo, puentes de hidrógeno y fuerzas de dispersión dipolo inducido), que se establecen entre los solutos y el adsorbente. Los solutos afines al adsorbente son retenidos fuertemente y se mueven a menor velocidad que los solutos más afines al solvente, los cuales son arrastrados por éste en su trayecto a través de la placa.

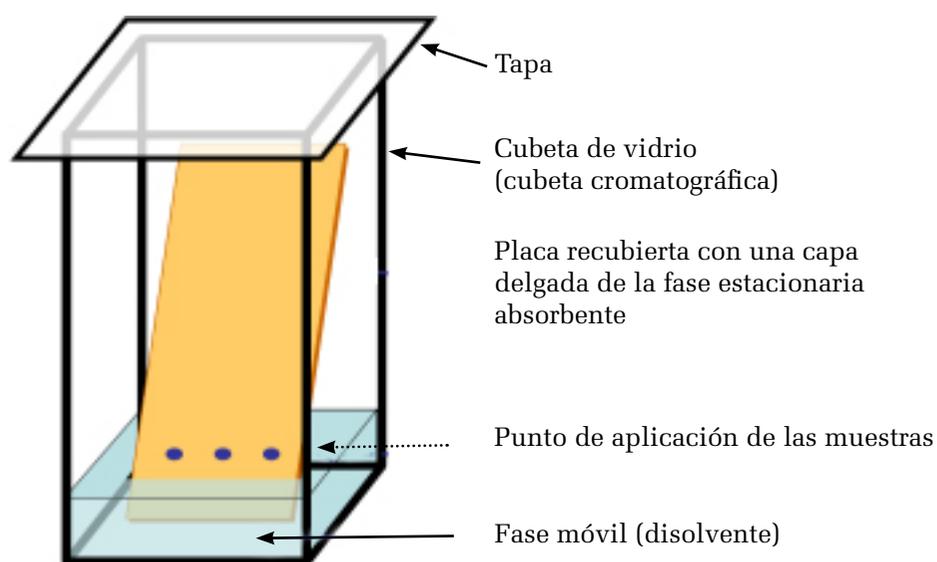
La fase estacionaria sólida se esparce en forma de capa fina sobre un soporte sólido (placa de vidrio, de plástico inerte, de aluminio, etc.). La solución a analizar se aplica en forma de gotas en un extremo de la placa y ésta se introduce en una cámara que contiene al solvente de desarrollo. El solvente asciende por la placa arrastrando los componentes de la mezcla a diferentes velocidades, en función de su grado de adsorción al adsorbente sólido (fase estacionaria) y de su solubilidad en el solvente de desarrollo (fase móvil). El cromatograma revela una serie de manchas sobre la placa que pueden visualizarse a simple vista o con ayuda de reveladores químicos (como yodo, ninhidrina para aminoácidos, entre otros) o irradiación con luz ultravioleta.



Esquema ilustrativo de la técnica de cromatografía en papel



Placa de cromatografía en capa fina antes y después del desarrollo



Cámara de desarrollo cromatográfico

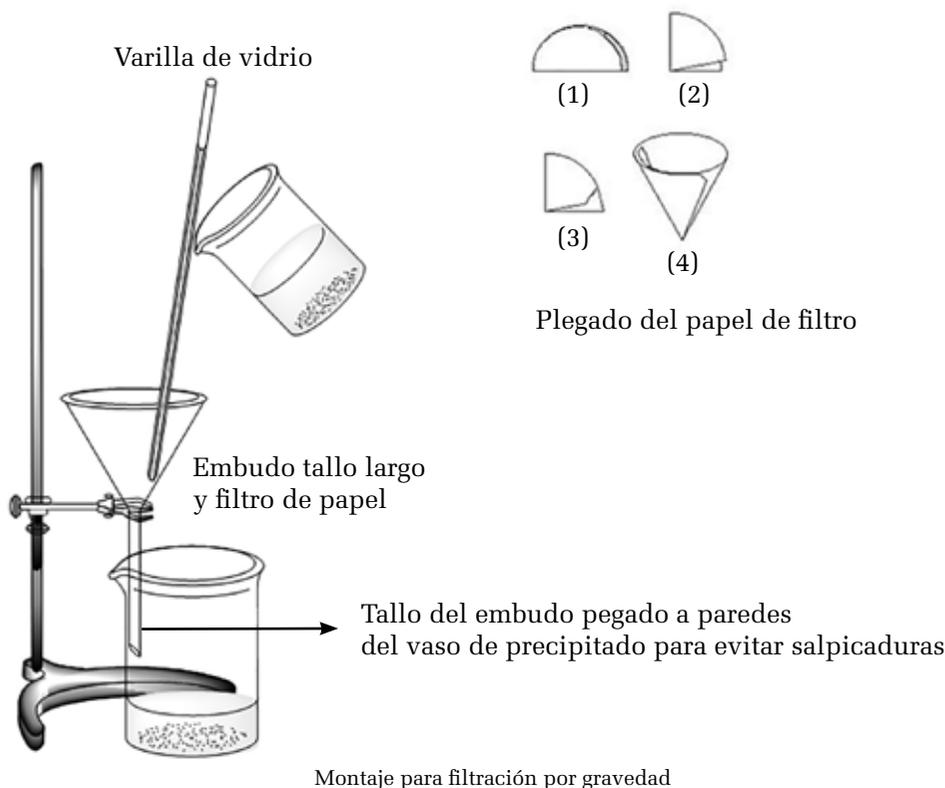
4.5 Procedimientos auxiliares

4.5.1 Filtración

Método útil para separar sólidos de líquidos, puede efectuarse por gravedad o por succión.

4.5.1.1 Filtración por gravedad

En este tipo de filtración, la fuerza que opera para separar al sólido del líquido es la gravedad, teniendo por lo general, como elemento que retiene al sólido, un papel de filtro colocado en un embudo simple. La filtración por gravedad puede efectuarse a diferentes temperaturas.



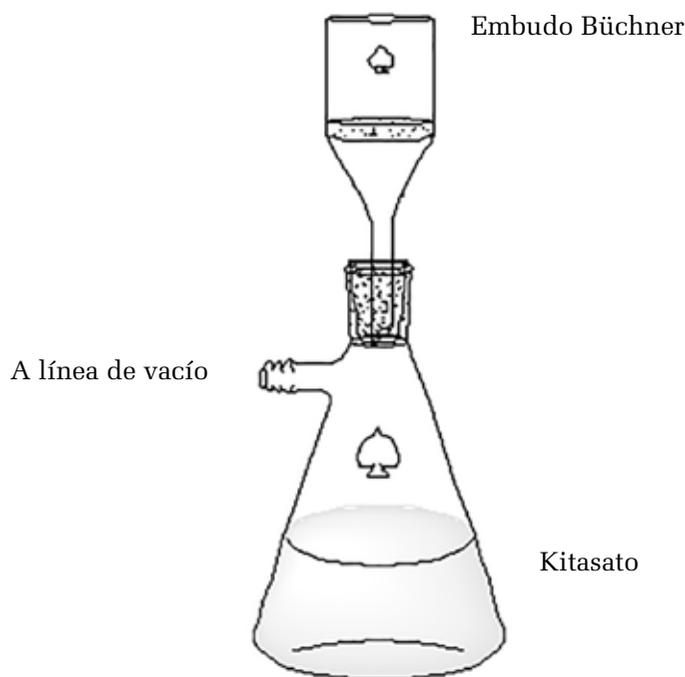
4.5.1.2 Filtración por gravedad en caliente

Se emplea para separar sólidos contaminantes presentes en el líquido madre en forma de partículas grandes (contaminantes insolubles en caliente). En vista de que se desea evitar que el soluto de interés, cristalice en el papel de filtro o en el embudo por enfriamiento durante la operación, se requiere una filtración rápida con un mínimo de evaporación del solvente. Para cumplir en alguna medida con este requisito se emplea un **embudo de tallo corto** y un **papel de filtro doblado en pliegues**, los cuales aumentan la velocidad de filtración. También se puede utilizar deliberadamente un exceso de solvente o un baño de solvente caliente especial, para calentar el embudo o, hacer pasar a través del embudo con su papel de filtro, una pequeña porción de solvente a ebullición antes de la filtración.

4.5.1.3 Filtración al vacío o por succión

En este tipo de filtración, el vacío, succión o presión negativa, es la fuerza que impulsa al flujo del filtrado. La filtración al vacío se usa con mucha frecuencia para filtrar cristales, aprovechando el hecho de que la fuerza de la succión permite un secado preliminar. Se requiere un equipo especial consistente en: un **matraz Kitasato** con

tubo lateral para la succión, un **embudo de porcelana Büchner** con papel de filtro o un **embudo Hirsch** con placa filtrante o fondo de vidrio sinterizado y una **salida para vacío**, llamada trompa de vacío, conectada a una **trampa**, para evitar contaminación con agua por reabsorción de la trompa de vacío o bomba.



Montaje para filtración por succión

4.5.1.4 Filtración con coadyuvantes

En caso de que la filtración resulte muy lenta por obturación de los poros del papel de filtro debido a la presencia de impurezas coloidales o gelatinosas, se puede adicionar un **coadyuvante de filtración** directamente a la solución madre o se puede efectuar una filtración al vacío. Los coadyuvantes de filtración (como celite, hyflo, etc.), son esencialmente **tierras de diatomeas** (remanentes silíceos de diminutas algas diatomeas que consisten en sílica opalina finamente pulverizada). Las partículas de las tierras de diatomeas son huecas y presentan alta área superficial de contacto, lo cual confiere a este material un gran **poder adsorbente**. En el caso de la filtración, adsorben el material coloidal que impide la filtración y también son eficaces para evitar que el carbón activo decolorante, pase al filtrado a través de los poros del papel de filtro.

4.5.1.5 Filtración con placa filtrante

Este tipo de filtración se utiliza cuando hay presencia de ácidos y bases fuertes u oxidantes, que atacan al papel de filtro o para evitar la contaminación con el papel. Se requiere limpiar la placa inmediatamente después de usarla para impedir la oclusión de los poros.

4.5.2 Uso de carbón activo

El carbón activo en polvo es un excelente adsorbente para la remoción de trazas de impurezas de un gas o un líquido; su poder de adsorción involucra fuerzas de interacción de van der Waals entre el carbono y algunas moléculas orgánicas. Posee una gran área de contacto como material finamente dividido y altamente poroso. También presenta una acción muy específica ya que tiene la capacidad de adsorción selectiva de compuestos.

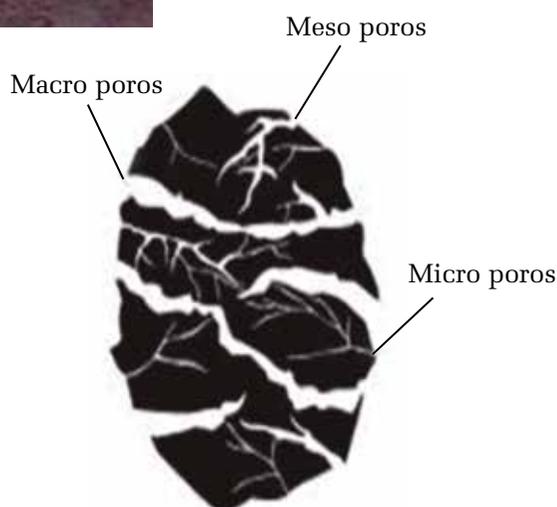


Figura superior: Carbón activo granulado y en polvo.
Figura inferior: Red de poros en un grano de carbón activo en polvo

El producto crudo sin purificar de una reacción orgánica puede contener una impureza coloreada la cual, durante la recristalización, se disuelve en el solvente en ebullición y posteriormente, durante la precipitación, es parcialmente adsorbida por los cristales arrojando un producto coloreado. También puede ocurrir que la solución se presente un poco turbia por la presencia de una pequeña cantidad de material resinoso o de una suspensión muy fina de alguna impureza insoluble. Estos tipos de impurezas pueden removerse sometiendo a ebullición la solución con una pequeña cantidad de carbón activo (1 a 2 % en peso del material crudo) durante 5 a 10 minutos y luego filtrar en caliente usando tierra de diatomeas como coadyuvante de filtración. El carbón activo adsorbe la impureza coloreada y retiene las materias resinosas finamente divididas.

El carbón generado durante la quema y carbonización de madera u otro material, aunque posee una gran área superficial, requiere de tratamientos para su activación, porque su superficie está cubierta por hidrógeno o grupos hidrocarburos químicamente retenidos. Para activar el poder adsorbente de este carbón, se requiere un tratamiento a altas temperaturas con vapor de agua, aire o CO₂. Estos agentes poseen el efecto de remoción del hidrógeno de la superficie del carbón, haciéndola asequible a otras moléculas. La activación también puede llevarse a cabo por medio de agentes químicos sólidos como cloruro de zinc o ácido fosfórico (deshidratantes) y los productos comerciales de carbón activo procedente de madera (Norit®, la más conocida), funcionan de manera excelente. No se recomienda el uso de carbón activo de origen animal (carbón de hueso), pues tiene un poder de adsorción muy limitado y contiene una gran proporción de fosfato de calcio y otras sales de calcio, sustancias que interfieren en la purificación.

4.5.3 Uso de piedras de ebullición

Casi todos los líquidos tienden a sobrecalentarse o a alcanzar una temperatura levemente superior al punto de ebullición, en menor o mayor extensión, alcanzando de esta manera un estado metaestable que se interrumpe periódicamente al formarse y romperse de manera súbita, una gran burbuja de vapor en el seno del líquido. Se dice entonces que el líquido “hierve a saltos” o “a borbotones”. Cuando esto sucede, tanto la fase líquida como la fase de vapor, están sobrecalentadas y el punto de ebullición observado puede ser superior al teórico.

La sobreebullición se puede evitar con el uso de trocitos de porcelana porosa o perlas de ebullición. Los pequeños poros de la porcelana porosa están llenos de aire a temperatura ambiente; al calentar, el aumento de temperatura provoca la expansión de este aire atrapado en los poros y la formación de una corriente de burbujas de aire en el seno del líquido, lo cual promueve una ebullición suave.

4.5.4 Secado

El secado o eliminación del agua o de solvente remanente, es el último paso de purificación y también es el paso inicial previo a la destilación de un líquido, pues muchos compuestos químicos reaccionan con el agua hidrolizándose o, destilan conjuntamente con el agua (se arrastran), a temperaturas muy diferentes de sus puntos de ebullición; también, la cristalización de muchos sólidos resulta inhibida por pequeñas cantidades de agua u otros solventes. Por estas razones, antes de recrystalizar un sólido o destilar un líquido, se requiere eliminar el agua remanente a través de algún procedimiento de secado.

El secado se puede efectuar a través de métodos físicos con aparatos o con el uso de agentes químicos desecantes. En general, el procedimiento más eficiente de eliminar el agua de una sustancia orgánica es en solución, empleando agentes desecantes.

4.5.4.1 Secado por métodos físicos

El agua suspendida en forma de emulsión se puede eliminar por **destilación, congelación, filtración con coadyuvante agente desecante, o centrifugación**. Otros métodos físicos de secado son la **liofilización**, en la que se separa agua de una solución por congelación y posterior destilación al vacío; el secado de sólidos en **estufa** a temperaturas elevadas (120-150 °C) en caso de sustancias termoestables o a bajas temperaturas por tiempos prolongados para sustancias termolábiles y el secado de sólidos en un **desecador**, o en **pistola de secado** utilizando un agente desecante y aplicando vacío.

El agua remanente en un sólido, puede eliminarse algunas veces (sólidos termoestables), por secado en estufa. Cuando una muestra sólida se somete a secado en estufa, la temperatura siempre debe ajustarse a un valor de algunos grados por debajo de su punto de fusión o de descomposición, de manera tal que permita la evaporación del solvente sin que el compuesto se funda o se descomponga.

4.5.4.2 Secado con agentes químicos desecantes

El secado con uso de agentes desecantes, se utiliza para eliminar agua en medio líquido o dentro de desecadores. Su uso es más frecuentemente que los métodos físicos de secado.

Un buen agente desecante debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Debe ser químicamente inerte con respecto a la sustancia que se desea secar.
2. Debe tener alta eficacia o poder desecante; es decir, debe eliminar el agua en solución completamente al alcanzar el equilibrio.
3. Debe tener una gran capacidad de secado: debe eliminar una gran cantidad de agua por unidad de masa de agente desecante.
4. Debe tener una alta velocidad de secado, es decir, debe actuar rápidamente (en minutos).
5. Debe ser fácilmente removible de la sustancia una vez secada.

El secado con agentes desecantes puede realizarse por acción física o química.

4.4.2.1 Agentes desecantes de acción física

Estos desecantes se caracterizan por retener agua por adsorción en los poros de su superficie. Se regeneran o reactivan por calentamiento o aplicación de vacío, por esta razón estos desecantes no funcionan en el secado de sustancias al vacío. Son ejemplos: la sílica gel, el óxido de aluminio y los tamices moleculares. Los tamices moleculares son una serie de silicatos de calcio y sodio o zeolitas sintéticas cristalinas, muy porosos, cuya red posee numerosas cavidades unidas entre sí por poros de diferentes tamaños, las cuales han sido tratadas previamente con calentamiento para eliminar el agua de los poros. Estos agentes son extraordinariamente eficaces para eliminar el vapor de agua de gases húmedos.

4.4.2.2 Agentes desecantes de acción química

Los agentes desecantes de acción química actúan por uno de los siguientes mecanismos:

- a. Mecanismos reversibles.** Los agentes desecantes que actúan a través de mecanismos reversibles, son sales inorgánicas anhidras que, al estar en contacto con agua, soluciones húmedas o expuestas a la humedad del aire, fijan el

agua como agua de cristalización formando hidratos y son regenerables por calentamiento. Su uso es indispensable, por ejemplo, en los casos donde se ha agitado una solución acuosa con un solvente orgánico extractor, el cual, aunque tenga un grado muy bajo de miscibilidad con agua, disolverá una mínima cantidad de ésta. La cantidad de agua disuelta por un solvente orgánico varía según el solvente; por ejemplo, el éter dietílico es un solvente que disuelve una cantidad apreciable de agua: a temperatura ambiente, disuelve 1,5 % de su peso de agua y el agua disuelve 7,5 % de su peso de éter. A continuación se citan algunos de los agentes desecantes más comúnmente empleados.

1. Cloruro de calcio anhidro, de gran capacidad y relativamente económico, pero de acción lenta y eficacia moderada. Es considerado un buen agente desecante pero no puede utilizarse con muchos compuestos que contienen oxígeno o nitrógeno, porque forma complejos con éstos. Absorbe metanol y etanol además de agua, por lo cual resulta útil para remover estos compuestos cuando están presentes como impurezas.

2. Sulfato de sodio anhidro, de bajo costo, eficiencia y gran capacidad, ya que a temperaturas inferiores a 33 °C, puede formar hasta un decahidrato, pero es de acción relativamente lenta. Es el agente desecante más ampliamente usado. La variedad granular es más fácilmente removible que la variedad en polvo, pero esta última es más rápida por su mayor área de contacto. Remueve agua de una gran mayoría de solventes con la excepción del éter dietílico, caso en el cual se recomienda el uso previo de otro agente desecante. El sulfato de sodio anhidro debe utilizarse a temperatura ambiente para ser efectivo; no puede emplearse con soluciones en ebullición.

3. Sulfato de magnesio anhidro, es un desecante excelente para todos los fines. Posee gran capacidad de secado, eficacia, actúa rápidamente y es de bajo costo. Hay que tener en cuenta que el ion magnesio actúa como ácido Lewis fuerte y puede causar rearrreglos moleculares en algunos compuestos como epóxidos.

4. Sulfato de calcio anhidro, es de acción rápida y muy eficaz pero tiene una capacidad de secado pequeña, pues como máximo fija sólo el 6,6 % de su peso en agua.

5. Carbonato de potasio, es una base y se emplea para secar soluciones de sustancias básicas como aminas.

Muchas veces se emplean dos agentes desecantes usados por separado en etapas consecutivas, para el secado de compuestos orgánicos.

El secado debe efectuarse durante 15 minutos como tiempo mínimo, con agitación ocasional. Debe aplicarse una capa de agente desecante de unos 3 mm de espesor en el fondo del recipiente para unos 10-20 mL de solución; dependiendo del volumen de la solución a secar, el grosor requerido de esta capa será mayor. La mezcla se considera seca si:

1. No se observan gotas de agua en las paredes del recipiente.
2. La solución se observa transparente, sin turbiedad.
3. El agente desecante fluye libremente al agitar el recipiente, no forma conglomerados. En este último caso, se requiere añadir mayor cantidad de agente desecante.

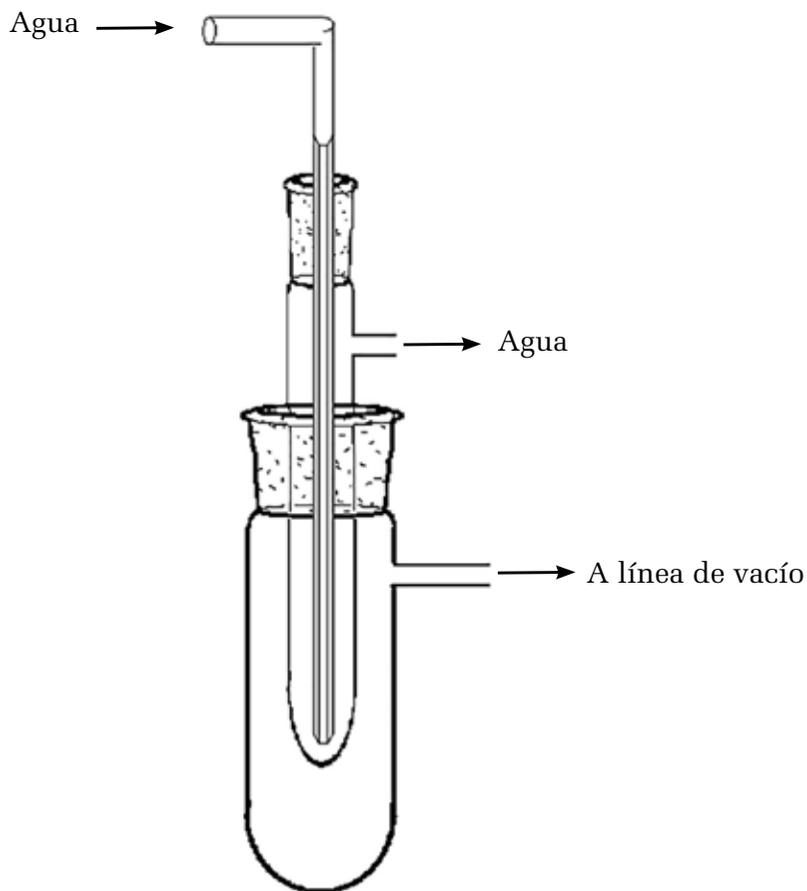
Habiendo concluido el secado, se remueve el agente desecante transfiriendo la solución a otro recipiente, por decantación o con uso de pipeta Pasteur.

b. Mecanismos no reversibles. Los agentes desecantes que actúan a través de mecanismos irreversibles, reaccionan con el agua, y no es posible su regeneración simple. Estos desecantes son adecuados para el secado al vacío. Ejemplos: pentóxido de fósforo, metales (como el sodio) y sus compuestos hidruros (hidruro de calcio) y óxidos (óxido de calcio o cal viva).

4.5.5 Purificación de sólidos por sublimación

La sublimación o cambio de estado físico de sólido a gas, se emplea para purificar un sólido cuando éste tiene una alta presión de vapor. Este procedimiento consiste en sublimar el sólido y condensar su vapor para obtener el sólido puro.

Es posible efectuar la sublimación a presión atmosférica, pero en función de disminuir la temperatura de calentamiento, es conveniente llevarla a cabo en condiciones de presión reducida en un dispositivo llamado **sublimador**.



Sublimador (dedo frío)

4.5.6 Efecto salino

En soluciones acuosas, la adición de un electrolito fuerte, reduce la solubilidad de una sustancia no electrolítica. Por ejemplo, si se adiciona NaCl a una solución de sacarosa en agua, la solubilidad de la sacarosa disminuye y parte de ella puede precipitar.

A 25 °C, el éter etílico disuelve el 1,5 % de su peso de agua y el agua disuelve el 7,5 % de su peso de éter etílico. Una solución acuosa saturada de NaCl, disuelve una cantidad muchísimo menor de éter etílico y el éter etílico disuelve también una cantidad de agua muchísimo menor, si ésta proviene de una solución acuosa de NaCl saturada. Una solución de alta fuerza iónica no es compatible con un solvente orgánico y hay separación de fases acuosa y orgánica. Este efecto se emplea para romper emulsiones de agua en solventes orgánicos o de solventes orgánicos en agua.

Los coloides hidrofílicos como gelatina o jabones en fase acuosa, pueden coagular por adición de una alta concentración de electrolitos fuertes. Los electrolitos fuertes tienen una alta capacidad de deshidratación sobre coloides hidrofílicos. El efecto salino se aplica para aumentar la precipitación de jabones al recuperarlos del medio acuoso en su síntesis.

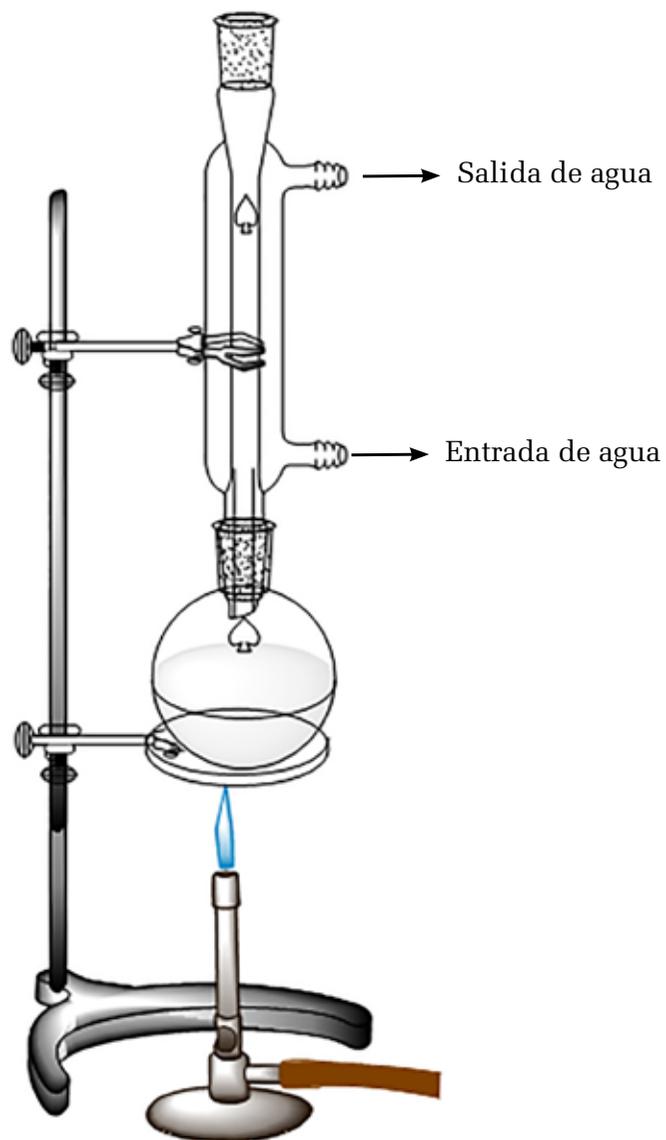
También este efecto puede aplicarse para optimizar la destilación por arrastre con vapor de aceites esenciales. Saturando con NaCl el agua del balón de destilación que contiene el material vegetal, disminuye la solubilidad del aceite esencial en agua y adicionalmente disminuye la presión de vapor de agua en la destilación (por propiedad coligativa, aumento del punto de ebullición por solutos no volátiles).

4.5.7 Reflujo

Frecuentemente se requiere mantener una reacción química o un material sólido al que se desea extraer un compuesto, a una temperatura aproximadamente constante y minimizar las pérdidas de solvente por evaporación, durante un período prolongado. El procedimiento más sencillo para estos casos es someter a ebullición el medio líquido de reacción o de extracción, dependiendo del caso y condensar los vapores de tal manera que retornen al recipiente de trabajo.

Este propósito se logra con un montaje de una fuente de calor (mechero, manta o plancha eléctrica, baño caliente si se requiere) y un balón de destilación conectado a un condensador o refrigerante en posición vertical, como sistema abierto a la atmósfera. La temperatura dentro del balón de destilación permanece casi constante a un valor aproximado al punto de ebullición del solvente empleado, con desviaciones de este valor regidas por las concentraciones de solutos no volátiles –los cuales elevarían el valor de la temperatura– y de solutos volátiles, que tendrían el efecto contrario.

Es absolutamente necesario mantener el extremo superior libre del condensador, abierto a la atmósfera para evitar la generación de una alta presión interna y la probabilidad de explosión por esta causa.



Aparato para reflujo

4.5.8. Métodos para romper emulsiones

(Descritos en la técnica 4.2 Extracción)

Nota: Para un tratado más exhaustivo de las técnicas de laboratorio, se recomienda al estudiante consultar los textos de Química Orgánica Experimental citados en el capítulo 3, aparte 3.1.

Referencias bibliográficas

- Abbott, D. y Andrews, R. S. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. (2ª Ed.) Madrid: Editorial Alhambra SA.
- Brewster, R. Q., Van der Werf, C. A. W. E. y Mc Ewen, W.E. (1986). *Curso Práctico de Química Orgánica*. (3ª Ed.) Madrid: Editorial Alhambra.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (1999). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- Stahl, E. (1979). *Thin Layer Chromatography*. New York: Springer.
- The General Secretariat of the Organization of American States (1998). *Métodos Experimentales de Laboratorio en Química Orgánica*. USA: Editora: Eva V. Chesnau.
- Vogel, A. I. (1978). *Practical Organic Chemistry*. (3rd Ed.) London: Longmans.

Experiencia práctica 1

**Química farmacéutica:
Analgésicos. Recristalización de acetaminofén a partir de
tabletas comerciales. Estudio del efecto de la velocidad de
enfriamiento**

El dolor es un mecanismo protector para el organismo que aparece cuando cualquier tejido experimenta traumas por heridas u otros daños. Es una experiencia sensorial y emocional displacentera, asociada a un daño tisular real o potencial. Los compuestos químicos que poseen la capacidad de eliminar selectivamente el componente del dolor que no incluye las modalidades primarias sensoriales (como tacto, vista y audición), se llaman **analgésicos**.

Históricamente, los antiguos médicos árabes conocían ya los efectos psicológicos del opio, primer analgésico del que se tiene noticia, y la primera referencia del jugo de amapola o adormidera (*Papaver somniferum* L.) se encuentra en los escritos de Teofrasto, siglo II a. C. El fármaco, que contiene más de veinte alcaloides (morfina, codeína, papaverina, tebaína, entre otros), se obtiene del jugo de la amapola, y la palabra opio deriva del nombre griego que significa 'jugo'. Los comerciantes árabes, versados en las aplicaciones del opio, lo introdujeron en Oriente, donde se empleaba en casos de disentería. Se le adjudica a Paracelso (1493-1591), el retomar el uso del opio en Europa, después de que había caído en desuso por su toxicidad. A mediados del siglo XVI, el opio era considerado en Europa, como panacea universal y se empleaba como medicamento eficaz en muchísimas aplicaciones.

Hacia mediados del siglo XIX, comenzó a difundirse el uso médico de alcaloides puros en lugar de preparados de opio sin procesar. Como existía una asequibilidad sin restricciones, se generó el problema de adicción a los opioides, lo que estimuló la búsqueda

de analgésicos potentes que no tuviesen potencial adictivo. En los años previos y posteriores a la Segunda Guerra Mundial, se descubrieron medicamentos analgésicos sintéticos, como meperidina y metadona, pero su evaluación condujo al reporte de efectos característicos tipo morfina. La nalorfina, uno de los derivados de la morfina, fue una excepción: sus dosis altas son potentes analgésicos no adictivos pero tienen efectos adversos como ansiedad y depresión. Posteriormente se sintetizaron otros fármacos analgésicos, como naloxona, pentazocina y buprenorfina. Es de hacer notar que, tiempo después, se descubrió que el organismo humano tiene la capacidad de producir opioides endógenos como lo son las endorfinas y las dinorfinas.

Los opioides se han utilizado ampliamente para tratar el dolor, pero además de aliviarlo, producen una gran variedad de otros efectos secundarios muy peligrosos como la depresión respiratoria, que puede ser mortal y la tendencia a causar dependencia adictiva. Otras limitaciones de estos fármacos son la inducción de vómito, confusión mental, ansiedad y depresión.

Por otro lado, desde hace siglos y en varias culturas son conocidos los efectos medicinales de la corteza del sauce (*Salix alba* L.) y de otras plantas como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios. El ingrediente activo de la corteza del sauce fue aislado en 1829, como salicilina, compuesto que por hidrólisis genera glucosa y alcohol salicílico; este último puede ser transformado en ácido salicílico *in vivo* o por manipulación química. El salicilato de sodio se empleó para combatir la fiebre reumática y como antipirético en 1875 y los excelentes resultados terapéuticos de este compuesto condujeron a la industria farmacéutica a fabricar y comercializar ácido acetilsalicílico con el nombre de “aspirina”.

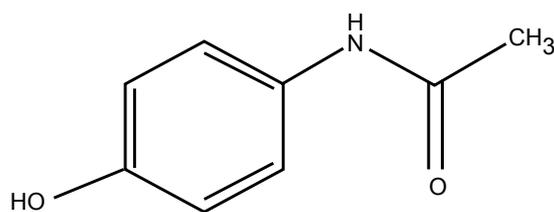
Los salicilatos sintéticos fueron un éxito comercial y terapéutico. A principios del siglo XX se demostraron los principales efectos farmacológicos de la aspirina: analgésico, antipirético y antiinflamatorio, y se descubrieron otros fármacos con los mismos efectos, como el acetaminofén. En las últimas décadas se han introducido nuevos analgésicos como indometacina, ibuprofeno, fenoprofeno, naproxeno, piroxicam, etc.

Estos fármacos se denominan genéricamente, “analgésicos antiinflamatorios no esteroidales”, son eficaces para lograr alivio sintomático en cuadros dolorosos e

inflamatorios agudos, pero también tienen efectos colaterales no deseados, como lesión de vías gastrointestinales y el bloqueo de la agregación plaquetaria –este último efecto es usado también como terapéutico, en casos donde se requiere prevenir formación de coágulos que pudiesen conducir a infartos–.

El acetaminofén (paracetamol; N-acetil-p-aminofenol) es un fármaco eficaz, que puede emplearse en sustitución de la aspirina como analgésico-antipirético, pero ya que sus propiedades antiinflamatorias son débiles, no es útil en terapias de patologías inflamatorias. Presenta las ventajas de ser bien tolerado y no producir los efectos colaterales que presentan los demás analgésicos no esteroidales, como son la producción de lesiones ulcerosas en las vías gastrointestinales e inhibición de la agregación plaquetaria. El acetaminofén es el metabolito activo de la acetanilida y de la fenacetina. La sobredosis aguda causa necrosis aguda hepática mortal y el abuso a largo plazo, ocasiona lesión renal y alteraciones de la química sanguínea.

Químicamente, el acetaminofén es p-acetilaminofenol; N-acetil-p-aminofenol; p-hidroxiacetanilida. Fórmula condensada $C_8H_9NO_2$, PM = 151,16 g/mol. Forma prismas monoclínicos de punto de fusión 168 °C y densidad 1,29 g/ml, polvo blanco cristalino, recristalizado de agua o etanol; es prácticamente insoluble en agua fría y muy soluble en agua caliente y etanol.



Acetaminofén

Las tabletas comerciales de acetaminofén contienen el principio activo dosificado y otros compuestos químicos en menores cantidades, como colorantes y excipientes. Los “excipientes” son sustancias farmacológicamente inactivas que se emplean en la fabricación de los medicamentos para aportar masa o como aglutinantes; algunos, muy utilizados en la industria farmacéutica, son: almidón de maíz, hidroxipropil celulosa, estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal, lactosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polietilenglicol 8000, dióxido

de titanio, óxido de hierro amarillo, óxido de hierro rojo, celulosa microcristalina, etc. Los excipientes son, generalmente, insolubles en agua. La tableta también puede contener agentes inorgánicos amortiguadores de pH y cubiertas.

En esta experiencia práctica se recristalizará el acetaminofén de una tableta comercial que contiene además del principio activo, excipientes y colorantes.

Procedimiento experimental

1. Triturar en un mortero, 6 pastillas comerciales de acetaminofén de 500 mg previamente pesadas en la balanza del laboratorio.
2. Llevar a ebullición el polvo obtenido en 90 mL de agua destilada, hasta disolución total.
3. Filtrar en caliente si hay presencia de algún material insoluble. Si la solución resulta coloreada, emplear carbón activo (0,5 g) para decolorar y filtrar en caliente con embudo sin tallo y papel de filtro doblado en pliegues.
4. Dividir la solución incolora resultante en tres porciones de igual volumen y someter a:
 - a. Enfriamiento brusco: recoger la primera porción del líquido filtrado caliente del paso 3, en baño de hielo-agua.
 - b. Enfriamiento de tiempo moderado: enfriar la segunda porción del filtrado caliente, primero a temperatura ambiente y luego sumergir en baño de hielo-agua.
 - c. Enfriamiento lento: dejar enfriar espontáneamente la tercera porción del filtrado caliente.
5. Si es necesario, inducir la recristalización por rasgado de las paredes y fondo del recipiente, con varillas de vidrio.
6. Filtrar por succión los cristales de acetaminofén obtenidos en cada caso. Pesar previamente los 3 papeles de filtro que se emplearán.
7. Secar las muestras por separado en estufa a 130 °C por 20 minutos.
8. Pesar las tres muestras y obtener la masa total de acetaminofén recuperado.
9. Tomar el punto de fusión a cada una de las tres muestras y comparar con el valor teórico reportado en la literatura. Calcular el porcentaje de error.

10. Comparar resultados con respecto a tamaño y aspecto, masa y punto de fusión de los cristales obtenidos en cada caso.
11. Comparar la masa total de acetaminofén recuperado con la masa total teórica de acetaminofén en las 6 pastillas. Calcular el porcentaje de recuperación de acetaminofén. Calcular la masa de excipientes teórica. ¿Se podría calcular la masa experimental de excipientes?
12. Cromatografía de Capa Fina Comparativa (opcional): Efectuar una cromatografía de capa fina con una solución patrón de acetaminofén y el acetaminofén recristalizado en esta experiencia. Disolver 0,250 mg de la tableta en 5 mL de una mezcla de 15 mL de etanol absoluto y 15 mL de diclorometano, bien agitada. Luego calentar suavemente por unos minutos en baño de vapor a 100 °C. Permitir que precipiten los excipientes, aglutinantes y otros materiales insolubles en esta mezcla, y emplear el líquido transparente sobrenadante para la toma de la muestra a cromatografiar. Utilizar como eluyente una solución al 0,5 % de ácido acético glacial en acetato de etilo. Observar el cromatograma bajo luz UV y delinear las manchas. Emplear luego cámara reveladora de yodo. Comparar observaciones.

Notas

1. Se sugiere utilizar tabletas de 500 mg de acetaminofén de la marca comercial Tempra®, del laboratorio farmacéutico Bristol Meyers. Tienen color rosado y permiten ilustrar el uso del carbón activo.

2. También pueden emplearse las marcas comerciales: Tachiforte® de Laboratorios Elmer o Atamel Forte® de Pfyzer. Ambas son presentaciones del principio activo acetaminofén 650 mg en tabletas blancas sin colorante y por lo tanto, no ilustrarían el uso de carbón activo.

3. Otras presentaciones farmacéuticas son mezclas de analgésicos (acetaminofén y cafeína, o acetaminofén, cafeína y ácido acetilsalicílico, por ejemplo), mezcla de acetaminofén y un antialérgico (maleato de clorfeniramina) y jarabes que tienen cantidades apreciables de sacarosa, o cápsulas blandas con el medicamento disuelto en vehículo aceitoso; estas mezclas no se adaptan al procedimiento propuesto.

4. El mismo procedimiento propuesto, también puede aplicarse para recristalizar **ácido acetilsalicílico** a partir de tabletas comerciales de aspirina. El ácido acetilsalicílico, de nombre comercial farmacéutico “Aspirina”, es un potente analgésico-antiinflamatorio y antipirético. También se usa como inhibidor de la agregación plaquetaria para prevenir

infartos. Su grave efecto secundario es la producción de úlceras gastrointestinales. Forma cristales que funden entre 135-138 °C. (Su temperatura de secado en estufa debe ser de unos 120 °C para evitar fusión). Es soluble en 300 partes de agua y en 5 partes de etanol.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. ¿Cuáles son los excipientes empleados en la fabricación de analgésicos comerciales y qué función cumple cada uno en la formulación?
2. ¿Cuál podría ser el colorante rosado de las tabletas utilizadas?
3. Calcular el porcentaje en peso de acetaminofén recuperado y discutir este resultado.

Nota: La introducción teórica de esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de Pavia, Lampman, Kriz y Engel (2000).

Referencias Bibliográficas

- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, L. S. and Gilman, A. (2005). *Goodman and Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. (10ª Ed.) México: McGraw-Hill Interamericana.
- Játem L., A. (2001). *Valoración Química y Farmacológica de algunas Plantas de la Medicina Tradicional Andina Venezolana*. Trabajo especial para ascenso. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M. and Kriz, G. S. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) New York: Saunders College Publishing.
- Spilva de Lehr, A. y Muktans S., Y. (2006). *Guía Spilva de las Especialidades Farmacéuticas*. (29ª Ed.) Caracas, Venezuela: Global Ediciones.
- *The Merck Index*. 12th Ed. (1996). New York. USA: Merck and Co.
- Wittcoff, H.A. y Reuben, B.Y. (2000). *Productos Químicos Orgánicos Industriales*. México: Editorial Limusa. Grupo Noriega.

Experiencia práctica 2

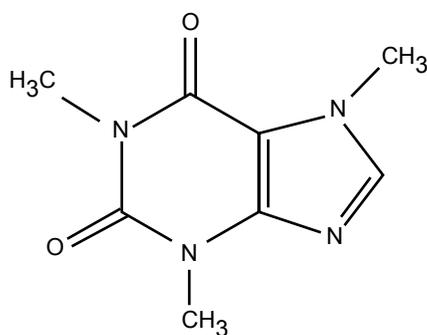
Extracción de cafeína del café

El uso del café (*Coffea arabica* L.) y del té (*Thea sinensis* L., *Camellia thea*) como bebidas, se remonta a tiempos muy lejanos. Una de las descripciones más tempranas del uso del café se encuentra en un libro de medicina árabe del año 900 a. C. Se cree que la planta del café es originaria de Etiopía y su cultivo se expandió luego por el medio oriente árabe y Turquía –la palabra café proviene de la palabra turca *kahveh*, utilizada para denominar a la bebida caliente proveniente de los frutos fermentados y tostados de la planta–. El té es nativo de Indochina e India y luego se introdujo a China. La primera referencia terapéutica de la planta del té, proviene del diccionario chino de Kuo P'ò, escrito en el año 350 a. C.

El café y el té contienen compuestos químicos estimulantes del sistema nervioso central. El principal compuesto activo es la cafeína, un alcaloide. Los alcaloides son compuestos químicos que existen como componentes naturales biológicos (productos naturales) que contienen nitrógeno como miembro de anillo y poseen las propiedades químicas de una base orgánica tipo amina. Las plantas suramericanas de guaraná (*Paulina sorbilis*), cola (*Cola vera*), yoco (*Paulina yoco*), mate (*Ilex paraguayensis*), y en menor grado, el cacao (*Theobroma cacao*), también contienen cafeína. Del café se emplea el fruto; del té y del mate, las hojas; del guaraná, las semillas; y de la cola, las nueces.

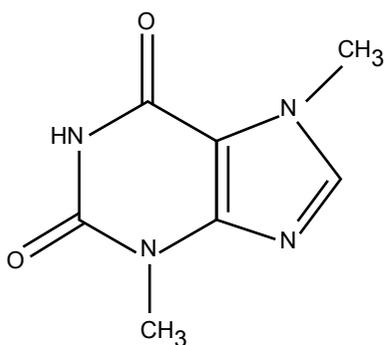
La cafeína, $C_8H_{10}N_4O_2$, 1,3,7 trimetilxantina, es un alcaloide que cristaliza en agujas blancas, funde a 235 °C y sublima a 176-178 °C. Es muy soluble en agua caliente; a 25 °C es soluble en 375 partes de éter, 53 partes de etanol, 46 partes de agua y 6 partes de cloroformo. Note que a 25 °C, temperatura cercana a la temperatura de trabajo en el laboratorio, la cafeína es casi ocho veces más soluble en cloroformo que en agua.

La **cafeína** pertenece a un grupo de productos naturales llamados alcaloides de la familia de las xantinas. Las **xantinas**, ampliamente distribuidas en varias plantas de muy distintas procedencias, como hemos señalado, son muy posiblemente los estimulantes conocidos más antiguos. Todos estos estimulantes actúan sobre el sistema nervioso central (SNC) incrementando el estado de alerta y disminuyendo el cansancio y la sensación de sueño. La cafeína es la xantina más potente respecto a estas propiedades.

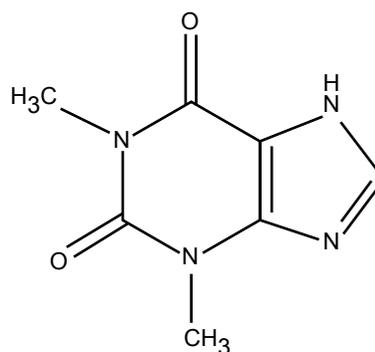


Cafeína

La xantina presente en el cacao, la **teobromina**, tiene efectos débiles sobre el SNC y es un fuerte diurético. La **teofilina**, otra xantina presente en el té, tiene algunos efectos sobre el SNC y también es un fuerte estimulante del miocardio (músculo del corazón), vasodilatador, broncodilatador y, además, es un diurético más potente que la teobromina.



Teobromina



Teofilina

Se puede desarrollar tolerancia y dependencia fisiológicas de las xantinas, especialmente de la cafeína. El consumo excesivo de cafeína ocasiona un estado de ansiedad, con efectos cardíacos, irritabilidad, insomnio, diuresis, aumento de la secreción ácida gástrica y temblores. Los síntomas de la abstinencia de cafeína en una persona que ha generado dependencia, incluyen letargo, dolor de cabeza y náuseas.

El cafeto (*Coffea arabica* L., familia *Rubiaceae*), planta de donde se obtiene el café, es un arbusto de 3 a 10 m de altura, su fruto es una drupa roja que contiene un par de semillas en medio de la pulpa. Estas semillas, contienen el alcaloide cafeína y un principio aromático en forma de aceite esencial cuyo componente mayoritario es el cafeol, junto a furfural, entre otros cientos de compuestos; tostadas y molidas se emplean para la elaboración de la infusión del café.

La semilla verde del café contiene de 1 a 2 % del alcaloide cafeína, taninos, glucosa, grasas, proteínas y celulosa. En el proceso de tostado, las semillas se hinchan, se tornan color marrón oscuro y adquieren su sabor y aroma característicos. El proceso de tostado libera la cafeína de una combinación con ácido clorogénico, forma en la cual existe dentro de la semilla verde y también provoca la sublimación de una pequeña cantidad de cafeína.

En esta experiencia práctica, extraeremos la cafeína del café. Esta extracción se fundamenta en las diferencias de solubilidades de las sustancias naturales constituyentes del café. Las proteínas, que son polímeros de aminoácidos y la celulosa, polímero de glucosa; sustancias de alto peso molecular, son insolubles en agua. Las grasas, ésteres formados a partir de glicerol y tres ácidos carboxílicos de cadena larga, son también insolubles en agua. En cambio, la cafeína, los taninos (polifenoles), la glucosa y el ácido clorogénico, son compuestos bastante solubles en agua caliente por su capacidad de establecer puentes de hidrógeno con las moléculas de agua.

De este modo, al preparar el extracto acuoso de café molido y filtrar este extracto caliente, se efectúa una primera separación. Luego, añadiendo una solución de acetato de plomo, se logra remover del extracto acuoso, los taninos y el ácido clorogénico (sustancias acídicas) en forma de sus sales de plomo, las cuales precipitan y se retiran por filtración:



Después de esta filtración, quedan en solución acuosa, cafeína y glucosa. Por medio de extracción con cloroformo o diclorometano, se aísla la cafeína. La glucosa es insoluble en cloroformo y diclorometano y muy soluble en agua, por lo cual permanece en la fase acuosa. La cafeína, siendo poco soluble en agua fría, y muy soluble en cloroformo, se extrae en la fase orgánica. El cloroformo o diclorometano se remueven fácilmente por evaporación en baño de agua y bajo campana de gases, obteniéndose cafeína cruda, la cual puede purificarse por recristalización o sublimación.

Procedimiento experimental

1. Coloque 35 g de café molido o en polvo, piedras de ebullición y 125 mL de agua destilada, en un balón de destilación de 500 mL. Monte un aparato para reflujo y caliente la mezcla bajo reflujo durante 20 minutos. Cuando la ebullición se haya detenido y las partículas de café hayan sedimentado, filtre la solución caliente por succión con papel de filtración rápida, si se dispone de éste en el laboratorio o, en su defecto, a través de un lienzo fino o colador de tela.
2. Transfiera el líquido filtrado a un matraz Erlenmeyer de 250 mL y adicione entre 20-25 mL de una solución de acetato de plomo al 10 %. Lleve a ebullición empleando mechero y luego coloque en baño de agua caliente para mantener la mezcla tibia durante 10 minutos aproximadamente. Durante este período, agite frecuentemente la mezcla en el matraz para promover la reacción y favorecer la formación del precipitado. Filtre al vacío la solución resultante y caliente. Deje enfriar hasta temperatura ambiente el líquido filtrado y transfíralo a un embudo de separación.
3. Extraiga el líquido filtrado con una porción de 25 mL de diclorometano. Si se agita muy vigorosamente el embudo de separación durante el proceso de extracción, existe alto riesgo de que se forme una emulsión indeseable. Para evitar este problema, agite de manera envolvente suavemente por 5 minutos, para poner en contacto las dos fases e invierta cuidadosamente el embudo. Deje reposar unos 7 minutos.
4. Separe la capa inferior de diclorometano (compare las densidades reportadas en la literatura de diclorometano y agua) y apártela en un matraz rotulado. Adicione otra porción de 25 mL de diclorometano a la capa acuosa restante en el embudo de separación, agite muy suavemente y luego de 5 minutos de reposo, extraiga la capa de diclorometano. Deseche la fase acuosa, lave el embudo con una pequeña porción de diclorometano, reúna los dos extractos de diclorometano y viértalos en el embudo de separación. Extraiga primero con 10 mL de solución de NaOH al 10 %, y luego con 10 mL de agua.
5. Vierta el extracto de diclorometano total ya lavado con solución de NaOH y agua, en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y añada aproximadamente 1 g de sulfato de magnesio o de sodio anhidros, para secar. Agite varias veces durante 10 minutos o hasta que la solución esté seca (¿de qué manera detectaría Ud. empíricamente

que el agente desecante ha cumplido su función?). Cuando la solución esté seca estará transparente.

6. Separe el agente desecante a través de una filtración por gravedad, empleando papel de filtro plegado y un vaso de precipitado de 100 mL con piedras de ebullición, conjunto que debe estar previamente pesado. Lave los cristales del desecante del filtro con una pequeña porción (10 mL) de diclorometano. Reúna los líquidos filtrados en el vaso de precipitado con las piedras de ebullición y evapore hasta sequedad en baño de agua caliente, bajo campana de extracción de gases. El residuo sólido, ligeramente beige, que se obtiene, es cafeína impura o cruda. Pese el vaso de precipitados con su contenido y obtenga la masa de cafeína impura. Mida el punto de fusión. Calcule el porcentaje de cafeína que ha obtenido del café y el error en el punto de fusión. Para la determinación exitosa del punto de fusión, tome en cuenta que la cafeína sublima a 178 °C y selle ambos extremos del tubo capilar.

Se puede purificar la cafeína por sublimación, el procedimiento sencillo es el descrito en la práctica de extracción de cafeína de refrescos comerciales. Determine el punto de fusión de esta cafeína sublimada y solidificada. Compare el color de las muestras de cafeína obtenidas (impura y pura) y los puntos de fusión respectivos.

Notas

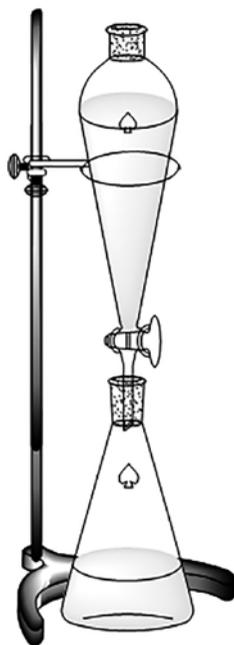
1. La cafeína es muy soluble en agua caliente, pero su solubilidad en agua disminuye con el descenso de la temperatura. A 25 °C la cafeína es soluble en 46 partes de agua (proporción cafeína:agua = 1:46) y en 6 partes de cloroformo (proporción cafeína: cloroformo = 1:6). De estos datos se infiere que, un descenso de temperatura, por ejemplo a través de un enfriamiento del primer extracto acuoso en un baño hielo-agua, provoca la disminución de la solubilidad de la cafeína en agua y el aumento de esta solubilidad en cloroformo (o diclorometano, solvente de propiedades similares a las del cloroformo pero menos tóxico). De esta manera, a pesar de que la cafeína es soluble en agua, puede extraerse con diclorometano o cloroformo, ya que es mucho más soluble en estos solventes orgánicos, presentando un coeficiente de reparto diclorometano/agua igual a 4,6.

2. Resulta interesante comparar los resultados generales para muestras de café molido de diferentes marcas comerciales, café instantáneo y café instantáneo

descafeinado. También es muy interesante conocer cómo se fabrica el café instantáneo en polvo empleando el proceso de liofilización.

Tabla comparativa de cantidades de cafeína presentes en algunas bebidas

BEBIDA	CANTIDAD DE CAFEÍNA (mg/onza)
Café colado	20-30
Café instantáneo	8-20
Café expreso (extracción usando vapor de agua a presión)	50-70
Café descafeinado	0,4-1,0
Té	4-20
Coca-Cola	3,75-5,0
Cacao	0,5-2,0



Montaje para extracción discontinua

Notas

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de Pavia, Lampman, Kriz y Engel (2000).

Referencias bibliográficas

- *A New Dictionary of Chemistry* (6th Ed.) (2001). Edited by L. Mackenzie Miall and DWA Sharp. Great Britain: John Wiley and Sons.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (4ª. Ed.). México: Pearson-Addison Wesley.
- Hardman, J. G., Limbird L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, L. S. & Gilman, A. (2005). En L. S. *Goodman & A. Gilman*. Las bases farmacológicas de la terapéutica (10ª. Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (1998). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, República Bolivariana de Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Engel, R. G. (1999). *Introduction to Organic Laboratory Techniques* (3rd. Ed.). USA: Ed. Saunders College Publishing.
- *The Merck Index* (12th Ed.). (1996). New York. USA: Merck and Co. ,

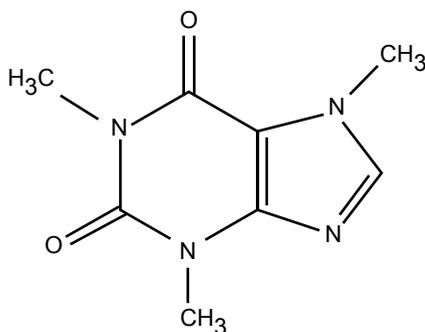
Experiencia práctica 3

Extracción de cafeína del té y de la hierba mate

En esta experiencia práctica aislaremos cafeína de hojas de té (*Thea sinensis* L. o *Camellia thea*) y de hierba mate (*Ilex paraguayensis* L.). Como en todo proceso de aislamiento de un producto natural, el principal problema que se enfrenta es que el compuesto que se desea aislar, en este caso, la cafeína en las hojas de té, está acompañado por muchas otras sustancias naturales de las cuales debe separarse.

El principal componente de las hojas de té es la celulosa, material estructural más importante de las paredes de todas las células vegetales y la sustancia orgánica más abundantemente encontrada en la naturaleza. La **celulosa** es un polímero de la glucosa, con más de 3500 unidades de ésta en una cadena; es insoluble en agua y no representa ningún problema en el proceso de aislamiento de cafeína del té.

La **cafeína** es el componente principal de las hojas de té (alcanza hasta un 5 %) y es soluble en agua; por lo tanto, es el constituyente mayoritario del primer extracto crudo acuoso o infusión de hojas de té, preparado en el procedimiento experimental.

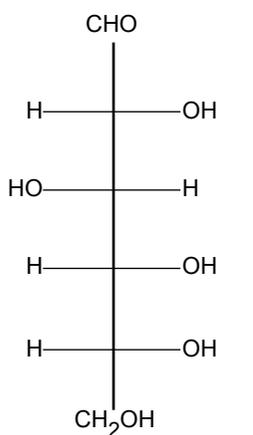


Cafeína

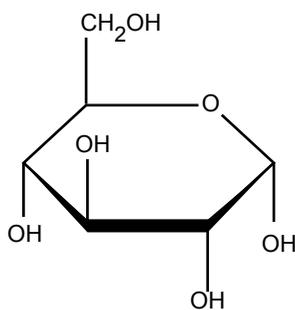
La solución acuosa o primer extracto crudo, también contiene unos compuestos fenólicos llamados **taninos**. Los taninos son compuestos que se originan de la condensación de varios fenoles y poseen pesos moleculares entre 500 y 3000. Tienen un sabor astringente y precipitan a las proteínas y a los alcaloides de sus soluciones acuosas. Es su propiedad de precipitar la gelatina, la que hace posible el uso de los taninos en el tratamiento y teñido de cueros. También se usan como mordantes o sustancias para fijar el color en el teñido de telas, pues se forman enlaces entre el tanino y las fibras de la tela y entre el tanino y el

colorante. Poseen otra amplia gama de aplicaciones importantes como en el tratamiento de arenas residuales de la industria petrolera, actuando como agentes quelantes de metales pesados; en síntesis de resinas y para proteger de la oxidación a redes metálicas y boyas en el mar, y a tuberías expuestas al aire o al agua.

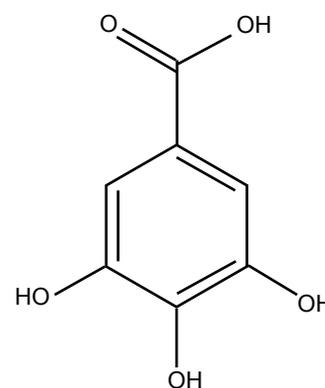
Los taninos pueden clasificarse en “hidrolizables” (que reaccionan con el agua) y “no hidrolizables”. Los del primer tipo tienen, en general, estructura de poliésteres y al ser hidrolizados en medio ácido o por la acción de enzimas, son transformados en un azúcar o un alcohol polioxidrílico relacionado y un compuesto fenólico con un grupo carboxilo. Los taninos hidrolizables que contiene el té, producen glucosa y ácido gálico por hidrólisis (ya que estos taninos son poliésteres de ácido gálico y glucosa). Los taninos no hidrolizables presentes en el té, son polímeros de condensación de la catequina, polifenol muy soluble en agua y etanol, extraído de la planta *Uncaria gambier* L., que crece en los archipiélagos cercanos a la península malaya, en Malasia y que se usa tradicionalmente contra estados diarreicos.



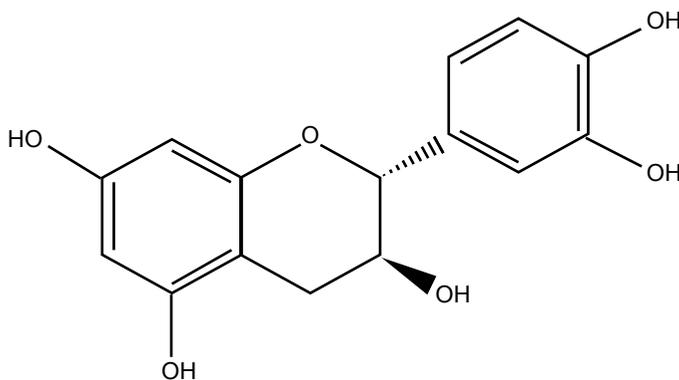
Forma lineal de la glucosa



Forma cíclica de la glucosa (hemiacetal)



Ácido gálico



Catequina

Al preparar el extracto acuoso en caliente de hojas de té, los taninos hidrolizables se degradan por hidrólisis y forman ácido gálico y glucosa. Los taninos no hidrolizables y el ácido gálico presentes en solución acuosa, son ambos compuestos acídicos: los primeros, por sus grupos fenólicos, y el segundo, por el grupo carboxilo y los tres grupos oxidrilo. Si se adiciona un compuesto básico como NaOH a la solución de té, estos ácidos se convierten en sus sales de sodio, las cuales son muy solubles en agua.

La cafeína es soluble en agua, pero es mucho más soluble –casi 8 veces más– en cloroformo y diclorometano; por lo tanto, puede extraerse de la solución acuosa básica con CH_2Cl_2 (menos tóxico), mientras que en la fase acuosa permanecerán las sales sódicas del ácido gálico y de los taninos no hidrolizables y la glucosa.

Además de estos componentes del extracto acuoso de té mencionados, están presentes también pigmentos flavonoides y clorofilas y sus respectivos productos de oxidación, todos los cuales aportan el color marrón de la solución. De estas sustancias, sólo las clorofilas son solubles en diclorometano, por ello, la extracción de la solución básica de té, arroja cafeína casi pura. El diclorometano se remueve fácilmente por evaporación (punto de ebullición = 40 °C) bajo campana de gases, y se obtiene cafeína cruda, la cual puede purificarse por sublimación como se describe en el procedimiento para extracción de cafeína de refrescos comerciales.

Notas

1. Para esta experiencia, el estudiante debe llevar al laboratorio, 6 bolsitas de té negro comercial o de hierba mate, que no contengan ningún tipo de aditivos, aromatizantes, saborizantes o colorantes.
2. Efectuar las extracciones y evaporación final del solvente, bajo campana de extracción de gases.
3. Ver **Nota 1** de la Experiencia Práctica 2.

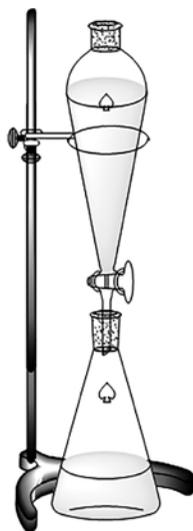
Procedimiento experimental

1. Pese las 6 bolsitas de té con sus cordeles y etiquetas.
2. En un vaso de precipitado de 250 mL, caliente 100 mL de agua destilada hasta ebullición.
3. Sumerja las 6 bolsitas de té en el agua hirviente, permitiéndoles colgar de sus hilos y etiquetas por fuera del vaso de precipitado y déjelas allí por 5 minutos, agitándolas ocasionalmente.
4. Retire las bolsitas de té y colóquelas entre dos vidrios de reloj, de manera tal que sea posible ejercer presión sobre éstas, para exprimir
5. Exprima el remanente de solución y viértalo dentro del vaso de precipitado para maximizar la recuperación del extracto acuoso.
6. Repita la operación de extracción 2 veces, usando porciones de 25 mL de agua hirviente y combine los tres extractos acuosos.
7. Coloque las bolsitas de té exprimidas en la estufa a 120 °C.
8. Enfríe la solución de té hasta temperatura ambiente, sumergiéndola en un baño de agua-hielo.
 - ¿Observa algún cambio? Intente explicar.
 - Al enfriar la solución de té, disminuye la solubilidad de cafeína en el agua (y de otros componentes también).
9. Trasvase la solución a un embudo de separación.
10. Adicione 26 g de NaCl puro. (¿Cuál es la finalidad de esta adición?).
11. Agite y extraiga con tres porciones sucesivas de 20 mL de diclorometano.
12. En cada extracción, agite vigorosamente por 1 minuto y deje reposar la mezcla en el embudo por 5 minutos, al cabo de los cuales se observará la separación de las fases, acuosa y orgánica.
13. Anote sus observaciones sobre color y aspecto de las fases. Si se forma emulsión (dispersión de una fase en la otra) en la interfase, intente romperla con una varilla de vidrio o girando el embudo suavemente. La saturación con cloruro de sodio disminuye la solubilidad de la cafeína y del solvente orgánico en la fase acuosa, es decir, tiene dos ventajas: maximiza la extracción y evita la formación de emulsión. Esto se llama "efecto salino". El coeficiente de reparto diclorometano / agua a 25 °C de la cafeína es igual a 4,6. El enfriamiento y la adición de NaCl

disminuyen la solubilidad de la cafeína en agua, favoreciendo aún más su extracción en el solvente orgánico.

- 14) Separe las fases orgánicas de diclorometano, dejando la fase acuosa dentro de éste y reúna las tres extracciones en un matraz Erlenmeyer.
- 15) Descarte la fase acuosa final.
- 16) Vierta las extracciones de diclorometano en un embudo de separación y extraiga o lave, con dos porciones sucesivas de 20 mL de una solución fría de NaOH 6M y una porción de 20 mL de agua destilada.
- 17) Reúna las fases orgánicas lavadas y elimine el agua remanente con suficiente sulfato de magnesio.
- 18) Transfiera la fase orgánica seca a un vaso de precipitado y evapore el diclorometano sobre plancha de calentamiento o baño de agua hirviendo en campana en extracción de gases, hasta que queden unos 3 mL de solución.
- 19) Transfiera a un vaso de precipitado 25 mL y lave el vaso anterior con una mínima cantidad de diclorometano.
- 20) Evapore completamente el diclorometano hasta la obtención de los cristales de cafeína. Esta cafeína puede purificarse por sublimación con un sublimador o dedo frío.
- 21) Obtenga la masa de cafeína cruda impura y su punto de fusión. Si el rendimiento de cafeína pura después de la sublimación, es suficiente, obtenga masa y mida su punto de fusión.
- 22) Saque las bolsitas de té (que habrán perdido toda el agua y estarán bien secas) de la estufa. Permita que alcancen la temperatura ambiente.
- 23) Con una tijera, abra con mucho cuidado las bolsitas y retire todo el material vegetal (hojas de té) con una espátula fina.
- 24) Obtenga la masa de las bolsitas de té vacías y determine la masa de hojas de té, por diferencia.
- 25) Calcule el porcentaje de cafeína en su muestra de té (reporte marca comercial).

El mismo procedimiento puede emplearse para aislar la cafeína de las hojas de mate. Si no se consigue en bolsitas en los mercados, usar hojas secas, las cuales se expenden en paquetes en Venezuela.



Montaje para extracción discontinua

Compuesto	PF [°C]	Forma cristalina	Solubilidad
Cafeína	235-238 °C sublima a 176-178 °C	Cristaliza en agujas blancas largas con 1 mol de agua o anhidro, cuando es obtenido de solventes orgánicos.	1 g se disuelve en: <ul style="list-style-type: none"> •46 ml de agua (25°C), •1,5 ml de agua hirviente, •66 ml de etanol, •50 ml de acetona, •6 ml de cloroformo, •530 ml de éter, •soluble en acetato de etilo.
Teobromina	357 °C, sublima a 290-295 °C	Forma agujas o láminas monoclinicas, cuando es obtenido por precipitación en agua.	1 g se disuelve en: <ul style="list-style-type: none"> •2000 ml de agua, •150 ml de agua hirviente, •2200 ml de etanol al 95 %, •insoluble en benceno, cloroformo, éter, tetracloruro de carbono. •con hidróxidos alcalinos forma compuestos solubles en agua, pero son descompuestos por el CO₂ (del aire).
Teofilina	270-274 °C	Cristaliza en delgadas láminas monoclinicas, cuando es obtenido por precipitación en agua.	1 g se disuelve en: <ul style="list-style-type: none"> •120 ml de agua, •80 ml de etanol, •110 ml de cloroformo, •soluble en agua caliente, HCl diluido o HNO₃, •poco soluble en éter. •Con hidróxilos alcalinos forma compuestos solubles en agua que sufren descomposición por CO₂ (del aire) formando otros compuestos parcialmente insolubles en agua.

Diga qué problemas representan la teobromina y la teofilina, como constituyentes del té, en la extracción de la cafeína con el método experimental propuesto en esta experiencia (la teofilina está presente en muy pequeñas cantidades en las hojas de té).

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Murria y Hansen (1995); Pavia, Lampman, Kriz y Engel (2000) y Uzcátegui (s/f).

Referencias bibliográficas

- Murria, S. D. & Hansen, M. J. (1995). The extraction of caffeine from the tea revisited. *J. of Chemical Education*, 72 (9), 851.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques* (3rd. Ed.). USA: Ed. Saunders College Publishing.
- *The Merck Index* (12nd Ed.). (1996). New York. USA: Merck and Co.
- Uzcátegui J. (s/f). *Guía de “Extracción de cafeína a partir del té”*. Mérida. Venezuela: Coordinación de Laboratorios de Química Orgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes.

Experiencia práctica 4

Extracción de cafeína de refrescos comerciales

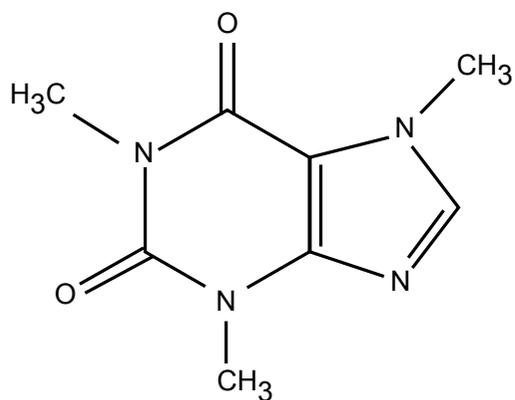
La cola es una planta arbórea africana cuyo fruto, la nuez de cola, se emplea como tónico y estimulante. En realidad, es todo un género de plantas que comprende árboles de hojas enteras o lobuladas, vellosas, flores en panículas laterales, fruto en folículo grande, coriáceo o leñoso y semillas grandes. El género *Cola* comprende unas 40 especies, siendo la más conocida la *Cola vera* o *Sterculia acuminata*, árbol que alcanza hasta 30 m de altura, cuyas semillas, llamadas nueces de cola, se emplean en medicina por sus cualidades tónicas.

Los refrescos gaseosos comerciales originarios de Estados Unidos de Norteamérica como Coca-Cola® y Pepsi-Cola® y sus versiones de bajo contenido de azúcar o sin azúcar, son muy populares. En esta experiencia vamos a descubrir uno de sus secretos: contienen cafeína además de otros aditivos.

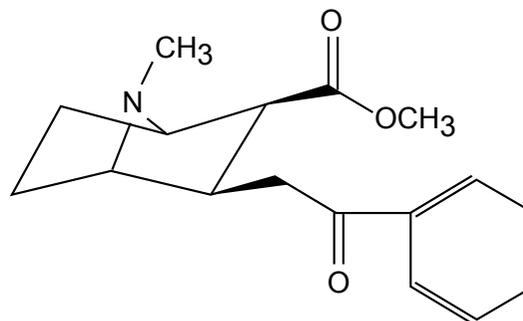
Las bebidas comerciales de cola se fabrican a partir de un extracto de nueces de cola. El extracto se compra preparado como un jarabe concentrado; contiene cafeína, taninos, pigmentos y azúcar. Se le adiciona ácido fosfórico –ácido ortofosfórico, H_3PO_4 , ácido inorgánico fuerte–, líquido espeso, incoloro e inodoro, de densidad 1,7 g/ml, miscible en agua y etanol, el cual proporciona un fuerte sabor ácido y, también se añade, colorante caramelo para proporcionar un color marrón oscuro. Finalmente la mezcla se diluye con agua y se adiciona dióxido de carbono a presión, gas que, al destapar el contenedor del refresco y bajar la presión al valor atmosférico, disminuye su solubilidad y escapa de la solución en forma de burbujas. (Ley de Henry de solubilidad de los gases). En realidad, antes de sellar el contenedor del refresco, se somete a presión con una mezcla de aire y CO_2 saturada con vapor de agua. La cantidad de CO_2 que se disuelve en la bebida, es mucho mayor que la que se disolvería en condiciones atmosféricas, debido a la alta presión parcial en la mezcla gaseosa a presión. Cuando se destapa el contenedor de la bebida (botella o lata), el gas a presión escapa, la presión dentro de la botella disminuye al valor de la presión atmosférica y la cantidad de CO_2 que permanece en la bebida está determinada sólo por la presión parcial atmosférica de CO_2 , 0,03 atm. El exceso de CO_2 disuelto escapa de la solución, causando el burbujeo o efervescencia.

La bebida Coca-Cola® contiene extractos de hoja de coca y de nuez de cola. La coca (voz quechua, *Erythroxylum coca* o *E. truxillense*) es una planta arbustiva que crece en Bolivia y en Perú, cuyas hojas tienen una acción estimulante y contienen cocaína (benzoilmetilecgonina). La cocaína parece ser el más antiguo anestésico local. Es un alcaloide que tiene severos efectos tóxicos como excitante del sistema nervioso central e ingerido por algún tiempo, genera fuerte dependencia con toxicomanía grave de manifestaciones psicóticas paranoides, hiperactividad conductual e irritabilidad notoria. Debido a sus propiedades tóxicas y adictivas, su uso médico como anestésico ha disminuido muchísimo. En Perú y Bolivia, desde tiempos ancestrales, los habitantes de los Andes, mastican hojas de coca como estimulante para resistir las largas jornadas de trabajo agotadoras y también es común la ingesta de la infusión de hojas de coca como tónico estimulante. Es el componente activo de la planta, la cocaína (vulgarmente también llamada “coca”), aislado en forma pura, el que causa la adicción grave y los efectos tóxicos severos. La compañía comercial que fabrica la Coca-Cola®, aduce usar el extracto de hojas de coca previamente procesado para remoción de la cocaína.

La **cafeína** es un alcaloide, de fórmula condensada $C_8H_{10}N_4O_2$, de un sabor muy amargo e inodoro. Se encuentra en el **té**, *Thea sinensis* o *Camellia thea*; en el **café**, *Coffea arabica* L.; en las hojas de **mate**, *Ilex paraguayensis* de Paraguay, Argentina y sur de Brasil; en pasta de semillas de **guaraná**, *Paulina sorbilis* de Brasil; en el **yoco**, *Paulina yoco* de Venezuela y Colombia y en las **nueces de cola**, *Cola vera*. La cafeína tiene acciones estimulantes del sistema nervioso central, de las frecuencias cardíaca y respiratoria y de la función renal, como diurético. Produce intranquilidad e insomnio y genera adicción.



Cafeína



Cocaína

Procedimiento experimental

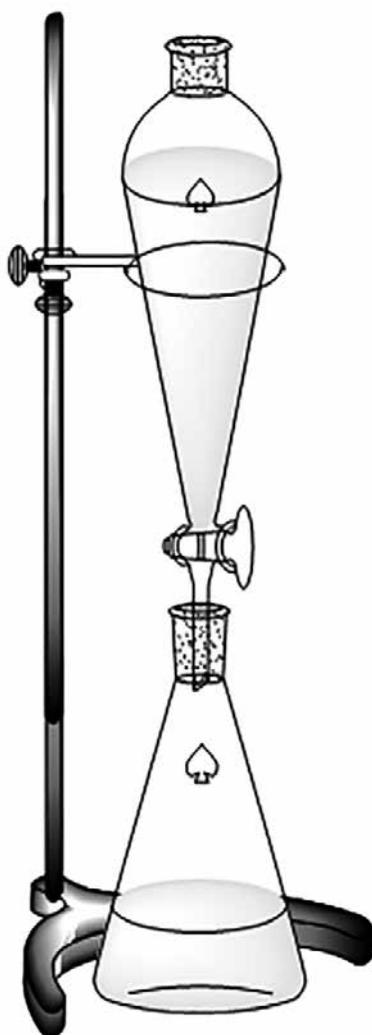
1. Mida 270 mL del refresco comercial.
2. Someta a calentamiento suave por unos minutos, para eliminar el CO₂ disuelto. Permita que enfríe.
3. Vierta en un matraz Erlenmeyer de 500 mL.
4. Añada pequeñas cantidades de carbonato de sodio (Na₂CO₃) para neutralizar el ácido fosfórico y otros ácidos presentes en estos refrescos, hasta que cese el burbujeo y obtener reacción básica al papel indicador.
5. Transfiera la mezcla a un embudo de separación, adicione 20 mL de diclorometano y agite suavemente de 5 a 7 minutos.
6. Separe el líquido incoloro de la capa inferior (diclorometano + cafeína) y viértalo en un vaso de precipitado.
7. Repita el proceso añadiendo otros 20 mL de diclorometano al líquido que quedó en el embudo. Agite, libere la presión en exceso y separe de nuevo la capa inferior uniéndola a la que tiene en el vaso de precipitado.
8. Para que la extracción sea más efectiva es conveniente repetir una vez más esta operación.
9. Reúna los tres extractos en el vaso de precipitado. Emplee sulfato de magnesio o de sodio, como desecante. Añada el sólido y agite, hasta no observar aglomeración del desecante. Filtre por gravedad para retirar el desecante.
10. Deje evaporar lentamente el diclorometano, en un baño de agua caliente **bajo campana de extracción de gases**. Cuando sólo queden unas gotas, trasvase a un vaso de precipitados pequeño y continúe evaporando lentamente hasta que quede seco. La cafeína **sublima**, pasa del estado sólido al gaseoso a 178 °C, por esta razón hay que tener mucho cuidado y retirar el vaso del fuego en el momento en el cual vea desaparecer la última gota, pues podría perder toda la cafeína extraída.
11. Tape ahora el vaso con un vidrio de reloj enfriado previamente con hielo. Caliente suavemente unos minutos. Podrá observar la cafeína sólida formando pequeños cristales en forma de agujas, en la cara inferior del vidrio de reloj. Para obtener un mejor resultado, emplee un sublimador o dedo frío.
12. Para comprobar que el sólido cristalizado es efectivamente cafeína, puede determinar su punto de fusión. La cafeína funde a 238 °C en su forma anhidra.

También puede verificar su comportamiento de solubilidad: es insoluble en éter y algo soluble en agua, alcohol, acetona y cloroformo.

13. Aplicar el procedimiento a las bebidas Coca-Cola® y Pepsi-Cola®. Cuantificar y comparar los resultados.

También puede verificar su comportamiento de solubilidad: es insoluble en éter y algo soluble en agua, alcohol, acetona y cloroformo.

13. Aplicar el procedimiento a las bebidas Coca-Cola® y Pepsi-Cola®. Cuantificar y comparar los resultados.



Montaje para extracción discontinua

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada de Laswick y Hall (1972) y Moye (1972).

Referencias bibliográficas

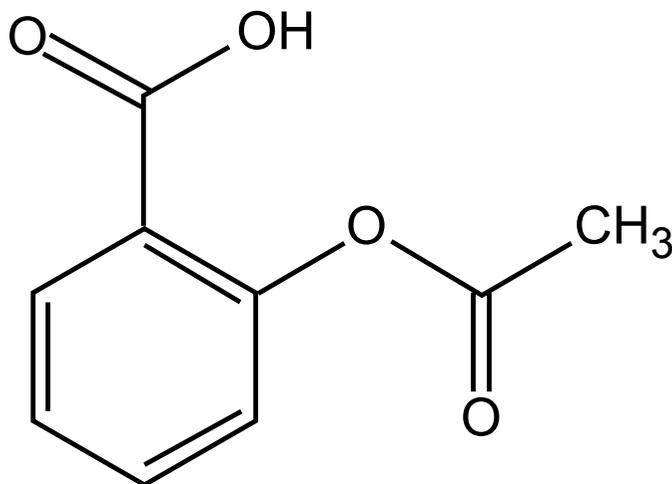
- Chang, R. (2007). *Química* (9ª. Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, L. S. & Gilman, A. (2005). En L. S. Goodman y A. Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica* (10ª. Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Laswick, J. & Hall, P. (1972). *J. of Chem Education*, 49 (10), 708.
- Moye, A. (1972). *J. of Chem Education*, 49, 194.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Engel, R. G. (1999). *Introduction to Organic Laboratory Techniques* (3rd. Ed.). USA: Ed. Saunders College Publishing.
- Ray, O. S. (2001). *Caffeine. Drugs, Society and Human Behaviour* (7th Ed.). St. Louis: C. V. Mosby.
- Ritchie, J. M. (1996). *Central Nervous System stimulants. II: The xanthines*. En L. S. Goodman & A. Gilman. *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (9th Ed.). New York: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Taylor, N. (2000). *Narcotics: Nature's dangerous gifts*. New York: Dell.
- *The Merck Index* (12nd Ed.). (1996). New York. USA: Merck and Co.

Experiencia práctica 5

Química farmacéutica. Extracción de una mezcla ácido-base: aspirina, cafeína y fenacetina

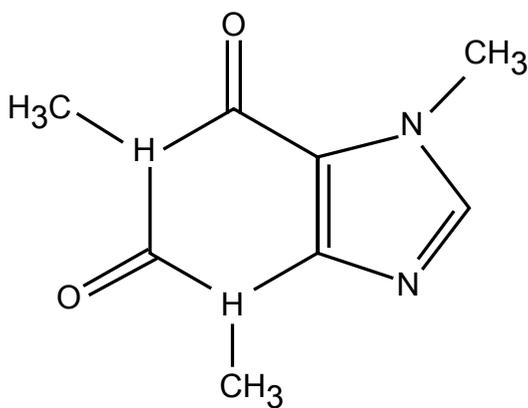
En esta experiencia práctica separaremos por extracción, los componentes de una mezcla analgésica.

A pesar de la introducción de nuevos fármacos, el ácido acetilsalicílico (aspirina), es el antiinflamatorio y analgésico-antipirético más indicado por los médicos y constituye el compuesto estándar en la comparación y evaluación de otras drogas. La aspirina es el analgésico más ampliamente usado por su eficacia y venta abierta en farmacias. Forma mayoritariamente placas alargadas monoclinicas. Su punto de fusión es 135 °C; es inodoro y en la humedad del aire, es hidrolizado gradualmente a ácidos salicílico y acético. Es estable en atmósfera seca. Un gramo se disuelve en 300 mL de agua a 25 °C, en 100 mL de agua a 37 °C, en 5 mL de alcohol y 17 mL de cloroformo a 25 °C. Se descompone en agua hirviendo o cuando se disuelve en soluciones alcalinas de hidróxidos y carbonatos.



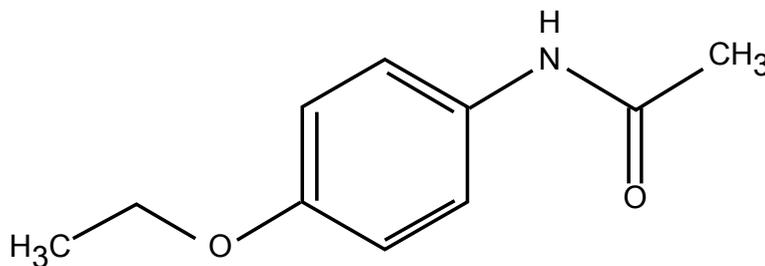
Ácido acetilsalicílico

La cafeína es un alcaloide presente en el té, café, mate, guaraná yoco y nueces de cola (ver introducción de la experiencia práctica 2), que posee acciones estimulantes sobre el sistema nervioso central y genera adicción y tolerancia; también estimula las frecuencias cardíaca y respiratoria y la función renal. La cafeína es muy soluble en agua caliente, soluble en alcohol, éter, cloroformo. Su punto de fusión es 235 °C y sublima a 176 °C.



Cafeína

La **fenacetina** (acetofenetidina) fue una de las drogas analgésicas introducidas en terapéutica en 1887, fecha a partir de la cual fue ampliamente usada en mezclas analgésicas, hasta que se descubrió que intervenía en nefropatía por abuso de analgésicos. Forma cristales, escamas o polvo, con punto de fusión 134-135 °C, es muy poco soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol, éter, cloroformo y soluble en glicerol.



Fenacetina

Procedimiento experimental

I. Tratamiento de la mezcla y obtención de los extractos de aspirina, fenacetina y cafeína

1. Pese la mezcla en polvo que contiene 0,5 g de aspirina, 0,25 g de fenacetina y 0,15 g de cafeína, para un peso total de 1,00 g de mezcla.
2. Disuelva la mezcla en 50 mL de diclorometano.
3. Transfiera la mezcla disuelta en diclorometano a un embudo de extracción.
4. Extraiga utilizando 25 mL de HCl 4M, separe la capa acuosa (capa superior) y retorne la capa de diclorometano al embudo.
5. Repita la extracción usando 25 mL de HCl 4M y combine los extractos acuosos, regresando la capa clorofórmica al embudo de separación.
6. Rotule los extractos acuosos reunidos como “Extracto de cafeína”.
7. Extraiga la solución de diclorometano dos veces, usando porciones de 25 mL de NaHCO₃ 0,5M y combine los extractos acuosos rotulándolos como “Extracto de aspirina”. Guarde la solución clorofórmica en otro frasco y rotúlelo como “Extracto de fenacetina”.

Nota

Es preferible utilizar diclorometano en lugar de cloroformo como solvente extractor; aunque un poco menos eficiente, posee menor toxicidad que el cloroformo.

II. Aislamiento de la aspirina

Si la aspirina se deja en contacto con la base extractora (solución acuosa de NaHCO₃ 0,5M) por mucho tiempo, la droga sufre hidrólisis. Para evitar esta transformación de la aspirina, el aislamiento debe iniciarse tan pronto como sea posible.

1. Transfiera el extracto de aspirina a un embudo de separación usando una pequeña cantidad de agua destilada para lavar el recipiente que la contiene y asegurar una transferencia cuantitativa.
2. Acidifique esta solución con la mínima cantidad de HCl 5M (hasta obtener pH ácido = 5). Agite suavemente el embudo después de cada adición de ácido para remover el CO₂ producido.

3. Extraiga la solución usando 20 mL de diclorometano y repita con 15 mL más del mismo solvente. Combine los dos extractos orgánicos y deseche la fase acuosa.
4. Seque los extractos orgánicos con Na_2SO_4 o MgSO_4 anhidros y filtre la solución a través de lana de vidrio en un balón para destilación, previamente pesado con unas cuantas piedras de ebullición. Lave la lana de vidrio con 10 mL de diclorometano.
5. Destile la solución a sequedad usando un baño de agua.
6. Pese el balón para determinar la masa de aspirina recuperada.
7. Determine el punto de fusión y compare con el valor que reporta la bibliografía.

III. Aislamiento de la cafeína

1. El extracto de cafeína generalmente contiene una pequeña cantidad de fenacetina, la cual ha sido extraída simultáneamente con la cafeína. Para remover esta fenacetina, agite el extracto de cafeína con 20 mL de diclorometano en un embudo de separación. Separe la fase orgánica y combínela con el extracto de fenacetina obtenido previamente.
2. Filtre la capa acuosa a través de un papel de alta porosidad. Lave el papel con agua destilada.
3. Adicione NaOH 5M hasta obtener un pH alcalino de 9.
4. Extraiga dos veces con 15 mL de diclorometano.
5. Seque con MgSO_4 anhidro.
6. Filtre en un balón de destilación previamente pesado.
7. Destile hasta sequedad en baño de agua.
8. Pese de nuevo el balón y determine la masa de cafeína recuperada.
9. Mida el punto de fusión.

IV. Aislamiento de la fenacetina

1. Seque el extracto de fenacetina (el cual contiene la fenacetina extraída del extracto de cafeína) con MgSO_4 anhidro.
2. Filtre la solución empleando como recipiente colector, un balón de destilación con piedras de ebullición, conjunto previamente pesado. Lave el papel de filtro con 10 mL de diclorometano.

- Destile a sequedad en un baño de agua.
- Pese el balón de destilación y determine la masa de fenacetina recuperada.
- Determine el punto de fusión de la fenacetina.
- Calcule el porcentaje de recuperación de cada uno de los tres componentes.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

Los analgésicos comerciales Anacín® y Dolvirán® tienen la composición señalada en la siguiente tabla. Diseñe un esquema de separación en cada caso.

Analgésico	Composición
Anacín® (tabletas)	Ácido acetilsalicílico 500 mg Cafeína 300 mg
Dolvirán® (tabletas)	Ácido acetilsalicílico 0,4 g Fosfato de codeína 0,01 g Cafeína 0,05 g

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada de Haddad y Rasmussen (1976).

Referencias bibliográficas

- Haddad, P. & Rasmussen, M. (1976). *J. of Chem Education*, 53 (11), 731.
- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, L. S. y Gilman, A. (2005). *Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. (10ª Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Pavia, D. Lampman, G. and Kriz, G. (1986). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company.

Experiencia práctica 6

Química de la visión y del color. Cromatografía en papel y en capa fina de colorantes sintéticos para alimentos

La parte fotosensible del ojo de los animales vertebrados es la retina, la cual recubre los dos tercios posteriores del globo ocular. La retina contiene un gran número de células receptoras, denominadas, según su forma, **bastoncillos** y **conos**. En el ojo humano existen unos 125 millones de bastoncillos y unos 6,5 millones de conos. Además, la retina contiene muchas neuronas sensoriales y conectoras. Sorprendentemente, las células sensoriales están localizadas por detrás de la retina, de tal modo que, para alcanzarlas, la luz tiene que atravesar varias capas de neuronas de conexión.

En un punto de la parte posterior del ojo, los axones individuales de las neuronas sensoriales, se unen para conformar el nervio óptico, que luego sale del globo ocular. En ese punto no existen ni bastoncillos ni conos, razón por la cual se le denomina “punto ciego”: las imágenes que inciden sobre él no pueden percibirse. En el centro de la retina, directamente en línea con el centro de la córnea y el cristalino, se encuentra la zona de mayor agudeza visual del ojo, una pequeña área cóncava llamada **fóvea**; allí están concentrados los **conos** fotosensibles, cuya función es captar las imágenes formadas por luces intensas, percibir los detalles finos y detectar los colores. Los **bastoncillos**, las otras células fotosensibles, son mucho más abundantes en la periferia de la retina; participan en la visión durante la penumbra y en la oscuridad y no son sensibles al color.

La sustancia de la cual depende principalmente la capacidad de ver es la **rodopsina** (también llamada púrpura visual), un pigmento que sólo se encuentra en los bastoncillos, junto a una serie de otros pigmentos químicamente similares a ésta y que se encuentran en los conos. La rodopsina es una molécula formada por una proteína de alto peso molecular llamada **opsina**, unida a un carotenoide, el **retinal** (o retineno) sintetizado a partir de la vitamina A. Existen dos isómeros del retinal: la forma *cis* (11-*cis*) y la forma *trans* (todo-*trans*).

Al incidir la luz sobre la rodopsina, ésta transforma el *cis*-retinal en *trans*-retinal. Este cambio en la conformación estructural de la rodopsina, causa su ruptura en sus componentes: opsina y retinal. El *trans*-retinal formado por acción de la luz, produce metarrodopsina II (y

otros intermediarios), la cual se considera el compuesto clave en la generación de potenciales eléctricos de acción en la transmisión de **impulsos nerviosos** al cerebro. El *trans*-retinal es convertido nuevamente en la forma *cis* por la acción de una enzima y el *cis*-retinal formado se une a la opsina, para regenerar la rodopsina. Esta secuencia de reacciones se conoce como **ciclo visual**.

Cada molécula de rodopsina sólo puede absorber un cuanto de luz y provocar la excitación de un solo bastoncillo. Cuando el ojo se expone a un destello lumínico de una millonésima de segundo, el órgano visual percibe una imagen que dura casi una décima de segundo: durante todo este tiempo la retina sigue estimulada después de haber recibido el destello. Esta persistencia de las imágenes en la retina, permite que el ojo perciba las imágenes sucesivas de una película como si se tratara de una imagen continua; de este modo, lo que en realidad es una serie de fotografías estáticas, se percibe por el ojo humano, como en movimiento.

La capacidad de ver la luz muy tenue, depende de la cantidad de rodopsina presente en los bastoncillos de la retina, esta cantidad depende a su vez, de las proporciones relativas de síntesis y degradación del pigmento. Cuando la luz es intensa, una gran parte de la rodopsina se degrada a retinal y opsina libres. Como la síntesis de rodopsina es un proceso relativamente lento, su concentración en la retina nunca es alta cuando el ojo está expuesto a la luz intensa; por el contrario, si el ojo se protege de la luz, la degradación de rodopsina es más lenta que su síntesis y su concentración aumenta gradualmente. La sensibilidad del ojo a la luz, que depende de la cantidad de rodopsina presente, puede aumentar hasta en un millón de veces, cuando los ojos se adaptan a la oscuridad durante un período de una hora.

La función primordial de los conos, es la captación del color. Existen tres tipos diferentes de conos que poseen tres pigmentos diferentes y que responden a la luz azul, verde y roja como receptores. Cada tipo de pigmento reacciona a una considerable gama de longitudes de onda. Los conos verdes son receptores de los colores azul, verde, amarillo, naranja y rojo, aunque reaccionan a la luz verde con mayor intensidad. Los colores intermedios, excepto rojo, verde y azul, se perciben a través del estímulo simultáneo de dos o más tipos de conos. Los conos rojos son receptores de rojo y amarillo. El daltonismo o ceguera al color, proviene de la falta de uno o más de los tres tipos de conos.

En esta experiencia práctica se separarán los pigmentos de colorantes comerciales de alimentos, los cuales pueden comprarse en cualquier supermercado. Cada uno de estos colorantes está compuesto por una mezcla particular de varios pigmentos. Los colorantes más comúnmente usados en estas mezclas comerciales para alimentos son **Azul No. 2**, **Rojo No. 2** y **Amarillos No. 5** y **No. 6**. Algunos colorantes son tóxicos y promueven el crecimiento de tumores, por esto la mayoría de los países sólo permiten colorear alimentos, fármacos y cosméticos, con colorantes comprobadamente inocuos.

La mayoría de los colorantes añadidos a los alimentos se obtenían de fuentes biológicas naturales; así, antes del descubrimiento de una síntesis para el colorante malva, la primera tinta colorante provenía de la planta *Primula viscosa* L. y, por ejemplo, el color rojo se lograba con el uso de betaninas, pigmentos rojos de la remolacha; el marrón, del azúcar fundido o caramelo; el amarillo de la bixina proveniente del onoto o de β -carotenos de la zanahoria; el verde de clorofilas diversas y el azul de la piel de uvas moradas.

Se puede obtener una amplia variedad de colorantes a partir de fuentes naturales, muchos de los cuales se usan aún hoy en día, pero estos colorantes han sido casi completamente reemplazados por colorantes sintéticos, debido a las varias ventajas que representa su uso.

Los colorantes naturales son susceptibles de degradación por la luz, por el oxígeno o la acción bacteriana, mientras que los colorantes sintéticos son más estables y duraderos. Por otro lado, con el uso de colorantes y tintas sintéticas, se logran colores más intensos, de tal manera que pueden utilizarse en menores cantidades que los naturales para lograr un mismo color. Finalmente, los colorantes sintéticos se obtienen a través de vías mucho más económicas que los naturales.

En realidad, no existe ninguna razón tecnológica o nutricional que justifique una necesidad en el uso de los colorantes en alimentos. Hay aditivos como vitaminas y minerales que reemplazan pérdidas ocurridas durante el procesamiento; preservantes que evitan la oxidación o invasión bacteriana y fúngica, emulsificantes y engrosadores que mejoran la textura, etc.; pero los colorantes no son de ninguna manera, indispensables. Es sólo un asunto de mercadeo: el industrial y el proveedor saben que la apariencia a la vista de un producto, afectará su venta. De hecho, algunos colorantes se utilizan para engañar al consumidor: los

colorantes amarillos empleados en mezclas para tortas y pastas sugieren un mayor contenido de huevos, los colorantes rojos hacen creer que la carne es muy fresca.

En los años 1900 se usaban más de 90 colorantes en los alimentos: no existían regulaciones gubernamentales en ningún país y los mismos colorantes que se empleaban para teñir telas, podían usarse en los alimentos. La primera legislación al respecto surgió en 1906, cuando se decidió en Estados Unidos de Norteamérica que el uso de colorantes comprobadamente dañinos a la salud, debía eliminarse. Posteriormente se aprobaron 15 colorantes de alimentos y se les asignó un código numérico FDC a cada uno. Desde estos tiempos, muchas investigaciones han demostrado que varios de estos colorantes son tóxicos, que pueden causar defectos de nacimiento, problemas cardíacos o que son cancerígenos y en la actualidad, existe una fuerte controversia sobre su uso.

I. Cromatografía en papel de colorantes de alimentos

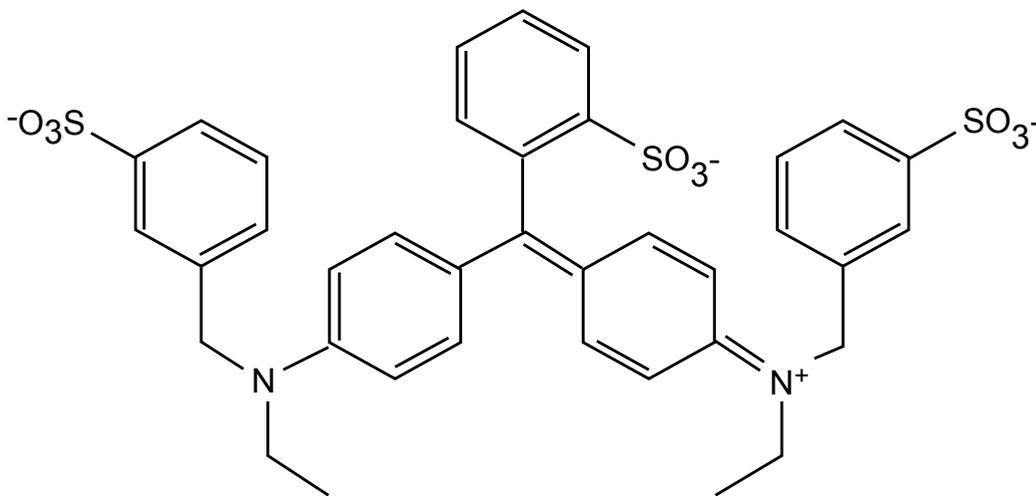
Materiales

- 12 micropipetas capilares
- 90 mL de solvente eluyente formado por
 - 30 mL de NH_4OH 2N.
 - 30 mL de 1-pentanol.
 - 30 mL de etanol absoluto.
- Papel de filtro Whatman No. 1 lámina de 12 cm x 24 cm.
- Soluciones acuosas al 2 % de
 - Rojo No. 2 (amaranto).
 - Azul No. 2 (índigo carmín).
 - Amarillo No. 5 (tartrazina).
 - Colorantes comerciales para alimentos (repostería) color uva, marrón, verde, azul, amarillo, rojo, negro, naranja.
- Cilindro graduado de 100 mL.
- Vaso precipitado de 250 mL.
- Colorantes comerciales para alimentos.
- Portaobjetos para microscopio.

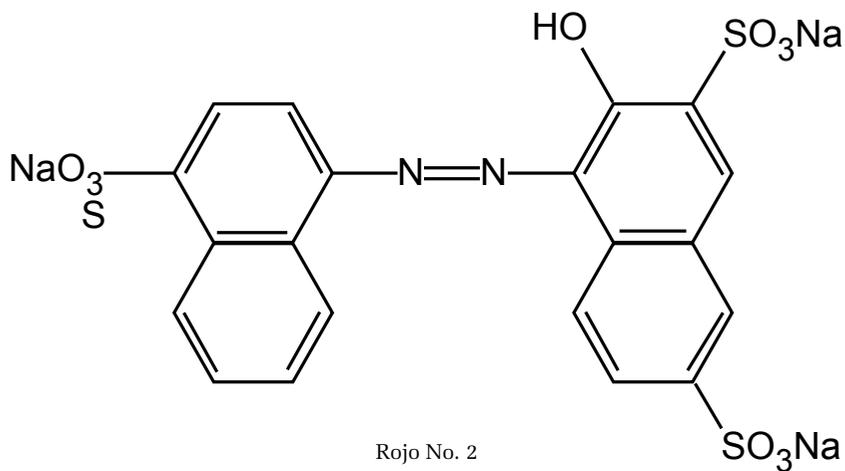
Procedimiento experimental

1. Mezcle bien los componentes del solvente eluyente en el cilindro graduado de 100 mL y viértalo en la cámara de desarrollo (vaso de precipitado). Tape bien con papel de aluminio y permita que la cámara de desarrollo se sature con los vapores del eluyente.
2. Usando un lápiz (no un bolígrafo), trace una línea de 24 cm a unos 2 cm del borde del lado más largo de la hoja de papel. Con una regla graduada en centímetros, mida y marque dos líneas a 2 cm del borde del lado corto del papel. Luego haga 9 marcas a intervalos de 2 cm a lo largo de la línea trazada sobre el lado más largo del papel. En estas posiciones serán aplicadas las muestras a ensayar.
3. Comenzando de izquierda a derecha, aplique los colorantes de referencia Rojo No. 2 (amaranto), Azul No. 2 (índigo carmín) y Amarillo No. 5 (tartrazina). Recuerde que las aplicaciones se deben hacer lo más pequeñas posible, de 1 a 2 mm de diámetro, y que no debe sobrecargarse el papel. Si se cometen errores en este aspecto, las manchas separadas formarán “colas”, se verán alargadas y se superpondrán unas con otras después del desarrollo.
4. En las seis posiciones aplique los colorantes comerciales para alimentos. Se sugiere utilizar rojo, azul, amarillo y verde de una misma marca y comparar éstas con dos de otra marca comercial. Para tomar las muestras, vierta una gota del colorante sobre un portaobjetos y luego utilice la micropipeta capilar.
5. Al haber aplicado las muestras, permita que éstas se sequen sobre el papel con las aplicaciones hacia abajo; enróllelo y una los extremos con dos grapas. Cuando las muestras aplicadas sobre el papel estén bien secas, coloque el papel enrollado dentro de la cámara de desarrollo, tápela y espere hasta que el solvente ascienda al extremo superior del papel. Esto tomará aproximadamente 40 minutos.
6. Cuando el solvente haya ascendido hasta una distancia tal que quede a 1 cm del borde superior del papel, saque el papel rápidamente y marque el frente del solvente usando un lápiz.
7. Permita que el cromatograma se seque. Luego, usando una regla graduada en milímetros, mida la distancia que cada mancha ha recorrido desde el punto de aplicación respectivo y calcule su R_f .

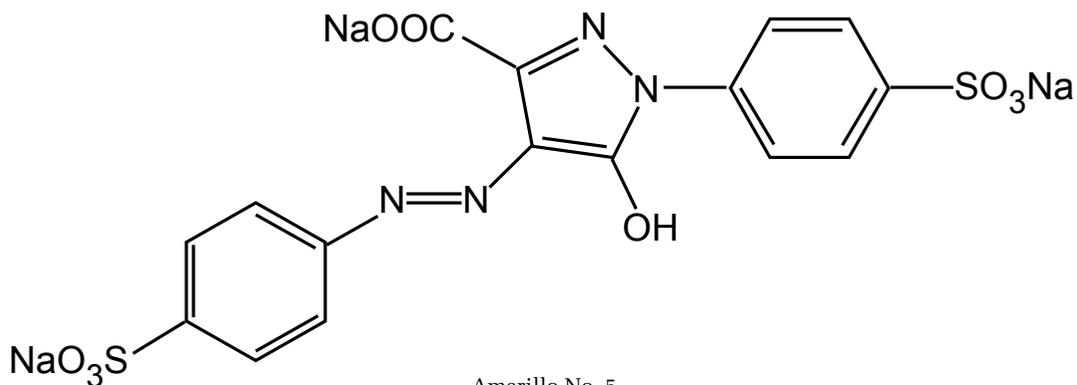
8. Usando la lista de colorantes sintéticos para alimentos y los colorantes de referencia o patrones, intente determinar qué colorantes particulares se usaron para formular los colorantes de alimentos comerciales que ensayó. Examine las botellitas de colorantes comerciales en busca de alguna información adicional.



Azul No. 2



Rojo No. 2



Amarillo No. 5

III. Cromatografía en capa fina de colorantes de alimentos

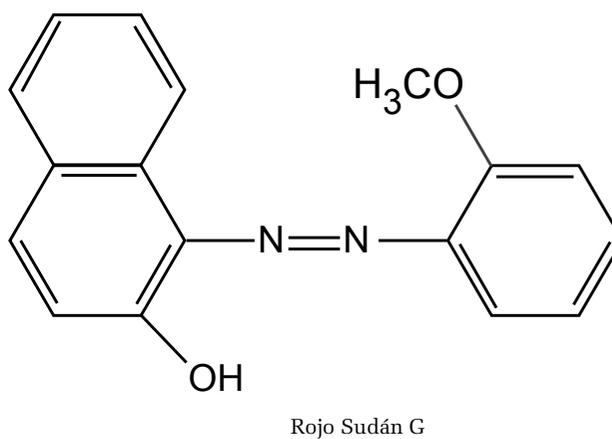
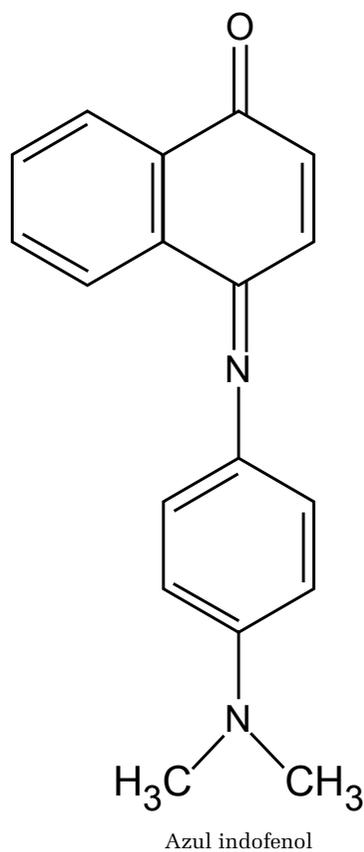
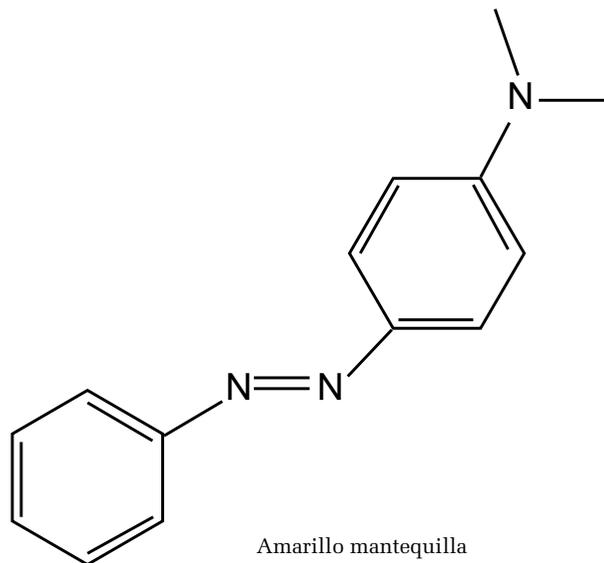
Materiales

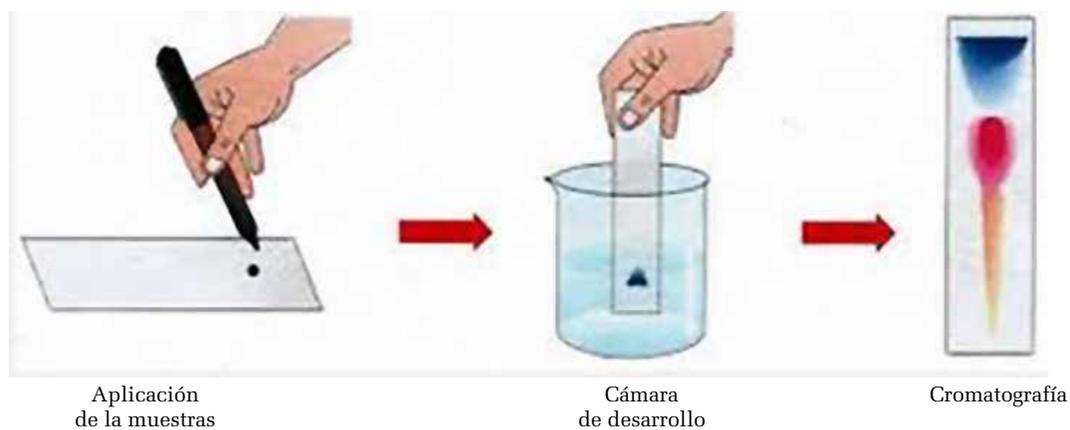
- Portaobjetos para microscopio.
- Papilla de sílica gel G.
- Cámara de desarrollo.
- Micropipetas capilares.
- Rojo Sudán G.
- Azul indofenol.
- Amarillo mantequilla.
- Cloroformo 10 mL.
- Ciclohexano 8,5 mL.
- Acetato de etilo 1,5 mL.
- Colorantes comerciales para repostería.

Procedimiento experimental

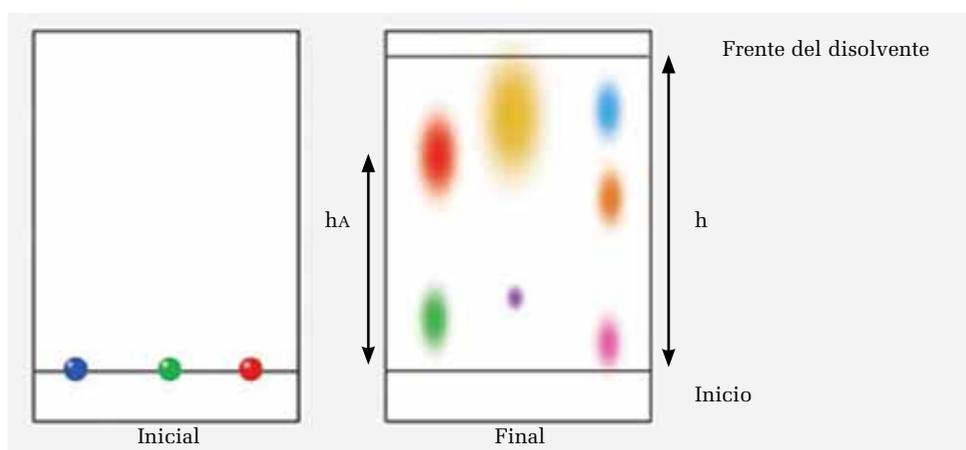
1. Prepare tres placas para cromatografía de capa fina usando tres portaobjetos para microscopio y una papilla de sílica gel G (preparada según la guía de laboratorio del Prof. Hugo Martínez).
2. Usando una micropipeta capilar, aplique una mezcla de los colorantes rojo Sudán G, azul indofenol y amarillo mantequilla, y cada colorante por separado, en las placas.
3. Desarrolle la primera placa en diclorometano como solvente. Cuando el solvente haya
ascendido hasta una distancia aproximada de 0,5 cm del borde superior de la placa, sáquela y marque con un lápiz el frente del solvente. Deje secar la placa.
4. Prepare una cámara de desarrollo con una mezcla de 8,5 mL de ciclohexano y 1,5 mL de acetato de etilo. Desarrolle la segunda placa en este solvente. Ensayar con acetato de etilo-metanol 7:3 y con acetona-éter de petróleo 7:2. como solventes de desarrollo.
5. Observe que el acetato de etilo es capaz de formar puentes de hidrógeno. También,

el rojo Sudán es capaz de formar puentes de hidrógeno internos. El oxígeno forma puentes de hidrógeno más fuertes que los que puede formar el nitrógeno. Un solvente capaz de formar puentes de hidrógeno, puede interferir con los puentes de hidrógeno internos.

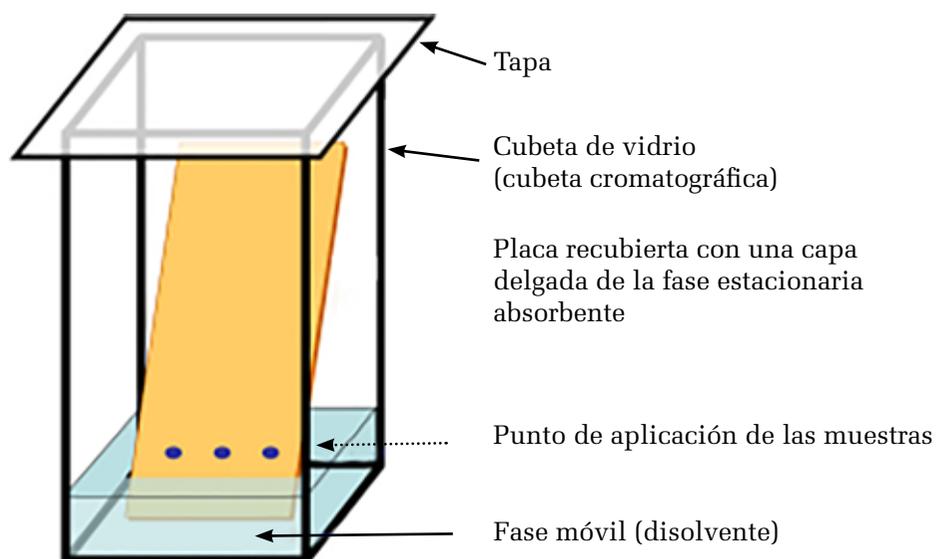




Esquema ilustrativo de la técnica de cromatografía en papel



Placa de cromatografía en capa fina



Cámara de desarrollo cromatográfico

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. Discutir los valores de R_f de los colorantes de alimentos estudiados, en función de: la polaridad de la fase estacionaria (en cromatografía de papel, agua soportada entre las fibras de celulosa y adsorbente sólido utilizado en cromatografía de capa fina), la polaridad de los colorantes (inferida de su fórmula estructural) y la polaridad del solvente de desarrollo empleado en cada caso.
2. Investigar la estructura del adsorbente empleado en cromatografía de capa fina.
3. Discutir la información que puede obtenerse de cada mancha observada en los cromatogramas: posición (R_f), forma e intensidad de color.
4. ¿Cuáles colorantes son polares, medianamente polares y apolares?

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de Pavia et al. (2000).

Referencias bibliográficas

- Hill, J. W. and Kolb, D. K. (1999). *Chemistry for Changing Times*. (8th Ed.) New York: Prentice Hall Inc.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.

Experiencia práctica 7

Extracción y estudio cromatográfico de pigmentos vegetales

Un **pigmento** es un compuesto químico que presenta color pues absorbe y emite selectivamente luz del espectro visible en determinadas longitudes de onda, tales que, la luz reflejada se corresponde con ese color. Su capacidad de absorción y emisión de radiación visible, se explica a través de la excitación de electrones ubicados en los estados electrónicos basales que absorben energía en forma de luz y sufren transiciones a estados de mayor energía, inestables, desde los cuales emiten cuantos de luz para ubicarse en estados electrónicos inferiores, de mayor estabilidad. La estructura química de las sustancias coloreadas o pigmentos, corresponde a sistemas altamente conjugados con numerosos enlaces dobles alternados con enlaces sencillos y también a numerosos átomos de O o N con electrones libres.

Los pigmentos vegetales, compuestos químicos que dan color a hojas, flores y frutos, se pueden clasificar en dos grandes grupos:

1. **Pigmentos vegetales liposolubles**, que comprende a las clorofilas y los carotenoides, y
2. **Pigmentos vegetales hidrosolubles**, grupo que incluye a los flavonoides y las betalaínas.

Las **clorofilas** confieren la coloración verde característica de las plantas y tienen la importante función de ser mediadoras en la fotosíntesis. Constituyen un grupo de pigmentos presentes en plantas con semilla, helechos, musgos y algas. Se encuentran en estructuras denominadas tilacoides dentro de los cloroplastos. En las plantas están presentes las clorofilas a y b; las algas presentan clorofilas a y c y algunas cianobacterias, poseen clorofilas d y f.

Xantofilas y **carotenos**, son compuestos químicos que pertenecen al grupo de los carotenoides. Las **xantofilas** son tetraterpenos, presentes en muchas plantas y algas, que también poseen funciones fotosintéticas. Estos pigmentos confieren coloraciones amarillas y pardas a las hojas secas.

Los **carotenos** son pigmentos amarillos, rojos y anaranjados, cuya función en las plantas es la de actuar como protectores antioxidantes. El β -caroteno, provitamina A, pigmento de la zanahoria (*Daucus carota* L.), se transforma por oxidación en retinal, el cual se conjuga con la proteína opsina, principal pigmento fotosensible de la retina. El licopeno presente en el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) también es un caroteno. Ambos compuestos, β -caroteno y licopeno, poseen estructuras químicas altamente conjugadas.

Las **antocianinas**, pigmentos de flores, frutos y hojas, son flavonoides, glucósidos de las antocianidinas, que presentan coloraciones rojas, azules y moradas dependiendo del pH; por ejemplo, la cianina en medio ácido existe en forma de una estructura catiónica protonada que es de color rojo, mientras que en medio básico, la estructura aniónica es azul. Los factores que determinan la coloración de las flores son: 1- la naturaleza y concentración de las antocianinas, 2- su estado iónico en solución el cual es afectado por el pH y 3- la presencia de otras sustancias llamadas copigmentos que estabilizan al pigmento. Las antocianinas se acumulan dentro de vacuolas en las células vegetales y poseen funciones diversas como protección de la planta contra radiación ultravioleta de alta energía y atracción de polinizadores y de dispersores de semillas.

Las **betalaínas** son pigmentos vegetales protectores antioxidantes. La betacianina y la betaxantina, pigmentos presentes en la remolacha (*Beta vulgaris* L.) pertenecen a este grupo. La betacianina o betanina es de color rojo violáceo y la betaxantina es anaranjada.

Nota

Ver introducción teórica de la experiencia práctica 6, Química de la visión y el color.

Procedimiento experimental

1. Preparación de extractos de pétalos de rosas rojas (*Rosa gallica L.*)

Picar los pétalos en pedazos pequeños, triturar bien en un mortero una pequeña porción del solvente mezcla etanol-agua 7:1 acidificado con ácido acético hasta alcanzar un valor de pH=3. Esto permitirá extraer las formas ácidas catiónicas de las antocianinas presentes en los pétalos de rosas. Someter a reflujo durante 20 a 30 minutos. Efectuar también una extracción en mezcla etanol-agua 1:1 alcalinizada con solución de hidróxido de sodio hasta un valor de pH=10, para obtener las formas básicas aniónicas de las antocianinas.

2. Preparación de extractos de hojas de repollo morado (*Brassica oleracea L. var capitata*)

Proceder de manera idéntica a la preparación de los extractos de pétalos de rosas rojas.

3. Preparación de extracto de remolacha (*Beta vulgaris L.*)

Picar en pedazos pequeños el material vegetal y triturar bien en un mortero. Moler con el mazo, adicionando una mezcla etanol-agua 1:1. Transferir todo el material (sólido más líquido) a un balón de destilación y añadir 2 o 3 piedras de ebullición. Insertar un condensador verticalmente sobre el balón y someter a reflujo sobre un baño de agua hirviente, hasta que se observe que las partes sólidas se han decolorado completamente, tornándose blancas. Este proceso puede tardar unos 20 minutos. Dejar enfriar y filtrar con algodón para obtener el extracto coloreado.

4. Preparación de extractos de hojas de espinaca (*Spinacea oleracea L.*), perejil (*Petroselinum crispum L.*) o acelga (*Beta vulgaris subsp. vulgaris*)

Picar en pedazos pequeños las hojas del material fresco con tijeras. Triturar y moler en mortero con suficiente acetona o éter de petróleo-etanol 2:1, para obtener unos 3 mL del extracto. Decantar en un tubo de ensayo y concentrar en baño de agua. Las clorofilas, pigmentos verdes mayoritarios en las hojas y las xantofilas también presentes en hojas, son pigmentos apolares y por ello requieren un solvente de extracción apolar.

Cromatografía en papel. Solventes de desarrollo o elución:

- a. mezcla acetona-agua 9:1 y
- b. tolueno-éter de petróleo.

Sobre un rectángulo de papel de filtro de 15 cm por 10 cm, doblado en “V” (para que se sostenga dentro de la cámara de desarrollo), se aplica en forma de banda continua el extracto vegetal, de 5 a 8 veces, esperando que se seque o evapore el solvente (o usar secador de pelo) en cada aplicación.

Cromatografía en capa fina. Solventes de desarrollo:

- a. éter de petróleo-acetona 7:2,
- b. éter de petróleo-etanol 2:1 y
- c. éter de petróleo-acetona-éter etílico 6:2:2.

Aplicar 5 gotas del extracto, permitiendo secar antes de cada aplicación.

5. Preparación de extracto de semillas de onoto (*Bixa orellana* L.)

Triturar 20 g de semillas de onoto y moler en mortero con éter de petróleo. Preparar otro extracto con el mismo procedimiento, empleando cloroformo. Decantar el líquido. La bixina, pigmento rojo del onoto, es un compuesto apolar, insoluble en agua, soluble en solventes apolares.

Cromatografía en capa fina. Solventes de desarrollo:

- a. éter de petróleo-acetona 7:2,
- b. tolueno,
- c. diclorometano,
- d. xileno-diclorometano-acetato de etilo 8:3:2 y
- e. diclorometano-ciclohexeno-acetato de etilo 12:2:1.

Observe bajo lámpara UV y luego revele en cámara de yodo.

6. Preparación de extracto de cúrcuma (*Curcuma longa* L.)

Triturar 20 g de polvo del rizoma de la cúrcuma en etanol. Decantar. El pigmento amarillo de la cúrcuma es la curcumina, flavonoide soluble en etanol.

Cromatografía en capa fina. Solventes de desarrollo:

- a. etanol,
- b. tolueno-acetona 7:3 o 6:4,
- c. éter de petróleo-acetona 1:1.

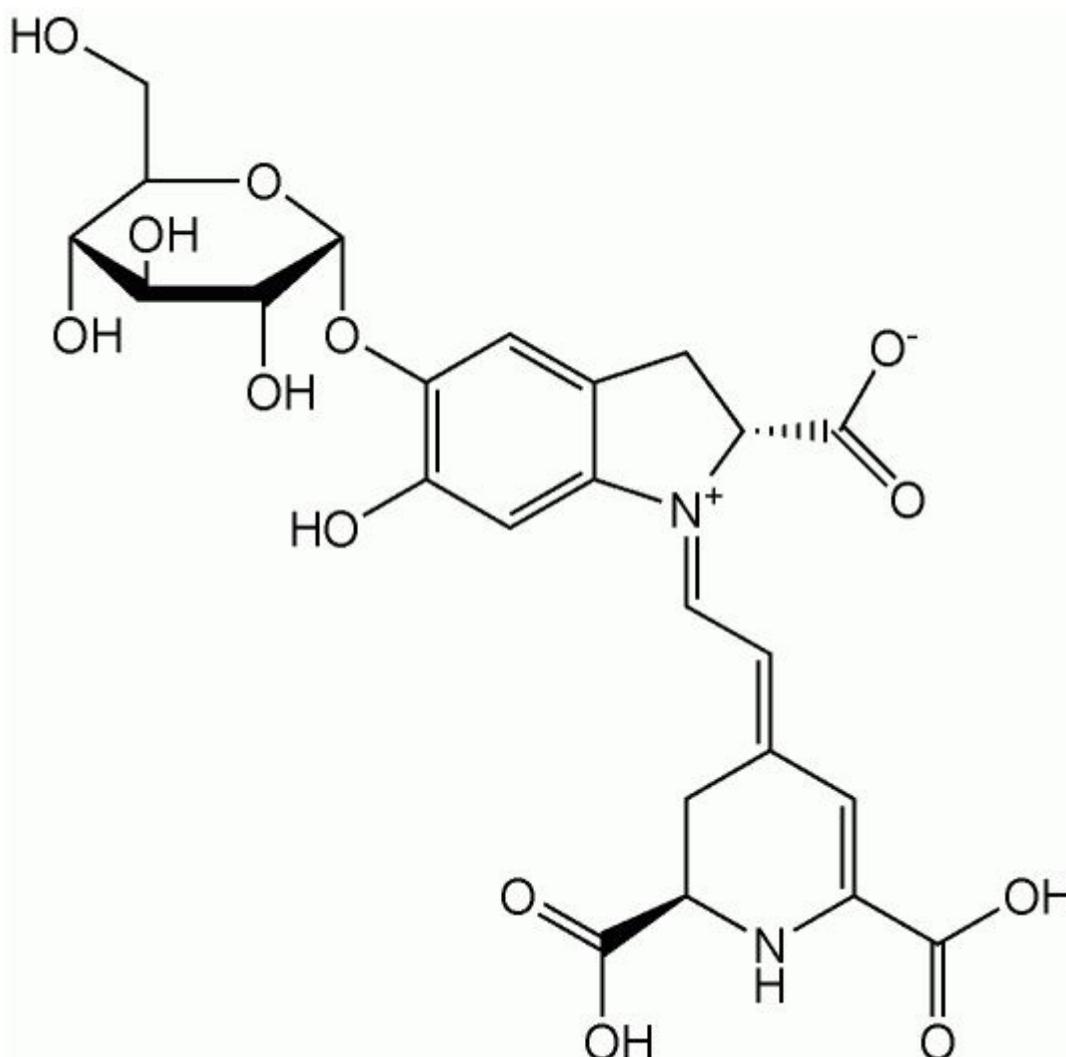
7. Preparación de extracto del pericarpio de uvas moradas (*Vitis vinífera* L.)

Triturar 20 g de piel de uvas moradas y moler con etanol absoluto-agua 1:1. Preparar otro extracto de la misma manera con etanol puro. Decantar el líquido azul obtenido.

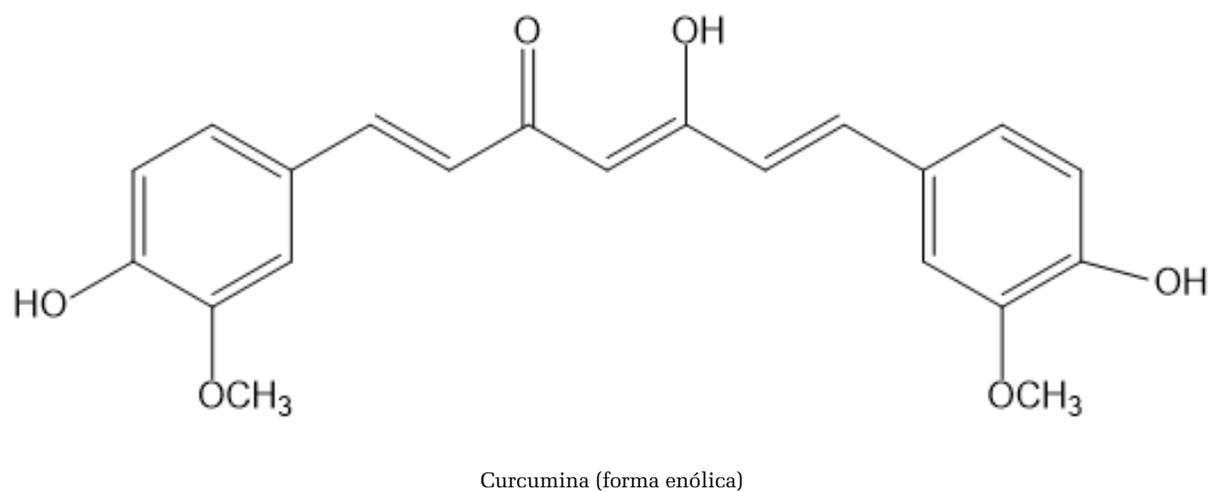
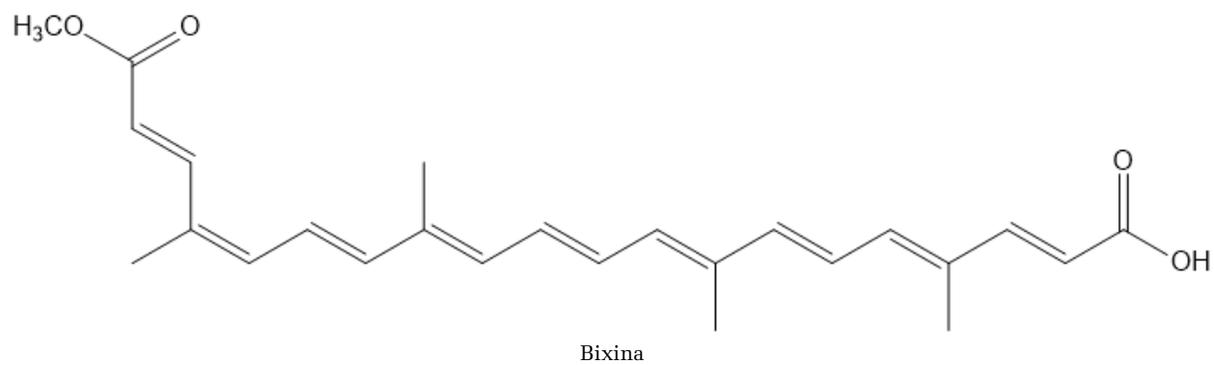
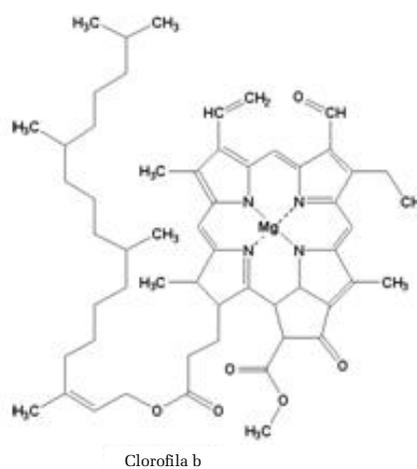
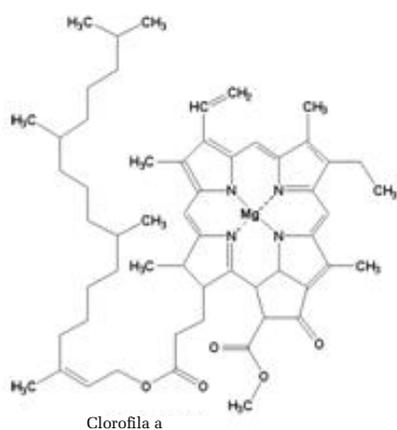
Cromatografía en capa fina. Solventes de desarrollo:

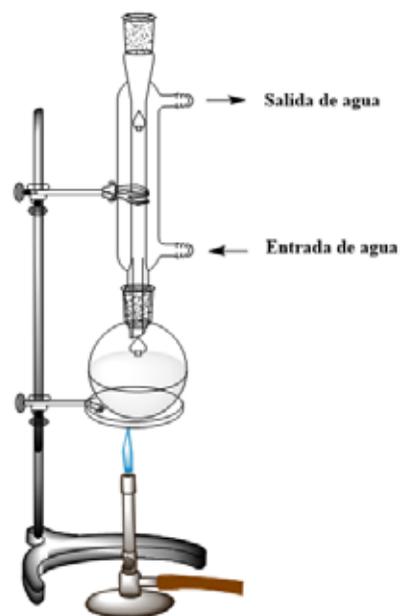
- pentanol y
- alcohol amílico (pentanol) - agua 1:1.

Comparar y discutir los resultados.

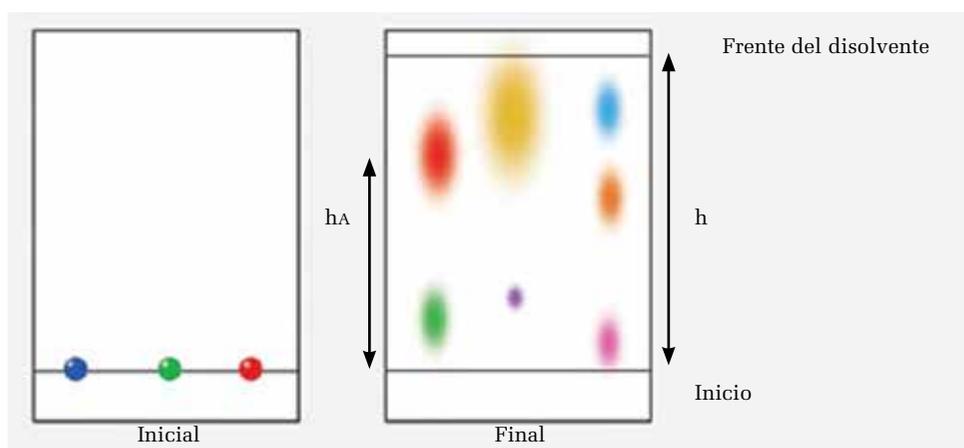


Betanina, betacianina, rojo remolacha

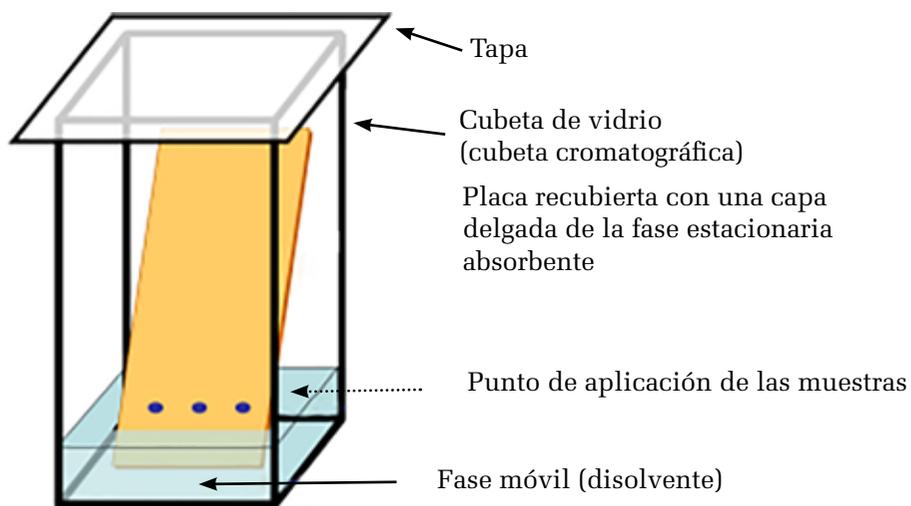




Aparato para reflujo



Placa de cromatografía en capa fina



Cámara de desarrollo cromatográfico

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. Discutir los valores de Rf calculados en función de las polaridades de los pigmentos vegetales (usar fórmulas estructurales para sus inferencias), la polaridad de la fase estacionaria y la polaridad del solvente de desarrollo, este último ítem, con ayuda de la Serie de Elución de von Trappe.

2. Señalar si se observan pigmentos vegetales comunes en las muestras estudiadas.

3. Explicar el funcionamiento de los métodos de revelado utilizados y presentar las reacciones químicas que ocurren.

Referencias bibliográficas

- Domínguez, X. A. (1975). *Cromatografía en Papel y en Capa Delgada*. OEA, Washington. Monografía No 16. Serie de Química.
- Stahl, E. (1979). *Thin Layer Chromatography*. New York: Springer.

Experiencia práctica 8

Cromatografía en capa fina de extractos de cúrcuma, paprika, onoto, chile y curry

El curry o masala es un condimento muy utilizado en la cocina china, india y pakistaní y en general, en la de los pueblos orientales, que se prepara mezclando muchos condimentos exóticos. En esta experiencia vamos a comparar cromatogramas de capa fina de extractos de cúrcuma (rizoma deshidratado molido de la planta *Curcuma longa* L.), chile (polvo del fruto seco de *Capsicum frutescens* L.), paprika (polvo de pimentón rojo seco, *Capsicum annum* L.), onoto o achiote (semilla deshidratada molida de *Bixa orellana* L.) y curry (mezcla de varios condimentos). Estos condimentos contienen los pigmentos coloreados curcumina, β -caroteno, capsaicina, capsantina y capsorrubina y bixina respectivamente.

Nota:

Ver introducción teórica de la experiencia práctica 6, Química de la visión y del color.

Procedimiento experimental

Para todos los extractos emplear:

1. Condimentos en polvo en bolsitas o frasquitos, comprados en supermercados.
Se recomiendan los de la marca Mc Cormick®.
2. Láminas de vidrio (portaobjetos para microscopio) con capa fina de sílica gel.
3. Frascos de compota para bebé cubiertos con papel de aluminio, para usar como cámaras de desarrollo.

Desarrollar el cromatograma, permitir secar y observar las manchas coloreadas. Además, revelar en cámara de yodo y con luz ultravioleta.

I. Cromatografía en capa fina de extracto de paprika (*Capsicum annum* L.)

1. Preparación del extracto

Triturar en mortero 0,5 g de polvo de paprika con 10 mL de CH_2Cl_2 . Macerar 10 minutos. Filtrar por gravedad en embudo de tallo corto con algodón como filtro.

2. Solventes de desarrollo

Emplear de 3 a 5 mL de:

- a. Mezcla diclorometano-etanol 1:1, y
- b. Diclorometano.

II. Cromatografía en capa fina de extracto de onoto (*Bixa orellana* L.)

1. Preparación del extracto

Preparar dos extractos:

- Triturar en mortero 40 g de polvo de onoto con éter de petróleo. Macerar 10 minutos y filtrar con embudo de tallo corto con algodón como filtro.
- Idéntico procedimiento al señalado en *a*, pero empleando diclorometano como solvente.

2. Solventes de desarrollo

- Éter de petróleo-acetona 7:2. y
- Xileno-diclorometano-acetato de etilo 8:3:2.

III. Cromatografía en capa fina de extracto de cúrcuma (*Curcuma longa* L.)

1. Preparación del extracto

Triturar 40 g de cúrcuma en polvo en etanol por varios minutos en mortero, filtrar en embudo tallo corto con algodón como filtro.

2. Solventes de desarrollo

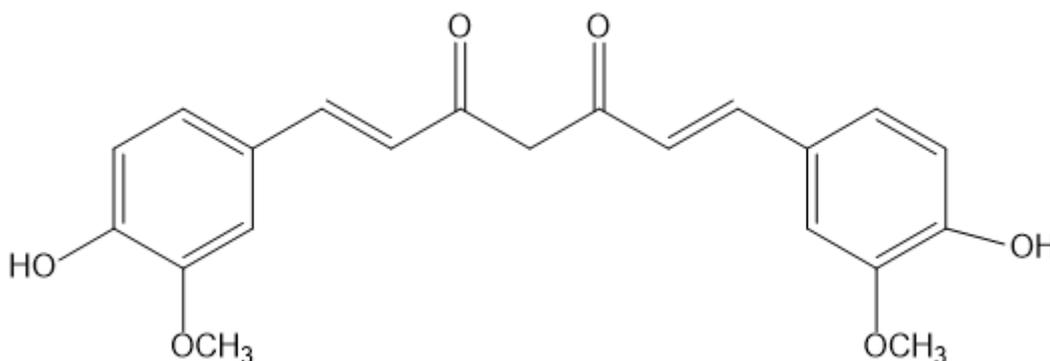
- etanol
- éter de petróleo-acetona 1:1.
- tolueno-acetona 7:3.

IV. Cromatografía en capa fina de extracto de chile (*Capsicum frutescens* L.)

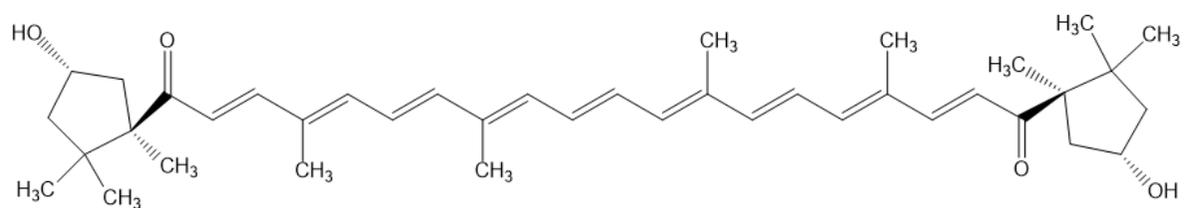
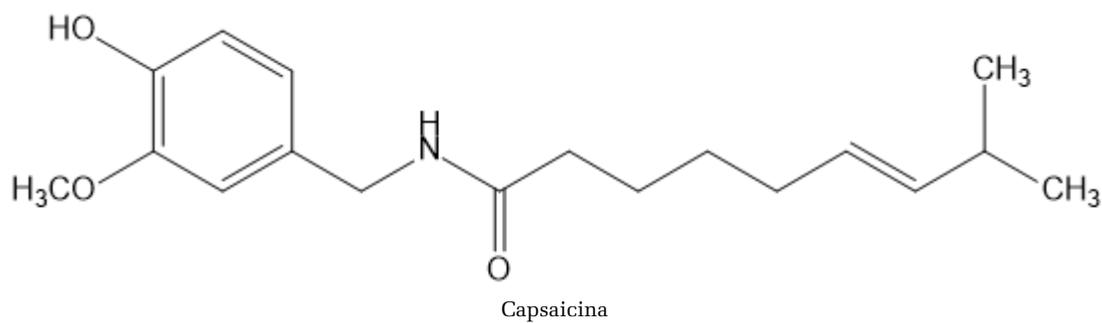
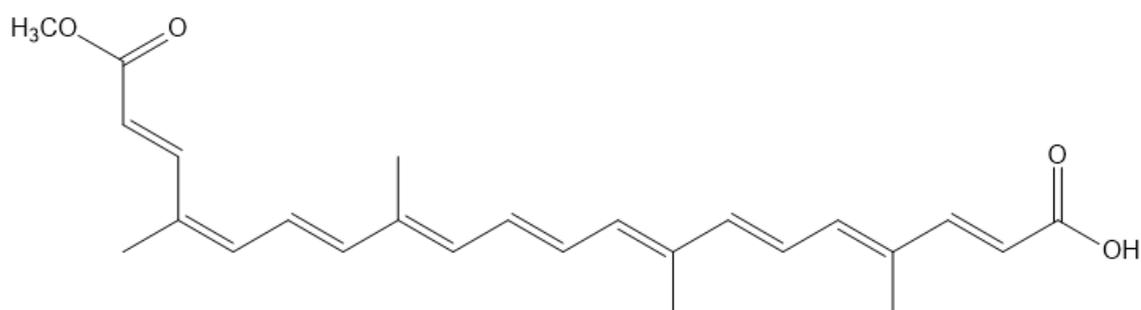
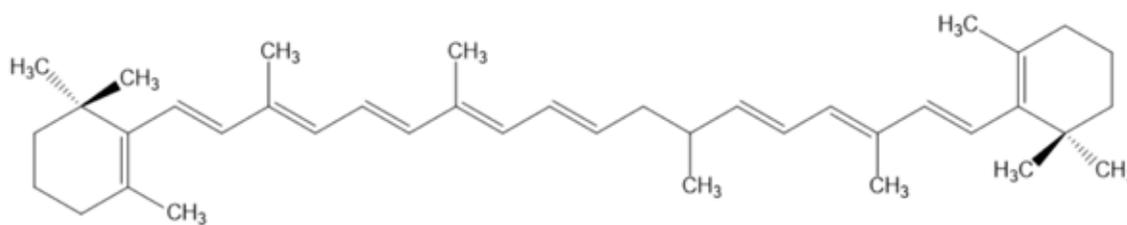
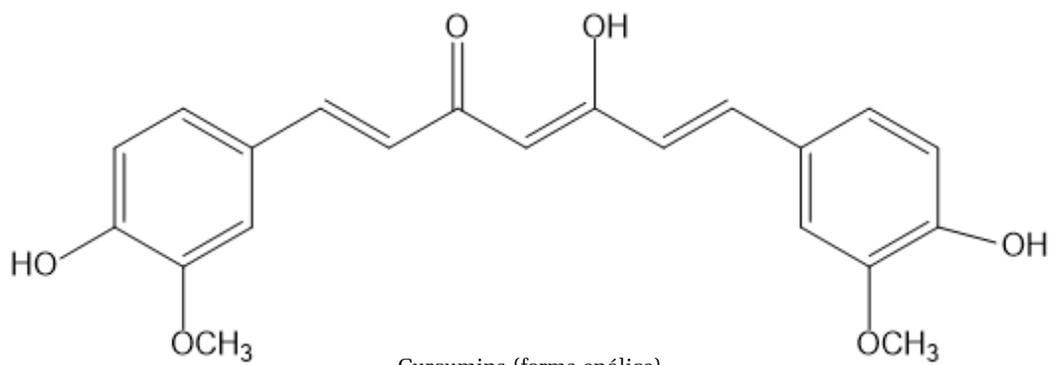
Proceder de manera idéntica a lo señalado en el aparte I.

V. Cromatografía en capa fina de extracto de curry o masala

Proceder de manera idéntica a lo indicado en el aparte I.

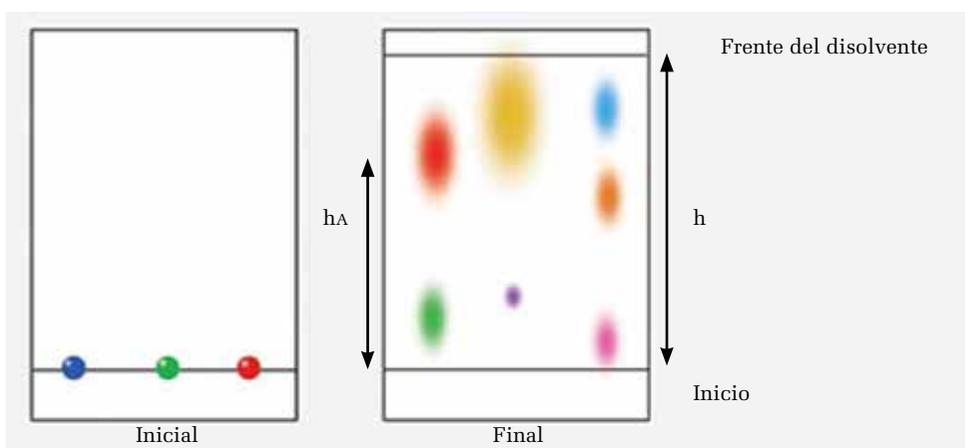


Curcumina (forma cetónica)

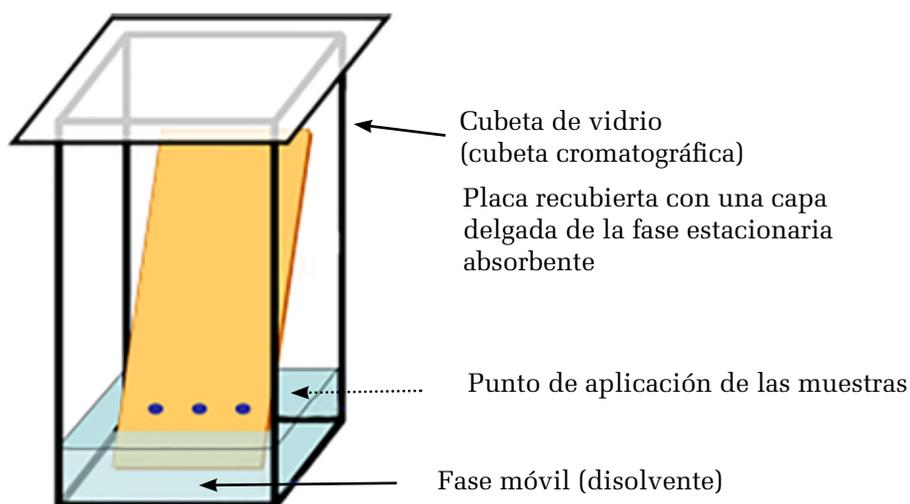


Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. Analizar las estructuras químicas de los pigmentos citados. ¿Por qué son coloreados?
2. Desarrollar cromatogramas con extractos de cúrcuma, onoto, paprika, chile y curry, preparados con CH_2Cl_2 , utilizando como solvente de desarrollo también CH_2Cl_2 . Comparar los resultados.
3. Discutir los valores de R_f en cada caso. Discutir la polaridad de los compuestos químicos estudiados.
4. ¿Puede sugerir algunos componentes del curry a partir de sus resultados experimentales?



Placa de cromatografía en capa fina



Cámara de desarrollo cromatográfico

Notas

1. Se sugiere intentar las separaciones cromatográficas con otros condimentos como pimienta de cayena, pimienta verde y pimienta roja molidas.

2. El sabor picante de las pimientos rojas proviene del alcaloide capsaicina, el cual puede detectarse cuando los extractos se desarrollan con éter dietílico ($R_f \approx 0,5$).

Nota: Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Elder, Abbruzzese, Murray y Zielski (1976).

Referencias bibliográficas

- Abbott, D. y Andrews, R. S. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. (2ª Ed.) España: Editorial Alhambra SA.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. (4ª Ed.) México: Pearson-Addison Wesley.
- Elder, J. W., Abbruzzese, J., Murray, J. and Zielski, M. (1976). Separation of paprika pigments. *Journal of Chemical Education*. 53 (1): 43.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (1998). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Miller, D. D. (2004). *Química de Alimentos*. México: Editorial Limusa SA. Grupo Noriega Editores.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- Stahl, E. (1979). *Thin Layer Chromatography*. New York: Springer.
- Vogel, A. I. (1974). *Practical Organic Chemistry*. (3rd Ed.) London: Longmans.

Experiencia práctica 9

Destilación simple y fraccionada. Química de la fermentación. Biosíntesis de etanol

Los procesos de fermentación involucrados en la manufactura de pan y elaboración de vinos, están entre las artes químicas más antiguas. Aunque el proceso de fermentación era conocido desde siglos atrás, no fue sino hasta el siglo XIX, cuando los químicos comenzaron a comprender este proceso desde el punto de vista científico. En 1810, Gay-Lussac descubrió la ecuación química general que describe la ruptura del azúcar (sacarosa) en etanol y dióxido de carbono. El mecanismo a través del cual el proceso ocurre, fue objeto de muchas conjeturas hasta que Luis Pasteur comenzó su examen y estudio de la fermentación. Pasteur demostró que se requería la presencia de **levadura** para que el proceso de fermentación ocurriera y también identificó otros factores que controlan la acción de las células de levadura, resultados que publicó en 1857 y 1866.

Durante muchos años se mantuvo la creencia de que la transformación del azúcar sacarosa en etanol y dióxido de carbono por la levadura, estaba conectada y era inherente al proceso vital de la célula de levadura. Este punto de vista se abandonó en 1897, cuando Büchner demostró que el extracto de levadura provoca la fermentación alcohólica en ausencia de células de levadura. La actividad fermentadora de la levadura se debe a un catalizador bioquímico notablemente activo, la enzima **zymasa**. En la actualidad se conoce que la mayor parte de las transformaciones químicas que ocurren en las células de plantas y animales, son provocadas por enzimas. Las **enzimas** son compuestos orgánicos, generalmente proteínas, que actúan como catalizadores en las reacciones bioquímicas. La determinación de la estructura química de las enzimas y de los mecanismos de reacción de estos compuestos, es un campo de investigación muy activo en el presente. Actualmente se conoce que la zymasa es un **complejo enzimático** de al menos 22 enzimas separadas, cada una de las cuales cataliza un paso específico en la secuencia de reacciones del proceso de fermentación.

Las enzimas actúan con una especificidad extraordinaria: una enzima particular actúa sólo sobre un compuesto o sobre un grupo específico de compuestos. De esta manera, la zymasa actúa sólo sobre unos pocos azúcares específicos y no sobre todos los carbohidratos; las enzimas del tracto digestivo son igualmente específicas en su actividad.

Las principales fuentes de azúcares para fermentación son los almidones y los residuos de melaza obtenidos de la refinación del azúcar. El maíz es una de las principales fuentes de almidón y alcohol etílico, conocido comúnmente como “alcohol de grano”. En la preparación del alcohol a partir del maíz, el grano, con o sin germen, se muele y se cocina para producir un puré o “masa”. La enzima diastasa se adiciona en forma de **malta** (brotes de cebada que han sido secados al aire a 40 °C y molidos hasta polvo) o en forma de un **hongo** tal como *Aspergillus orizae*. La mezcla se mantiene a 40 °C hasta que todo el almidón se haya convertido en el azúcar maltosa, por la hidrólisis de los enlaces éter y acetal. Esta solución se conoce como “wort”.

El “wort” se enfría a 20 °C, se diluye con agua a una solución 10 % en maltosa y se adiciona un cultivo puro de levadura. El cultivo de levadura es generalmente una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (o *ellipsoideus*). Las células de levadura secretan dos sistemas enzimáticos: **maltasa**, la cual convierte la maltosa en glucosa y **zymasa**, la cual convierte la glucosa en dióxido de carbono y alcohol etílico.

En estos procesos se libera calor; la temperatura debe mantenerse por debajo de 32 °C, enfriando, para prevenir la destrucción de las enzimas termolábiles. Inicialmente, se necesita oxígeno en grandes cantidades para la reproducción óptima de las células de levadura, pero la producción de alcohol es anaeróbica. Durante la fermentación, la evolución del CO₂ pronto establece condiciones anaeróbicas. Si el oxígeno fuese asequible libremente, sólo se producirían CO₂ y H₂O.

Después de 40 a 60 horas, la fermentación es completa, y el producto se destila para separar el etanol del material sólido. El destilado se fracciona por medio de una columna eficiente. El primer destilado es una pequeña fracción de acetaldehído (punto de ebullición: 21 °C) y a continuación se destila etanol al 95 %. Las fracciones de destilado de punto de ebullición superior contienen un aceite (“fuse oil”) que consiste en una mezcla de alcoholes superiores, principalmente 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, y 2-metil-1-butanol. La composición exacta de este aceite varía considerablemente y depende particularmente del tipo de materia que se fermenta. Estos alcoholes superiores no se forman por fermentación de la glucosa, sino que se generan de ciertos aminoácidos derivados de las proteínas presentes en la materia prima y en la levadura. Estos aceites mezclas de alcoholes

superiores, son la causa de los dolores de cabeza (cefaleas) que se asocian generalmente al consumo de bebidas alcohólicas.

El alcohol industrial es alcohol etílico usado para propósitos diferentes a la ingestión. La mayor parte del alcohol comercial se desnaturaliza para evitar el pago de impuestos pues el costo mayor en el precio de las bebidas alcohólicas lo constituyen los impuestos. Los desnaturalizantes hacen que el alcohol no sea adecuado para la ingesta como bebida alcohólica. En el proceso de desnaturalización se emplean metanol, combustible de aviación y otras sustancias tóxicas.

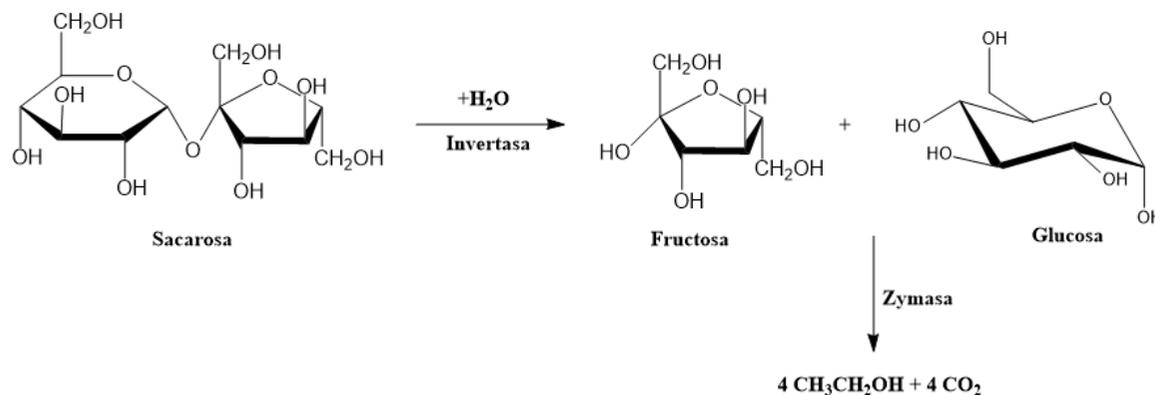
Antes de que se desarrollara un proceso eficiente de síntesis, la principal fuente de alcohol industrial eran las melazas del fermentado negro, residuo no cristizable en la refinación del azúcar de caña. La mayor parte del alcohol industrial se prepara a partir de etileno, un producto del “craqueo” de los hidrocarburos del petróleo.

Las levaduras, los hongos y las bacterias se usan comercialmente para la producción a gran escala de compuestos orgánicos. Un ejemplo importante, en adición a la producción industrial de etanol, es la fermentación anaeróbica del almidón por ciertas bacterias, para producir 1-butanol, acetona, etanol, dióxido de carbono e hidrógeno.

Biosíntesis de etanol (bioetanol)

En este experimento usaremos sacarosa como material de partida, en lugar de maltosa. La sacarosa es un disacárido de fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$, y tiene una molécula de glucosa combinada con una molécula de fructosa. La enzima **invertasa** cataliza la hidrólisis de sacarosa. La **zymasa** se emplea para convertir los azúcares en etanol y dióxido de carbono.

Pasteur había observado que la adición de pequeñas cantidades de sales minerales al medio nutritivo, favorece el crecimiento de la levadura y el proceso de fermentación. Posteriormente, se observó que, previo a la fermentación, los azúcares de hexosa se combinan con ácido fosfórico, y la combinación resultante se degrada luego a dióxido de carbono y etanol. El dióxido de carbono no se desperdicia en el proceso comercial, sino que se convierte en hielo seco.



El proceso de fermentación es inhibido por el etanol, y por esta razón no es posible preparar soluciones fermentadas que produzcan más de 10-15 % de etanol por este método. La obtención y aislamiento de etanol más concentrado se lleva a cabo por destilación fraccionada. El etanol y el agua forman una **mezcla azeotrópica** formada por 95% de etanol y 5% de agua en peso, la cual constituye el etanol más concentrado que puede obtenerse por fraccionamiento de mezclas diluidas etanol-agua.

Instrucciones especiales

Antes de comenzar el experimento deben estudiarse las técnicas de destilación, destilación fraccionada y filtración por succión. El fermentador debe montarse con por lo menos una semana de antelación a la realización de la experiencia práctica de aislamiento de etanol, para asegurarse de que el proceso de fermentación haya ocurrido. En el paso de separación de la solución acuosa de etanol de las células de levadura, es muy importante extraer **MUY CUIDADOSAMENTE** la mayor cantidad del líquido claro sobrenadante, **SIN AGITAR LA MEZCLA**.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

- ¿Por qué se requiere efectuar una trampa de aire en las etapas finales de la fermentación?
- ¿Cómo podría estimarse el porcentaje de agua en el alcohol, calculando la densidad de la solución?
- Investigue cuáles son los métodos usados comercialmente para producir etanol absoluto.

Procedimiento experimental

Coloque 80 g de sacarosa (azúcar granulada común) en una botella de un litro. Adicione 700 mL de agua a temperatura ambiente, 70 mL de solución de sales de Pasteur (la cual consiste en 2,0 g de fosfato de potasio, 0,20 g de fosfato de calcio, 0,20 g de sulfato de magnesio y 10,0 g de tartrato de amonio, disueltos en 860 mL de agua) y 15 g de levadura para tortas. Agite vigorosamente y ajuste el frasco o botella con un tapón de goma monohoradado, con un tubo de vidrio doblado en dos ángulos rectos que conduce a un frasco, vaso de precipitado o matraz Erlenmeyer. Este último recipiente (frasco, vaso de precipitado o matraz Erlenmeyer), debe contener una solución de hidróxido de bario. La solución de hidróxido de bario debe protegerse del oxígeno del aire, añadiendo un poco de kerosén o xylene para permitir la formación de una capa que impida su paso, por encima de la solución de hidróxido de bario. (Ver montaje para fermentación, al final de esta experiencia).

Al desprenderse CO_2 , se formará un precipitado de carbonato de bario en el frasco (vaso de precipitado o matraz Erlenmeyer). En sustitución del vaso o matraz, podría emplearse un globo; el gas CO_2 provocará que el globo se expanda e infle a medida que procede el proceso de fermentación. El oxígeno de la atmósfera se excluye con estas técnicas. Si se permitiera que el oxígeno continuara en contacto con la solución fermentadora, el etanol podría ser posteriormente oxidado a ácido acético o hasta dióxido de carbono y agua. Mientras se esté liberando dióxido de carbono, éste es un indicativo de que se está formando alcohol etílico.

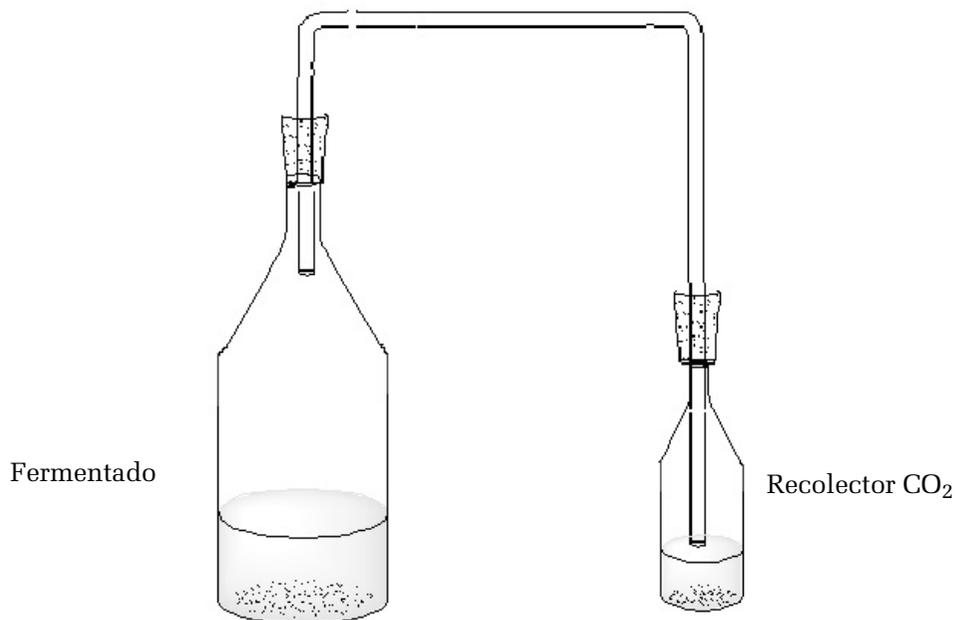
Permita reposar la mezcla a una temperatura de aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$, hasta que se complete la fermentación, cuya señal indicativa es el cese de evolución de gas CO_2 . Generalmente, se requiere de aproximadamente una semana. Después de transcurrida la semana, cuidadosamente mueva la botella al mesón, y bajo campana de extracción, remueva el tapón. Saque el líquido de la botella teniendo cuidado de dejar el sedimento, es decir, decante con cuidado. El procedimiento más adecuado sería elaborar un sistema de sifón con una manguera de goma, llenando una corta sección con agua, presionando el extremo opuesto para cerrarlo y colocando el otro extremo dentro del líquido en la botella. Libere el extremo de la manguera que no está dentro de la botella y sosténgalo por encima del borde del mesón, permita que la solución etanol-agua, caiga en un vaso de precipitado grande. Cuando el nivel del líquido dentro de la botella se acerque al sedimento, disminuya la velocidad de la acción del sifón, ejerciendo presión con los dedos sobre la manguera. Es preferible dejar un poco de líquido en la botella de fermentación y no sacar sedimento.

Si el líquido que se ha extraído no está transparente, aclárelo con el siguiente procedimiento. Coloque aproximadamente dos cucharadas de celita o tierra de diatomeas, en un vaso de precipitado con aproximadamente 200 mL de agua, agite la mezcla vigorosamente y luego filtre por succión (equipo: embudo Büchner, papel de filtro y Kitasato conectado a línea de vacío y trampa de seguridad). El líquido sifoneado, el fermentado, se pasa a través del filtro de succión SUAVE y las partículas extremadamente finas de levadura quedan atrapadas en los poros de la capa de tierra de diatomeas. El líquido filtrado contiene etanol y agua además de cantidades menores de metabolitos de la levadura disueltos.

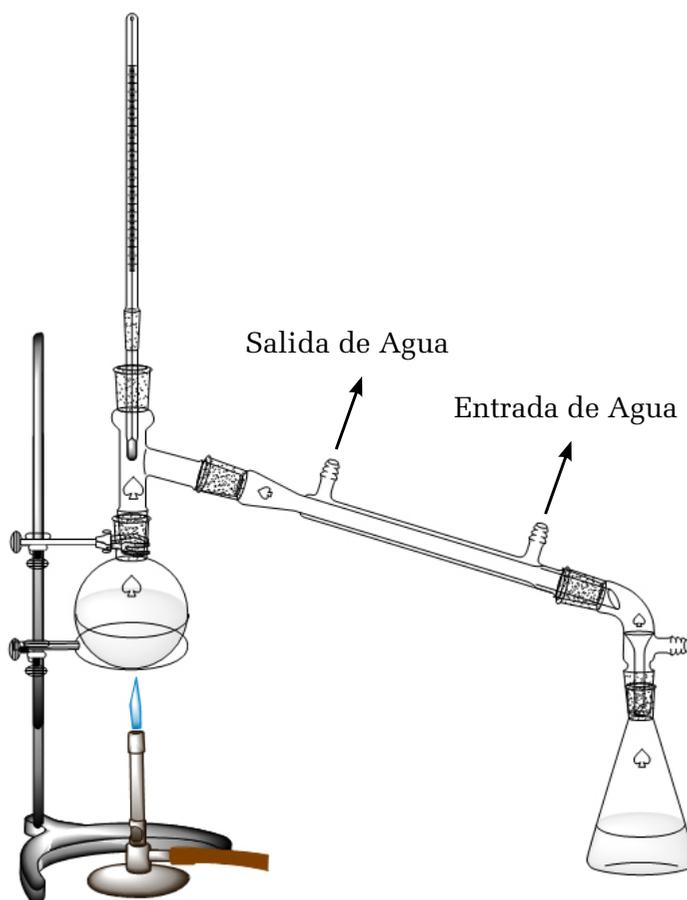
El líquido filtrado, aclarado, se transfiere a un aparato de destilación simple. Se colectan de 200 a 250 mL de destilado o se continua la destilación hasta que la temperatura alcance los 100 °C (¿qué temperatura deberá alcanzarse en el lugar geográfico donde usted hará esta práctica?). Descarte el residuo remanente en el balón de destilación y redestile el destilado empleando una columna de fraccionamiento. Destile lenta y cuidadosamente para obtener la mejor separación posible. Recoja la fracción que destila entre 78 y 88 °C y descarte el residuo remanente en el balón de destilación. El grado de purificación del etanol está limitado por el hecho de que el etanol y el agua forman una mezcla de punto de ebullición constante o **azeótropo**, con una composición de 95 % de etanol y 5 % de agua, de punto de ebullición 78,1 °C.

Calcule el porcentaje de rendimiento del alcohol, suponiendo que el producto sea 80 % alcohol y 20 % agua. Entregue el etanol al técnico o preparador, en un envase rotulado.

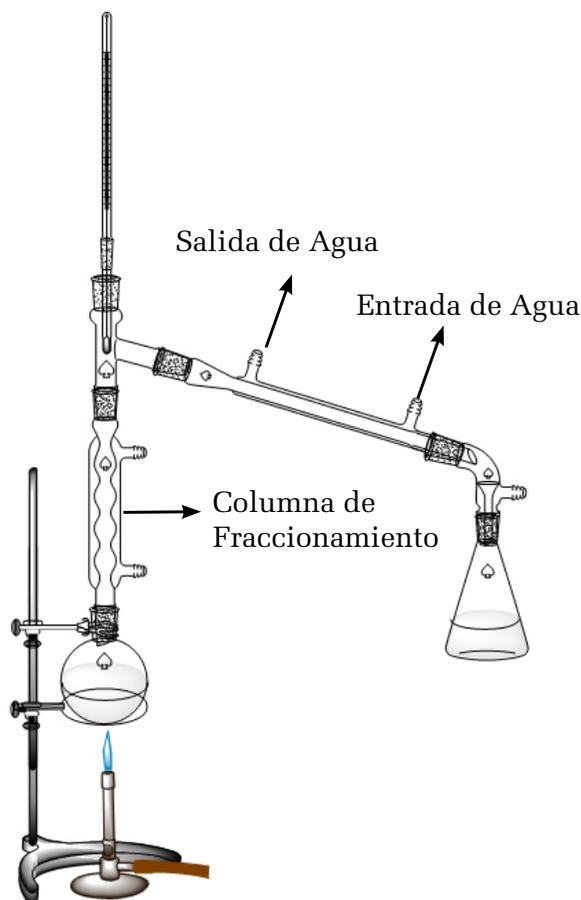
En cada destilación, tomar nota de la temperatura a la cual se inicia la destilación y registrar la temperatura cada 5 mL de destilado. Anotar el volumen inicial tomado para la destilación simple y el volumen de etanol producido. Graficar temperatura versus volumen en ambos casos.



Montaje para fermentación



Aparato para destilación simple



Aparato para destilación fraccionada

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de Pavia et al (2000).

Referencias bibliográficas

- Amerine, M. A. (1964). Wine. *Scientific American*. (211): 46.
- Church, L. B. (1972). The Chemistry of Wine Making. *Journal of Chemical Education*. (49):174.
- Holum, J. R. (1999). *Fundamentos de Química Orgánica y Bioquímica*. México: Editorial Limusa-John Wiley and Sons.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.

Experiencia práctica 10

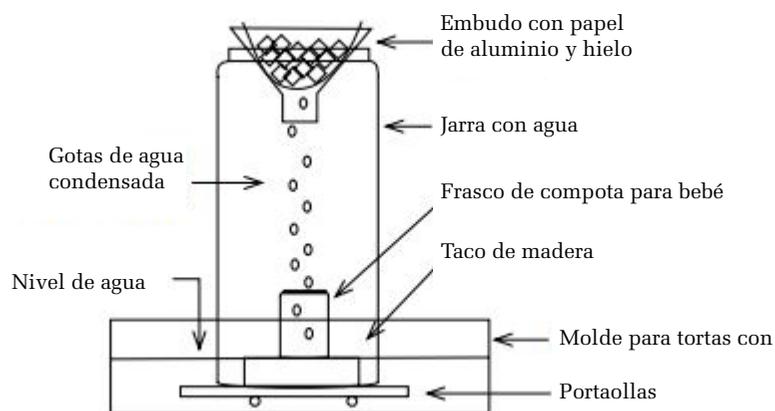
Aparatos de destilación utilizando utensilios caseros

Esta actividad debe realizarse de manera complementaria a la práctica de destilación simple y fraccionada, propuesta en el curso formal.

Los siguientes diseños de aparatos utilizando utensilios domésticos, ilustran clara y divertidamente los fenómenos de evaporación y condensación que ocurren en el equipo especializado de destilación.

Aparato de destilación No. 1

El diseño de este aparato se muestra debajo. Un frasco de compota se coloca sobre un taco de madera dentro de un frasco grande. El frasco grande se llena con agua hasta el borde superior del taco, adicionándose al agua, colorante para repostería. El frasco grande se coloca luego sobre un portaollas en un molde para tortas no muy profundo; este molde se llena de agua de manera tal que, el fondo del frasco grande quede sumergido. En la boca del frasco grande se coloca un embudo forrado interiormente con papel de aluminio y lleno de hielo, el cual debe centrarse sobre el frasco de compotas (o colocar dentro del embudo una bolsita plástica llena de hielo). El aparato se coloca sobre una fuente de calor como una placa eléctrica.



Montaje de aparato de destilación No.1

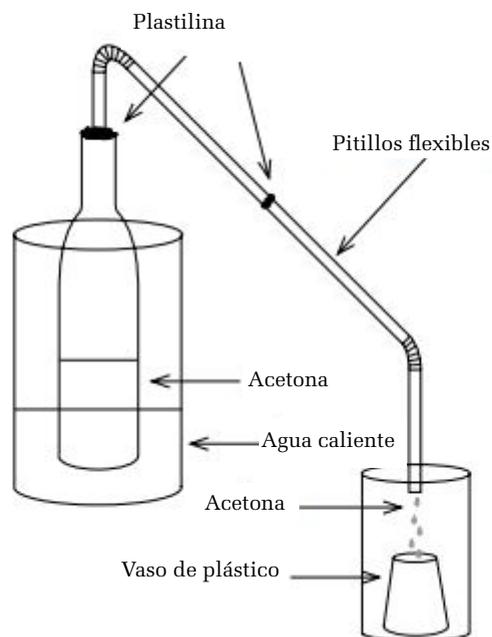
El agua dentro del frasco grande hervirá poco después de que el agua del molde comience a hervir. El vapor dentro del frasco grande se condensa en la superficie del papel de aluminio frío y cae dentro del frasco de compota. El uso de agua coloreada permite observar la diferencia entre el agua inicial y el agua pura después de la destilación. En términos de los métodos más convencionales de destilación, el frasco grande se correspondería con el balón de destilación; el embudo con el papel de aluminio y hielo, con el condensador y el frasco de compota, con el frasco colector.

Aparato de destilación No. 2

1. Perfore haciendo un orificio suficientemente grande como para permitir el paso de un pitillo en la tapa de un frasco de salsas. Una los extremos de dos pitillos flexibles con plastilina.
2. Vierta una taza de acetona dentro del frasco de salsas y selle la tapa. La acetona es inflamable, por lo tanto no está permitido ningún tipo de llama cerca del lugar donde se realiza el experimento. En vista de que los vapores de acetona son dañinos para la salud, este experimento debe hacerse sólo bajo campana de extracción de gases.
3. Coloque el frasco de salsas dentro de un frasco grande de boca ancha. Posicione el otro extremo de los pitillos unidos de tal manera que quede sobre un vasito plástico de poliestireno, el cual está invertido dentro de otro frasco de vidrio de boca ancha.
4. Vierta tres tazas de agua caliente en el frasco grande que contiene la botella de salsas.
5. La acetona comenzará a ebullición pocos minutos después de que el agua caliente se añada al frasco grande. Los vapores de acetona se condensarán en el pitillo y caerán luego sobre el vasito plástico de poliestireno y lo ablandarán.

Nota

Si el frasco de salsas es muy grande, la acetona tardará en ebullición y el vaso de agua se enfriará antes de que la acetona alcance su punto de ebullición.



Montaje de aparato de destilación No. 2

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida por la autora, de: Campanizzi, Mason y Hermann (1999).

Referencias bibliográficas

- Campanizzi, D., Mason, B. and Hermann, C. (1999). *J. Chem. Education*. 76(8):1079.

Experiencia práctica 11

Destilación simple y fraccionada de bebidas alcohólicas

En la presencia de nutrientes adecuados, los organismos unicelulares como levaduras, mohos, hongos, algas y bacterias, se reproducen y aumentan su población; con ello, se acumulan en el medio varios productos de excreción de sus metabolismos. Como los microorganismos toleran sólo bajas concentraciones de sus propios desechos, éstos pueden extraerse del medio y permitir así que las colonias sigan creciendo y generando metabolitos. Este proceso se denomina **conversión microbiológica** o **fermentación** y es causado por diversas enzimas producidas por los microorganismos, que tienen una acción catalítica sobre el nutriente o sustrato. De esta manera, la fermentación puede producirse también a través de enzimas puras o partes de células que contengan enzimas, como las mitocondrias.

El sustrato generalmente es algún carbohidrato, como en el caso de las bebidas alcohólicas obtenidas a partir de fermentación de frutos (vinos) o de cereales (whisky, ron, cerveza); los quesos y yogurt son productos de fermentación de leche. La fermentación también se aplica en el tratamiento de aguas negras para oxidar aeróbicamente aminas y compuestos de azufre, a nitratos y sulfatos, o digerirlos anaeróbicamente a metano y dióxido de carbono. La mayoría de los antibióticos, penicilinas, estreptomicinas y tetraciclinas, las vitaminas, hormonas y todos los aminoácidos esenciales, se obtienen mediante procesos de fermentación. También se ha considerado la idea de producir proteínas a partir de gasóleo y otros hidrocarburos del petróleo como sustratos.

En esta experiencia práctica se propone trabajar con una muestra de vino tinto. Sin embargo, el mismo procedimiento podría aplicarse a otras bebidas alcohólicas como el ron, whisky, aguardiente, vodka, etc.

El vino es producto de la fermentación de los azúcares de diversos frutos generada por levaduras, microorganismos que transforman estos azúcares en alcohol etílico y anhídrido carbónico. El fruto mayormente empleado es el de la vid, la uva, pero puede obtenerse vino de diferentes frutos como cerezas, moras, duraznos, cambur, mango, etc.

Una de las levaduras más empleadas en preparación de bebidas alcohólicas es la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura tiene la facultad de crecer en forma anaerobia (sin necesidad de oxígeno) realizando fermentación alcohólica. Se emplea en muchos procesos de fermentación industrial como producción de vino, cerveza, pan, generación de antibióticos, etc.

El vino tinto utilizado en esta práctica es elaborado mayoritariamente a partir de uvas rojas o negras. Como el color es aportado por el hollejo o pericarpio del fruto, la fermentación se debe efectuar con el mosto (macerado) sin filtrar (con hollejo o piel) y sólo cuando ha finalizado el proceso (unos 20 días), se procede al filtrado. Luego el vino tinto se envejece en barricas o botellas.

El whisky y la cerveza se obtienen a partir de la fermentación de cereales como cebada, trigo, centeno, maíz. En Rusia, el vodka se fabrica por fermentación de la papa. La cerveza se obtiene a partir de la cebada germinada; en Alemania, se obtiene de trigo, y en China, de arroz y mijo. En México se produce pulque fermentando la savia del maguey. Estas materias primas presentan un alto contenido de almidón y en estos casos, el proceso de fermentación es más complejo, puesto que el almidón debe ser previamente hidrolizado para convertirlo en azúcares.

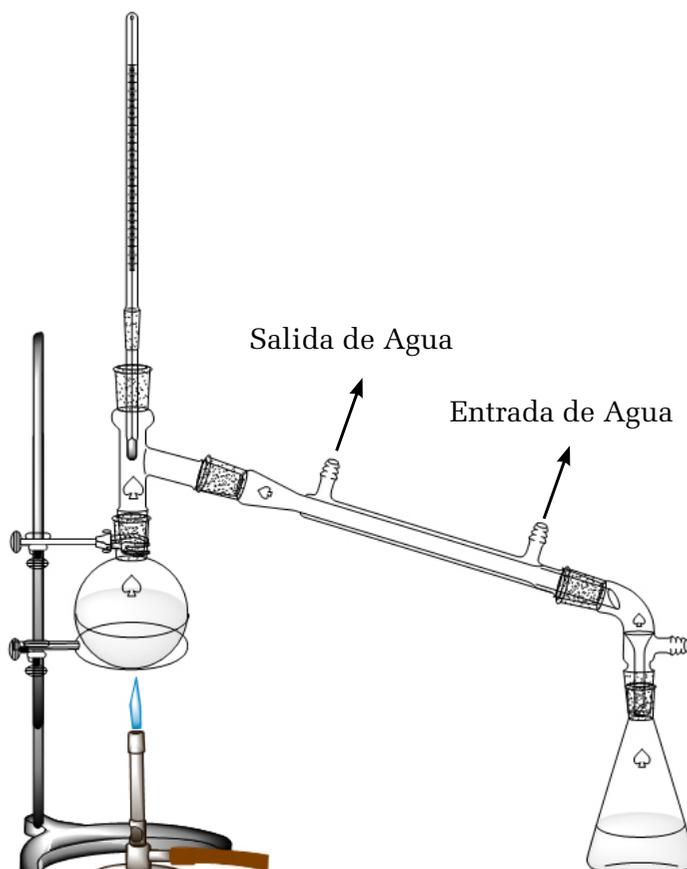
Procedimiento experimental

1. Montar un aparato para destilación simple. Usar un balón de destilación de capacidad 500 mL para destilar 160 mL de la bebida (si sólo se dispone de balones de 250 mL, puede hacerse el ejercicio práctico con 90 mL de la bebida alcohólica).
2. Medir 25 mL de agua destilada en un cilindro graduado, verterlos en el balón y delinear con marcador indeleble, el nivel de agua. Esta línea señalará el volumen aproximado hasta el cual deberá destilarse la bebida. Desechar el agua y lavar el balón con un pequeño volumen de la bebida.
3. Verter la bebida (se sugiere vino tinto para observar los cambios de color) en el balón y adicionar tres (3) piedras de ebullición.
4. Proceder a destilar. Anotar el tiempo que tarda en aparecer la primera gota de destilado y llevar un registro de la temperatura cada 30 segundos.

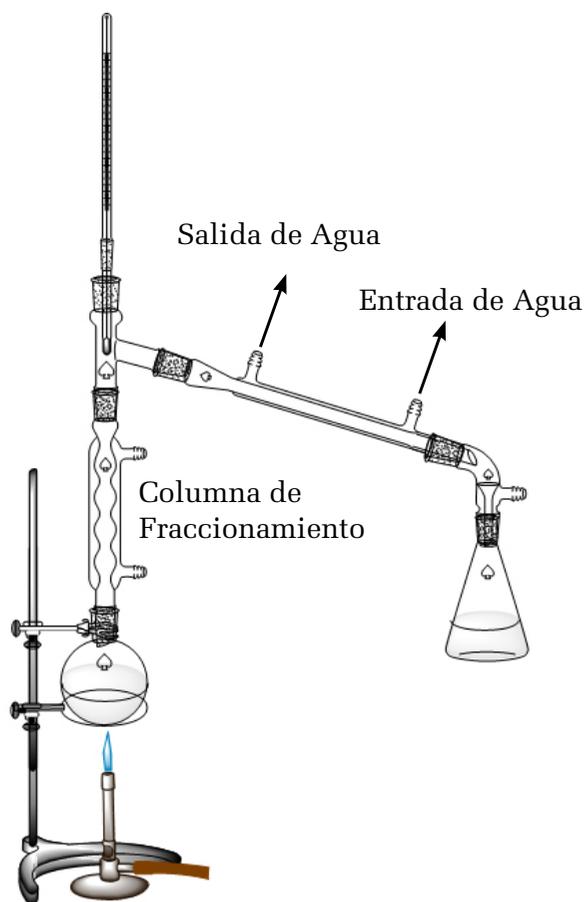
5. Cambiar el recipiente colector, cilindro graduado de 10 mL, cada 5-10 mL, para así recoger varias fracciones. Se requieren dos (2) cilindros como mínimo para ir vertiendo los 5-10 mL de destilado en los matraces colectores numerados y tarados. Numerar los recipientes –matraces Erlenmeyer de 10 mL– según el orden en que se han utilizado. Llevar cada matraz a peso igual a cero, es decir, tararlos, previamente. Esto facilitará el cálculo de densidades posteriormente.
6. Cuando el líquido remanente en el balón se reduzca hasta la línea trazada anteriormente con el marcador, se detiene la destilación y se procede a:
 - a. Observar y comparar las propiedades de los líquidos inicial, residual y fracciones de destilados: color, olor, densidad e inflamabilidad.
Prueba de inflamabilidad. Verter el líquido en un vidrio de reloj y aproximar un fósforo encendido. ¿Cuáles fracciones se encienden? ¿Cuáles permanecen encendidas por más tiempo? ¿Qué indican estas observaciones?
 - b. Graficar la temperatura de destilación versus tiempo y temperatura de destilación versus volumen colectado.
¿Entre qué tiempos y temperaturas se ha recogido la mayor cantidad de destilado?
 - c. Anotar el grado alcohólico de la bebida empleada. El grado alcohólico indica la cantidad en mL de etanol contenidos en 100 mL de la bebida. Por ejemplo, si el grado alcohólico de una bebida es 17, esto implica que por cada 100 mL de bebida hay 17 mL de etanol presentes.
7. Repetir el procedimiento empleando un aparato de destilación fraccionada.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. ¿Cuál es el proceso industrial para la preparación del vino de uva?
2. ¿Cuál es el microorganismo responsable de la fermentación en este caso? y ¿cuáles son el sustrato y los productos químicos de este proceso de fermentación?
3. Calcular la cantidad en mL que contiene la muestra de bebida alcohólica empleada. Comparar con el grado alcohólico indicado en la etiqueta.
4. Comparar las densidades del vino, fracciones destiladas y residuo remanente en el balón de destilación. Discutir brevemente.
5. ¿Cuál es el procedimiento para producir el combustible bioetanol?
6. Comparar los resultados obtenidos al emplear las dos técnicas de destilación.
7. ¿Qué es una mezcla azeotrópica?



Aparato para destilación simple



Aparato para destilación fraccionada

Referencias bibliográficas

- Austin, G. T. (1998). *Manual de Procesos Químicos en la Industria*. (5ª Ed.) México: McGraw-Hill.
- Scragg, A. H. (2005). *Bioteología para Ingenieros. Sistemas biológicos en procesos tecnológicos*. México: Editorial Limusa-Noriega.
- Wittcoff, H. A. y Reuben, B. G. (2000). *Productos Químicos Orgánicos Industriales*. México: Limusa-Noriega Editores.

Experiencia práctica 12

Destilación fraccionada de petróleo

El petróleo (del latín: *petrae oleum*, 'aceite de roca'), es un hidrocarburo producido por la descomposición bacteriana anaeróbica de materia orgánica. En el subsuelo, a grandes profundidades y bajo condiciones físicas (altas temperaturas y presiones elevadas) y químicas (presencia en el subsuelo de sustancias que fungen como catalizadores específicos) especiales, en un proceso que tarda millones de años, el C y el H se liberan de los tejidos orgánicos y se unen, recombinándose de nuevo, para formar un inmenso número de hidrocarburos; éstos se mezclan de acuerdo a la afinidad de sus propiedades, formando el gas natural, el petróleo y el bitumen.

Se considera muy probable que los hidrocarburos comiencen a producirse como burbujas y gotas mezcladas con agua salada, gases y minerales. Las rocas donde se forman estas mezclas de hidrocarburos se denominan "**rocas madre**", las cuales son **lutitas**, rocas sedimentarias con tamaño de grano muy fino, impermeables y moldeables, formadas por compactación de la arcilla. Los hidrocarburos formados en la roca madre generalmente no permanecen allí, sino que migran y se entrapan en otros lugares. La presión que ejerce el peso de las capas geológicas superiores puede desplazarlos hacia la superficie, mezclándose y formando pequeños caudales de gases y líquidos. En las rocas existen espacios intercomunicados de poros, grietas y fracturas que permiten la circulación de fluidos; con el transcurso de millones de años, los pequeños caudales de burbujas y gotas se unen y se convierten en grandes volúmenes de hidrocarburos fósiles en movimiento que, pueden emanar en la superficie del suelo o depositarse en las zonas profundas, atrapadas por rocas impermeables que actúan como barreras físicas.

Como resultado de la actividad geológica, del tipo de materia orgánica descompuesta y de los procesos físicos y químicos que ocurren a grandes profundidades, se forma una gran variedad de hidrocarburos que se asocian según sus afinidades químicas, en diferentes yacimientos o depósitos de gas (seco, húmedo, dulce y agrio), de petróleo (liviano, mediano, pesado, extrapesado) y de bitumen.

El petróleo era conocido desde la antigüedad pero su explotación sólo comienza en los Estados Unidos de Norteamérica en 1859. En Venezuela, en 1878 se inicia la explotación y aprovechamiento del petróleo por una empresa venezolana llamada La Petrolia, en el estado Táchira. Desde entonces, el petróleo, como fuente energética y de compuestos químicos útiles en todos los ámbitos de la vida humana, se ha constituido en el motor principal del proceso de cambios profundos que ha tenido la humanidad en el siglo XX.

El petróleo crudo, tal como es extraído de sus pozos, no tiene usos inmediatos; debe **refinarse** o someterse a un proceso de destilación fraccionada donde se separan, a diferentes temperaturas según sus puntos de ebullición, sus compuestos constituyentes o mejor dicho, fracciones constituidas por mezclas de compuestos de propiedades similares. En las **refinerías de petróleo** se realiza la destilación fraccionada en las **torres de destilación** y se obtienen fracciones de destilados pesados, destilados intermedios, destilados ligeros y gases, además de residuos útiles. Con posteriores procedimientos de separación, que incluyen extracción con solventes, adsorción, absorción, fraccionamientos basados en las diferencias en el punto de congelación (cristalización), destilación atmosférica y a presión reducida, desintegración catalítica, desintegración térmica, reformación catalítica, desulfuración, alquilación e hidrogenación, las fracciones obtenidas en una torre de destilación se separan en otros productos útiles. Así:

1. De los **destilados pesados** se obtienen: aceites lubricantes, grasas, aceites pesados, parafina y materias primas para la industria petroquímica.
2. De los **destilados intermedios**: gasóleo, aceite pesado, glicerina, combustible diesel y petroquímicos.
3. De los **destilados ligeros**: gasolina para automóviles, gasolina de aviación, nafta, aceites ligeros con propiedades intermedias entre la gasolina y el kerosén, solventes, kerosén, aceites refinados y petroquímicos.
4. De la **fracción de gas** se obtienen: gas combustible para cocinas y calefacción, gasolina natural (la cual se emplea mezclada con gasolina de los destilados ligeros para una mejor ignición), gas licuado de petróleo, negro de humo y petroquímicos.
5. De los **residuos** se separan: aceites lubricantes, combustóleo, petrolato, asfalto y coque de petróleo.
6. **Otros subproductos** de la refinación son: fertilizantes, amoníaco y ácido sulfúrico.

Por otro lado, la industria petroquímica a partir de productos básicos obtenidos de la refinación (como etileno, propileno, butilenos, butadieno, benceno, tolueno y xilenos), genera una enorme variedad de productos como:

1. **Polímeros plásticos** como: hules sintéticos, ropa, neumáticos, aislantes eléctricos, cementos.
2. **Polímeros rígidos y polímeros flexibles** para juguetes, utensilios y envases de cocina, muebles, partes para automóviles y máquinas.
3. **Fibras y películas sintéticas** para uso en telas y ropa, cuero artificial, materiales de construcción.
4. **Solventes** para pinturas, astringentes, saborizantes, etc.
5. **Medicamentos** como aspirina, drogas sulfa, antisépticos y antiasmáticos.
6. **Fertilizantes y otros agroquímicos** como fungicidas, insecticidas, herbicidas.
7. **Detergentes.**
8. **Colorantes.**
9. **Perfumes.**
10. **Edulcorantes** como sacarina, aspartame y sorbitol.
11. **Explosivos.**
12. **Anticongelantes (etilénglicol).**

El petróleo se ha constituido así en la principal fuente de energía y de materia prima para una enorme diversidad de productos útiles desde el siglo XX.

Procedimiento experimental

I. Destilación fraccionada del petróleo

1. Tomar una muestra de 150 mL de petróleo ligero crudo (si fuese necesario se puede “preparar” petróleo crudo mezclando éter de petróleo, parafina, aceite lubricante, y un aceite más pesado en partes iguales o éter de petróleo, gasolina, kerosén, ligroína, aceite combustible para calefacción, parafina y aceite lubricante).
2. Montar un aparato de destilación fraccionada usando porcelana porosa o piedras de ebullición.
3. Destilar **muy lentamente** y recoger la primera fracción en un Erlenmeyer enfriado en baño hielo-agua.
4. Se recolectan por separado 4 fracciones dentro de los siguientes intervalos de temperatura:

- a. desde la temperatura ambiente hasta 70 °C
 - b. de 70-120 °C
 - c. de 120-170 °C
 - d. de 170-220 °C
5. En el balón de destilación quedará un residuo negro.
6. Someter a ensayo las cuatro fracciones observando:
- a. su **viscosidad** por la facilidad con la cual son vertidas y pueden fluir,
 - b. el **color**,
 - c. la **inflamabilidad**, vertiendo una pequeña porción en un vidrio de reloj y acercando un fósforo (cerilla) encendido. Si se añade un pequeño trozo de asbesto a cada una de las fracciones, arden fácilmente y se pueden comparar las llamas generadas.
 - d. la **densidad**, tal como se indica en la experiencia para destilación fraccionada de bebidas alcohólicas.

Presentar en una tabla todos estos resultados.

7. Mezclar de nuevo las 4 fracciones y observar que se regenera una sustancia muy similar al petróleo crudo original.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. Discutir la variación en los puntos de ebullición de las fracciones destiladas.

El punto de ebullición se incrementa con el número de átomos de carbono en las moléculas de hidrocarburos, es decir, con el aumento de la masa molecular y del número total de electrones en la molécula.

Las moléculas más grandes y más pesadas se atraen fuertemente entre sí a través de fuerzas intermoleculares de dispersión, generadas por la formación de dipolos instantáneos (Fuerzas de London). En las moléculas más pequeñas, con menor número de electrones, las Fuerzas de London son de menor intensidad. Es evidente que las temperaturas de ebullición serán mayores para los compuestos cuyas moléculas establezcan fuerzas de atracción más intensas, pues para pasar de la fase líquida a la de vapor, se requiere el suministro de energía (en este caso en forma de calor), proporcional a las fuerzas que unen a las moléculas en el estado líquido.

2. Correlacionar las propiedades observadas de cada fracción con la composición química teórica (número de átomos de C de los componentes de las fracciones).

II. Desintegración o craking térmico del petróleo

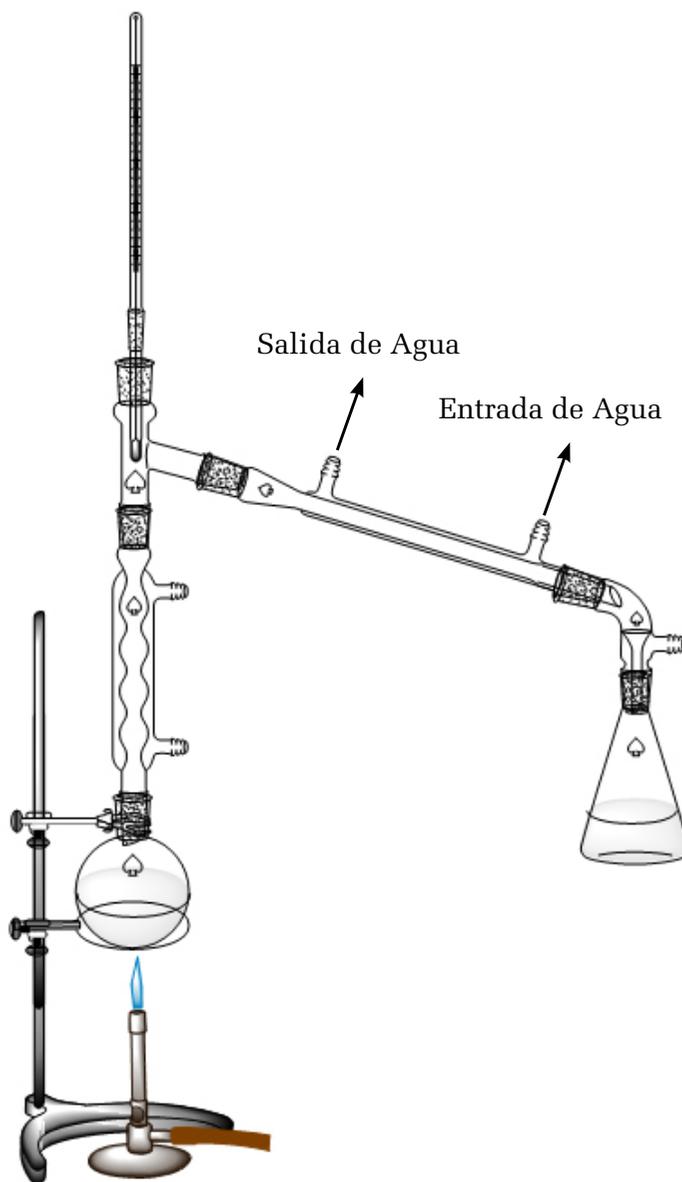
En esta experiencia se hacen pasar vapores de aceite de parafina medicinal sobre trozos de porcelana porosa, los cuales se calientan fuertemente.

1. Colocar una bola poco compactada de fibra de asbesto, hasta una altura de unos 2 cm en un tubo de ensayo de 12,5 x 1,6 cm y dejar caer sobre ésta, unos 2 cm³ de parafina medicinal con pipeta.
2. Calentar fuertemente la porcelana porosa, teniendo el tubo de ensayo en posición horizontal y habiendo previamente colocado en su boca el tapón monohoradado y el tubo de desprendimiento de gas, conectado al tubo colector de gases sobre agua (en cubeta con agua). **No calentar directamente el asbesto.**
3. Después de haber expulsado el aire del aparato, recoger el gas que se desprende, en el tubo de ensayo.
4. El gas que se recoge contiene **alquenos** y se podrá observar que tiene un olor característico, que **arde con una llamarada amarilla** y que decolora el **agua de bromo diluida**. Los alquenos reaccionan con el bromo, en una reacción vigorosa de adición y decoloran el reactivo.

III. Comparación entre alcanos y alquenos

A las 4 fracciones obtenidas en la destilación fraccionada, hacer ensayos con

1. **Solución acidificada de KMnO₄**. Los alquenos son oxidados por el KMnO₄ en medio ácido y el color de la solución desaparece.
Verter 2 mL de solución ácida de KMnO₄ en 4 tubos de ensayo rotulados, y adicionar 2 gotas de cada una de las 4 fracciones. Agitar bien los tubos.
2. **Agua de Br₂**. Repetir el procedimiento anterior, pero usando agua de Br₂ en lugar de KmnO₄.
3. **Br₂**. Verter 2 gotas de cada una de las 4 fracciones en 4 tubos de ensayo rotulados, por separado. Empleando gotero y bajo campana de extracción de gases, adicionar a cada tubo 1 gota de Br₂.
¿Se produce reacción vigorosa en algunos tubos?
4. **H₂SO₄ concentrado**. Repetir el procedimiento del aparte anterior, pero añadiendo 1 gota de H₂SO₄ concentrado en lugar de Br₂. Los alquenos reaccionan vigorosamente con el ácido sulfúrico y la solución se oscurece. Los alcanos no reaccionan.
¿Se pueden idear otros ensayos de grupos funcionales para las fracciones destiladas?



Aparato para destilación fraccionada

Nota

La introducción teórica de esta experiencia práctica fue tomada de Serie Temas Petroleros (2000-2002) y La Cueva (2001).

Referencias bibliográficas

- *A New Dictionary of Chemistry*. 6th Ed. (2001). Edited by L. Mackenzie Miall and DWA Sharp. Great Britain: John Wiley and Sons.
- Austin, G. T. (1998). *Manual de Procesos Químicos en la Industria*. (5ª Ed.) México: McGraw-Hill.
- Brewster, R. Q., Van der Werf, C. A. y Mc Ewen, W. E. (1990). *Curso Práctico de Química Orgánica*. (3ª Ed.) España: Editorial Alhambra.
- Chang, R. (2007). *Química*. (9ª Ed.) México: McGraw-Hill Interamericana.
- *Hidrocarburos, origen y acumulación*. Serie Temas Petroleros. (2001). Venezuela: PDVSA. Biblioteca Nacional.
- La Cueva, A. (2001). *La aventura del petróleo*. Venezuela: Distribuidora Estudios CA.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- *Petróleo venezolano*. Eventos históricos. Serie Temas Petroleros. (2001). Venezuela: PDVSA. Biblioteca Nacional.
- *Petroquímica, la industria prodigiosa*. Serie Temas Petroleros. (2000). Venezuela: PDVSA. Biblioteca Nacional.
- *Productos derivados del petróleo*. Serie Temas Petroleros. (2002). Venezuela: PDVSA. Biblioteca Nacional.
- Vogel, A. I. (1974). *Practical Organic Chemistry*. (3rd Ed.) London: Longmans.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México: Prentice-Hall Hispanoamericana.
- Wittcoff, H. A. y Reuben, V. G. (2000). *Productos Químicos Orgánicos Industriales*. México: Limusa-Noriega Editores.

Experiencia práctica 13

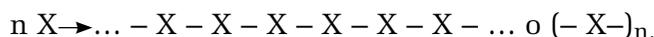
Síntesis del polímero lucita (polimetil metacrilato o plexiglas)

Los **polímeros** son compuestos químicos de alto peso molecular constituidos por cadenas de moléculas más pequeñas llamadas monómeros. Los polímeros típicos consisten de cientos o miles de **monómeros** y tienen pesos moleculares de hasta millones de gramos por mol. El teflón, nylon, dacrón, poliéster, orlón, rayón, polietileno, poliuretano, siliconas y lucita, son polímeros fabricados a través de síntesis químicas y se les denomina **polímeros sintéticos**. Las moléculas biológicas como las proteínas, cuyos monómeros son aminoácidos; el almidón y la celulosa, polímeros de glucosa; la goma natural o caucho, polímero del isopreno; los ácidos nucleicos, las fibras naturales como la seda y la lana, son **polímeros naturales o biopolímeros**.

Los polímeros sintéticos han reemplazado muchos materiales, incluyendo metales, en la fabricación de objetos tan diversos y variados como recipientes de cocina, juguetes, muebles, libros, sábanas, ropa, alfombras, teléfonos, cepillos dentales, teclas de piano, partes internas y externas de automóviles, aviones, trenes (cauchos o neumáticos, asientos, alfombras de piso, tableros, etc.), pero la fabricación de polímeros sintéticos ha generado un problema crítico: su desecho, ya que muchos de ellos no son biodegradables.

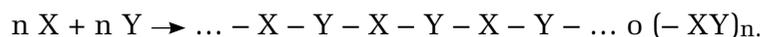
I. Estructura química general de los polímeros

Un polímero está constituido estructuralmente por muchas unidades o moléculas que se repiten en secuencia. Por ejemplo, muchas moléculas monómero X –entre 1.000 a 1 millón– pueden unirse para formar una molécula polimérica gigante:



“n”: moléculas
de monómero

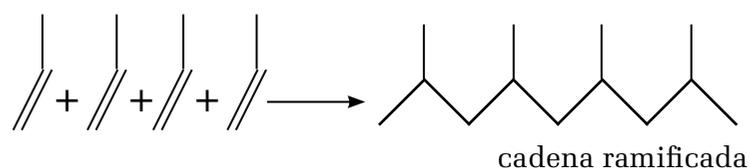
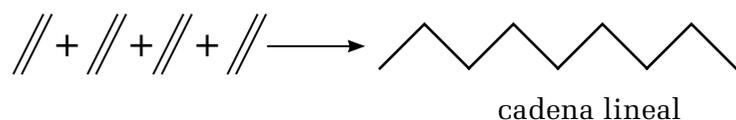
Cuando se unen monómeros diferentes produciendo un polímero de estructura alternante, al polímero se le llama **copolímero**.



II. Tipos de polímeros

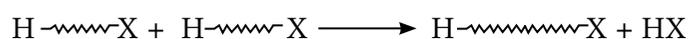
1. Dependiendo de la manera en la cual ocurre la polimerización y el método de síntesis, los polímeros se clasifican en

- a. Polímeros de adición:** Estos polímeros se forman a través de una reacción en la que las unidades monoméricas se unen, adicionándose, la una a la otra, formando una cadena larga lineal o ramificada. Simplificadamente, podríamos esquematizar el proceso de la manera siguiente:

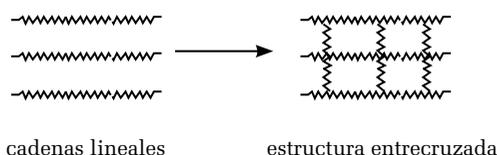


- b. Polímeros de condensación.** Este tipo de polímero proviene sintéticamente de una reacción de condensación, en la cual dos moléculas bi o polifuncionales se combinan, con la eliminación de alguna molécula pequeña como agua, amoníaco o cloruro de hidrógeno, como producto secundario.

El proceso puede representarse esquemáticamente así:



c. Polímeros de uniones cruzadas. Estos son los polímeros que se originan por la unión de cadenas largas formando una estructura tridimensional gigante y de alta rigidez. Dependiendo de los monómeros constituyentes, los polímeros de adición y condensación, pueden formar estructuras entrecruzadas. La goma y la bakelita son ejemplos de este tipo de polímeros. Esquemáticamente, el proceso puede representarse como:



2. Adicionalmente, desde el punto de vista industrial y tecnológico, los polímeros se dividen en

a. Termoplásticos. Los termoplásticos están compuestos por macromoléculas lineales separadas, no reactivas y que no sufren degradación térmica en las condiciones de trabajo. Son materiales que pueden suavizarse y fundirse con aplicación de calor y la consecuente reducción de las fuerzas intermoleculares. Con enfriamiento, el material puede moldearse en cualquier forma y recupera sus propiedades físicas originales. Muchos termoplásticos son solubles en varios solventes orgánicos: durante el proceso de esta disolución, se vencen las mismas fuerzas intermoleculares cohesivas. Los termoplásticos más importantes son el cloruro de polivinilo, el polietileno, poliestireno, acetato de celulosa, nylon, etc.

b. Plásticos termofijos. Estos polímeros están compuestos por moléculas grandes que al someterse a calentamiento experimentan reacciones químicas posteriores, consigo mismas o con otras moléculas más pequeñas (conocidas como agentes de entrecruzamiento), para producir macromoléculas gigantes tridimensionales, caracterizadas por su naturaleza general de insolubilidad y dureza permanente. En este estado, se dice que los plásticos han sido termoendurecidos, completamente entrecruzados y permanentemente endurecidos: no pueden suavizarse y fundirse, ni remodelarse en otras formas, sin destruir el polímero por ruptura de enlaces covalentes. La bakelita es un ejemplo de un plástico termofijo.

3. Los polímeros también se clasifican según sus propiedades funcionales, como elastómeros (algunas variedades de goma), fibras (dacrón), adhesivos (acetato de polivinilo), antiadherentes (teflón), etc.

III. Problemas que han generado los plásticos

Los plásticos se han convertido en materiales muy comunes en nuestra sociedad. Sólo basta con mirar a nuestro alrededor y dondequiera que se mire, hay polímeros sintéticos. Sin embargo, nuestros objetos plásticos han generado varios problemas, como lo son su eliminación o desecho, problemas de salud, riesgos de incendio y consumo adicional de fuentes de energía no renovables.

1. Eliminación de plásticos

Los plásticos constituyen el 21 % en volumen de los residuos o desechos sólidos que se generan en las sociedades industrializadas. Aproximadamente la mitad de los plásticos residuales provienen de envoltorios y empaques. Este volumen enorme está creando un problema: la mayor parte de estos residuos sólidos se transporta hacia los llamados terrenos de relleno sanitario, donde la basura se cubre con tierra, enterrándola a profundidad y los espacios disponibles para este propósito, se están agotando. Por otro lado, la incineración de plásticos genera gases muy tóxicos que contaminan el aire. También los residuos plásticos han formado islas flotantes gigantes en el océano, que confunden a la fauna marina: peces y aves ingieren residuos plásticos como tapas de botellas, restos de poliestireno, etc., causando la obstrucción de su tubo digestivo y su muerte.

Los plásticos son materiales durables y resistentes, tanto que, aun habiendo sido desechados y vertidos a la basura, no se descomponen ni se corroen, durarán casi indefinidamente; esta cualidad inicialmente se tomó como una ventaja pero, en realidad también es una gran desventaja: no son biodegradables, son compuestos xenobióticos; ajenos a la naturaleza, que no pueden incorporarse a ningún ciclo natural.

a. Plásticos degradables

Un enfoque para resolver el problema de la eliminación de los plásticos ha sido la investigación para desarrollar plásticos **biodegradables** o **fotodegradables**, de

tal manera que los microorganismos especializados descomponedores o la luz del sol, puedan degradar y descomponer nuestra basura y desperdicios. Se ha logrado cierto éxito con plásticos biodegradables fabricados como polímeros sintéticos a partir de almidón. Los plásticos fotodegradables contienen un aditivo sensible a la luz que permite la degradación del polímero.

b. Reciclaje de plásticos

Idealmente, la mejor manera de deshacerse del plástico es reciclarlo. Para llevar a cabo el reciclaje se requiere recolectar, clasificar, cortar en trozos pequeños, fundir y moldear de nuevo el plástico o hilarlo en fibras.

Los desechos plásticos consisten aproximadamente de un 55 % de polietileno y polipropileno, un 20 % de poliestireno y un 11 % de cloruro de polivinilo. Todos esos polímeros son termoplásticos y pueden ser reciclados: pueden fundirse y remodelarse para fabricar objetos nuevos. Desafortunadamente, los plásticos termofijos no pueden fundirse, pues se descomponen con el calentamiento a altas temperaturas. Por esta razón, los plásticos termofijos no deberían usarse para la manufactura de objetos desechables.

Para reciclar los plásticos desechados se requiere una fuerte conciencia ecológica y cooperación por parte de cada consumidor. La recolección y clasificación de los plásticos es la etapa más difícil. Esta etapa se ha simplificado en algunos países, estampando números de código en las botellas y otros objetos de plástico. Así, los garrafones para leche se pueden moldear convirtiéndolos en botellas para detergentes o usar en la fabricación de madera artificial; las botellas de bebidas gaseosas se transforman en fibras para la fabricación de alfombras e hilos para coser; las botellas para agua se utilizan en parachoques de automóviles, etc. El reciclaje de plásticos es un campo con un gran potencial de crecimiento.

c. Incineración

Otra manera de deshacerse de los desechos plásticos consiste en quemarlos. La incineración aparece como un método atractivo para resolver el problema de desechos sólidos: los plásticos tienen un alto valor energético (calorífico) y algunas comunidades generan electricidad utilizando el calor de sus incineradores de basura.

Algunas compañías proveedoras de electricidad, utilizan la combustión de carbón en polvo y cauchos de automóviles molidos.

La combustión de plásticos y caucho sin embargo, genera nuevos problemas. El cloruro de polivinilo al ser quemado produce cloruro de hidrógeno, HCl gaseoso, el cual es un compuesto tóxico y los cauchos de automóviles desprenden hollín y vapores tóxicos y de mal olor, al quemarse. Las emanaciones ácidas corroen los incineradores y los materiales que no se queman fácilmente, los obstruyen.

Los nuevos incineradores de alta temperatura son muy eficientes y pueden operarse en condiciones tales que producen una menor contaminación atmosférica... pero, de todos modos, contaminan... ¡y mucho!

2. Riesgo de incendio

La combustión accidental de telas, sintéticas o naturales, ha causado numerosos daños fatales, especialmente en niños. Estas fibras orgánicas arden con facilidad y para combatir este problema, se han desarrollado telas de inflamabilidad retardada, especialmente para bebés.

La investigación para producir telas de inflamabilidad retardada ha conducido hasta ahora, a la estrategia de incorporar átomos de cloro y bromo en las moléculas gigantes de las fibras poliméricas textiles...pero los aditivos retardantes del fuego utilizados en estas telas, han resultado ser neurotóxicos!

Cuando los plásticos se queman se liberan gases muy tóxicos: el cloruro de polivinilo genera cloruro de hidrógeno y los poliacrilonitrilos (orlón, creslán, acrilán, etc.) producen cianuro de hidrógeno, HCN, el cual es un gas letal. Los bomberos deben penetrar a los edificios que sufren incendios, utilizando mascarillas para evitar principalmente intoxicaciones producto de los gases que desprenden los plásticos al quemarse.

3. Plastificantes y riesgos para la salud

Al procesar ciertos plásticos, en particular los polímeros de vinilo, éstos resultan duros, rígidos y frágiles. La adición de ciertas sustancias químicas llamadas **plastificantes**, puede suavizar el plástico y hacerlo más flexible.

Los plastificantes son líquidos algo volátiles, generalmente termoplásticos, que

alteran las propiedades de elasticidad y resistencia al impacto, al ser adicionados a un plástico. Los plastificantes más comunes usados en los plásticos de polivinilo son ésteres, compuestos volátiles de bajo peso molecular, que por lo general, se pierden por difusión y evaporación a medida que el objeto plástico envejece: el material se torna frágil, se agrieta y se rompe y contamina hogares y sitios de trabajo. Parte del olor del automóvil nuevo, proviene del olor de estos ésteres tóxicos evaporándose de cubiertas de polivinilo.

Los ésteres plastificantes (ftalatos) pueden constituir un peligro para la salud. Algunas veces se utilizan recipientes de polivinilo con plastificantes ftalatos, para almacenar sangre. Los ésteres son lavados (extraídos) por la solución sanguínea y pueden ser en parte, la causa de un paro pulmonar, condición que algunas veces conduce a la muerte durante una transfusión sanguínea.

Los trabajadores de las fábricas de cloruro de polivinilo han desarrollado una forma fatal de cáncer de hígado. El gas cloruro de vinilo, monómero empleado en la fabricación del cloruro de polivinilo, es el agente causal de esta enfermedad.

En una época se usaron muy extensamente los bifenilos policlorados (PCB) como plastificantes, pero en la actualidad están prohibidos. Estos compuestos tienen similitud estructural con el DDT y efectos fisiológicos similares a éste... Se han encontrado residuos de PCB en peces, aves, en el agua y en suelos.

Los PCB se degradan con extrema lentitud y su solubilidad en medios no polares (grasa animal) hace que se concentren en la cadena alimenticia. Algunos PCB se utilizaron en equipos eléctricos como materiales aislantes en transformadores y condensadores pues poseen elevada resistencia eléctrica. Su uso ha sido prohibido porque constituyen un peligro para el ambiente.

IV. La industria de plásticos en el siglo XXI

Los polímeros sintéticos son los materiales del futuro; sin duda, se fabricarán nuevos polímeros y su uso se extenderá aún más. Ya existen polímeros que conducen la electricidad, adhesivos extraordinarios y materiales sintéticos más resistentes que el

acero pero mucho más livianos.

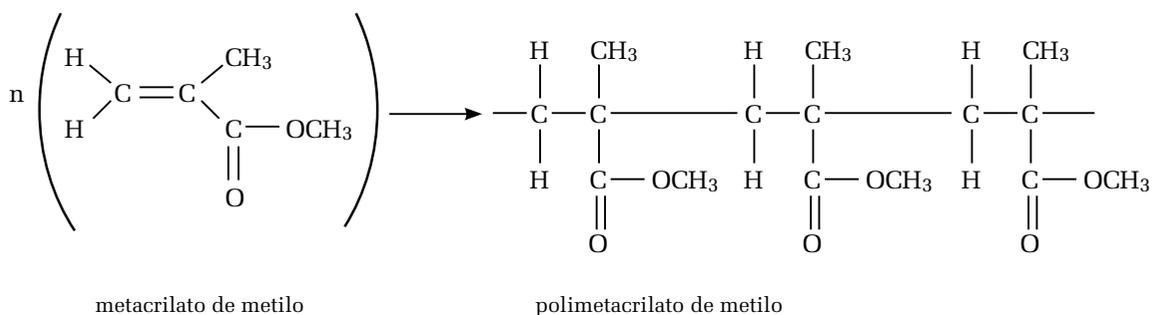
Aplicaciones comunes de polímeros en la **medicina**, son las partes para reemplazos corporales; en el futuro se dispondrá de huesos y otros órganos artificiales fabricados con polímeros.

Las **viviendas** del futuro contendrán además de las tuberías y marcos de ventanas de vinilo, aislamientos plásticos y recubrimientos de superficies poliméricos, paneles de pared de “madera” artificial fabricada a partir de plástico reciclado. Se fabricarán cada vez más minicircuitos con **conductores eléctricos** termoplásticos. Muchos laboratorios intentan en la actualidad fabricar polímeros que imiten a los que sintetiza la naturaleza, por ejemplo que sean capaces de convertir la luz solar en energía química útil.

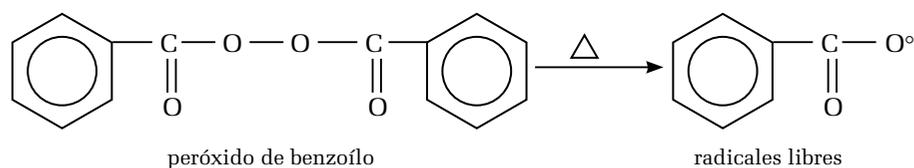
V. Síntesis de lucita, plexiglas o polimetacrilato de metilo

El objetivo de esta experiencia es sintetizar el polímero lucita (polimetacrilato de metilo o plexiglas) utilizado en la industria para fabricar “vidrio” irrompible protector, objetos transparentes de alta calidad, pinturas al agua, lentes de contacto, etc.

La lucita se produce por la polimerización aditiva del metacrilato de metilo, en presencia de peróxido de benzoílo.



El peróxido de benzoílo actúa como iniciador o promotor de la reacción, al descomponerse a una temperatura entre 80-90 °C por clivaje homolítico del enlace O – O y generar dos moles de radical libre por la ruptura de cada mol.



Procedimiento experimental

1. Vierta unos 200 mL de agua en un vaso de precipitado de 600 mL y caliente hasta ebullición.
2. Vierta 5 mL de metacrilato de metilo en un tubo de ensayo limpio y seco.
3. Solicite al profesor(a), preparador(a) o técnico(a) superior del laboratorio, que añada 25 mg de peróxido de benzoílo.

Precaución: El peróxido benzoílo es una sustancia inflamable y muy reactiva. Se almacena bajo refrigeración.

4. Introduzca el tubo de ensayo en el agua hirviendo y agite la mezcla hasta la disolución completa del peróxido de benzoílo.
5. Continúe calentando, sin agitar, hasta que el producto contenido en el tubo de ensayo se torne totalmente viscoso.
6. Retire el mechero.
7. Vierta la mitad del líquido viscoso caliente en un recipiente que Ud. utilizará como molde (puede ser, por ejemplo, un frasco de compota para bebé que haya traído al laboratorio).
8. Cuidadosamente coloque flores artificiales, escarcha de colores, conchitas de mar, una moneda o algún otro objeto, en el seno del líquido.
9. Añada el resto del líquido sobre los objetos dentro del molde.
10. Adicione 100 mL de agua fría al vaso de precipitado, para alcanzar una temperatura entre 60 a 70 °C.
11. Sumerja el molde y su contenido en el agua.
12. Deje reposar hasta el endurecimiento del producto.
13. Envuelva el molde con un paño de cocina o toalla de manos. Rompa el molde de vidrio, triturándolo en un mortero, tapado con un paño grueso.
14. Resultará un lindo pisapapeles transparente de plexiglás.

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Pavia et al. (1986) y Sienko y Plane (1991).

Referencias bibliográficas

- Henry, J. G. y Heinke, G. W. (1999). *Ingeniería Ambiental*. (2a Ed. México: Pearson-Prentice Hall.
- Biodegradability: Lofty Goal for Plastics. *Chemical and Engineering News*. September (1972). (11): 37-38.
- Degradable plastic lids are now commercial. *Chemical and Engineering News*. June (1972). (11):32-35.
- Hill, J. W. and Kolb, D. K. (1999). *Chemistry for Changing Times*. (8th Ed.) México: Prentice Hall Inc.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Pavia, D., Lampman, G. and Kriz, G. (1986). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company.
- Sienko, M. y Plane R. (1991). *Química Experimental. Manual de Laboratorio*. México: Mc Graw-Hill.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México Prentice-Hall Hispanoamericana.
- Whitten, K. W., Davis, R. E. y Peck, M. L. (1999). *Química General* (5ª Ed.) México: McGraw-Hill Interamericana.

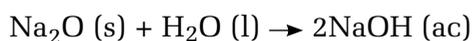
Experiencia práctica 14

Síntesis de jabones exóticos

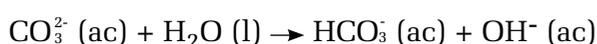
Los pueblos primitivos usaban solamente agua para fines higiénicos, con pobres resultados: actuando individualmente, el agua no es un buen agente limpiador. Probablemente también utilizaron plantas como la hierba europea *Saponaria sp*, u otras plantas “jabonosas” de la América tropical. Estas plantas contienen compuestos químicos llamados **saponinas**, los cuales en solución acuosa, producen una espuma similar a la del jabón.

Las investigaciones arqueológicas revelan que los egipcios y los babilonios utilizaron las cenizas vegetales alcalinas con fines de limpieza, hace más de 5.000 años. Cuando la madera se quema, durante el proceso de combustión, los átomos metálicos que ésta contiene, forman óxidos metálicos de sodio (Na_2O), potasio (K_2O), y calcio (CaO), los cuales son sólidos iónicos, componentes principales de las cenizas de las plantas. Las cenizas vegetales también contienen carbonato de potasio (K_2CO_3) y carbonato de sodio (Na_2CO_3). Tanto los óxidos metálicos como los carbonatos, son fuentes de iones hidróxido y aportan carácter alcalino al disolverse en agua.

En el antiguo proceso de manufactura del jabón, se recolectaban las cenizas de la madera y se remojaban en agua. Después de varios días, se separaba una solución muy básica de las cenizas insolubles. La reacción entre el agua y el óxido de sodio produce iones oxidrilo:



También, el ion carbonato de las sales de potasio y sodio, reacciona con el agua produciendo una solución alcalina:



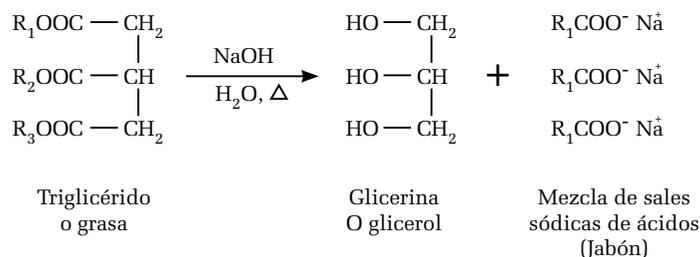
La solución básica sobrenadante, producto del remojo de las cenizas vegetales, por sí sola posee propiedades limpiadoras.

La preparación del jabón es una de las reacciones químicas más antiguamente conocidas. Hace varios milenios se descubrió que las mezclas crudas de grasas animales y cenizas alcalinas de plantas, producían jabones que limpiaban eficientemente. En las obras del romano Plinio el Viejo, se describe cómo los fenicios sintetizaban jabón utilizando sebo de cabra y cenizas de plantas. El jabón fue utilizado también por los etruscos; entre las ruinas de la ciudad de Pompeya se han encontrado los restos de una fábrica de jabón. También se sabe que los griegos y los romanos conocieron el uso del jabón. Más tarde y durante siglos, la elaboración de jabón constituyó una tarea casera; los jabones modernos son producto de la experimentación con estas mezclas de grasas.

En la segunda mitad del siglo XIX, factores económicos y tecnológicos, generaron el desarrollo de la industria del jabón. El proceso industrial de fabricación de jabones difiere poco del casero: las cenizas se sustituyen por hidróxido de sodio principalmente, aunque también se utiliza hidróxido de potasio y, la reacción de uno de estos hidróxidos con diferentes grasas como sebo, aceite de oliva, de coco, etc., produce diferentes tipos de jabones, a los cuales se les adicionan perfumes, colorantes, emolientes, humectantes, abrasivos o desinfectantes, según el uso para el cual se destinen.

I. Fabricación del jabón

La reacción de hidrólisis básica de una grasa (saponificación), produce jabón y glicerina. La gran mayoría de las grasas y aceites (triglicéridos o triacilgliceroles) son triésteres que contienen tres cadenas largas de ácidos carboxílicos alifáticos, unidos a una molécula de glicerol:



El proceso de saponificación involucra el calentamiento de una grasa animal o vegetal, en una solución alcalina. La solución alcalina produce la hidrólisis del triglicérido a sus partes constituyentes, como sales de ácidos carboxílicos de cadena larga (RCOO^-Na^+) y glicerol. La adición de una solución de cloruro de sodio, facilita la precipitación de las sales carboxilato, es decir, del jabón, por efecto de ion común: el jabón es una sal sódica soluble en agua pero no tanto como el cloruro de sodio. Cuando una solución contiene dos sales de diferente solubilidad con un ion común (en este caso el ion Na^+), un exceso de éste, provoca la precipitación de la sal menos soluble. El jabón precipitado de esta forma se separa por filtración.

El glicerol o glicerina, también se aprovecha como componente de jabones, en algunos casos. El glicerol es un líquido viscoso, incoloro e inodoro (punto de ebullición: $290\text{ }^\circ\text{C}$), que actúa como buen agente humectante debido a su capacidad higroscópica. Puede separarse de la solución filtrada por destilación y añadirse luego al jabón, antes del proceso de secado.

Las sales carboxilato obtenidas a través de este proceso tienen, diferentes estructuras químicas con cadenas lineales que van, en general, de 8 a 18 carbonos. Algunas de estas cadenas contienen sitios de insaturación; el grado de insaturación y el número de átomos de carbono presentes en la cadena, dependen de la fuente de triglicérido utilizada.

La longitud de la cadena carbonada y el número de enlaces dobles en la porción del ácido carboxílico de la grasa o aceite, determinarán las propiedades del jabón resultante. Así, la sal de un ácido saturado de cadena larga, producirá un jabón más duro y más insoluble. Recordemos que la longitud de la cadena carbonada, afecta la solubilidad de los compuestos orgánicos en agua. Los ácidos grasos saturados presentan cadenas en zig-zag, debido a la geometría espacial que genera la hibridación sp^3 de sus átomos de C; las cadenas saturadas pueden apilarse ordenadamente una sobre otra, conformando un empaquetamiento casi compacto, que genera un jabón duro, compacto y menos soluble. En cambio, las cadenas de los ácidos grasos insaturados presentan “doblamiento” de la cadena en los lugares donde están los enlaces dobles a causa de la geometría espacial de la hibridación sp^2 . Estos doblamientos constituyen irregularidades en la cadena y las cadenas dobladas no pueden lograr un empaquetamiento perfecto, sino que se deslizan

unas sobre otras y esto se traduce en un jabón más blando y más soluble que los obtenidos a partir de grasas ricas en ácidos saturados.

En esta experiencia se emplea hidróxido de sodio pero también se podría usar hidróxido de potasio, el cual produce un jabón más suave o blando, razón por la cual es empleado para fabricar jabones líquidos. El ion sodio es un poco más pequeño que el ion potasio y por lo tanto, interfiere menos en el empaquetamiento molecular de las moléculas de jabón; mientras más eficiente sea el empaquetamiento o apilamiento molecular, más duro es el jabón resultante, por esto, los jabones de sales de sodio son más duros que los jabones de sales de potasio.

La grasa de res y rumiantes (vacas, ovejas, cabras, etc.) o sebo, es el principal material graso utilizado en la industria del jabón. La grasa sólida del ganado se funde con vapor y la capa de sebo formada en la superficie, se remueve. Los fabricantes de jabón generalmente suavizan este sebo con aceite de coco y someten a saponificación esta mezcla. Así, el jabón resultante contiene las sales de los ácidos palmítico, esteárico y oleico provenientes del sebo y las sales de los ácidos láurico y mirístico del aceite de coco (ver Tabla No. 4 para justificar estas afirmaciones). La adición de aceite de coco aumenta la solubilidad del jabón resultante. **¿Por qué?**

En esta experiencia utilizaremos diversas fuentes de triglicéridos y observaremos diferentes propiedades en los jabones obtenidos: textura, solubilidad, color y olor. El objetivo básico es relacionar el cambio químico a nivel molecular con cambios macroscópicos observables; intentaremos relacionar las diferencias en textura y solubilidad, con el grado de insaturación o saturación y con la extensión o número de átomos de carbono de las cadenas de sales carboxilato obtenidas.

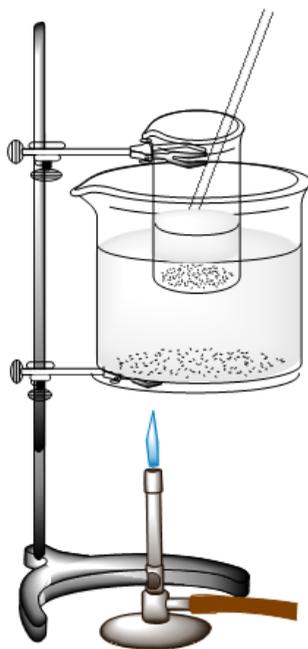
II. ¿Cómo limpian los jabones?

Un jabón es una molécula química especial: un extremo de su estructura es polar, hidrófilo y se disuelve en agua, y el otro, es no polar, lipófilo, y se disuelve en un solvente no polar. Este comportamiento de solubilidad dual, confiere a los jabones y detergentes su poder limpiador.

El jabón común es una mezcla de sales sódicas de ácidos grasos de cadena larga. Podría pensarse que estas sales son solubles en agua y de hecho se pueden preparar “soluciones jabonosas”. Sin embargo, no se trata de soluciones verdaderas, en las cuales las moléculas de soluto se desplazan libre e independientemente, solvatadas por moléculas de solvente; lo que ocurre es que el jabón se dispersa en grupos esféricos llamados micelas (una micela es un agregado molecular organizado que se forma entre moléculas, iones o ambos, por encima de una concentración crítica de agentes tensoactivos, que alcanza tamaños submicroscópicos de decenas a centenas de ángstroms y se comporta como partícula coloidal). Cada micela puede contener centenares de moléculas de jabón. Una molécula de jabón tiene un extremo polar, $-\text{COO}^-\text{Na}^+$, y otro no polar, la cadena larga con 12 a 18 carbonos. El extremo polar, es soluble en agua y se dice que es **hidrófilo**. El extremo no polar, es **hidrófobo** o **lipófilo**, soluble en solventes no polares como el aceite y las grasas. Este tipo de moléculas se llama **anfipática**: tiene extremos polares y no polares y además es suficientemente grande como para que cada extremo tenga su propio comportamiento de solubilidad.

En una emulsión grasa-agua, un jabón actúa de la siguiente manera: las largas cadenas carbonadas del jabón se agrupan alrededor de una gota de grasa, con sus extremos insolubles en agua orientados hacia adentro (hacia la gota de grasa) y sus extremos cargados, polares, orientados hacia afuera, hacia el agua, formando una micela. La repulsión entre cargas similares mantiene dispersas a las micelas entre sí, con lo que se forma una emulsión estable de aceite y agua, que puede separarse de la superficie que se está lavando. La micela que contiene al aceite, pasa a la solución de lavado y se elimina al enjuagar. Esta propiedad de estabilizar emulsiones y por lo tanto de limpiar, la comparten otras moléculas anfipáticas, además de las sales de los ácidos carboxílicos o jabones.

En la actualidad la mayoría de las personas compra jabones y detergentes comerciales, pero en el siglo XIX, la gente preparaba su propio jabón a partir de lejía (hidróxido de sodio, NaOH) y grasa animal (manteca o sebo de cerdo, oveja, cabra, etc.).



Montaje para síntesis de jabones

Tabla No. 1.- Fuentes de grasa y características de los jabones obtenidos

Fuente de grasa / Color	Color del jabón	Textura	Olor similar a...
Mantequilla (amarillo)	beige o blanco	duro, semejante a la cera	Cera
Mantequilla de maní (marrón claro)	Crema	Suave	Maní quemado
Aceite de maní (amarillo claro)	Blanco	Escamoso	Harina de avena
Aceite de girasol (amarillo)	Rosa-melón, blanco	Suave, cremoso	Masa de pan
Aceite de nueces (marrón)	Crema beige	Suave, cremoso	“Aceitoso”
Aceite de ajo (marrón)	Amarillo	Pasta gruesa	Fuerte “aceitoso”
Aceite de ajonjolí (marrón caramelo)	Amarillo	Gránulos grandes	Ajonjolí
Aceite de oliva (amarillo)	Amarillo translúcido, marfil	Granos sueltos	Creyones de cera
Aceite de oliva (amarillo claro)	Blanco	Escamoso	Papel maché
Aceite vegetal (amarillo)	Blanco cremoso	Polvo	Papas fritas
Aceite de maíz (amarillo claro)	Marrón claro, beige, amarillo claro	Arenoso	Plástico
Grasa de cerdo (beige)	Amarillo blanco	Muy blando, escamas livianas	Mantequilla rancia
Queso provolone (amarillo claro)	Blanco	Pasta	Mantequilla
Grasa de carne de res (blanca)	Blanco	Duro, macizo	Leche

Tabla No. 2.- Composición de ácidos grasos obtenidos por hidrólisis de algunas grasas y aceites

Grasa o aceite	% de ácidos grasos							
	Saturados				Monosaturados		Polinsaturados	
	< C ₁₀	< C ₁₂ - C ₁₆	C ₁₆	Otros	C ₁₆ , C ₁₈	Otros	C ₁₈	Otros
Mantequilla	9.2	41.0	12.5	2.5	30.1	1.2	3.4	0.1
Grasa de carne de res	0.1	29.9	21.6	3.0	42.1	1.1	2.8	0.4
Grasa de cerdo	0.1	26.4	12.3	0.9	48.2	1.6	10.0	0.5
Aceite de oliva	---	13.7	2.5	0.9	72.3	---	10.6	---
Aceite de maíz	---	12.2	2.2	0.1	27.6	---	57.9	---
Aceite de girasol	---	7.5	4.7	0.4	18.7	---	68.7	---
Aceite de maní	---	11.0	2.3	0.0	51.0	---	30.9	4.8

Tabla No. 3.- Contenido de ácidos grasos saturados e insaturados obtenidos por hidrólisis de grasas y aceites

Grasa o aceite	% Ácidos grasos saturados (S)	% Ácidos grasos insaturados (I)	Proporción S/I
Mantequilla	65	35	1.86
Grasa de carne de res	54	46	1.17
Grasa de cerdo	40	60	0.67
Aceite de oliva	17	83	0.20
Aceite de maíz	15	85	0.18
Aceite de girasol	13	87	0.15
Aceite de maní	13	87	0.15

Tabla No. 4.- Contenido porcentual de ácidos específicos obtenidos por hidrólisis de algunas grasas y aceites.

Fuente de grasa	% ácidos grasos saturados					
	C ₄ , C ₆ , C ₈ , C ₁₀	C ₁₂ A. láurico	C ₁₄ A. mirístico	C ₁₆ A. palmítico	C ₁₈ A. esteárico	C ₂₀ , C ₂₂ , C ₂₄
Grasa de carne de res		2 - 3	2 - 3	24 - 32	14 - 32	
Mantequilla	7 - 10	2 - 3	7 - 9	23 - 26	10 - 13	
Grasa de cerdo		2 - 3	1 - 2	28 - 30	12 - 18	
Aceite de maíz			0 - 2	7 - 11	3 - 4	
Aceite de oliva			0 - 1	5 - 15	1 - 4	
Aceite de maní				6 - 9	2 - 6	3 - 10
Aceite de soya			0 - 1	6 - 10	2 - 6	
Aceite de algodón			0 - 2	19 - 24		
Aceite de coco	10 - 22	45 - 51	70 - 20	4 - 10		
Aceite de palma			1 - 3	34 - 43		

Tabla No. 4 (Continuación.-)

Fuente de grasa	% de ácidos grasos insaturados (1 enlace doble)		
	C ₁₆ A. palmitoleico	C ₁₈ A. oleico	C ₁₈ A. ricinoleico
Grasa de carne de res	1-3	35-48	
Mantequilla	5	30-40	
Grasa de cerdo	1-3	41-48	
Aceite de maíz	0-2	43-39	
Aceite de oliva	0-1	69-84	
Aceite de maní	0-1	50-70	
Aceite de soya	0-2	21-29	
Aceite de algodón		23-33	
Aceite de coco		2-10	
Aceite de palma		38-40	
Aceite de ricino		0-9	80-92

Fuente de grasa	% ácidos grasos insaturados (más de 1 enlace doble)			
	C ₁₈ A. linoleico 2 C = C	C ₁₈ A. linolénico 3 C = C	C ₁₈ A. eleosteárico 3 C = C	C ₂₀ , C ₂₂ , C ₂₄ Insaturados
Grasa de carne de res	2-4			
Mantequilla	4-5			2
Grasa de cerdo	6-7			2
Aceite de maíz	34-42			
Aceite de oliva	4-12			
Aceite de maní	13-26			
Aceite de soya	50-59			
Aceite de algodón	40-48	40-48		
Aceite de coco	0-2			
Aceite de palma	5-11			

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

Las características macroscópicas físicas observables de cada jabón obtenido, están directamente relacionadas con la fuente de grasa seleccionada. Para explicar sus resultados con respecto a la textura, intente correlacionarlos con el contenido de sales carboxilato saturadas y con la extensión de la cadena carbonada. Por ejemplo, la mantequilla contiene un alto porcentaje de grasas saturadas y produce un jabón muy duro, posiblemente debido a la presencia de grandes cantidades de sales carboxilato saturadas. También, hay que considerar la posibilidad de que las diferentes texturas observadas estén influenciadas por impurezas ocluidas. Utilice las Tablas Nos. 2, 3 y 4.

Incluya en su discusión, los siguientes puntos:

1. Reacciones químicas específicas para la síntesis de su jabón particular.
Composición porcentual de este jabón.
2. ¿Por qué se añade etanol a la mezcla de grasa o aceite y álcali?
¿Para qué se adiciona cloruro de sodio?
3. ¿Qué sustancias permanecen en el residuo líquido después de filtrar?
4. ¿Cómo podrían aprovecharse las propiedades humectantes de la glicerina producida y utilizarla como aditivo del jabón preparado? ¿Cómo separaría la glicerina de la mezcla de reacción? (punto de ebullición de la glicerina = 290 °C).
5. ¿Cómo podría averiguar si el jabón obtenido contiene restos de álcali?
¿Podría usarlo para lavarse las manos?
6. Cuando se usa una solución de KOH en lugar de la de NaOH, ¿se obtienen jabones más suaves para la piel? ¿Podría explicar por qué?
7. Reporte en una tabla el pH, la textura, solubilidad en agua, color y olor del jabón particular que preparó en el laboratorio.
8. Correlacione la textura y solubilidad en agua del jabón obtenido, con su composición química. Utilice las tablas anexas.
9. Explique cómo funcionan en general los jabones, basándose en consideraciones respecto a su estructura química y polaridad.
10. Lea las etiquetas de jabones de diferentes marcas comerciales y anote los componentes indicados. Utilice el Índice Merck para averiguar la función de cada componente. Elabore una tabla con estos datos.
11. El sulfato lauril de sodio, los alquilbencenosulfonatos y los alquilsulfonatos son

detergentes conocidos. ¿Cuál es la diferencia entre un detergente y un jabón?
¿Qué es un detergente biodegradable?

12. ¿Por qué el jabón disminuye la tensión superficial del agua? Este efecto permite que el agua sea mejor absorbida por el tejido de las telas y que las grasas puedan ser mejor lavadas. ¿Por qué?

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Phanstiel, Dueno y Xianghong (1998).

Referencias bibliográficas

- Hill, J. W. and Kolb, D. K. (1999). *Chemistry for Changing Times*. (8th Ed. New York: Prentice Hall Inc.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Phanstiel, O., Dueno, E. and Xianghong, Q. (1998). *Journal of Chemical Education*. 75(5):612-614.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México: Prentice-Hall Hispanoamericana.

Experiencia práctica 15

Síntesis de detergentes: sulfato de lauril sódico. Estudio comparativo de propiedades de jabones y detergentes

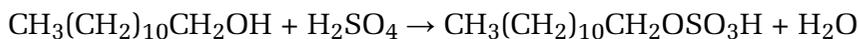
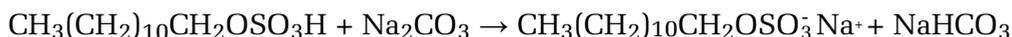
Con la difusión del uso de jabones, aumentó la demanda de grasas animales y vegetales que, por otro lado, se empleaban también en las industrias de alimentos (aceites, margarinas, enlatados, etc.), de medicinas (como vehículos para algunas drogas de uso externo), cosméticos, tintes, etc. De esta manera surgía la necesidad de fabricar productos sintéticos que no requiriesen grasas para su elaboración y que cumpliesen las mismas funciones que el jabón.

Los detergentes son agentes limpiadores preparados a partir de materia prima sintética y no de grasas o aceites naturales. Las moléculas de los detergentes sintéticos se parecen lo suficiente a las de los jabones como para tener el mismo mecanismo de acción limpiadora, tienen también un extremo polar hidrófilo y un extremo no polar hidrófobo, lipófilo en su estructura. Detergentes y jabones difieren en la mayor efectividad de los primeros en medios ácidos y aguas duras. Fueron desarrollados como una alternativa a los jabones desde el punto de vista económico y de eficiencia.

Cuando en el agua de lavado hay presencia de iones calcio, magnesio y hierro (aguas duras), los jabones no son muy efectivos en su acción limpiadora, pues forman sales insolubles en agua con estos iones. Los aniones del jabón reaccionan con estos iones metálicos, formando sólidos grasosos e insolubles. Estos depósitos constituyen el conocido “anillo del lavamanos” y son la causa del “gris delator” en la ropa lavada. Una solución de detergente, en cambio, no forma precipitados en aguas duras.

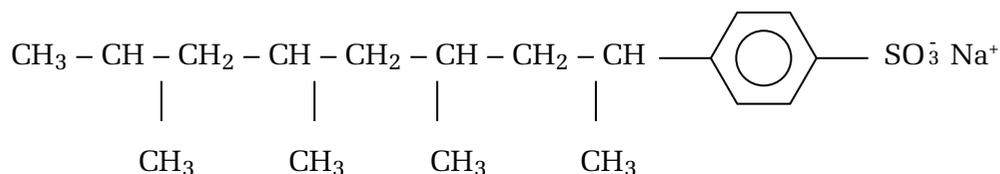
Otro inconveniente importante de los jabones es que, en soluciones ácidas, se convierten en ácidos grasos libres que carecen de un extremo iónico y, por lo tanto, no poseen acción limpiadora. Estos ácidos grasos de largas cadenas carbonadas son insolubles en agua y se separan en forma de una nata grasosa.

Uno de los primeros detergentes desarrollados fue el sulfato de lauril sódico, preparado por la acción del ácido sulfúrico (o clorosulfónico) sobre alcohol laurílico (1-dodecanol):

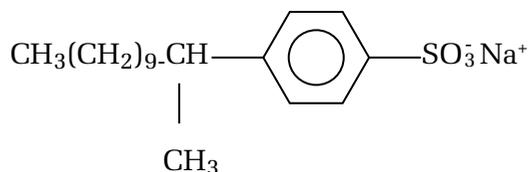
**Alcohol laurílico****Sulfato de lauril sódico**

La producción industrial de este detergente es relativamente costosa desde el punto de vista económico..

Los primeros detergentes económicos fueron sintetizados en 1950. Estos detergentes, llamados alquilbencenosulfonatos (ABS) se prepararon a partir de derivados de bajo costo del petróleo, propileno ($\text{CH}_2 = \text{CHCH}_3$) y benceno, para dar un producto final típico:

**Detergente ABS**

Los ABS se hicieron muy populares pues, siendo de bajo costo, también eran efectivos agentes de limpieza en aguas duras y blandas y desplazaron muy rápidamente a los jabones. Sin embargo, después de su uso durante poco más de una década, se descubrió que la espuma de estos detergentes se acumulaba en las plantas de tratamiento de aguas negras, formaba montículos en ríos y corrientes de agua y hasta aparecía en el agua potable de las ciudades. La razón de la persistencia del detergente es que las enzimas bacterianas que pueden degradar los jabones de cadena lineal, son incapaces de destruir la estructura altamente ramificada de los detergentes ABS en las plantas de tratamiento de aguas negras. La provisión de aguas freáticas estaba en peligro, lo cual generó protestas masivas y en 1966 los detergentes ABS fueron reemplazados por nuevos detergentes biodegradables, llamados alquilsulfonatos lineales LAS:

**Detergente LAS**

Los microorganismos especializados pueden descomponer las moléculas de detergentes LAS, utilizando enzimas que degradan la molécula, separando solamente dos átomos de carbono a la vez. La cadena ramificada de las moléculas de ABS, bloquea esta acción enzimática, lo que impide su rápida degradación.

La acción limpiadora de los detergentes sintéticos es muy similar a la de los jabones, con la ventaja de que los detergentes funcionan mejor en soluciones ácidas y en aguas duras. Sus sales de calcio, magnesio y hierro son solubles en agua y no se separan, precipitando de la solución de lavado, incluso en aguas de dureza extrema.

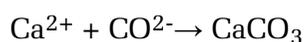
Los detergentes comerciales son en realidad una mezcla de varios compuestos. Un detergente típico contiene:

1. Alrededor de un 8 a 20 % de **agentes surfactantes o tensoactivos**, como un alquilsulfonato lineal o sulfatos de alcoholes de cadena larga, cuya acción es semejante a la del jabón; estabilizan la suspensión de sustancias no polares –aceites y grasas– en agua. Para reforzar el poder limpiador, un detergente comercial frecuentemente contiene dos de estos agentes surfactantes.
2. Un 30 a 50 % de un **agente coadyuvante o “builder”**, sustancias que ayudan al surfactante en su acción limpiadora. Los más empleados son: los polifosfatos de sodio o potasio (por ejemplo: $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, tripolifosfato de sodio), los cuales atrapan los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} en complejos solubles y producen leve alcalinidad; los silicatos de sodio o potasio, los carbonatos de sodio o potasio, todos los cuales actúan como alcalinizantes y ablandadores del agua (el detergente funciona mejor en medio básico) y la carboximetilcelulosa, la cual da volumen y evita la redeposición de la suciedad sobre el tejido lavado.
3. Otros aditivos incluyen **auxiliares o “fillers”** como:
 - sulfato de sodio: evita que el detergente se aglomere por efecto de la humedad del ambiente, pues es higroscópico.
 - perborato de sodio ($\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$): blanqueador por sus propiedades como agente oxidante.
 - perfumes, colorantes, suavizantes y germicidas.

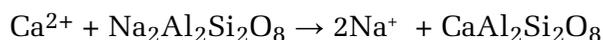
4. Abrillantadores ópticos o sustancias fluorescentes: estos compuestos llamados “blancóforos” o tintes incoloros, absorben el componente ultravioleta invisible de la luz solar y lo emiten como luz visible del extremo azul del espectro. La tela lavada se ve más brillante y la luz azul emitida cubre cualquier amarilleamiento, “el detergente lava más blanco”.

Los fosfatos adicionados como coadyuvantes del detergente, al ser vertidos al ambiente, aceleran la eutroficación de lagos y ríos pues sirven de nutrientes para el crecimiento de algas y plantas acuáticas. Cuando las algas y plantas acuáticas crecen excesivamente, consumen casi todo el oxígeno disuelto en el agua impidiendo así, la existencia de otras formas de vida. El ecosistema del lago desaparece a través de este proceso. Para resolver este grave problema, los coadyuvantes fosfato de los detergentes, han sido reemplazados por metasilicato de sodio y perborato de sodio, sustancias altamente básicas reportadas como fuertes irritantes de piel y ojos en humanos, que han generado otro problema: eliminan las bacterias de las plantas de tratamiento de aguas, además de otros efectos ambientales aún no conocidos.

También se han sugerido el carbonato de sodio y las zeolitas (aluminosilicatos complejos), como sustitutos de los fosfatos. El carbonato de sodio, precipita los iones calcio, por lo cual ablanda el agua:

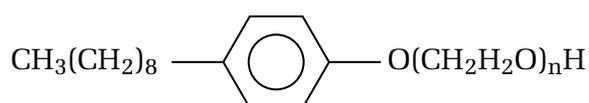
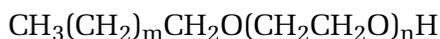


Pero, el carbonato de calcio precipitado puede dañar por obstrucción, tuberías de aguas y lavadoras automáticas. Las zeolitas capturan iones calcio intercambiándolos por sus iones sodio y no producen soluciones excesivamente alcalinas:

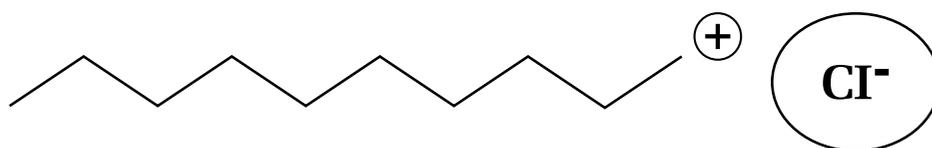


Los jabones y los detergentes que hemos reseñado hasta ahora, el sulfato de lauril sódico, los detergentes ABS y los detergentes LAS, son surfactantes o agentes tensoactivos aniónicos, puesto que la parte activa de la molécula es un anión, con una cadena no polar y un extremo iónico. La inmensa mayoría, unos 70 de los aproximadamente 100 surfactantes

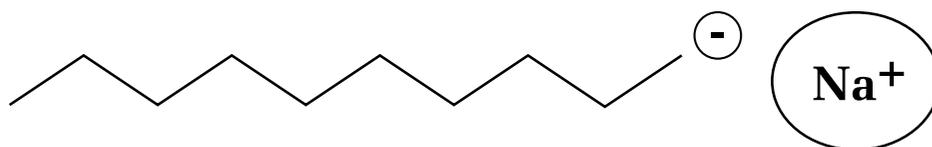
que se utilizan, son del tipo aniónico. También se fabrican surfactantes catiónicos y no iónicos. Los surfactantes catiónicos poseen su parte activa funcional como catión y los no iónicos, son moléculas neutras con carácter polar, como por ejemplo los etoxilatos de alcoholes y de alquilfenoles:



Los átomos de oxígeno hacen que un extremo de la molécula sea soluble en agua por formación de puentes de hidrógeno. Los surfactantes no iónicos son particularmente efectivos para lavar grasas, forman menos espuma y se utilizan en líquidos para lavar vajillas a mano (lavaplatos). Los surfactantes aniónicos son más efectivos que los no iónicos, en mantener las partículas de sucio en suspensión. Los surfactantes catiónicos (5 % de los surfactantes utilizados) poseen propiedades desinfectantes.



Surfactante aniónico



Surfactante catiónico

Parte 1. Preparación de un detergente

Procedimiento experimental

1. Transfiera entre 0,3 a 0,5 g (5 gotas) de 1-dodecanol a un tubo de ensayo y añada 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
2. Mezcle los dos líquidos girando el tubo.
3. Añada 2 mL de agua destilada al gel formado y una gota de fenolftaleína.
4. Adicione lentamente gotas de solución de hidróxido de sodio al 12 % p/p, hasta que la solución en el tubo de ensayo tome un ligero color rosado.
5. Vierta la mezcla a un vidrio de reloj y evapore a sequedad, colocándolo sobre un vaso de precipitado con agua en ebullición.

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

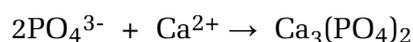
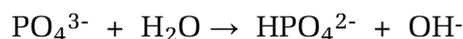
1. Escriba la reacción química para la síntesis del detergente.
2. ¿El detergente sintetizado forma espuma con el agua?
3. ¿Es biodegradable el detergente obtenido? ¿Por qué?
4. ¿Para qué se usan la fenolftaleína y la solución de hidróxido de sodio?
5. ¿Cómo se forma la espuma?

Parte 2. Pruebas sobre jabones y detergentes

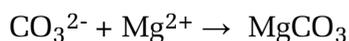
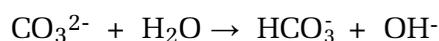
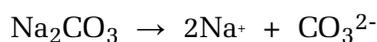
1. Disuelva 0,15 g del detergente en 10 mL de agua destilada. Vierta esta solución en un tubo de ensayo limpio y seco.
2. Agite vigorosamente por 15 segundos y deje en reposo por 30 segundos. Mida con regla graduada, el nivel de altura de la espuma.
3. Adicione 4 gotas de solución de cloruro de calcio al 4 %. Agite vigorosamente por 15 segundos; deje reposar por 30 segundos y mida el nivel de la espuma.
4. Efectúe las dos pruebas anteriores, con una solución jabonosa (0,15 g de jabón en 10 mL de agua destilada), en un tubo de ensayo idéntico al utilizado para el detergente. Anote sus observaciones.
5. Añada 1 g de fosfato trisódico, Na_3PO_4 , a las dos mezclas anteriores y agite por 15 s. Deje reposar por 30 s. ¿Qué observa en cada caso?

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. Compare la producción de espuma del jabón en agua destilada desionizada (agua blanda) y en agua con cloruro de calcio (agua dura).
2. Compare la producción de espuma del detergente en agua blanda y en agua dura.
3. El fosfato trisódico es un agente ablandador del agua, hace alcalina la solución, lo cual evita la precipitación de los ácidos grasos y precipita los iones calcio y magnesio:



El carbonato de sodio, Na_2CO_3 , también alcaliniza el agua y elimina los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} del agua dura:



4. ¿Qué problemas ha generado la adición de fosfatos a los detergentes?
5. Cite razones económicas y de efectividad, que favorecen el uso de detergentes frente al uso de jabones.
6. Lea las etiquetas de detergentes comerciales, anote sus componentes y elabore una tabla, señalando las funciones de cada uno. Utilice el Índice Merck u otra fuente bibliográfica de referencia como ayuda.
7. Calcule el porcentaje de rendimiento de la reacción.

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de Pavia et al. (1986).

Referencias bibliográficas

- Hill, J. W. and Kolb, D. K. (1999). *Chemistry for Changing Times*. (8th Ed.)
New York: Prentice Hall.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.)
México: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Pavia, D., Lampman, G. and Kriz, G. (1986). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company.
- Wade, L.G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.)
México: Prentice-Hall Hispanoamericana.

Experiencia práctica 16

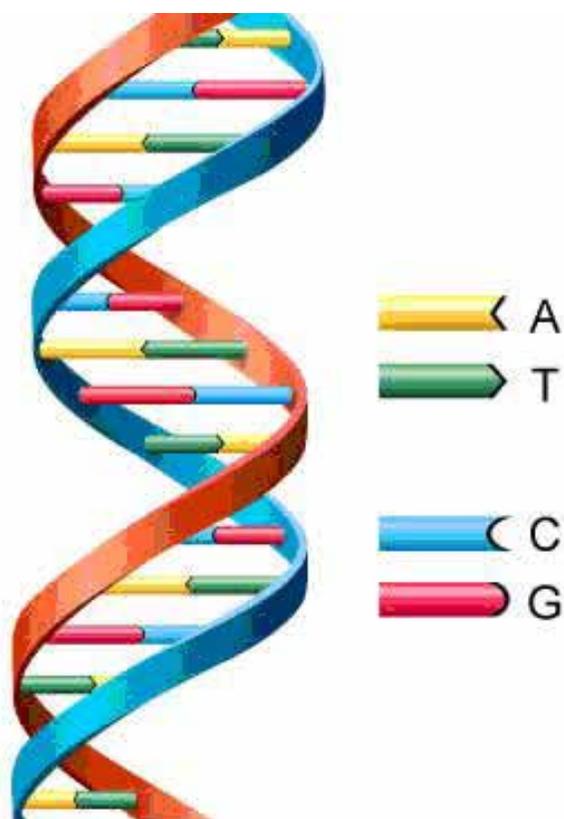
Extracción de ADN de tejidos animales y vegetales

La molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico) está formada por dos cintas poliméricas complementarias, enrolladas entre sí y unidas por puentes de hidrógeno. El monómero de este extraordinario polímero, consiste en un fosfato, un azúcar simple y una base nitrogenada. Los grupos fosfato y azúcar, conforman el esqueleto de cada hélice; cada monómero contiene una de las cuatro bases nitrogenadas: timina, adenina, citosina y guanina. Los pares de bases timina–adenina y citosina–guanina son complementarios y mantienen las cintas unidas con dos y tres puentes de hidrógeno, respectivamente. La naturaleza polimérica del ADN le permite portar las instrucciones para el funcionamiento y replicación de un organismo vivo.

En esta experiencia práctica se extraerá el ADN de células de alimentos comunes, como hígado crudo, cebolla, cambur, ajo y tomate.

Para extraer el ADN, la membrana celular se rompe por impacto mecánico sobre el tejido y por la adición de una solución reguladora (pH= 8) con un detergente añadido. Una vez que las membranas celulares se rompen, el ADN y otros materiales como ARN (ácido ribonucleico), proteínas, carbohidratos, se liberan. La solución reguladora se emplea para disolver y estabilizar las moléculas de ADN. La adición de detergente (polvo para lavar, líquido lavaplatos o shampoo) se efectúa con dos objetivos: uno, romper las paredes y membranas celulares exhaustivamente, y dos, para desnaturalizar las enzimas que podrían destruir al ADN. Para retardar la degradación del ADN, resulta conveniente enfriar la solución amortiguadora de pH en un baño agua-hielo, antes de comenzar la experiencia práctica. Las moléculas de ADN son frágiles y pueden romperse fácilmente, por lo que se requiere cuidado al trabajar.

El ADN es soluble en solución salina acuosa pero precipitará cuando se añada etanol frío. Si el ADN no ha sido muy fragmentado durante el procedimiento, se podrán enrollar muchas cintas paralelas largas de la molécula de la herencia, sobre una varilla de vidrio.



Ácido desoxirribonucleico (ADN)

Materiales

- Hígado de res crudo
- Cebolla
- Ajo
- Cambur
- Tomate
- Cuchillo o bisturí
- Agua destilada
- Cloruro de sodio
- Bicarbonato de sodio
- Detergente líquido (lavaplatos, jabón de lavandería o shampoo)
- Solución de acetato de sodio 3M
- Etanol
- Balanza
- Baño agua-hielo

- Licuadora o picador de cocina eléctrico
- Matraces Erlenmeyer de 100 mL
- Vasos de precipitado de 15 mL
- Cilindros graduados de 10 mL y 100 mL
- Varilla de vidrio
- Tubos de ensayo
- Centrífuga o embudo Büchner sin papel de filtro o colador de tela
- Gotero

Procedimiento experimental

1. Enfríe 50 mL de etanol en un frasco dentro de un baño agua-hielo.
2. **Preparación de la solución amortiguadora.** Prepare una solución amortiguadora de carbonato, disolviendo 0,75 g de NaCl, y 2,5 g de NaHCO₃ y 1 mL de detergente líquido, en 60 mL de agua destilada. Enfríe la solución en un baño agua-hielo.
3. **Extracción del ADN del hígado.** Coloque aproximadamente 5 cm³ de hígado crudo fresco o congelado y unos 30 mL de agua destilada en la licuadora. Haga un puré pulsando las teclas de encendido y apagado varias veces, con un tiempo total de licuado de 20-30 segundos. Vierta la mezcla en un vaso de precipitado, adicione un volumen equivalente de la solución amortiguadora con detergente y agite vigorosamente con una varilla de vidrio por unos 2 minutos.
4. Transfiera de 10 a 15 mL de la mezcla a un tubo de centrifuga por 3 minutos. Los materiales más densos se depositarán en el fondo del tubo, y la solución que contiene ADN quedará como sobrenadante. Si no hay disponibilidad de centrifuga, puede separar la solución de ADN del resto de materiales celulares, exprimiendo con suavidad la mezcla con un colador de tela o empleando un embudo Büchner sin papel de filtro.
5. **Precipitación de ADN.** Transfiera unos 5 mL del líquido sobrenadante del tubo de centrifuga o del filtrado obtenido en el paso anterior, a un tubo de ensayo limpio. Adicione 10 gotas de solución de acetato de sodio y agite suavemente la solución. Vierta cuidadosamente 10 mL de etanol congelado a lo largo de la pared del tubo de ensayo de tal manera que se formen dos capas: el etanol, siendo menos denso que el agua de la solución amortiguadora, flotará en la parte superior. El ADN

aparecerá en la interfase entre las capas. Si se logra obtener fibras poliméricas largas, éstas podrán enrollarse alrededor de una varilla de vidrio.

6. **Extracción de ADN de cebolla, ajo, tomate o cambur.** Repita el procedimiento sustituyendo el hígado por cada uno de estos vegetales.

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Carlson (1998) y Nordell K et al. (1999).

Referencias bibliográficas

- Carlson, S. (1998). *Scientific American*. 279 (3): 96-97.
- Holum, J. R. (1999). *Fundamentos de Química Orgánica y Bioquímica*. México: Editorial Limusa-John Wiley and Sons.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Nordell, K et al. (1999). *J. Chem. Education*. 76(3): 400A-400B.

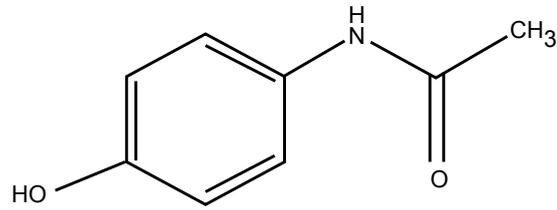
Experiencia práctica 17

Química Farmacéutica. Conversión de acetaminofén en fenacetina

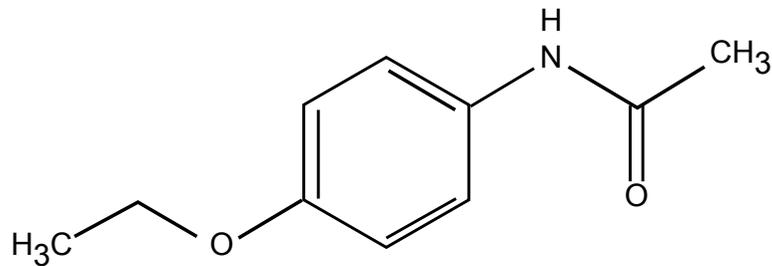
El acetaminofén (N-acetil-p-aminofenol) es un fármaco eficaz que puede utilizarse en sustitución de la aspirina como analgésico-antipirético. Su actividad antiinflamatoria es baja y por lo tanto, no es útil para combatir trastornos inflamatorios. El acetaminofén es una droga bien tolerada que no genera muchos de los efectos colaterales de la aspirina y puede comprarse en las farmacias sin prescripción médica, por lo que ocupa un sitio destacado como analgésico de amplio uso. Químicamente, forma prismas monoclinicos al ser obtenido por recristalización de agua o etanol, su punto de fusión es 168 °C, es insoluble en agua fría, soluble en agua caliente y en etanol.

La acetanilida fue la sustancia original a partir de la cual se sintetizaron todo un grupo de fármacos derivados; fue introducida en la terapéutica con el nombre de antifebrina debido a un descubrimiento accidental de su acción antipirética. Sin embargo, esta sustancia resultó ser demasiado tóxica. En la búsqueda de compuestos menos tóxicos, se ensayó el p-aminofenol con la idea de que el organismo humano oxidaba la acetanilida hasta generar dicho compuesto. No obstante, la toxicidad no disminuyó y se continuó probando con otras drogas derivadas del p-aminofenol. La fenacetina (acetofenetidina) fue una de las drogas analgésicas que se introdujo en terapéutica en 1887 y fue ampliamente usada en mezclas analgésicas, hasta que se descubrió que intervenía en nefropatía por abuso de analgésicos. La fenacetina forma cristales, escamas o polvo, de punto de fusión 134 -135 °C, es muy poco soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol, éter, cloroformo y soluble en glicerol.

El acetaminofén fue utilizado por primera vez en medicina en 1893. Desde 1949 ha tenido gran aceptación, fecha en la cual se identificó como el metabolito activo principal de la acetanilida y la fenacetina. Es interesante observar que la ingestión de fenacetina resulta en su transformación metabólica en el cuerpo humano a acetaminofén, la cual es la reacción inversa de la que se propone en esta experiencia práctica.



Acetaminofén



Fenacetina

A continuación se suministra una lista de analgésicos comerciales cuyo único principio activo es acetaminofén (están constituidos por acetaminofén y excipientes) de venta en Venezuela.

Tabletas de acetaminofén 500 mg de venta en farmacias en Venezuela

Nombre comercial	Laboratorio farmacológico
Acetaminofén genérico	Vivax, Valmorca
*Atamel®	Pfizer
Cadafén®	Drovepat
Dolofén®	Andrómaco
Kramidar®	Spefar
Menpirín®	Intra
Relasín®	Schering Plough
*Tachipirín®	Elmor
*Tempra®	Bristol-Myers
Vestax®	Vargas
Winadol®	Sanofi – Winthrop

Nota

Los analgésicos comerciales marcados con asterisco (*), son los que están mayoritariamente disponibles a la venta en la actualidad.

Procedimiento experimental

1. Vierta en un balón de destilación de 25 o 50 mL, 1,51 g (10 m moles) de acetaminofén o una cantidad equivalente de algún analgésico comercial que lo contenga, 2,76 g de K_2CO_3 en polvo finamente dividido, 15 mL de metil-etil-cetona y 2,0 g (13 m moles) de yoduro de etilo.
2. Una en posición vertical, un condensador o refrigerante al balón y caliente suavemente para lograr un reflujo durante 3 horas, usando un baño de agua caliente.
3. Filtre la mezcla de reacción por gravedad, directamente en un embudo de separación de 125 mL. Lave el balón con varias porciones de acetona y añada los lavados al filtrado. El polvo remanente en el papel de filtro es mayoritariamente K_2CO_3 mezclado con la sustancia empleada como vehículo en la tableta de analgésico y puede desecharse.
4. Adicione 20 mL de agua destilada y 25 mL de diclorometano al contenido del embudo y, después de mezclado y extracción exhaustiva, colecte las capas orgánicas.
5. Extraiga la capa acuosa dos veces más con porciones de 25 mL de diclorometano y luego deséchela en el frasco destinado para tales fines (rotulado: capa acuosa).
6. Reúna las capas de diclorometano extraídas y lave con 25 mL de solución de NaOH al 5 %, para remover cualquier material inicial que haya quedado sin reaccionar. Posteriormente, lave con agua destilada y luego someta a secado con $MgSO_4$ anhidro.
7. Evapore el solvente remanente con destilación simple o rotaevaporador.
8. Saque el polvo seco del frasco y determine su masa y punto de fusión.
9. Tome una placa para cromatografía de capa fina para efectuar la siguiente comparación. Aplique la fenacetina sintetizada en el laboratorio y una muestra de fenacetina pura y compare los valores de R_f observados.

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Haddad y Rasmussen (1996) y Volker y Hough (1979).

Referencias bibliográficas

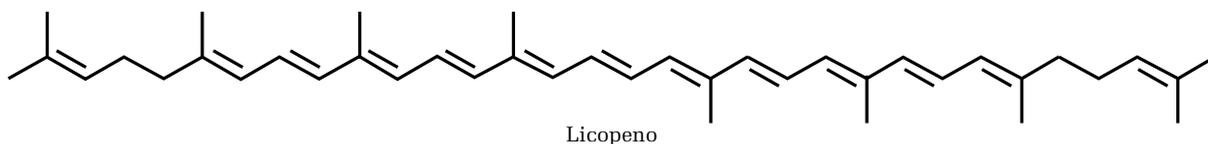
- Bevan, J. (1992). *Essentials of Pharmacology*. (2nd Ed.) USA: Harper and Row Publishers.
- Hardman, JG, Limbird, LE, Molinboff, PB, Ruddon, RW, y Goodman, A (2001). *Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. (9ª Ed) México: McGraw-Hill Interamericana.
- Haddad, P. and Rasmussen, M. (1996). *J. of Chem. Education*. 53(11):731.
- Morrison, R. T. y Boyd, R. B. (1990). *Química Orgánica*. (5ª Ed.) México: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.
- Spilva de Lehr, A. y Muktans, Y. (2006). *Guía de las Especialidades Farmacéuticas en Venezuela*. (29na Ed.) Caracas: Global Ediciones.
- Volker, E. and Hough, Ch. (1979). *J. of Chem. Education*. 56 (12):831.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México: Prentice-Hall Hispanoamericana.

Experiencia práctica 18

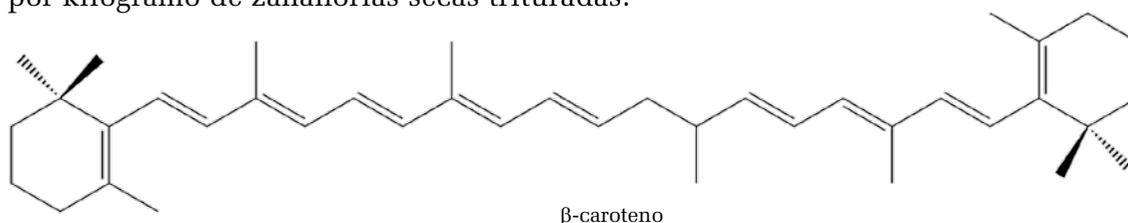
Aislamiento de productos naturales y cromatografía en capa fina. Licopeno y β -caroteno

En esta experiencia práctica, aislaremos **licopeno**, pigmento rojo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y **β -caroteno**, pigmento amarillo de la zanahoria (*Daucus carota* L.). Estas sustancias son carotenoides, pigmentos que presentan muchas plantas y grasas animales. El licopeno y el β -caroteno son ejemplos de carotenoides hidrocarbonados.

Los tomates frescos contienen alrededor de un 96 % de agua. En 1907 Willstätter aisló 20 mg de licopeno por kilogramo de tomate. En la actualidad, una fuente más conveniente de licopeno se encuentra en la pasta de tomate comercial, de la cual, semillas y piel han sido eliminadas. En la pasta de tomate, el contenido de agua de los tomates ha sido reducido por evaporación al vacío, hasta el punto tal, que los componentes sólidos representan un 26 % del peso total. Es posible aislar 150 mg de licopeno por kilogramo de pasta de tomate comercial. La pasta de tomate también contiene una pequeña proporción de β -caroteno. El rendimiento esperado en esta experiencia práctica es aproximadamente 0,75 mg de los carotenoides mezclados.



Un frasco de concentrado de zanahorias vendido como compota para bebés, sirve de fuente conveniente de β -caroteno. Originalmente, Willstätter aisló 1 g de β -caroteno por kilogramo de zanahorias secas trituradas.



El procedimiento en esta práctica consiste en la deshidratación con etanol, seguida por la extracción con diclorometano, el cual es un solvente eficiente para lípidos. La deshidratación inicial se lleva a cabo para remover o eliminar agua del tejido de tomate o

zanahoria y de esta manera hacer más eficiente la extracción con diclorometano. Siendo el diclorometano inmiscible en agua, no extraerá eficientemente los carotenoides del tejido vegetal sino hasta que el agua haya sido removida.

Procedimiento experimental

1. Preparación de extractos de tomate y zanahoria

Coloque 5 g de pasta de tomate en un matraz Erlenmeyer. Añada 10 mL de etanol al 95 % y caliente la mezcla hasta ebullición durante 5 minutos. La mezcla debe someterse a ebullición suave, de tal manera que el etanol no se evapore apreciablemente. Tape el Erlenmeyer con un vidrio de reloj durante esta ebullición. Dejar una espátula metálica dentro del matraz Erlenmeyer, ayuda a mantener baja la temperatura, ya que el calor es parcialmente absorbido por el metal y luego es parcialmente dispersado al medio.

Después de este período de ebullición, filtre la mezcla caliente a través de un embudo Hirsch pequeño SIN APLICAR VACÍO. Asegúrese de limpiar bien las paredes del Erlenmeyer con la espátula y de permitir que todo el líquido pase por el filtro. Escurra el líquido del residuo semisólido recolectado en el embudo, presionándolo suavemente con el lado plano de la espátula. Vierta el líquido filtrado amarillo, en un Erlenmeyer de 125 mL y apártelo.

Transfiera el residuo sólido –con o sin el papel de filtro adherido– a un balón de destilación. Adicione 10 mL de diclorometano y caliente la mezcla bajo reflujo por 3 a 4 minutos. El diclorometano tiene un punto de ebullición relativamente bajo (41 °C), así que haga el reflujo suavemente de manera de no perder todo el solvente. El diclorometano es tóxico; tenga cuidado de no saturar el ambiente con sus vapores. Trabaje bajo campana de extracción de gases.

De nuevo filtre el extracto amarillo de igual manera que la primera vez (con embudo Hirsch SIN VACÍO) y adicione el líquido filtrado al líquido que Ud. apartó en el matraz Erlenmeyer. En esta operación, el líquido puede simplemente descartarse de los sólidos y pasarse a través del filtro. Es importante decantar con cuidado sin dejar

pasar sólidos. Con este procedimiento no es necesario filtrar los residuos sólidos, los cuales pueden dejarse en el Erlenmeyer.

Repita la extracción de los residuos sólidos del matraz Erlenmeyer, lavando bien con tres porciones de 10 mL de diclorometano adicionales.

Vierta los extractos combinados de diclorometano en un embudo de separación, adicione unos pocos mililitros de solución de NaCl saturada, para evitar la formación de emulsión y ayudar a la separación nítida de las fases y agite. Permita que las capas se separen y luego, lentamente, drene la capa inferior coloreada (el CH_2Cl_2 , diclorometano, es más denso que el agua) a través de un embudo de filtración por gravedad, el cual debe estar provisto de un tapón flojo de algodón en el cuello y encima de éste, una capa de 1 cm de espesor de sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio anhidro. Este procedimiento remueve el agua de la solución que se está filtrando.

Guarde la solución filtrada en un frasco limpio y seco, bien tapado, para evitar la oxidación por el oxígeno del aire y cubierto con papel de aluminio, para proteger de descomposición fotoquímica.

Antes del análisis cromatográfico, la solución debe evaporarse a sequedad en un baño de agua caliente bajo campana; esto se efectúa como paso previo, justo antes de efectuar el análisis cromatográfico.

Repita el procedimiento anterior, de idéntica manera, con 5 g de compota de zanahorias.

2. Cromatografía en capa fina

Lea previamente la técnica que describe el procedimiento para la cromatografía de capa fina.

Analizaremos el material extraído de tomates y zanahorias, como se describe a continuación.

Si el solvente –diclorometano– se ha evaporado de las muestras de pasta de tomate y de compota de zanahoria previamente preparadas, adicione 1 o 2 gotas de CH_2Cl_2 y agite la mezcla para disolver el material. Es posible que la muestra no se disuelva

completamente, a causa de la producción de material insoluble formado por oxidación parcial de los carotenoides por el aire, pero deberá haber suficiente líquido sobrenadante coloreado para varios experimentos. Mantenga las soluciones al resguardo de la luz mientras no se estén usando. Los hidrocarburos altamente insaturados experimentan rápida autooxidación fotoquímica, pero durante la cromatografía están protegidos por el vapor del solvente en la cámara de desarrollo. Sin embargo, al sacar una placa de la cámara, puede que alguna mancha desaparezca rápidamente; por esta razón, deben delinearse todas las manchas con lápiz, inmediatamente después de sacar la placa de la cámara de desarrollo. Deje una placa donde las manchas delineadas hayan desaparecido y revélela en una cámara de yodo.

En una sola placa pueden aplicarse los dos extractos (tomate y zanahoria) debidamente separados e identificados.

Desarrolle una placa de capa fina en ciclohexano. Adicionalmente, ensaye un sistema de solvente más polar, como tolueno-ciclohexano (1:9). Saque las placas –¿en qué momento debe hacerse esto?– e inmediatamente delimite las manchas suavemente con un lápiz. Calcule los valores de R_f para cada mancha. Puesto que se reporta que la pasta de tomate contiene β -caroteno y licopeno, deberá ser posible detectar la presencia de ambos pigmentos en esta muestra. Se deberá obtener un resultado similar con la muestra de compota de zanahoria, aunque el licopeno, en menor concentración, puede ser más difícil de detectar en este caso. Puede resultar interesante comparar los valores de R_f de cada uno de los componentes, con aquellos de los estudiantes que hayan usado las fuentes vegetales naturales en la experiencia práctica. Se logra una mejor comparación, al aplicar las dos muestras –de zanahorias y de tomates– en la misma placa y desarrollarlas de esta manera, bajo condiciones idénticas.

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Pavia et al. (2000).

Referencias bibliográficas

- Abbott, D. y Andrews, R. S. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. (2ª Ed.) Madrid: Editorial Alhambra.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. (4ª Ed.) México: Pearson-Addison Wesley.
- Domínguez, X. (1990). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. (5ta Ed.) México: Editorial Noriega-Limusa.
- Domínguez, X. A. (1975). *Cromatografía en papel y en capa delgada*. OEA, Washington. Monografía No 16. Serie de Química.
- García, G. J. y Rodríguez. A. D. (2004). *Industrias Químicas Agroalimentarias*. México: Alfa Omega Grupo Editor.
- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica*. (2da Ed.) Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (1998). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- Silva, D.J. (1998). *Análise de alimentos*. (2ª Ed.) Brasil: Editora Universidade Federal de Viçosa. Brasil.
- Secretaría General de la Organización de Estados Americanos (1998). *Introducción al Estudio de los Productos Naturales*. Editora: Eva V Chesnau. Silva, D. J.
- Valencia Ortiz, C. (1995). *Fundamentos de Fitoquímica*. México: Editorial Trillas.

Experiencia práctica 19

Propiedades químicas de los carbohidratos

En las hojas de las plantas existe un laboratorio químico excepcional del cual depende en un grado inimaginable, nuestra vida y civilización actual. Allí se procesan materias primas tan sencillas como el agua y el dióxido de carbono del aire; utilizando la energía solar y como catalizador al pigmento verde clorofila, se produce la **glucosa**, el azúcar más importante en la naturaleza. Este asombroso proceso se llama **fotosíntesis**.

Miles de moléculas de glucosa se combinan para generar las moléculas mucho más grandes de celulosa. La **celulosa** es el principal constituyente de las paredes celulares de las plantas; es su material de soporte o armazón estructural. A través de otra vía química ligeramente diferente, muchas moléculas de glucosa se unen para formar las enormes moléculas de **almidón**, carbohidrato que es continuamente construido y destruido en sus monómeros constituyentes, en las células vivientes. El almidón, al igual que la glucosa, sirve como material energético de reserva que se almacena en las semillas y en los tubérculos, donde funciona como alimento primigenio para la nueva planta en desarrollo. Cuando un animal digiere el almidón –algunos animales también pueden digerir y metabolizar la celulosa–, éste es degradado hasta unidades de glucosa, las cuales se recombinan en el hígado para formar **glucógeno**, material donde se almacena energía, llamado también “almidón animal”. Cuando hay requerimientos de energía, el glucógeno de reserva puede ser degradado reconvirtiéndose nuevamente en glucosa, la cual se oxida a dióxido de carbono y agua, liberando la energía proveniente originariamente del sol.

Otra parte de la glucosa es transformada en **grasas** y aún otra parte, reacciona con compuestos nitrogenados para producir **aminoácidos**, unidades monoméricas de las **proteínas**, compuestos nitrogenados de plantas y animales, constituyentes muy importantes y esenciales de toda célula viviente.

La glucosa, la celulosa, el almidón y el glucógeno, son compuestos orgánicos que pertenecen al grupo denominado genéricamente **carbohidratos**. Los carbohidratos son en última instancia, la fuente de la enorme mayoría de nuestros alimentos y los de

los animales; en éstos, se convierten en carne y grasa, que también consumimos los humanos. Casi cualquier aspecto de la vida humana se relaciona con los carbohidratos. Nos vestimos con algodón y lino –dos formas de celulosa–, rayón y acetato de celulosa, derivados de ésta. Construimos casas y muebles con madera (la cual es básicamente 75 % de celulosa); también empleamos sus desechos en forma de bolitas compactas de aserrín como combustible. El papel también está hecho de celulosa.

El término “carbohidrato” surgió porque los azúcares tienen fórmulas moleculares: $C_x(H_2O)_y$, que indican que los átomos de carbono están de alguna manera, combinados con moléculas de agua y por ello se les denominó “hidratos de carbono” o carbohidratos. La definición aceptada en la actualidad incluye a los polihidroxialdehidos, polihidroxicetonas y los compuestos que los producen por hidrólisis.

Los carbohidratos son mono-, di- o polisacáridos, los cuales poseen unidades (monosacáridos), repetidas en los di- y polisacáridos, generalmente de 5 o 6 átomos de carbono, unidas a través de enlaces con oxígeno. Un **monosacárido** es un carbohidrato que no es hidrolizable a moléculas de azúcar más pequeñas, un **disacárido** es un carbohidrato cuya hidrólisis produce dos moléculas de monosacáridos, y un **polisacárido**, a su vez, es un carbohidrato que por hidrólisis genera muchas moléculas de monosacáridos. Los polisacáridos inferiores que contienen entre 3 y 10 unidades de monosacáridos, se llaman **oligosacáridos**. Como muchos átomos de carbono son asimétricos, los carbohidratos pueden existir en muchas formas estereoquímicas y estructurales.

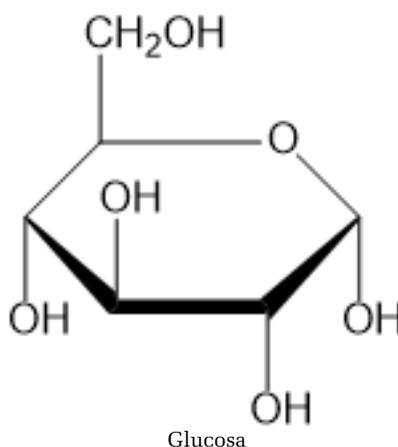
Los mono-, di- y oligosacáridos, son sólidos incoloros o líquidos con consistencia de jarabe, todos solubles en agua –por lo que se distinguen de los polisacáridos– y son sustancias combustibles neutras. Estas dos últimas propiedades los diferencian de otros compuestos orgánicos solubles en agua. El esqueleto básico de los carbohidratos, el cual contiene varios grupos OH, es la estructura que les confiere las propiedades características de solubilidad en agua y sabor dulce (aunque no todos los azúcares naturales son dulces). Esta forma de acción fisiológica, así como también la solubilidad en agua, varían enormemente con la configuración estereoquímica. Los polisacáridos, con cientos y miles de unidades simples de azúcares enlazadas entre sí en largas cadenas poliméricas, tienen propiedades similares pero, por sus altos pesos moleculares, son insolubles en agua. Por

ejemplo, algunos ácidos policarboxílicos y algunas aminas de bajo peso molecular, son solubles en agua, pero sus soluciones son ácidas o básicas respectivamente. Una sal de una amina soluble en agua reacciona con compuestos básicos liberando la amina. Las sales sódicas de los ácidos no son combustibles.

Los carbohidratos que reducen los reactivos de Fehling o de Benedict y Tollens, se llaman **azúcares reductores**. Todos los monosacáridos y la mayoría de los disacáridos son azúcares reductores, con excepción de la sacarosa (azúcar de caña o de remolacha, empleada como “azúcar de mesa” para consumo humano) que no es reductora. En estas pruebas, el azúcar reduce a un ion Ag^+ a Ag metálico o a un ion Cu^{2+} a Cu^+ .

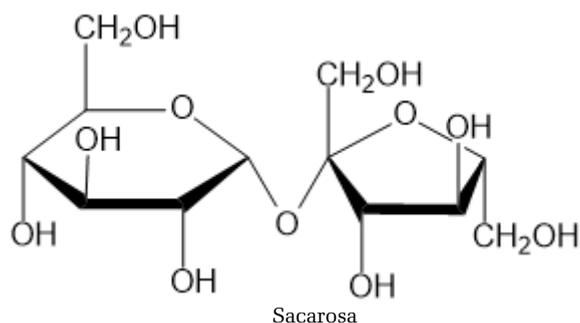
Algunos carbohidratos de interés

La **glucosa** o dextrosa es un monosacárido, aldehído (aldosa) pentahidroxilado, de seis carbonos, de fórmula molecular $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$. Como ya vimos, está presente en las plantas y es el azúcar de la sangre. Siendo una hexosa (azúcar de 6 C con un grupo aldehído), puede existir en un número considerable de formas.

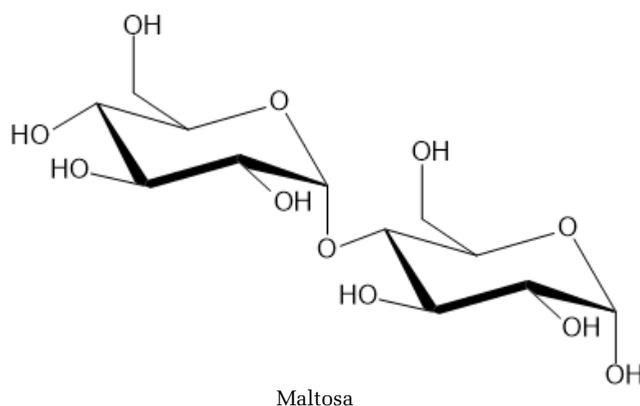


La **sacarosa**, azúcar extraído de la caña y de la remolacha, es una levadura, es aún más rápida y la mezcla de glucosa y fructosa resultante disacárido $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; es hidrolizada fácilmente por ácidos diluidos, a glucosa y fructosa. Su hidrólisis por las enzimas invertasas, presentes en las abejas y se llama “**azúcar invertido**”, porque la hidrólisis convierte a la rotación positiva de la luz plano polarizada $[\alpha]_D^{20} +66,5^\circ$ de la sacarosa, en rotación negativa, que es el promedio de la rotación de la glucosa $[\alpha]_D^{20} +52,7^\circ$ y la de fructosa $[\alpha]_D^{20} -92,4^\circ$. La forma más común de azúcar invertida es la miel, mezcla sobresaturada de

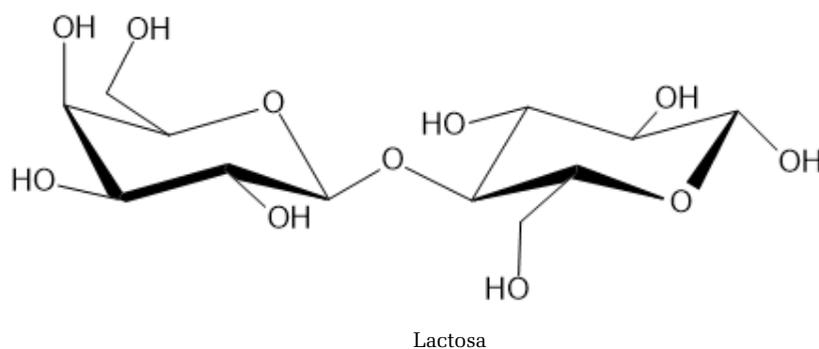
glucosa y fructosa, hidrolizada de la sacarosa por la enzima invertasa de las abejas.



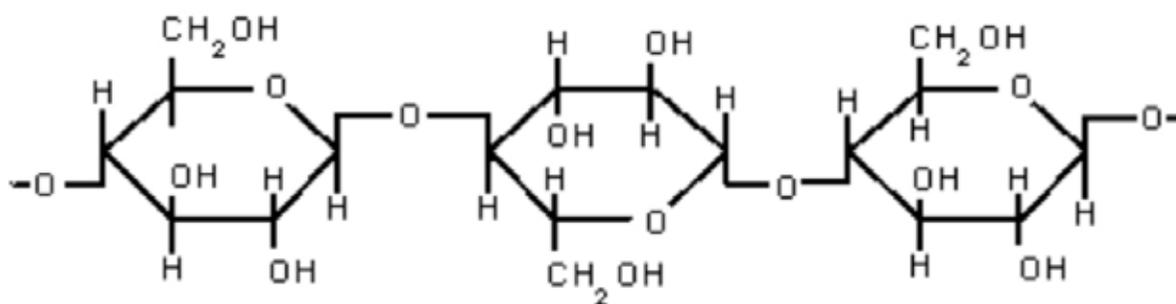
La **maltosa**, formada por dos unidades de glucosa, es un disacárido presente en la “malta” o grano de cebada germinado seco, sometido a calentamiento para destruir la vitalidad y detener la germinación. La maltosa proviene de la acción catalítica de la diastasa sobre el almidón del grano. Al mezclar almidón con malta, las amilasas de la malta convierten al almidón en azúcares sencillos fermentables. Este proceso llamado “malteado”, es el primer paso en la fabricación de la cerveza.



La **lactosa**, azúcar de la leche de los mamíferos, es un disacárido formado por una molécula de galactosa y una molécula de glucosa.



La **celulosa**, polisacárido polímero de la D-glucosa, es más abundante que cualquier otro material orgánico. Las plantas la sintetizan como material estructural de soporte. La disposición de los enlaces entre las unidades de glucosa en la molécula de celulosa, es muy rígida y muy estable, lo cual le confiere las propiedades específicas adecuadas para su uso como material estructural. La celulosa tiene una estructura geométrica que permite que sus moléculas se alineen lado a lado, traslapándose y torciéndose para formar fibras. Las moléculas largas de celulosa, llamadas *microfibrillas*, forman haces a través de los puentes de hidrógeno que se generan entre los numerosos grupos OH de los anillos de glucosa. El 75 % de la madera seca y el 90 % del algodón, es celulosa.

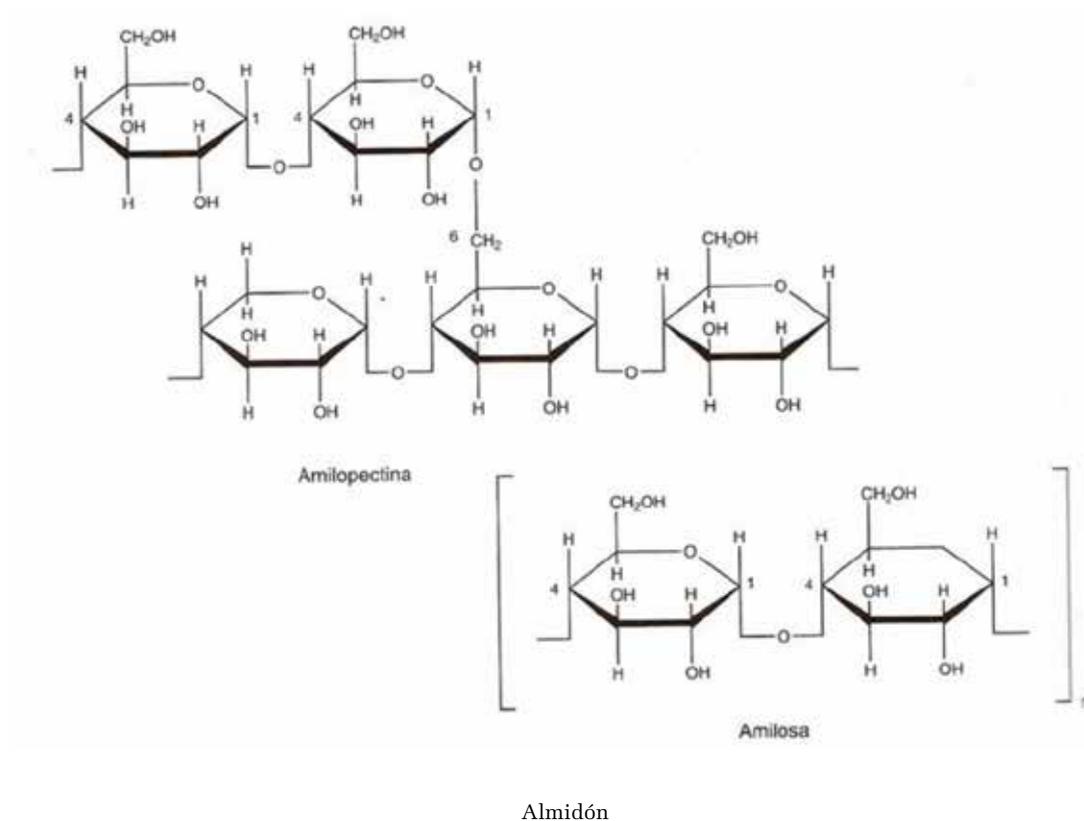


Celulosa

El organismo humano y el de otros mamíferos, no poseen la enzima β -glucosidasa necesaria para hidrolizar la celulosa y, por lo tanto, no pueden digerirla ni emplearla directamente como nutriente. Algunos grupos de bacterias y protozoarios pueden hidrolizar la celulosa y, las termitas (polillas) y los rumiantes, han desarrollado la capacidad de mantener colonias de estos microorganismos en sus estómagos e intestinos, para poder digerir la madera y el pasto.

Las plantas almacenan la energía química de la glucosa en las moléculas de **almidón**. El almidón es una mezcla de dos tipos de polímeros de α -glucosa: la amilosa y la amilopectina. En la **amilosa** las unidades de glucosa están unidas en sucesión lineal con longitudes de cadena variables, de pesos moleculares entre 150.000 y 600.000. Las moléculas largas de amilosa se enrollan para formar hélices parecidas a espirales en las que se oculta o dirige hacia el interior, una fracción significativa de los grupos OH. Teniendo buena parte de sus grupos OH aislados del contacto con el agua, la amilosa es

sólo ligeramente soluble en agua. Las moléculas de **amilopectina** en cambio, tienen una estructura excesivamente ramificada y estas ramificaciones evitan cualquier enrollamiento del polímero. Esto provoca la exposición de muchos más grupos OH al contacto con moléculas de agua que en la amilosa y, por lo tanto, la amilopectina tiene tendencia a ser un poco más soluble en agua que la amilosa. En realidad, ninguno de los dos componentes del almidón se disuelve bien en agua y no forman una solución verdadera, sino una dispersión coloidal con efecto Tyndall.



Experiencia I. Estudio de mono- y disacáridos

Todos los experimentos están diseñados a escala micro.

1. Reacciones de oxidación de la (+)-glucosa

1.1 Prueba con permanganato de potasio

El permanganato de potasio, KMnO_4 , forma cristales de un color violeta intenso, es muy soluble en agua y su solución acuosa es de color violeta. Es un agente oxidante muy fuerte, que es fácilmente reducido en solución neutra a dióxido de manganeso, MnO_2 , precipitado marrón oscuro ($E^0 \text{MnO}_4^- / \text{Mn}^{2+} = 1,5 \text{ V}$), o manganatos (estado de oxidación: 4+). En solución ácida, es fácilmente reducido a sus sales de manganeso (estado de oxidación: 2+) y en solución alcalina, a manganatos (estado de oxidación: 6+). Por esta propiedad oxidante, es utilizado como bactericida desinfectante, pues provoca lisis de las membranas celulares.

Procedimiento experimental

1. Verter 3 mL de solución acuosa de glucosa al 10 % en un tubo de ensayo.
2. Adicionar unas gotas de solución de KMnO_4 al 0,3 %.
3. Observar si ocurre la oxidación a temperatura ambiente o si se requiere calentar la mezcla para que proceda la reacción.
4. Efectuar la misma prueba con 3 mL de solución de glucosa al 10 % a la que se añade una gota de solución de NaOH al 10 %.

1.2 Ensayo con el reactivo de Fehling

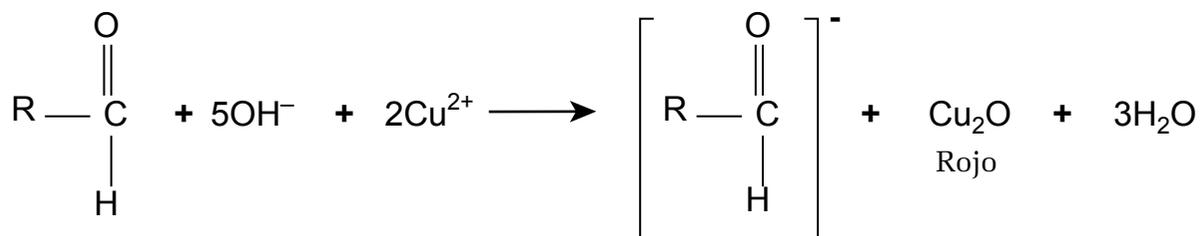
Este reactivo consiste en una solución de sulfato de cobre, tartrato doble de sodio y potasio, e hidróxido de sodio, y es empleado para la detección del poder reductor en compuestos orgánicos y también en el análisis cuantitativo de azúcares.

El reactivo se prepara por la mezcla de partes iguales de las soluciones I y II, que se mantienen separadas y, sólo justo antes de usarse, se unen:

Solución I: 34,64 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 500 mL de agua.

Solución II: 173 g de tartrato de sodio y potasio y 65 g de hidróxido de sodio disueltos en 500 mL de agua.

El ion Cu^{2+} forma un complejo con el anión tartrato, de color azul intenso y es reducido del estado cúprico Cu^{2+} , al cuproso Cu^+ , precipitando como óxido cuproso Cu_2O , de color rojo.



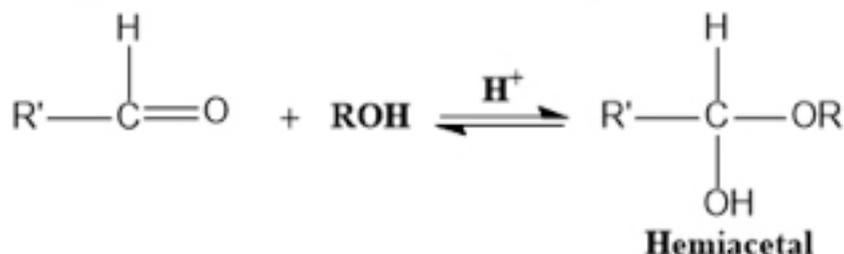
Procedimiento experimental

1. Se ensayan soluciones 0,1 M de glucosa, fructosa, lactosa, maltosa y sacarosa.
2. Verter 10 gotas de cada una de estas soluciones en 5 tubos de ensayo con rótulos resistentes al calor y al agua.
3. Se prepara un vaso de precipitado con agua caliente donde se puedan calentar simultáneamente los 5 tubos.
4. En un cilindro graduado de 10 mL, se miden 5 mL de la solución I y se vierten en un matraz Erlenmeyer de 25 mL. Habiendo lavado previamente el cilindro, se miden 5 mL de la solución II, los cuales se adicionan a los 5 mL de solución I en el matraz.
5. Se mezcla bien hasta disolver todo el precipitado y se adicionan 2 mL del reactivo de Fehling recién preparado a cada uno de los 5 tubos de ensayo rotulados, se agitan y se colocan en el baño caliente.
6. Observar y anotar los resultados.
7. Lavar los tubos, primero con agua y luego con ácido diluido.
8. Mantener los tubos de ensayo rotulados y el baño de agua caliente, para el siguiente ensayo.

1.3 Ensayo con el reactivo de Tollens

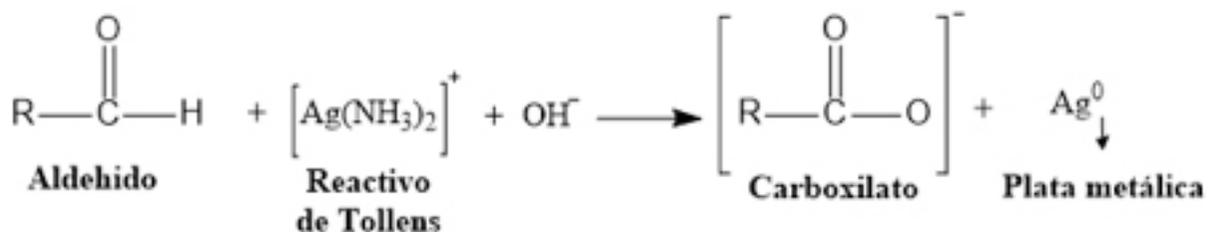
El reactivo de Tollens es una solución amoniacal de nitrato de plata e hidróxido de sodio, que se usa como prueba de caracterización de aldehídos, los cuales, a diferencia de las cetonas, provocan la deposición de un espejo brillante de plata metálica en las paredes del tubo de ensayo. Las aldosas y cetosas (monosacáridos con un grupo aldehído y una función cetona, respectivamente), también reducen al reactivo de Tollens, depositando plata metálica.

Como los carbohidratos son aldehídos o cetonas polihidroxilados, tienen el comportamiento químico y las reacciones características de los alcoholes, de los aldehídos y de las cetonas. Los alcoholes reaccionan de manera reversible con los aldehídos en presencia de ácidos anhidros, adicionándose al grupo carbonilo, para formar hemiacetales. Existen evidencias significativas de que los aldehídos en solución alcohólica se encuentran en equilibrio con un “hemiacetal”, muy inestable:



Cuando los grupos alcohol y carbonilo están en la misma molécula, como en los carbohidratos, se forma una estructura cíclica o anular y en solución acuosa, las formas abierta y cíclica están en equilibrio. De esta manera, los azúcares como la glucosa, tienen las reacciones características de los aldehídos, aun cuando la forma predominante es la de hemiacetal cíclico. Estos azúcares que contienen el grupo hemiacetal, se llaman **azúcares reductores** porque son capaces de reducir diversos agentes oxidantes en su forma de aldehído abierto.

La prueba de Tollens se emplea para detectar aldehídos, los cuales reaccionan con el reactivo de Tollens, produciendo iones carboxilato y plata metálica, la cual forma una película o espejo brillante de plata, en el interior del recipiente de vidrio donde tiene



En su forma de cadena abierta, una aldosa (carbohidrato con un grupo aldehído), tiene su grupo aldehído disponible para reaccionar con el reactivo de Tollens. Bajo condiciones alcalinas, como las del ensayo de Tollens, la forma de cadena abierta de

una cetosa (carbohidrato con un grupo cetona), se convierte en aldosa, la cual reacciona arrojando resultado positivo a la prueba. El ensayo de Tollens no puede distinguir entre aldosas y cetosas, pero es muy sensible para la detección de azúcares reductores.

Procedimiento experimental

1. Adicionar a cada uno de los 5 tubos de ensayo rotulados, un poco de solución de NaOH al 10 % y calentar en baño de agua, para lavar los tubos y dejarlos completamente limpios.
2. En otro tubo de ensayo se vierten 2 mL de una solución de AgNO_3 al 5 % y 1 mL de solución de NaOH al 10 %.
3. Se prepara una solución diluida de amoníaco, mezclando 1 mL de una solución concentrada de amoníaco con 10 mL de agua destilada.
4. Se toman 0,5 mL de la solución amoniacal diluida y se adicionan al óxido de plata precipitado.
5. Se tapa el tubo de ensayo y se agita, repitiéndose el proceso hasta disolver todo el precipitado, pudiéndose añadir hasta 3 mL de la solución amoniacal diluida.
6. Se diluye la solución resultante hasta un volumen total de 10 mL.
7. Se lavan bien los 5 tubos de ensayo con agua destilada y en cada uno de ellos se vierte una gota de las soluciones 0,1 M de los azúcares bajo ensayo (glucosa, fructosa, lactosa, maltosa y sacarosa).
8. Adicionar a cada tubo 1 mL de reactivo de Tollens y observar la reacción a temperatura ambiente. El tiempo que tarda en aparecer el primer precipitado de plata metálica, da información sobre el grado de actividad reductora de los azúcares ensayados.
9. Después de unos minutos, se colocan los 5 tubos en el baño caliente y se observan los cambios.

2. Hidrólisis de la sacarosa (ensayos a escala micro)

2.1. Estudio de las condiciones que promueven la hidrólisis química

Procedimiento experimental

1. Verter 5 mL de solución de sacarosa al 5 % en 3 tubos de ensayo rotulados y colocarlos en un vaso de precipitado con agua caliente.
2. Al tubo No. 1 se le adicionan 5 mL de agua.
3. Al tubo No. 2 se le adicionan 5 mL de HCl al 10 %.
4. Al tubo No. 3 se le adicionan 5 mL de solución de NaOH al 10 %.
5. Se permite que se calienten las mezclas en los 3 tubos por 5 minutos y luego, se ensaya una muestra de cada uno de ellos con el reactivo de Fehling.

Observar en cuáles tubos, la hidrólisis ha sido despreciable, en cuál incompleta y en cuál importante. En función de los resultados, concluya cuál de los procedimientos de hidrólisis utilizados es el más efectivo.

2.2. Hidrólisis enzimática

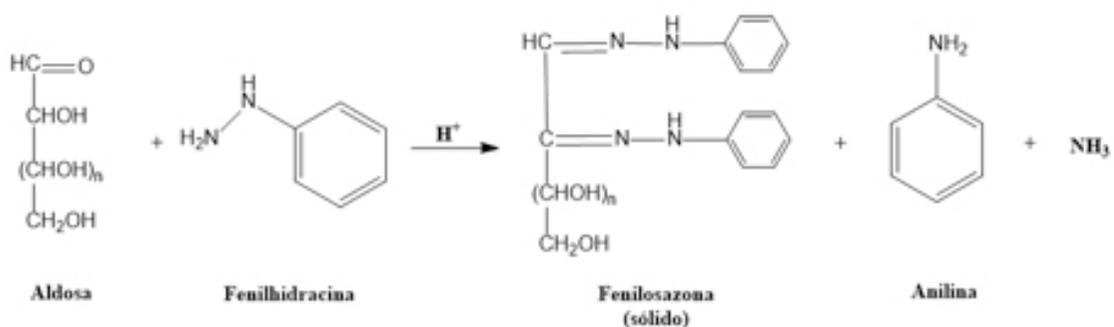
Procedimiento experimental

1. Preparar una suspensión de levadura empleada en panaderías, adicionando unas gotas de agua a una pequeña porción de levadura; macerar la mezcla y adicionar luego 10 mL de agua.
2. En un tubo de ensayo rotulado se vierten 5 mL de esta suspensión de levadura y se adicionan 5 mL de solución de sacarosa al 5 %.
3. En otro tubo de ensayo rotulado se vierten 5 mL de la suspensión y 5 mL de agua, para emplearlo como control del ensayo.
4. Se someten a calentamiento a 35 °C, sumergiéndolos en un vaso de precipitado con agua templada a esta temperatura por 15 minutos.
5. Se ensayan muestras de cada tubo con el reactivo de Fehling. El ensayo en blanco se efectúa para averiguar si la levadura contiene algún reductor.

3. Síntesis de las fenilosazonas de glucosa y fructosa

La fenilhidracina es un reactivo muy empleado para la caracterización de carbohidratos y para su estudio estereoquímico.

Como aldehídos, las aldosas reaccionan con fenilhidracina para producir fenilhidrazonas. Si se emplea un exceso de fenilhidracina, la reacción continúa hasta generar productos conocidos como osazonas, los cuales contienen dos residuos de fenilhidracina por molécula, mientras que una tercera molécula del reactivo, se convierte en anilina y amoníaco.



Las cetonas también forman fenilhidrazonas. Una cetosa forma la misma osazona que su aldosa relacionada.

Procedimiento experimental

1. Calentar 600 mL de agua en un vaso de precipitado hasta su punto de ebullición.
2. Mientras, en cada uno de los dos tubos de ensayo grandes rotulados, se vierten 20 mL de solución al 5 % de glucosa en un tubo y 20 mL de solución de fructosa al 5 % en el otro tubo.
3. Añadir a cada solución:
 - 2 mL de fenilhidracina,
 - 3 g de acetato de sodio y
 - 3 mL de ácido acético glacial.
4. Agitar ambos tubos de ensayo y en el momento en el cual el agua del vaso de precipitado entre en ebullición, se apaga el mechero.
5. Sumergir los dos tubos de ensayo en el agua caliente por 30 minutos. Durante este tiempo, los cristales de fenilosazona van apareciendo y su cantidad aumenta cuando las mezclas en los tubos de ensayo se enfrían.

6. Tomar pequeñas porciones de cristales de ambos tubos y observar bajo microscopio con un aumento pequeño.
7. Anotar las observaciones.
8. Recristalizar pequeñas porciones de cada una de las dos muestras de fenilosazona en una mezcla etanol-agua 1:1, para obtener un producto puro y determinar el punto de fusión.
9. Separar las muestras recristalizadas por filtración.
10. Dejar secar en un plato poroso por 30 minutos.
11. Ajustar la velocidad de calentamiento a 0,5 °C/s. (Las osazonas funden con descomposición y el intervalo de descomposición varía mucho con la velocidad de calentamiento).
12. Determinar los dos puntos de fusión.

Experiencia II. Estudio de polisacáridos

Todos los experimentos están diseñados a escala micro.

1. Ensayos con almidón

Los almidones naturales tienen hasta un 80 a 90 % de amilopectina y entre un 10 a 20 % de amilosa. Ninguno de éstos es un carbohidrato reductor, no dan resultado positivo en los ensayos de Tollens, Benedict y Fehling. La única prueba que sirve para detectar almidón es el ensayo del yodo, el cual es sumamente sensible aun a cantidades extremadamente pequeñas de almidón.

El reactivo de yodo se prepara disolviendo yodo, I_2 , en una solución acuosa de yoduro de sodio, NaI. El yodo no es soluble en agua, pero las moléculas de yodo se combinan con los iones yoduro para formar el ion triyoduro, I_3^- . Si algún reactivo es capaz de reaccionar con este ion, el yodo molecular I_2 resulta fácilmente disponible.

Cuando se agrega una gota de yodo al almidón, aparece un color violáceo intenso (morado), al quedar atrapadas las moléculas de yodo dentro de la enorme red molecular del almidón. En una muestra de almidón que experimenta hidrólisis, esta red se rompe gradualmente por lo que el medio de reacción, a medida que transcurre la hidrólisis, va perdiendo la capacidad de arrojar resultado positivo al ensayo de yodo.

1.1. Prueba del yodo

Procedimiento experimental

1. Preparar una suspensión de almidón mezclando muy bien 2 g de almidón con 10 mL de agua y vertiendo esta mezcla sobre 200 mL de agua destilada a ebullición. Esta “solución” de almidón — que en realidad es una dispersión coloidal— se empleará en todos los ensayos.
2. Verter 5 mL de la suspensión de almidón en un tubo de ensayo.
3. Añadir 1 gota de una solución muy diluida de yodo en yoduro potásico acuoso.
4. Observar el cambio de color.
5. Calentar a ebullición y observar de nuevo.
6. Enfriar y observar.

1.2. Ensayo de Fehling

Procedimiento experimental

Tomar 3 mL de la suspensión de almidón y ensayar la acción reductora del almidón con el reactivo de Fehling, según lo descrito en el aparte 1.2 de la experiencia I con mono- y disacáridos.

1.3. Hidrólisis de almidón

Procedimiento experimental

1. Adicionar 1 mL de HCl concentrado a 25 mL de suspensión de almidón.
2. Llevar a ebullición esta solución y tomar a pequeños intervalos de tiempo, 1 mL de la mezcla reaccionante y efectuar el ensayo del yodo.
3. Anotar el color de las soluciones de los ensayos en cada intervalo.
4. Cuando la solución del medio de reacción ya no arroje resultado positivo a la prueba de yodo, se neutraliza y se procede a ensayar una pequeña alícuota con reactivo de Fehling.
 - ¿Cuáles serán los productos finales de la hidrólisis completa del almidón? (Un disacárido y un monosacárido).
5. Repetir la experiencia con 5 mL de solución de NaOH al 10 % , en lugar del HCl concentrado.
 - ¿Qué resultados se obtienen?

2. Algunas reacciones de la celulosa

Las uniones glicosídicas entre las unidades de glucosa en la molécula de celulosa, se rompen por la acción de ácidos y también de enzimas celulasas que no posee el organismo humano. Con estas hidrólisis se producen muchas moléculas de glucosa. Vamos a estudiar algunas reacciones de la celulosa que dejan su cadena esencialmente intacta. En la molécula de celulosa, cada unidad de glucosa posee tres grupos OH libres; éstas son las posiciones donde ocurren las reacciones que estudiaremos. Estas reacciones de la celulosa, que modifican las propiedades de un polímero asequible, barato y terminado, son de enorme importancia industrial.

2.1. Ensayos con algodón

2.1.1. Regeneración de celulosa

Procedimiento experimental

1. Colocar un trozo pequeño de 0,25 g de algodón en un tubo de ensayo y cubrirlo con una capa de 0,5 g de carbonato de cobre.
2. Adicionar 25 mL de solución de amoníaco concentrado (diluido con un volumen igual de agua), agitando el carbonato y el algodón hasta disolverlos completamente.
3. Introducir la solución resultante en una jeringa hipodérmica de 50 mL y liberarla por inyección a través de ácido sulfúrico 1M, contenido en un vaso de precipitado.
4. Se forma por reprecipitación, una fibra de celulosa. El color azul desaparece gradualmente de la fibra.

2.1.2. Síntesis de nitrato de celulosa

La celulosa, como polímero polihidroxilado, tiene la capacidad de los alcoholes de formar ésteres. El tratamiento con una mezcla de ácidos nítrico y sulfúrico, la convierte en nitrato de celulosa, compuesto cuyas propiedades y usos, dependen del grado de nitración que se alcance. El llamado “algodón-pólvora” empleado en la fabricación de pólvora sin humo, es celulosa casi completamente nitrada, por lo que frecuentemente se le denomina trinitrato de celulosa (hay 3 grupos nitrato por unidad de glucosa). La piroxilina, es celulosa completamente nitrada y se emplea en la fabricación de plásticos como el celuloide y el colodión, en películas fotográficas y lacas. Tiene la desventaja de ser inflamable y al arder produce óxidos de nitrógeno muy tóxicos.

Procedimiento experimental

1. Verter 10 mL de HNO_3 concentrado en un vaso de precipitado de 50 mL.
2. Adicionar 10 mL de H_2SO_4 concentrado y calentar la mezcla ácida en baño de vapor, en campana de extracción de gases.
3. Sumergir 0,5 g de algodón en el vaso de precipitado, permitiendo su contacto con la solución ácida durante 3 minutos.
4. Sacar el algodón ya parcialmente nitrado, de la mezcla ácida con una varilla de vidrio y exprimirlo contra las paredes del vaso, para sacarle la mayor cantidad de líquido posible.
5. Posteriormente, lavar el algodón con abundante agua, exprimirlo bien entre las caras opuestas de dos vidrios de reloj, y dejarlo secar.
6. Mientras se seca, realizar el resto de los ensayos de esta experiencia práctica.
7. Dejar en digestión el algodón nitrado seco, en 20 mL de una mezcla alcohol-éter 1:1.
8. Decantar y evaporar una porción de la solución en un vidrio de reloj. Aparecerá una película residual.
9. Tomar una porción muy pequeña de esta película y ensayar su combustibilidad.
10. Anotar todas sus observaciones y discutir las en su informe.

2.1.3. Síntesis de acetato de celulosa

El rayón es una fibra artificial producida a partir de celulosa tratada químicamente, empleando la pulpa de la madera (celulosa). Existen dos tipos de rayón: 1. El rayón viscosa, rayón viscoso o seda artificial, que se fabrica disolviendo la celulosa en CS_2 en solución alcalina de hidróxido de sodio. La solución coloidal viscosa resultante, se hace pasar forzada a través de una boquilla fina a un baño ácido, lo cual regenera la celulosa en forma de fibras brillantes o láminas y 2. El rayón de acetato o acetato de celulosa, el cual se manufactura cargando ácido acético glacial y anhídrido acético, con una pequeña cantidad de ácido sulfúrico como catalizador, enfriando esta mezcla y añadiendo la pulpa de madera lentamente. El fluido viscoso resultante de la acetilación (5 a 8 h), se diluye en ácido y se deja añejar por 15 h a $38\text{ }^\circ\text{C}$. Como algunos de los grupos acetato se hidratan, se detiene la hidratación dejando caer la mezcla en un gran volumen de agua y precipitando el acetato. Se evapora el solvente obteniéndose hojuelas o fibras de acetato de celulosa, un éster de la celulosa.

La celulosa se convierte en su triacetato en presencia de ácido acético, anhídrido acético y un poco de ácido sulfúrico. La hidrólisis parcial del triacetato de celulosa, elimina algunos de los grupos acetato, degrada la cadena a fragmentos más pequeños (de 200 a 300 unidades) y genera acetato de celulosa, el cual es aproximadamente un diacetato y tiene enorme importancia comercial. El acetato de celulosa es menos inflamable que el nitrato de celulosa, razón por la cual lo ha reemplazado en muchos de sus usos. Cuando se fuerza una solución de acetato de celulosa por los agujeros finos de una tobera hilandera y se evapora el solvente, se forman filamentos sólidos. Los hilos fabricados con estos filamentos son el material llamado rayón de acetato.

Procedimiento experimental

1. En un matraz Erlenmeyer de 50 mL, verter:
 - 20 mL de ácido acético glacial,
 - 6 mL de anhídrido acético y
 - 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
2. Agitar para disolver homogéneamente y enfriar en un baño agua-hielo a 7 °C.
3. Adicionar 0,5 g de algodón, empapando la muestra exhaustivamente con la solución.
4. Tapar el Erlenmeyer y dejar en reposo hasta el próximo período de laboratorio. (Durante este tiempo, el algodón se convertirá en acetato de celulosa, el cual es soluble en el medio de reacción).
5. En el siguiente período de laboratorio, la solución viscosa se vierte sobre 500 mL de agua, en forma de chorro muy fino con una jeringa hipodérmica.
6. Filtrar el precipitado resultante.
7. Secar el precipitado, presionándolo entre dos trozos de papel de filtro.
8. Posteriormente, disolver una pequeña porción del sólido en cloroformo y dejar evaporar la solución en un vidrio de reloj.
9. Observar el aspecto de la película formada.
10. Ensayar la combustibilidad de una pequeña porción de esta película.

2.1.4. Síntesis de xantato de celulosa (viscosa)

Al hacer reaccionar un alcohol con CS_2 y NaOH , se obtiene un compuesto llamado xantato. Si se trata el xantato con ácido diluido, se regeneran los compuestos originales. La

celulosa sufre una reacción similar para formar xantato de celulosa, el cual es soluble en álcali, formando una dispersión coloidal viscosa, razón por la cual se le llama “viscosa”. Al forzar viscosa a través de una tobera hilandera a un baño ácido, se regenera la celulosa en forma de filamentos finos, que pueden hilarse para producir un material llamado rayón viscosa. Si en lugar de emplear la tobera hilandera, se usa una ranura estrecha para forzar la viscosa en el baño ácido, se obtienen láminas delgadas, las cuales, suavizadas con glicerol, producen películas protectoras de celofán. El rayón y el celofán están constituidos por cadenas mucho más cortas que las de celulosa original, puesto que el tratamiento alcalino las degrada.

Procedimiento experimental

1. Verter 5 mL de solución de NaOH al 20 % en un tubo de ensayo e introducir un pequeño trozo de algodón de 0,5 g.
2. Embeber bien el algodón en la solución, con la ayuda de una varilla de vidrio.
3. Calentar durante 3 minutos.
4. Extraer el algodón con la varilla de vidrio y presionarlo contra las paredes del tubo para exprimirlo al máximo posible. Proteger los dedos empleando guantes de goma.
5. Colocar el algodón en otro tubo de ensayo y adicionar 5 mL de CS₂, sulfuro de carbono.
6. Tapar el tubo y dejar en reposo hasta el próximo período de laboratorio.
7. Extraer el algodón de la solución color naranja y exprimir el líquido que lo embebe.
8. Permitir la evaporación del sulfuro de carbono, CS₂, del algodón.
9. Adicionar el algodón a 10 mL de una solución de NaOH al 10 % y agitar hasta la obtención de una suspensión homogénea y clara.
10. El líquido viscoso obtenido se vierte con jeringa hipodérmica, en un chorro muy fino, sobre el ácido clorhídrico diluido.
11. Anotar sus observaciones.

3. Ensayos con papel

3.1. Ensayo con el reactivo Schweitzer

La celulosa se disuelve en solución amoniacal de hidróxido cúprico, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (reactivo de Schweitzer) y precipita al verterse la solución sobre ácido. Probablemente esta solución de celulosa contiene iones complejos de Cu, en los que cada ion cúprico se coordina con varios átomos de O de los grupos OH de la molécula.

Procedimiento experimental

1. Picar un poco de papel de filtro y disolverlo en 10 mL de la solución de Schweitzer.
2. Verter la solución de celulosa sobre ácido clorhídrico diluido.
 - ¿Qué observa?
 - ¿Por qué el ácido provoca la reprecipitación de la celulosa?

3.2. Papel pergamino

Cuando el papel (hecho de celulosa) se trata con ácido sulfúrico al 80 %, la superficie de éste se modifica y el producto resultante parece pergamino. Muy probablemente las moléculas de celulosa de la superficie de la lámina de papel, sufren hidrólisis y deshidrataciones.

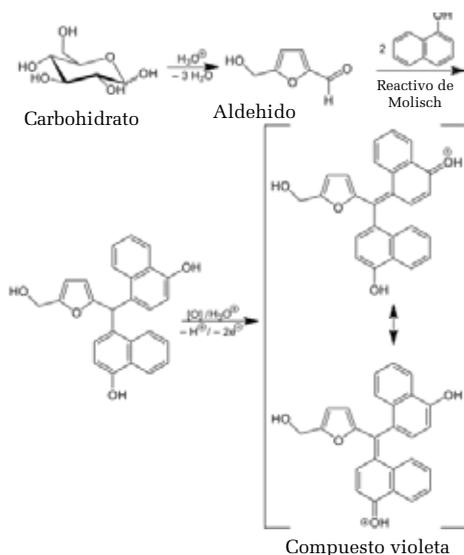
Procedimiento experimental

1. Verter, con mucho cuidado, 40 mL de ácido sulfúrico concentrado sobre 20 mL de agua en baño de agua-hielo.
2. Permitir que la solución se enfríe.
3. Introducir un trozo de papel de filtro en la solución, sumergiéndolo.
4. Dejar en reposo por 10 a 12 segundos.
5. Sacar el papel, lavarlo con agua corriente, introducirlo en solución diluida de amoníaco y lavar de nuevo con agua corriente para neutralizar las trazas de ácido que hayan quedado. El material resultante es papel pergamino.
 - ¿Cuál es la diferencia química entre este papel y el papel de filtro original?

4. Prueba general para carbohidratos. Ensayo de Molisch

El ensayo de Molisch es una prueba general para la detección de carbohidratos. El

carbohidrato sufre una deshidrogenación en presencia del ácido sulfúrico, el cual actúa como catalizador y se produce furfural y sus derivados; éstos posteriormente adicionan α -naftol y se oxidan para generar un producto de color violeta.



Procedimiento experimental

1. Colocar 0,05 g de la sustancia a ensayar, en un tubo de ensayo que contenga 0,5 mL de agua.
2. Mezclar con 2 gotas de una solución al 10 % de α -naftol en etanol al 95 % (reactivo de Molisch).
3. Usando una pipeta gotero, permitir que 1 mL de H₂SO₄ concentrado fluya deslizándose por la pared del tubo de ensayo, inclinado de tal manera que el ácido forme una capa debajo de la solución acuosa, sin mezclarse con ésta.
4. La presencia de un carbohidrato produce la aparición de un anillo rojo en la interfase o superficie común de los dos líquidos; el color cambia rápidamente al dejar en reposo o al agitar, formándose una solución de color violeta oscuro.
5. Agitar y permitir que la mezcla repose por 2 minutos, luego diluir con 5 mL de agua.
6. En presencia de un carbohidrato, aparecerá de inmediato un precipitado de color violeta.
7. Aplicar el ensayo a muestras de glucosa, lactosa, sacarosa, fructosa, harina de trigo, harina de maíz (maicena), almidón comercial, papel, algodón y edulcorantes como sacarina, el esteviósido de la planta *Stevia rebaudiana* y los de marcas comerciales Splenda® y Equal®.
8. Reportar los resultados en una tabla y discutir.

Referencias bibliográficas

- *A New Dictionary of Chemistry*. 6th Ed. (2001). Edited by L. Mackenzie Miall and DWA Sharp. Great Britain: John Wiley and Sons.
- Angenault, J. (1998). *Diccionario Enciclopédico de Química*. (2ª Ed.) México: Compañía Editorial Continental S.A.
- Austin, G. T. (1998). *Manual de Procesos Químicos en la Industria*. (5ª Ed.) México: McGraw-Hill.
- Brewster, R. Q., Van der Werf, C. A. y Mc Ewen, W. E. (1986). *Curso Práctico de Química Orgánica*. (3ª Ed.) España: Editorial Alhambra.
- Diccionario McGraw-Hill de Química (1991) Parker Editor. México: McGraw-Hill.
- Holum, J. R. (1999). *Fundamentos de Química Orgánica y Bioquímica*. México: Editorial Limusa-John Wiley and Sons.
- *The Merck Index*. 12th Ed. (1996) New York. USA: Merck and Co.
- Vogel, A. I. (1979). *Practical Organic Chemistry*. (3rd Ed.) London, Great Britain: Longmans.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México: Prentice-Hall Hispanoamericana.

Experiencia práctica 20

Química de las proteínas

Las **proteínas** son las moléculas orgánicas que conforman gran parte del cuerpo animal: se encuentran en todas sus células y en casi todas las partes de las células, constituyendo aproximadamente la mitad del peso seco de los animales. La palabra “proteína” proviene del griego *proteios* que significa 'lo primero' y resulta muy acertada la escogencia de esta denominación puesto que, entre todos los compuestos bioquímicos, las proteínas son ciertamente muy importantes; juegan un papel clave en todos los aspectos de la estructura y funciones celulares, por lo que se les considera las sustancias de la vida.

Como constituyentes del cuerpo animal, las proteínas lo mantienen como unidad y lo hacen funcionar. Proporcionan resistencia y elasticidad a la piel, en forma de músculos y tendones; las proteínas funcionan como cables que permiten mover las palancas de los huesos, también refuerzan dientes y huesos (funciones estructural y de motilidad). Las moléculas de hemoglobina, enzimas, anticuerpos, de muchas hormonas y varios tipos de albúminas de la sangre, son proteínas. Funcionan como defensa, catalizadores, reconocedores, almacenes y actúan como transporte de larga distancia de sustancias que no se disuelven bien en la sangre, como el oxígeno y los lípidos. Otras proteínas forman parte de la vasta red de comunicaciones del sistema nervioso. Las proteínas, conformando enzimas, hormonas y reguladores de genes, dirigen y controlan todas las actividades de mantenimiento, construcción y conservación de energía en el organismo. Ningún otro tipo de compuesto químico interviene en tal variedad de funciones, todas esenciales para la vida.

Desde el punto de vista químico las proteínas son polímeros grandes, macromoléculas. Son biopolímeros de los α -**aminoácidos**. Una sola molécula de proteína contiene cientos y miles de unidades de aminoácidos unidos a través de enlaces de tipo amida, llamados **enlaces peptídicos**, por lo que se les considera poliamidas o **polipéptidos**.

Las propiedades físicas y químicas de una proteína están determinadas por los aminoácidos que la constituyen. Como resultado del número de combinaciones distintas

de aminoácidos, el número de las secuencias posibles para formar proteínas, es casi infinito. Es debido a esta enorme variedad estructural, que las proteínas pueden cumplir esa vasta cantidad de funciones en los organismos vivos. Las proteínas son compuestos ópticamente activos, con propiedades anfóteras, son precipitadas por sales de metales pesados y por compuestos que contienen aniones grandes como el ácido fosfotungsténico y el ácido tánico. También son precipitadas por etanol y soluciones concentradas de sales. Por hidrólisis, las proteínas se rompen en sus aminoácidos constituyentes.

Según la forma que adopta la cadena proteica, las proteínas se clasifican en dos grandes grupos: fibrosas y globulares. Las **proteínas fibrosas** forman filamentos, son largas y tienen forma de hilos delgados que tienden a unirse para generar fibras. En algunos casos, se mantienen en muchos puntos por puentes de hidrógeno, consecuentemente las fuerzas que debe vencer el solvente son muy fuertes y por ello son insolubles en agua. Las **proteínas globulares** se enrollan sobre sí mismas, doblándose y formando unidades compactas que frecuentemente se aproximan a una forma esferoide. Estos dobleces se producen de tal manera que las partes lipófilas quedan en el interior, apuntándose entre sí y alejadas del agua, mientras que las partes hidrófilas, como por ejemplo grupos cargados, tienden a proyectarse hacia el exterior, donde están cerca del agua. Por esta razón las proteínas globulares son solubles en agua y los puentes de hidrógeno en sus moléculas son principalmente intramoleculares. Las fuerzas intermoleculares de las proteínas globulares entre sí, son relativamente débiles, puesto que las áreas de contacto entre las moléculas son pequeñas.

Las estructuras molecular e intermolecular no sólo definen la **solubilidad** de las proteínas, sino también el **tipo de función** que desempeñan en los organismos. Las proteínas fibrosas, dada su insolubilidad y tendencia a formar fibras, tienen funciones como materiales estructurales principales de los tejidos. Ejemplos: **queratina**, rica en enlaces disulfuro, en piel, pelo, uñas, pezuñas, lana, cuernos y plumas; **colágeno** en huesos, dientes, tendones, piel, tejido conectivo blando (cuando este tejido se hierve en agua, la porción de su colágeno que se disuelve, es la gelatina); **miosina**, en músculos contráctiles; **fibroína** en la seda; **fibrinógeno** que se transforma en la proteína **fibrina**, fibrosa e insoluble en agua, produciendo la coagulación de la sangre; **elastina**, presente en ligamentos y paredes de los vasos sanguíneos (la elastina tiene muchas cadenas laterales hidrofóbicas y los enlaces cruzados entre las cadenas de elastina permiten su recuperación después del estiramiento, confiriéndole propiedades de elasticidad).

Las proteínas globulares desempeñan varias funciones relacionadas con la regulación, manutención y transporte en el proceso de la vida; estas funciones requieren movilidad y por lo tanto, solubilidad. Son proteínas globulares todas las **enzimas**, muchas hormonas como la **insulina**, la **tiroglobulina**; anticuerpos encargados de la defensa contra organismos y agentes foráneos como las **inmunoglobulinas**; la **hemoglobina** que transporta oxígeno de los pulmones a los tejidos a través de la sangre; las **albúminas** del huevo y de la leche.

Dentro de estos dos grandes grupos, las proteínas se subdividen según sus propiedades físicas, en particular, según su solubilidad en:

- **Albúminas:** solubles en agua, coagulan por efecto del calor. Ej.: albúmina del suero sanguíneo o sérica, ovoalbúmina y α -lactoalbúmina.
- **Globulinas:** Insolubles en agua, solubles en soluciones salinas diluidas neutras. Ej.: glicinina y β -lactoglobulina.
- **Glutelinas:** solubles en soluciones ácidas (pH = 2) y alcalinas (pH = 12). Ej.: glutelinas del trigo.
- **Prolaminas:** solubles en etanol al 70 %. Ej.: zeína, gluten de maíz, gliadinas del trigo.

I. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis de las proteínas produce la ruptura de los enlaces peptídicos y la liberación de los aminoácidos. La digestión de las proteínas se inicia en el estómago del aparato digestivo humano. El medio ácido, constituido por ácido clorhídrico concentrado aproximadamente 0,1 M (casi un millón de veces más ácido que la sangre), coagula las proteínas y activa una proteasa, la **pepsina**. La coagulación de las proteínas permite que éstas permanezcan más tiempo en el estómago bajo la acción de la proteasa. El pH óptimo para la activación de la función enzimática de la pepsina está entre 1 y 1,5, valor que se alcanza en el fluido estomacal. La pepsina cataliza la única función digestiva importante del estómago: la hidrólisis de algunos enlaces peptídicos de las proteínas, para formar cadenas cortas de polipéptidos.

Las acciones de revolver y digerir en el estómago, producen una mezcla líquida llamada **quimo**, la cual es liberada en porciones al duodeno, tracto intestinal superior.

La presencia del quimo en el duodeno, activa la liberación de una serie de hormonas que circulan hasta el páncreas e inducen allí, la producción de dos jugos. Uno de estos jugos, es prácticamente, bicarbonato de sodio diluido, el cual neutraliza el ácido del quimo; el otro jugo es el denominado **jugo pancreático**, que interviene en la digestión de casi todo lo que contiene el quimo: mezcla de α -amilasa, lipasa, nucleasa y zimógenos de las enzimas proteolíticas: tripsina, quimotripsina y elastasa; estas últimas catalizan la hidrólisis de polipéptidos grandes en otros más pequeños y la carboxipeptidasa, completa la acción hasta aminoácidos y di- o tripéptidos.

En esta parte de la experiencia práctica, utilizaremos la llamada **pancreatina**, la cual no es más que una mezcla de α -amilasa, lipasa y enzimas proteolíticas que produce el páncreas. Como recurso alternativo al uso de las enzimas proteolíticas del páncreas puras, emplearemos una pastilla de un fármaco que ayuda a la digestión, que tenga en su composición un alto porcentaje de pancreatina. En una revisión de la *Guía de Especialidades Farmacéuticas en Venezuela*, contentiva de los medicamentos a la venta en establecimientos farmacéuticos de nuestro país, se encontró como fármaco adecuado el de nombre comercial *Pankreón plus*® cuya composición química es: pancreatina de origen porcino, 300 mg, equivalentes a 25000 u FIP de lipasa, 18000 u FIP de amilasa, y 1000 u FIP de proteasa, 1 cápsula. También pueden emplearse cápsulas de *Pancrease*®, *Nutizym*®, *Enzición*®. En la Tabla 1 se señala la composición de cada uno de estos medicamentos y su forma de presentación. Las cápsulas para nuestro experimento, presentan la ventaja ante las pastillas, de que se evita el paso de trituración y la adición al medio hidrolítico de una cubierta con otros componentes, ya que su contenido puede liberarse manualmente con facilidad.

Tabla 1. Composición y forma de presentación de fármacos digestivos de venta en Venezuela

Nombre comercial del fármaco	Composición			Forma de presentación
	Lipasa	Amilasa	Proteasa	
Pankreón® plus	25000 u FIP	18000 u FIP	1000 u FIP	Cápsulas
Pancrease®	4500 u USP	20000 u USP	25000 u USP	Cápsulas
Nutizym® compositum	4000 u FIP	8000 u FIP	750 u FIP	Grageas
	Bromelina 750 u FIP			
Enzicón®	Pancreatina: 250 mg, celulosa 5 mg, pepsina 250 mg, amilasa 25 mg			Grageas

Nota

Los fármacos comerciales con presentación en forma de grageas, Festal® de Laboratorios Sanofi y Stamyl® de Laboratorios Konsuma, contienen preparados de enzimas pancreáticas (lipasa, amilasa y proteasa), pero en cantidades menores que las reseñadas en la tabla y también pueden utilizarse en esta experiencia práctica. Investigar su composición.

Procedimiento experimental

1. Pesar aproximadamente 0,20 g de material proteínico: leche en polvo, albúmina de huevo o gelatina.
2. Triturar una pastilla del medicamento digestivo comercial Enzicón® o de Nutizym® compositum o destapar una cápsula de Prankreón® plus o de Pancrease®. (En caso de utilizar Festal® o Stamyl®, triturar 2 o 3 pastillas).
3. Digerir el material proteínico con la mezcla de enzimas por reflujo, en unos cuantos mL de ácido clorhídrico al 3 % a 36-37 °C durante 1 hora. Emplear manta eléctrica o baño de agua.
4. Montar también un experimento “blanco” con el contenido de la pastilla o cápsula empleada en ácido clorhídrico al 3 % y calentamiento a 36-37 °C por 1 hora.
5. Filtrar por gravedad cualquier residuo sólido de ambos ensayos.

II. Hidrólisis ácida

Procedimiento experimental

1. Pesar aproximadamente 0,20 g de material proteínico: cabello, uñas o gelatina.
2. Preparar HCl diluido, vertiendo lentamente 30 mL de HCl concentrado sobre 2 mL de agua destilada y verterlo a un balón de destilación de 100 mL.
3. Agregar el material proteínico y piedras de ebullición a la solución ácida.
4. Ensamblar un aparato para reflujo y someter la mezcla a este proceso durante 1 hora.
5. Transcurrido este tiempo, concentrar en baño de agua hirviente, hasta que la solución resultante del reflujo tome la consistencia de un jarabe, reducir el volumen aproximadamente a la mitad.
6. Filtrar por gravedad cualquier residuo sólido.

III. Cromatografía en papel

Procedimiento experimental

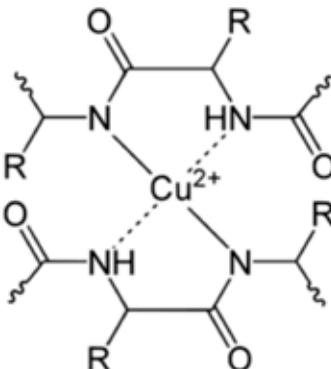
1. Efectuar una cromatografía en papel para aminoácidos, según el procedimiento descrito en esa experiencia práctica, empleando los extractos resultantes de las dos hidrólisis, la prueba blanco, y las soluciones patrón de aminoácidos.
2. Emplear como eluyente butanol-ácido acético-agua en la proporción 4:1:5 (BAW) y ninhidrina asperjada sobre el cromatograma como revelador.

IV. Reacciones coloreadas de las proteínas

Las proteínas tienen algunas reacciones con cambios vistosos de color, los cuales aparecen por la presencia de aminoácidos específicos en la molécula. Con ácido nítrico concentrado generan un color amarillo, el cual vira a naranja con la adición de amoníaco (reacción xantoprotéica); la adición de una sal de mercurio y un nitrito produce un color rojo (reacción de Millon). Se obtiene un color morado al adicionar formaldehído, sulfato de mercurio y ácido sulfúrico. También tienen reacción a la prueba de biuret, obteniéndose un color violeta por la acción de sulfato de cobre en presencia de hidróxido de sodio.

1. Prueba de biuret

La reacción de biuret es específica para la detección del enlace peptídico y de aminoácidos libres. Se utiliza una solución diluida de CuSO_4 en tartrato fuertemente alcalino, la cual se adiciona a la solución de proteína, resultando un compuesto de color azul o violeta, obtenido por el acomplejamiento del Cu^{2+} con dos enlaces peptídicos adyacentes:



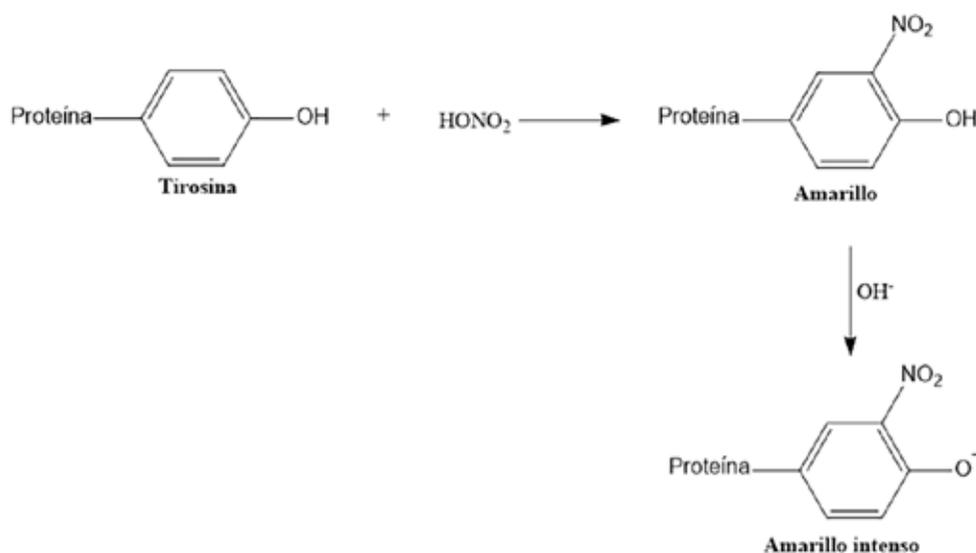
La prueba de biuret se efectúa con el fin de verificar si ha ocurrido la hidrólisis completa de las proteínas ensayadas. Efectuar esta prueba con las soluciones resultantes de ambas hidrólisis enzimática y no enzimática. (Ver nota en parte I de la práctica Análisis químico de la leche, p.214)

Procedimiento experimental

1. Tomar 5 gotas de la solución concentrada y añadir 10 gotas de solución de NaOH al 10 % en un tubo de ensayo.
2. En este punto, verificar que la solución sea básica: medir el pH con papel indicador y adicionar NaOH, gota a gota, si fuese necesario.
3. Adicionar 5 gotas de solución de sulfato cúprico al 2 %: si la solución se torna azul, esto indica que ha ocurrido la hidrólisis completa de la proteína. Una coloración rosada o violeta es indicativa de hidrólisis incompleta.

2. Prueba xantoproteica de las proteínas

Este es un ensayo para detectar proteínas que contienen los α -aminoácidos tirosina y triptófano. Estas proteínas adquieren un color amarillo con ácido nítrico caliente, por nitración del anillo aromático contenido en estos dos aminoácidos. En solución básica el color se intensifica. Por esta razón, la piel adquiere coloración amarilla al entrar en contacto con el ácido nítrico.



Procedimiento experimental

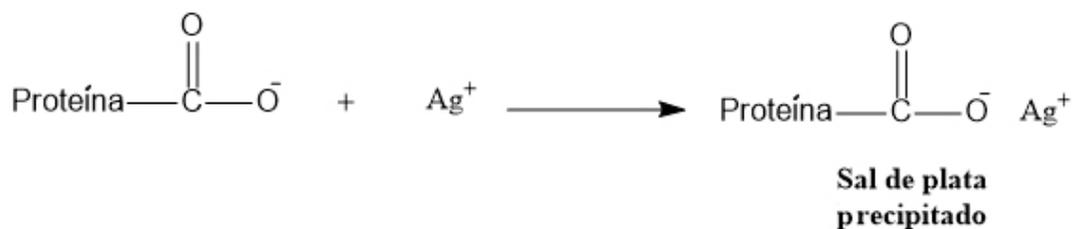
1. Verter 1 mL de HNO_3 concentrado en cada uno de dos tubos de ensayo.
2. En el **tubo No. 1**, sumergir un trozo pequeño de lana o seda.
3. En el **tubo No. 2**, adicionar 2 mL de solución de albúmina de huevo.
4. Calentar suavemente ambos tubos de ensayo y observar cualquier cambio de color.
5. Enfriar los tubos y adicionar solución de NaOH al 10 %, gota a gota, hasta que las soluciones en los tubos de ensayo tengan pH alcalino.
6. Observar el cambio de color.

Nota

La **lana** está conformada, principalmente, por queratinas; contiene cistina, ácido glutámico y arginina, como componentes mayoritarios. La **seda**, es básicamente fibroína, proteína fibrosa que contiene a los aminoácidos: glicina (42,3 %), alanina (24,5 %), serina (12,6 %), tirosina (10,6 %), entre otros, y forma los capullos de los gusanos de seda y las telas de arañas.

3. Precipitación con iones metálicos

Los iones metálicos, como Ag^+ , Pb^{+2} y Hg^{+2} , precipitan las proteínas por combinación del catión metálico con los grupos carboxilato libres de la proteína. El más sensible de los reactivos para detectar proteínas es el nitrato de plata, el cual puede detectar menos de 10-9 g de proteína. La acción antiséptica del AgNO_3 y del HgCl_2 , depende de la precipitación de las proteínas constituyentes de las bacterias.

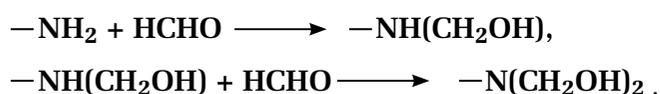


Procedimiento experimental

1. Verter 2 mL de la solución de albúmina de huevo en un tubo de ensayo y adicionar solución de AgNO_3 al 2 %, gota a gota.
2. Observar algún cambio.
3. Repetir el procedimiento adicionando solución de HgCl_2 al 5 %.

4. Reacción con formaldehído

Los grupos amino no cargados de las proteínas, reaccionan con formaldehído:



Procedimiento experimental

1. Verter, en un tubo de ensayo, 1 mL de solución de clara de huevo y añadir 2 gotas de solución diluida de formaldehído.
2. Seguidamente se adiciona con cuidado, H_2SO_4 concentrado, haciéndolo fluir lentamente por las paredes del tubo de ensayo, de manera que forme una capa separada en el fondo del tubo.
3. Observar qué ocurre.
4. Repetir el ensayo con gelatina.

Nota

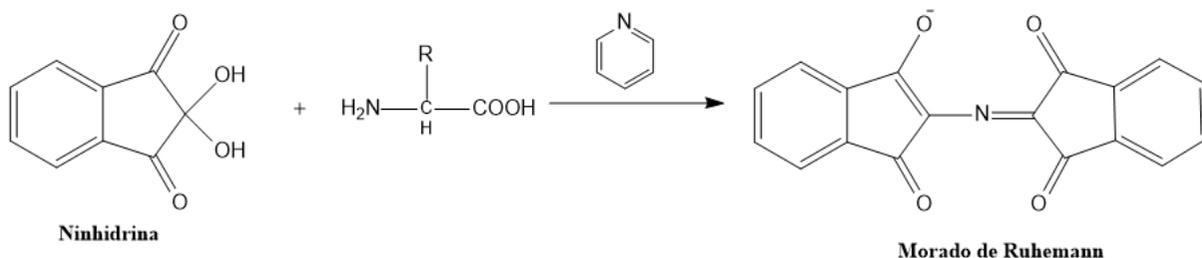
La **gelatina** está constituida por colágeno, proteína que tiene como constituyentes mayoritarios a los aminoácidos: glicina (25,5 %), prolina (18 %) y ácido glutámico (11,5 %).

La **clara de huevo** es una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa, compuesta al menos por 13 proteínas glicosiladas, entre las que la ovoalbúmina, fosfoglicoproteína,

constituye un 54 %. La **ovoalbúmina** contiene al aminoácido serina. Esta albúmina es la generadora de espuma; por el efecto mecánico de batir, la ovoalbúmina se desnaturaliza y las cadenas de proteína se entrecruzan formando una red, en cuyos intersticios queda atrapado el aire. De esta manera, al formarse la espuma, el aire se dispersa en la clara de huevo y alcanza a constituir el componente mayoritario de la espuma. O, visto desde otro ángulo, el líquido (la clara) se distribuye entre las burbujas de aire, en láminas delgadas. La **ovomucina**, glicoproteína fibrosa y viscosa, presente en un 3 % en la clara de huevo, actúa como agente electrostático estabilizador de esta espuma. Los daños térmicos a las proteínas ocasionan una reducción de la espuma, sobre todo si se calientan a temperaturas superiores a 60 °C, pero la adición de ciertas sales y de sacarosa (azúcar común de caña) ejerce un efecto protector. Cuando la espuma se somete a calentamiento, el aire se expande y si no se ha generado daño a las proteínas, la estructura reticular se mantiene, como ocurre en los dulces llamados popularmente suspiros, hechos de clara de huevo y azúcar.

5. Reacción con ninhidrina

La reacción con ninhidrina se emplea frecuentemente para cuantificación de aminoácidos libres, péptidos y proteínas. Los aminoácidos de grupo amino libre, no sustituido, reaccionan con un exceso de ninhidrina a través de una desaminación oxidativa con: 1- formación de un primer intermediario de condensación con pérdida de una molécula de agua, 2-decarboxilación y deshidratación de este intermediario, generando un ion dipolar, CO_2 y H_2O . 3- hidrólisis del ion dipolar con producción del aldehído correspondiente, de un átomo de carbono menos que el aminoácido original e hidrindantina, como producto de reducción de la ninhidrina. 4- La hidrindantina reacciona subsecuentemente con una molécula de ninhidrina, formando un producto de adición de color violáceo, estabilizado por resonancia, llamado morado de Ruhemann. La prolina y la hidroxiprolina, por tener el grupo amino sustituido, dan un producto amarillo. Estas reacciones coloreadas son la base para la detección de aminoácidos en cromatografías en capa fina y en papel y en electroforesis.



Nota

La **caseína** de la leche posee un 22,4 % de ácido glutámico, un 11 % de prolina, un 9 % de leucina y un 8 % de lisina, entre otros aminoácidos. El cabello, formado por queratinas, tiene un 18 % de cistina, un 13 % de ácido glutámico, 11,2 % de leucina, 10,6 % de serina, 9 % de arginina, 8,5 % de treonina, entre otros.

V. Coagulación de la albúmina

La **desnaturalización** de las proteínas es un proceso que induce cambios en la estructura nativa original, por alteración de la conformación espacial con movimientos en los diferentes niveles estructurales de la proteína, que generan pérdidas en las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no cambios en la estructura primaria, la cual no se modifica, pues los enlaces peptídicos se mantienen. De esta manera, la desnaturalización no implica una hidrólisis del enlace peptídico; se afectan las interacciones no covalentes, responsables de la estabilización de la estructura, así como la relación de la estructura con el solvente y en algunas ocasiones, también se afectan los puentes disulfuro. Con esto, toda actividad fisiológica queda anulada.

Estas modificaciones conformacionales de las proteínas pueden ocurrir por cambios térmicos, efectos mecánicos (como agitación, tensión, etc.) o efectos químicos, como cambios de pH, tratamiento con agentes que forman puentes de hidrógeno, aplicación de detergentes que alteran la tensión superficial del solvente, cambios en la fuerza iónica por adición de sales, presencia de solventes orgánicos, etc. La desnaturalización genera cambios en las propiedades de las proteínas ya que se producen nuevas agregaciones de las cadenas polipeptídicas con consecuentes cambios en solubilidad, movilidad, polaridades, etc.

La aplicación de **calor** afecta la estabilidad de las interacciones no covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el delicado balance de los enlaces que mantienen la estructura. Un cambio de **pH** del ambiente natural o fisiológico de las proteínas, genera modificaciones importantes en su conformación debido a cambios en la ionización de las cadenas laterales cargadas y modificación de las interacciones (electrostáticas, de van der Waals, puentes de H y puentes de S), que estabilizan la estructura nativa. Una desnaturalización alcalina involucra la neutralización de la carga positiva de cadenas laterales de lisina, histidina y arginina,

aminoácidos básicos; una desnaturalización ácida, implica la protonación de cargas de aminoácidos ácidos, ácido aspártico y ácido glutámico; ambas situaciones impiden la interacción electrostática. Al cambiar una proteína de un sistema acuoso a otro con solventes, se produce un desplegamiento parcial por la ruptura de las interacciones hidrofóbicas originales; el desdoblamiento o desplegamiento puede producirse de nuevo pero en una estructura distinta de la nativa. El agua es un compuesto con una constante dieléctrica relativamente alta, lo que se traduce en una fuerza de atracción baja entre partículas con cargas opuestas cuando están en agua. En el caso de las proteínas, las cargas positivas en agua, serían las provenientes de los aminoácidos lysina, histidina y arginina y las cargas negativas provendrían de los aminoácidos ácido aspártico y ácido glutámico. En un solvente de menor constante dieléctrica, como glicerol, tetracloruro de carbono o etanol, la fuerza de atracción entre cargas opuestas es mayor. La dificultad para la atracción electrostática en agua contribuye a la solubilización de la molécula; por el contrario, cuando la proteína se coloca en un solvente de baja constante dieléctrica, la atracción entre las partes cargadas es mayor que la energía térmica de movimiento (energía cinética), y este efecto impide la dispersión de la proteína entre las moléculas de solvente, provocando insolubilidad.

Procedimiento experimental

Preparar una solución de albúmina batiendo la clara de un huevo durante unos minutos y mezclándola después con un volumen de agua equivalente a 5 veces el volumen de la clara. Filtrar esta mezcla con un lienzo o colador de tela. El líquido resultante es una “solución” de clara de huevo.

Verter en cada uno de 5 tubos de ensayo numerados, 2 mL de solución de clara de huevo. Luego proceder como se señala a continuación:

Tubo 1: Someter a calentamiento lento y registrar la temperatura a la cual tiene lugar la coagulación.

Tubo 2: Adicionar 4 mL de etanol.

Tubo 3: Añadir unas gotas de HCl concentrado.

Tubo 4: Añadir unas gotas de HNO₃.

Tubo 5: Añadir unas gotas de solución concentrada de NaOH.

Observar en qué casos se produce coagulación. Discutir.

VI. Precipitación de la albúmina por acción de sales

La adición de sales afecta la solubilidad de las proteínas, dependiendo del tipo de iones que aportan las sales, de su concentración y de la naturaleza de la proteína. Los iones salinos pueden actuar de dos modos: pueden estabilizar la conformación espacial de la proteína cuando se unen a ésta débilmente, promover su hidratación y su consiguiente solubilización en agua. También pueden desfavorecer la conformación espacial de la proteína, cuando se unen fuertemente a la macromolécula y en este caso, no favorecen su solvatación con moléculas de agua.

Procedimiento experimental

1. Verter las siguientes soluciones en 6 tubos de ensayo rotulados:

Tubo 1: 5 mL de agua.

Tubo 2: 5 mL de solución de clara de huevo.

Tubo 3: 5 mL de agua + 4 gotas de HCl al 10%.

Tubo 4: 5 mL de solución de clara de huevo + 4 gotas de HCl al 10%.

Tubo 5: 5 mL de agua + 4 gotas de solución de NaOH al 10%.

Tubo 6: 5 mL de solución de clara de huevo + 4 gotas de solución de NaOH al 10%.

Seguidamente, verter en cada tubo 2 mL de solución de CuSO_4 al 10%. Registrar los resultados.

Los ensayos en los cuales no se usa proteína se llaman “ensayos en blanco” o “blanco” y son necesarios para determinar si el efecto observado es debido a la precipitación del hidróxido metálico. Discutir los resultados.

2. Preparar soluciones idénticas a las de los tubos 2, 4 y 6 del experimento anterior. Adicionar a cada una 2 gotas de solución de ferrocianuro de potasio. Registrar en cuál tubo se forma más rápidamente el precipitado. Discutir el resultado.

Nota

El estudiante debe traer al laboratorio: aproximadamente una cucharada de leche en polvo, una cucharada de gelatina en polvo sin sabor, un huevo de gallina, cortes de cabello y de uñas, además de una pastilla de Enzicón[®] o Nutizym[®], o una cápsula de Pankreón[®] plus, o Pancrease[®] (ó 3 grageas de Festal[®] o de Stamy1[®]).

Para incluir en la discusión de su informe de laboratorio

1. ¿Cuáles son las proteínas de la leche, gelatina, huevo, cabello y uñas?
2. ¿Cuál es la función de cada uno de los componentes del fármaco que empleó como fuente de enzimas?
3. ¿De qué manera debe efectuarse la dilución de un ácido?
4. ¿Cuáles son las enzimas proteolíticas del aparato digestivo humano?
5. ¿Cuáles son los productos de la hidrólisis de proteínas?
6. ¿Cuáles son las reacciones químicas que fundamentan la prueba de biuret?
7. Repasar sus conocimientos sobre el experimento de cromatografía en papel de aminoácidos.
8. En la precipitación de proteínas por acción de cationes:
 - a. ¿El precipitado formado en el Tubo No. 6, es solamente hidróxido de cobre?
 - b. ¿Cómo se podría explicar el comportamiento de las soluciones de proteína en medio ácido, neutro o alcalino, frente al catión precipitante?
 - c. Además del tamaño, ¿cuáles otros factores serían importantes para la efectividad del catión precipitante?
9. En la precipitación de la albúmina por acción de aniones, ¿en cuál tubo se forma más rápidamente el precipitado? Explique sus observaciones.

Referencias bibliográficas

- *A New Dictionary of Chemistry*. 6th Ed. (2001). Edited by L. Mackenzie Miall and DWA Sharp. Great Britain: John Wiley and Sons.
- Angenault, J. (1998) *Diccionario Enciclopédico de Química*. (2ª Ed.) México: Editorial Continental.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. (4ª Ed.) México: Pearson-Addison Wesley.
- Brewster, R. Q., Van der Werf, C. A. and Mc Ewen, W. E. (1990). *Curso Práctico de Química Orgánica*. (3ª Ed.) España: Editorial Alhambra.
- *Diccionario Enciclopédico de Química*. 2ª Ed. (1990). México: Compañía Editorial Continental S.A.
- Hart, H., Hart, D. y Craine, L. (1995). *Química Orgánica*. (9ª Ed.) México: McGraw-Hill Interamericana.
- Holum, J. R. (1999). *Fundamentos de Química Orgánica y Bioquímica*. México: Editorial Limusa-John Wiley and Sons.
- Miller, D. D. (2004). *Química de Alimentos*. México: Editorial Limusa S.A. Grupo Noriega Editores.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- Spilva Lehr, A. y Muktans Spilva, I. (2006). *Guía Spilva de las Especialidades Farmacéuticas en Venezuela*. (29ª Ed.) Caracas: Global Ediciones S.A.
- Tortora, G. y Anagnostakos. (1993). *Principios de Anatomía y Fisiología*. (6ª Ed.) México: Editorial Harla.
- Wade, L. G. (1993). *Química Orgánica*. (2ª Ed.) México: Prentice-Hall Hispanoamericana.
- Wittcoff, H. A. y Reuben, V. G. (2000). *Productos Químicos Orgánicos Industriales*. México: Limusa-Noriega Editores.

Experiencia práctica 21

Análisis químico de la leche

La **leche** es la secreción natural de las glándulas mamarias de los individuos hembra de los mamíferos. Las leches en general, representan el alimento más balanceado y apropiado para las crías, debido a su alto valor nutritivo e inmunológico. Además de proporcionar prácticamente todos los nutrientes esenciales, en la forma y proporciones adecuadas, las leches también contienen diferentes sustancias que actúan como componentes fundamentales de los sistemas inmunológicos y de protección de un recién nacido. Citemos como dato interesante, el factor bífidus (N-acetil-D-glucosamina), contenido en la leche humana, el cual promueve el crecimiento del *Lactobacillus bifidus* en el intestino del bebé, lugar donde este bacilo produce cantidades apreciables de ácido láctico a partir de la lactosa, con el consiguiente aumento de acidez. En estas condiciones de pH, el desarrollo de microorganismos patógenos resulta inhibido, protegiendo efectivamente al bebé de serias enfermedades. Las leches de otros mamíferos (vaca, cabra, oveja, etc.), contienen compuestos exclusivos de la especie, los cuales son utilizados de manera única por sus respectivas crías.

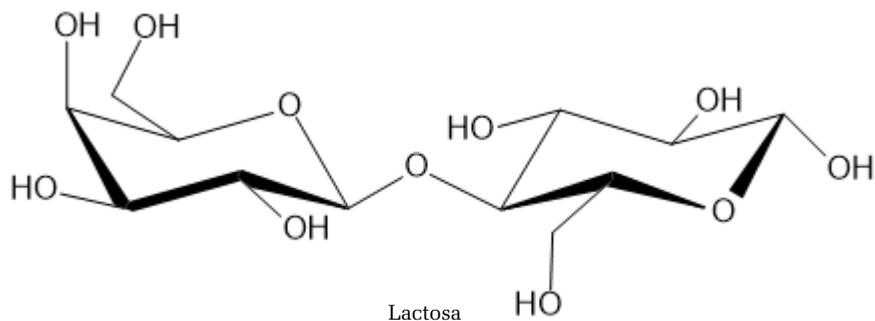
En esta experiencia práctica, efectuaremos un análisis químico de la leche de vaca (*Bos taurus*), por la enorme importancia de ésta y sus derivados industriales (queso, yogurt, mantequilla, suero, etc.), en la dieta humana.

I. Composición química de la leche

La leche es una mezcla que contiene grasas, proteínas, azúcares, sales minerales, vitaminas y agua, además de otras sustancias en concentraciones menores, que en conjunto, forman un sistema fisicoquímico estable en las condiciones fisiológicas de la especie sana, de más de 450 compuestos.

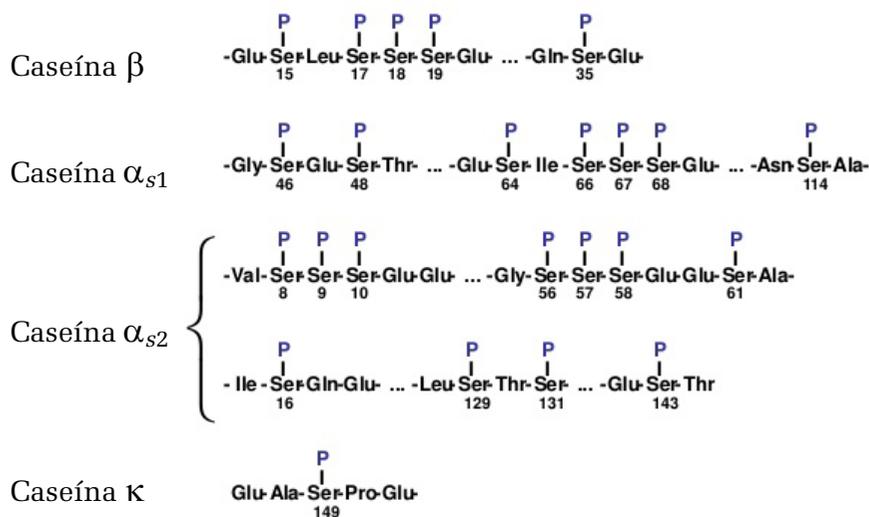
Las **sales**, entre las que se destacan citratos, cloruros, bicarbonatos y fosfatos de calcio, magnesio, sodio y potasio, se encuentran en solución o formando parte del sistema coloidal de las caseínas. También están presentes otros elementos como aluminio, boro, bromo, cobre, yodo, hierro, manganeso, cromo, níquel, zinc y trazas de arsénico, cobalto y plomo.

Los **azúcares** (principalmente la **lactosa**), también están disueltos en el agua. (¿Por qué son capaces de disolverse en agua los azúcares?). La lactosa, el principal carbohidrato de la leche, es un disacárido que se forma por la condensación de una molécula de galactosa y otra de glucosa. Además se ha identificado la presencia de muy pequeñas cantidades de glucosa, galactosa, sacarosa y aminoazúcares en la leche de vaca.



Las **grasas**, constituidas fundamentalmente por ácidos grasos tipo triglicéridos, forman partículas de 5 a 10 μm de diámetro que están presentes en la leche, en forma de emulsión en agua. Estas partículas menos densas que el agua, se desplazan a la superficie, formando una capa de nata. Otras grasas presentes en la leche son fosfolípidos y colesterol. Debido a su comportamiento de solubilidad, es necesario extraer las grasas de la leche, con éter etílico o éter de petróleo (¿por qué?).

Las **proteínas** de la leche son las **caseínas**, la **lactoalbúmina**, **seroalbúmina**, **lactoglobulina** e **inmunoglobulinas**, estas últimas son los anticuerpos particulares propios de cada especie de mamífero. La **caseína**, proteína que funciona como coloide protector, representa el 80 % del total del contenido proteico de la leche. Prácticamente, todas las moléculas de caseína están asociadas entre sí formando micelas, las cuales están presentes como dispersión coloidal y no son fácilmente solubilizadas. La caseína, del latín *caseus*, 'queso', es una fosfoproteína que existe como suspensión de caseinato de calcio en la leche de los mamíferos. Puede aislarse como un polvo soluble en álcalis o por tratamiento de la leche con ácido. La estabilidad de la caseína en el seno de la leche se debe a su fuerte carga eléctrica negativa. Existen cuatro fracciones principales que se diferencian por la cantidad de grupos fosfato por molécula y su subsiguiente diferencia en movilidad electroforética: caseínas α , β , κ y γ . El subíndice s de las caseínas α , se emplea para indicar que son sensibles a la presencia de calcio, ya que pueden precipitar al asociarse con este elemento. Las caseínas γ son fragmentos de la proteólisis de la caseína β .



P= Grupo fosfato

Se indica la secuencia de aminoácidos, cada uno abreviado con 3 letras

Caseínas

Las **albúminas** (lactoalbúmina, seroalbúmina) y las **globulinas** (lactoglobulina e inmunoglobulinas) de estructuras compactas globulares, son las proteínas del suero de la leche. Las albúminas son solubles en agua en un intervalo muy amplio de pH, por lo que requieren calentamiento fuerte para su separación del suero. Las globulinas son insolubles en agua destilada, solubles en soluciones diluidas de sales y sufren coagulación por efecto del calor. La α -**lactoalbúmina** es, por orden de importancia, la segunda proteína del suero. Posee actividad biológica como parte constitutiva del sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. La β -**lactoglobulina** no está presente en la leche materna y se considera el agente causal de reacciones alérgicas observadas en niños alimentados con leche de vaca.

La leche fresca contiene la mayoría de las **vitaminas**; los diferentes tratamientos industriales a los que se la somete, provocan pérdidas de las que son termosensibles, principalmente las **hidrosolubles** del suero: riboflavina, B₆, B₁₂, C, biotina, niacina, tiamina, folatos y ácido pantoténico, las cuales además, se pierden en el suero durante la fabricación del queso. Las vitaminas **liposolubles** A, D, E y K, se encuentran interaccionando con los glóbulos de grasa. A la leche descremada se le adicionan vitaminas A, D y E, ya que éstas se pierden al quitar la grasa. Las vitaminas A y B₆ son sensibles a la luz fluorescente y en general, las C, riboflavina, A y B₆ son fotosensibles. Los daños ocasionados por el efecto

de la luz, se minimizan al reemplazar los recipientes comerciales de vidrio o plásticos transparentes, por empaques opacos de cartón.

II. Propiedades físicas de la leche

La leche es un sistema bioquímico muy complejo en el cual existen tres estados físicos de dispersión:

1. La lactosa, así como las sales, cationes, aniones y vitaminas hidrosolubles, están presentes como una **solución verdadera**;
2. Las proteínas –caseínas y las del suero (albúminas y globulinas)– forman **dispersiones coloidales**, y
3. Las sustancias liposolubles se encuentran en estado de **emulsión**.

Estos tres sistemas tienen densidades diferentes (1,05, 1,114 y 0,94 g/mL, respectivamente), pero están en equilibrio a través de mecanismos particulares de estabilización. Los diferentes tratamientos a los cuales se somete la leche, alteran el equilibrio entre los tres sistemas, permiten la separación de sus componentes y provocan la generación de sus productos derivados.

La leche presenta propiedades particulares que son expresión macroscópica de su composición y de las interacciones entre sus constituyentes químicos. Las propiedades físicas como densidad, tensión superficial, calor específico, temperatura de congelación, etc., son factores importantes que se consideran al diseñar procesos como la pasteurización, esterilización, homogeneización y transporte. Existen modelos matemáticos para estudiar y predecir el comportamiento de la leche y sus derivados, tomando en cuenta la interrelación de sus propiedades fundamentales.

El **color blanco** de la leche se debe a la dispersión total de la luz visible por los glóbulos de grasa, las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal. A menor tamaño de estas partículas, mayor área de dispersión para la luz y consecuentemente, el líquido se verá más blanco. En la crema de leche, las partículas sólidas se asocian formando agregados, lo cual reduce la dispersión de la luz visible, generando una tonalidad ligeramente azul. El proceso de homogeneización provoca la ruptura de los glóbulos grandes y produce

partículas pequeñas, con lo cual la leche se ve muy blanca. Los carotenoides y la riboflavina influyen en el color; los primeros aportan tonalidades amarillas y verdes, la segunda.

La leche se comporta como un **fluido newtoniano**, pues es poco viscosa, a pesar de contener de un 12 % a un 14 % de sólidos. Las micelas y los glóbulos de grasa son los componentes que aportan viscosidad. La leche descremada y el suero son fluidos menos viscosos que la leche completa.

La **densidad** de la leche depende de los diferentes sólidos que contiene. Existen ecuaciones matemáticas que expresan este parámetro en función de la cantidad de sólidos no grasos y de la grasa.

El **punto de congelación** de la leche es menor que el del agua pura (-0,52 a -0,57 °C), por efecto de los solutos de bajo peso molecular (lactosa y sales). El valor del punto de congelación de la leche se emplea como medida de referencia en los análisis crioscópicos para detectar adulteración con agua y cuantificar la cantidad de agua añadida. Los sólidos disueltos también generan un aumento ebulloscópico y el **punto de ebullición** de la leche es mayor que el del agua pura a la misma presión. Así, la leche tiene un punto de ebullición de 100,17 °C a 760 mm de Hg, la leche evaporada 100,44 °C y la condensada azucarada 103,22 °C.

El **pH** de la leche es de 6,5 a 6,7; cualquier cambio en este valor indica alteración del producto. Los pH menores se deben a acidificación microbiana y los mayores, a una posible infección de la vaca, como mastitis.

Procedimiento experimental

I. Obtención de los puntos de ebullición y de fusión, medición del pH y cálculo de la densidad de su muestra de leche. Registro del color.

1. Medir el punto de ebullición (100,17 °C a 760 mm de Hg de presión) y el punto de fusión (debería estar entre -0,52 y -0,57 °C) de su muestra de leche con método de escala semimicro para determinación del punto de ebullición y en tubo Thiele para punto de fusión.
Evidentemente, se requiere congelar previamente una mínima muestra de leche.
2. Medir el pH con cinta de papel indicador de pH (debería tener un valor entre 6 y 7).

3. Medir unos 5 mL de leche y obtener su masa en la balanza analítica. Efectuar esta misma operación tres veces.
4. Calcular la densidad por triplicado y obtener un valor promedio.
5. Observar y anotar el color de su muestra de leche.
6. Anotar marca comercial y tipo de envase: de cartón, tetrapack, plástico transparente.
7. Discutir estos valores e información adicional, en su informe de laboratorio.

II. Separación de la grasa

Al dejar en reposo la leche sin procesar, la grasa que contiene se separa formando una capa superficial, ya que es insoluble en agua. En la leche envasada no se produce esta separación porque ha sido sometida a un proceso de “homogeneización” industrial.

1. Pesar 15 mL de leche y un vaso de precipitado de 125 mL (para colectar la capa de éter o de diclorometano).
2. Transferir los 15 mL de leche a un embudo de separación y extraer la grasa con 24 mL de éter etílico o diclorometano, en tres porciones, cada una de 8 mL.
3. Agitar suavemente, teniendo así la precaución de evitar la formación de emulsión.
4. Repetir el proceso dos veces, colectando la capa de solvente orgánico y la capa acuosa por separado. Reservar aparte las capas acuosas. (La densidad del éter etílico es 0,71 g/mL y la del diclorometano es 1,34 g/mL. ¿cuál será la capa de solvente orgánico en cada caso, la superior o la inferior?)
5. Evaporar el solvente orgánico en baño de María (Punto de ebullición(éter etílico)= 34,5oC; Punto de ebullición(diclorometano)= 41oC) y en campana de extracción de gases.
6. Pesar el vaso de precipitado con la grasa.
7. Obtener la masa de grasa.

III. Separación de la albúmina

1. Hervir la solución acuosa resultante de la unión de las capas acuosas obtenidas en la extracción con el solvente orgánico (o hervir directamente la leche descremada).
2. Dejar enfriar en reposo.
3. La película superficial que se forma es la albúmina. Tratar de sacarla con un agitador de vidrio o filtrando.
4. Tener previamente pesado un vidrio de reloj para obtener la masa de la albúmina.

5. Secar en estufa a baja temperatura (40 °C) por 20 minutos.
6. Obtener la masa de albúmina.

IV. Separación de la caseína

1. Calentar el líquido residual de la parte anterior (parte III), suavemente a 40 °C.
2. Adicionar gota a gota una solución de ácido acético al 10 %, hasta que no se observe precipitación de caseína coagulada (para 15 mL de leche descremada, el máximo volumen de solución de ácido acético adicionado, deberá ser de 1 mL). La adición de un exceso de ácido puede provocar la hidrólisis de la lactosa, desdoblándola en glucosa y galactosa.
3. Agitar constantemente hasta no observar ulterior precipitación de coágulos de caseína.
4. Dejar enfriar en reposo.
5. Separar el sólido amorfo (caseína) por filtración, empleando un colador de tela de cocina. Exprimir entre dos vidrios de reloj para eliminar el líquido residual, llamado “suero”, el cual deberá colectarse.
6. La caseína separada se coloca en un vidrio de reloj previamente pesado, y se somete a secado por calentamiento en estufa a 60-70 °C. Para que el secado sea homogéneo, es conveniente remover la caseína varias veces con una espátula limpia, a intervalos de tiempo regulares; además, para disponer de una pequeña porción completamente seca para el proceso de hidrólisis ácida, se recomienda apartar una pequeña porción dentro de la estufa.
7. Una vez seca y enfriada, obtener la masa de la caseína y calcular su porcentaje en la leche.

Una representación esquemática de esta separación sería:



V. Separación de la lactosa

1. Al líquido verdoso remanente del proceso de filtrado anterior (suero), se le adicionan 2,0 g de carbonato de calcio para neutralizar el excedente de ácido acético.
2. Agitar durante 5 minutos y dejar en reposo.
3. Calentar hasta ebullición durante 10 minutos. Este proceso debe efectuarse con

muchísima precaución. Si observa la formación de espuma, retire el mechero inmediatamente, pues la solución puede derramarse violentamente. Retire la espuma –albúmina remanente que atrapa aire formando espuma– con una varilla de vidrio o espátula.

4. Filtrar por succión en caliente para eliminar el carbonato de calcio y los restos de caseína y albúmina.
5. El líquido filtrado obtenido deberá concentrarse hasta reducir su volumen a 10 mL.
6. Adicionar 0,5 a 0,8 g de carbón activo, sólo si es necesario.
(En qué caso sería necesario?).
7. Calentar suavemente el filtrado concentrado durante 2 minutos.
8. Filtrar por gravedad en caliente. El líquido filtrado deberá ser recolectado en un matraz Erlenmeyer sumergido en un baño de agua-hielo-sal, hasta observar la cristalización de la lactosa. El proceso de precipitación de la lactosa puede tomar varios días o una semana en refrigeración.
9. De este líquido, verter 1 mL en un tubo de ensayo para realizar el test de Molisch.
10. Alternativamente al paso 5, puede destilarse el líquido filtrado obtenido en el paso 4, hasta separar el agua.
11. Filtrar por succión los cristales de lactosa y lavar con solución fría de etanol al 25 %. Dejar secar.
12. Pesar y calcular el porcentaje de lactosa en la muestra de leche.
13. Medir el punto de fusión y comparar con el punto de fusión teórico de la lactosa.

VI. Test de Molisch

Este test está descrito en la Experiencia práctica 18, Propiedades químicas de los carbohidratos, Experiencia II. Aparte 4.

1. Rotular varios tubos de ensayo.
2. Adicionar 1 mL del filtrado obtenido de la separación de la lactosa a un tubo de ensayo y efectuar el test de Molisch.
3. Efectuar el test de Molisch con:
 - a. Lactosa
 - b. Sacarosa o azúcar de caña
 - c. Papel (celulosa)
 - d. Glucosa

- e. Fructosa
 - f. Almidón (amilosa y amilopectina)
 - g. Harina de maíz (maicena)
 - h. Harina de trigo
 - i. El filtrado obtenido
4. Comparar los resultados obtenidos y hacer conclusiones al respecto.

VII. Separación de las sales minerales

1. Mezclar el líquido frío filtrado obtenido al separar la lactosa, con un volumen igual de etanol para separar las sales minerales que precipitan.
2. Filtrar, secar y obtener su masa.

VIII. Determinación del contenido de agua y sólidos totales

1. Pesar conjuntamente un vidrio de reloj y un agitador de vidrio.
2. Adicionar 5 mL de leche al vidrio de reloj.
3. Pesar conjuntamente el vidrio de reloj, la leche y la varilla de vidrio. Calcular la masa de los 5 mL de leche.
4. Colocar el vidrio de reloj con la leche sobre un vaso de precipitado, lleno hasta la mitad de su capacidad con agua, más dos perlas de ebullición.
5. Calentar para evaporar lentamente el líquido de la leche. Al observar la formación de una nata delgada sobre la superficie de la leche, romperla con la varilla de agitación. Agitar suavemente y de manera continua, para evitar que la leche se quemé.
6. En el momento en que la consistencia de la leche adquiriera el aspecto de una pasta y no cambie con ulterior calentamiento, se debe detener el proceso, pues se considera que la evaporación se ha completado.
7. Permitir que el vidrio de reloj se enfríe y secar el agua condensada en la superficie convexa del vidrio.
8. Determinar la masa combinada del vidrio de reloj, el residuo sólido de la leche y el agitador de vidrio.
9. Calcular la masa de los sólidos de la leche y la masa del agua contenida en la muestra original de 5 mL de leche.
10. Obtener el porcentaje de agua (% p/p) en la muestra de leche y el porcentaje de sólidos totales de la leche.

IX. Hidrólisis ácida de la caseína

1. Montar un aparato para reflujo utilizando un balón de destilación de 100 mL.
2. Verter 10 mL de HCl al 20 %, 0,2 g de la caseína seca (aislada en el paso C) y piedras de ebullición dentro del balón de destilación.
3. Mantener el reflujo activo por 35 minutos.
4. Al finalizar el reflujo, adicionar carbón activo y agitar.
5. Filtrar la solución por gravedad.
6. Para comprobar que la hidrólisis se ha completado, efectuar el test de biuret.
7. Si la hidrólisis resulta incompleta, añadir 2 mL de HCl al 20 % al balón de destilación y someter a reflujo por 10 minutos más o hasta que el test de biuret arroje hidrólisis completa.

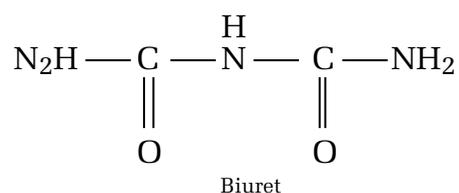
X. Test de biuret

1. Verter en un tubo de ensayo 5 gotas de la solución de reflujo filtrada.
2. Añadir 10 gotas de solución de NaOH al 10 %.
3. Verificar que la solución resultante tenga pH básico, con papel indicador de pH.
4. Añadir 5 gotas de solución de CuSO₄ al 2 %.
5. Si la solución en el tubo de ensayo vira a un color azul, esto indica que ha ocurrido hidrólisis completa de la caseína a sus aminoácidos constituyentes.
6. Si la solución del tubo de ensayo vira a un color rosado o violeta, este resultado indica que la hidrólisis de la proteína ha sido incompleta.

Explique mediante reacciones químicas, los dos posibles resultados del test de biuret.

Nota

Biuret, proveniente del prefijo bi y la palabra úrea, es ureidofórmida, compuesto de fórmula:



Una solución alcalina de biuret da color rosa-violeta, cuando se le adiciona una solución de sulfato de cobre. El color se debe a la formación de un complejo de coordinación del ion cúprico, Cu⁺², con 2 moles de biuret como ligandos. La reacción

se produce por la mayor estabilidad que tiene lugar cuando se forman anillos. Como sólo pueden formarse fácilmente anillos de 5 y 6 miembros, debido a las limitaciones impuestas por los ángulos de enlace, sólo se forman complejos de este tipo cuando los grupos donadores de electrones, como los grupos amino, están debidamente separados en la molécula de ligando. Tres enlaces de péptido consecutivos en proteínas o péptidos, pueden conducir a un complejo estable con el cobre de tres anillos de cinco miembros.

Las sustancias que contienen dos grupos $-\text{CO}-\text{NH}-$ unidos entre sí, al mismo átomo de N, o al mismo átomo de C, dan un color violeta o rosado cuando se tratan con NaOH y Cu_2SO_4 . La reacción sirve de test para biuret, péptidos, proteínas y oxamida.

XI. Cromatografía en papel

Efectuar una cromatografía en papel con las siguientes muestras de aplicación (5–7 gotas):

1. Una muestra de la solución de reflujo de la hidrólisis de la caseína, filtrada.
2. Solución patrón de ácido aspártico.
3. Solución patrón de metionina.
4. Solución patrón de lysina.
5. Solución patrón de leucina.
6. Cualquier otra solución patrón de aminoácido que se tenga en el laboratorio.
7. Solvente de desarrollo: BAW (butanol–ácido acético–agua 4:1:5).
8. Revelador: ninhidrina.

Nota

Se recomienda trabajar por separado y comparar los resultados de:

1. Leche completa en polvo.
2. Leche completa líquida.
3. Leche descremada en polvo.
4. Leche descremada líquida.
5. Leche fresca sin procesar.

Comparar también sus resultados con los que reporta la fábrica de la leche comercial en la etiqueta del envase.

Referencias bibliográficas

- *A New Dictionary of Chemistry*. 6th Ed. (2001). Edited by L. Mackenzie Miall and DWA Sharp. Great Britain: John Wiley and Sons.
- American Chemical Society. (1998). *Chem. Com.* (2nd Ed.) USA: Addison Wesley-Longmans.
- Angenault, J. (1998). *Diccionario Enciclopédico de Química*. (2ª Ed.) México: Editorial Continental.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. (4ª Ed.) México: Pearson-Addison Wesley.
- *Diccionario McGraw-Hill de Química* (1991). Parker Editor. México: McGraw-Hill.
- García, G.J. y Rodríguez, A.D. (2004). *Industrias Químicas Agroalimentarias*. México: Alfa Omega Grupo Editor.
- Miller, D.D. (2004). *Química de Alimentos*. México: Editorial Limusa S.A. Grupo Noriega Editores.
- Perdomo, G. (1990). *EFOBIO Guía de Laboratorio de Química Orgánica*. Mérida. Venezuela: Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes.
- Silva, D. J. (1998). *Análise de alimentos*. (2ª Ed.) Brasil: Editora Universidade Federal de Viçosa. Brasil.
- *The Merck Index*. 12th Ed. (1996). New York. USA: Merck and Co.

Experiencia práctica 22

Síntesis electrolítica: ácido mirístico y n-hexacosano

Las reacciones de óxido-reducción involucran la transferencia de electrones entre especies químicas: pérdida por parte de la especie que se oxida y ganancia de estos electrones por la especie que se reduce. De esta manera, las reacciones de óxido-reducción pueden utilizarse para producir energía eléctrica (en celdas voltaicas o galvánicas) y también, la energía eléctrica puede emplearse para producir cambios químicos (en celdas electrolíticas).

La energía en forma de electricidad induce reacciones químicas que son utilizadas por la industria electrolítica y los materiales producidos a través de electricidad son muy variados: desde algunos productos químicos que también se obtienen por otros métodos -como la sosa cáustica (NaOH), el hidrógeno y el magnesio- hasta productos que en la actualidad, por razones económicas, no pueden producirse de ninguna otra manera, como el aluminio o el carburo de calcio. Otros metales como sodio, cadmio, cromo, cobre, níquel, titanio y zinc, también se obtienen electrolíticamente.

El costo de la energía es con frecuencia, el factor decisivo en las industrias electroquímicas; por tanto, estas industrias se establecen, por lo general, en regiones con energía eléctrica de bajo costo. La electricidad es cara como fuente de energía, pero relativamente barata si se la considera como reactivo químico.

Se ha planteado la operación de celdas híbridas de combustible, fundamentadas en que el hidrógeno de cualquier tipo de celda puede hacerse reaccionar en una celda de combustible eficiente para producir una cantidad significativa de energía eléctrica. Si esta energía se emplea para la electrólisis, los costos se reducen en aproximadamente un 20 %.

En la actualidad, varios procesos electroorgánicos también se aplican exitosamente en la producción industrial. El sorbitol, el manitol y el ácido glucónico y sus sales, se han obtenido por la oxidación electroquímica de la glucosa. La mayor operación electroquímica a escala industrial que se emplea actualmente es la conversión de acrilonitrilo en

adiponitrilo. Existen también plantas de generación electrolítica de ácido dihidroftálico a partir de ácido ftálico, pinacol a partir de acetona, sebacato de dimetilo a partir de monometiladipato y de perfluoración de varias aminas y ácidos orgánicos, entre otras.

El electrorecubrimiento se puede considerar como el contratipo orgánico de la galvanoplastia, pues en éste se utilizan moléculas orgánicas cargadas en lugar de iones metálicos. El material orgánico cargado es la resina del recubrimiento, la cual se pigmenta y después se dispersa en agua. Luego se vierte en un gran tanque cuyas paredes sirven de cátodo (electrodo donde ocurre la reducción). El objeto que se desea recubrir, por ejemplo, un automóvil, se coloca dentro del tanque y funciona como ánodo (electrodo donde ocurre la oxidación). Al aplicar corriente eléctrica, el polímero aniónico, resina de recubrimiento, migra al ánodo arrastrando el pigmento. Se obtiene así, un recubrimiento delgado y uniforme sobre la superficie y que penetra en áreas difíciles que no serían accesibles a una aspersión (método tradicional en la industria automotriz). Como el recubrimiento forma una capa aislante, no se puede aplicar una segunda capa empleando el mismo método, pero el procedimiento es efectivo para aplicar recubrimientos primarios anticorrosivos en automóviles.

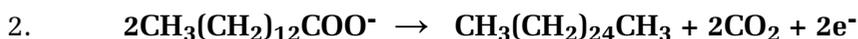
Los materiales catiónicos se adhieren mejor que los aniónicos y presentan mayor resistencia a la corrosión, tal vez porque reaccionan con las superficies aniónicas (óxidos metálicos). Por esta razón, se han desarrollado polímeros que tienen carga positiva y que proporcionan una mayor resistencia a la corrosión.

Muchos hidrocarburos y di-ésteres, que son prácticamente inaccesibles en estado puro, pueden prepararse exitosamente por síntesis electrolítica anódica. Se logra producir un acoplamiento simple en el ánodo, por electrólisis en metanol anhidro y metóxido de sodio como electrolito:



Adipato de metil-hidrógeno

Sebacato de dimetilo

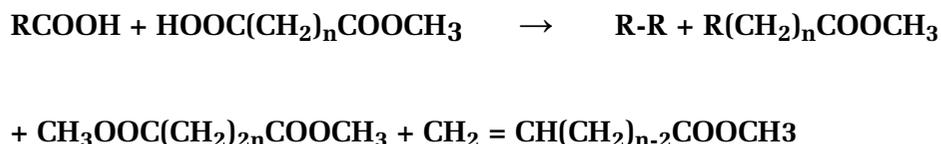


Ácido mirístico

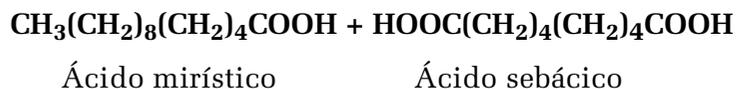
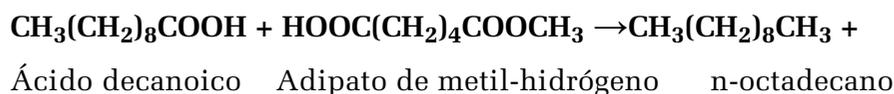
n-hexacosano

(Ácido tetradecanoico)

Una electrólisis bajo condiciones similares, de una mezcla de dos ácidos carboxílicos RCOOH y R'COOH, conduce a generar, además de los dos productos de acoplamiento normal R-R y R'-R', el acoplamiento cruzado R-R'. Estos productos son fácilmente separados por destilación fraccionada.



Si se aumenta la proporción molar del ácido monocarboxílico, el rendimiento aumenta. Así la electrólisis de ácido decanoico (ácido n-decanoico o ácido cáprico) (2 moles), y adipato de metil-hidrógeno (1 mol), en metanol anhidro y en presencia de metóxido de sodio (electrolito para transporte de cargas en el seno de la solución), genera, después de la hidrólisis de los ésteres formados, n-octadecano, ácido tetradecanoico o ácido mirístico y ácido sebácico.



El **ácido mirístico** cristaliza en hojuelas, punto de fusión: 58 °C; es un ácido graso que está presente en la leche como glicérido y existe en grandes cantidades en ciertos aceites vegetales.

El **ácido sebácico** cristaliza en hojuelas incoloras, punto de fusión: 134,5 °C; poco soluble en agua, soluble en etanol. Se obtiene calentando aceite de castor con álcalis o por destilación de ácido oleico, ambas, materias primas caras. Los ésteres de ácido sebácico se emplean como plastificantes en la fabricación de polímeros, especialmente en resinas vinílicas.

El **n-octadecano**, alcano de 18 carbonos, se obtiene en la fracción diesel de la destilación al vacío del petróleo, como un líquido muy viscoso con punto de ebullición=308 °C, punto

de fusión=28 °C, que se emplea como aceite lubricante de motores y como combustible en los motores diésel. Como este combustible no es muy volátil, en el motor diésel se atomiza en forma de aerosol directamente en el cilindro. Forma parte de los llamados “aceites minerales” porque es un derivado del petróleo y antiguamente se consideraba el petróleo como un mineral.

El n-hexacosano es un alcano de alto peso molecular (30 carbonos), está en la fracción de aceites pesados, que se obtiene por destilación a presión reducida del petróleo crudo, con punto de fusión: 57 °C y punto de ebullición: 450 °C. Se emplea en sistemas de calefacción.

Procedimiento experimental

La síntesis de ácido mirístico se recomienda como proyecto especial a desarrollar en tres sesiones prácticas. La síntesis electrolítica de n-hexacosano requiere menos tiempo.

I. Celda electrolítica

La celda tiene forma cilíndrica, debe construirse con vidrio pyrex (altura: 6 pulgadas; diámetro: 2 $\frac{3}{4}$ pulgadas) y se enfría por inmersión en un baño refrigerante de hielo-agua. Los electrodos consisten de dos (2) láminas de platino (4 cm \times 2,5 cm \times 0,3 mm), las cuales se colocan aproximadamente a 2 mm de distancia entre sí. La temperatura de la solución electrolítica se debe mantener entre 30-35 °C por medio del espiral interno de enfriamiento y por la inmersión de la celda en un baño hielo-agua. Se hace pasar una corriente de 1,5-2,0 amperios hasta que el medio electrolítico se haga levemente alcalino. Se recomienda revertir ocasionalmente la dirección de la corriente eléctrica. (Ver diagrama de la celda electrolítica).

II. Síntesis de ácido mirístico

Disolver 55,2 g de ácido decanoico puro (ácido cáprico, ácido decoico), punto de fusión: 31-32 °C, y 25,6 g de adipato de metil-hidrógeno en 200 mL de metanol absoluto al cual se ha añadido previamente 0,25 g de sodio. Someter a electrólisis a 2,0 amperios, manteniendo la temperatura entre 25-35 °C, enfriando la celda en baño agua-hielo durante la electrólisis, hasta que el pH del medio alcance un valor de 8,2 (tiempo aproximado: 9 horas). Revertir la corriente de tiempo en tiempo, esto ayudará a liberar de los electrodos

el recubrimiento de productos colaterales insolubles. Neutralizar el medio electrolítico con una pequeña cantidad de ácido acético y retirar el metanol por destilación en baño de agua. Disolver el residuo por succión en 200 mL de éter etílico, lavar en embudo de separación con tres (03) porciones de 50 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio y remover el éter por evaporación en baño de agua. Tratar el residuo con una solución de 8,0 g de hidróxido de sodio en 200 mL de metanol al 80 %, someter a reflujo por 2 horas y retirar el metanol por destilación en baño de agua. Añadir 600 mL de agua destilada al residuo para disolver la mezcla de sales de sodio. Extraer el hidrocarburo con cuatro (04) porciones de 50 mL de éter etílico y secar los extractos etéreos reunidos con sulfato de magnesio anhidro. Después de remover el éter por evaporación, se obtienen 23,1 g de n-octadecano casi puro, de punto de fusión 23-24 °C.

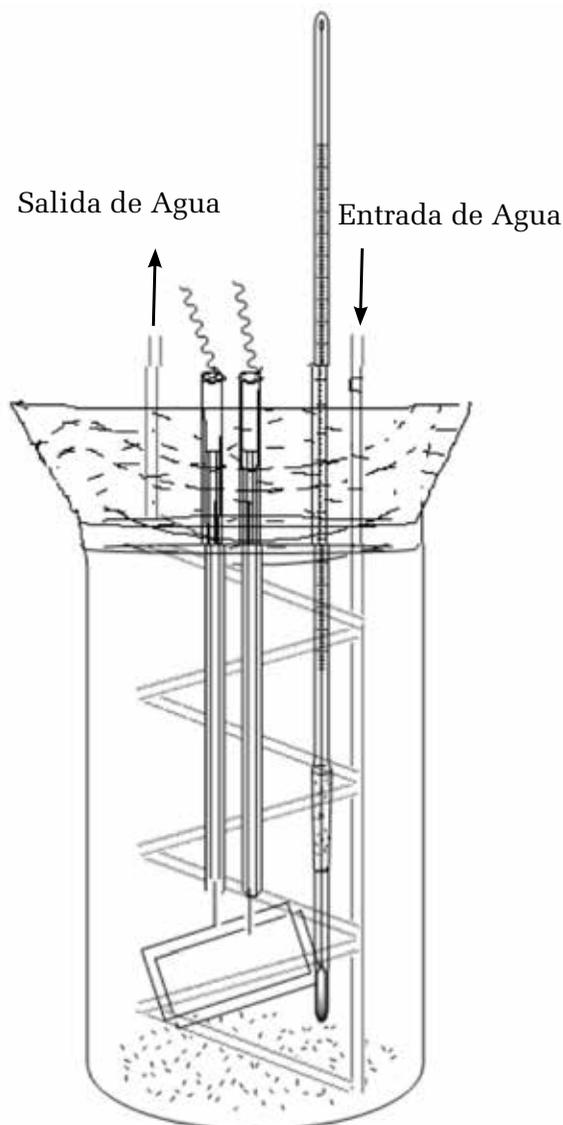
Acidificar la solución acuosa con ácido clorhídrico concentrado (aproximadamente 25 mL), enfriar a 0 °C, filtrar lo que queda en el balón de destilación, la mezcla de ácidos, lavar bien con agua fría y secar en un desecador al vacío. El rendimiento de la mezcla de ácidos sebácico y mirístico, punto de fusión 52-67 °C es de 26 g.

Separar la mezcla por extracción con seis (06) porciones de 50 mL de petróleo liviano casi a ebullición (punto de ebullición: 40-60 °C). El residuo (5,2 g, punto de fusión 132 °C) es ácido sebácico. La evaporación del solvente, arroja 20 g de ácido mirístico, de punto de fusión: 52-53 °C).

III. Síntesis de n-hexacosano

Disolver 5,0 g de ácido mirístico puro en 25 mL de metanol absoluto, al cual se ha añadido 0,1 g de sodio. Vierta la solución en una celda electrolítica (25 cm de altura, 3 cm de diámetro) provista de dos electrodos de lámina de platino (2,5 cm × 2,5 cm) dispuestos a 2 mm de distancia entre sí. Someter electrólisis a 1 A hasta que el medio electrolítico sea apenas alcalino (pH = 7,5-8). Enfriar la celda en baño hielo-agua durante la electrólisis. Revertir la corriente ocasionalmente para limpiar los electrodos. Revertir la corriente ocasionalmente para limpiar los electrodos. Neutralizar el medio electrolítico añadiendo unas pocas gotas de ácido acético glacial y evaporar la mayor parte del solvente bajo presión reducida (este paso lo efectuará el técnico de laboratorio). Verter el residuo en agua y extraer el producto con éter etílico. Lavar la solución etérea con solución diluida

de hidróxido de sodio, secar con sulfato de magnesio anhidro y evaporar el solvente en baño de agua. Recristalizar el residuo con petróleo ligero (punto de ebullición 40-60 °C). El rendimiento práctico de n-hexacosano (punto de fusión 57-58 °C) es 2,4 g.



Celda para electrólisis

Nota

Esta experiencia práctica fue traducida y modificada por la autora, de: Vogel (1972).

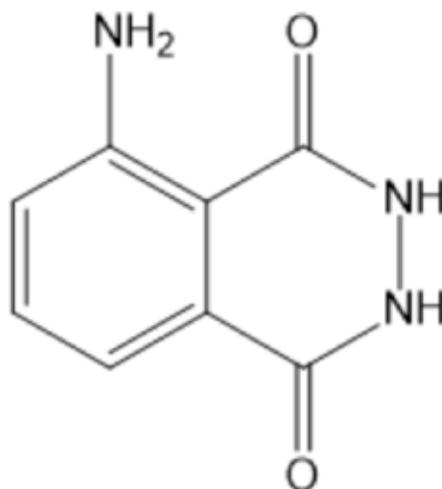
Referencias bibliográficas

- Austin, G. T. (1998). Manual de Procesos Químicos en la Industria. (5ª Ed.) México: McGraw-Hill.
- Vogel, A. I. (1972). A Textbook of Practical Organic Chemistry. (4th Ed.) London, Great Britain: Longmans.
- Wittcoff, H. A. y Reuben, V. G. (2000). Productos Químicos Orgánicos Industriales. México: Limusa-Noriega Editores.

Experiencia práctica 23

Química Criminalística. Síntesis de luminol y ensayos de revelado de manchas ocultas de sangre

El **luminol** o hidrazida-3-amino-ftálica es un compuesto químico con muchas aplicaciones prácticas fundamentadas en sus propiedades quimioluminiscentes, las cuales exhibe con una notoria y característica emisión de luz azul cuando se mezcla con un agente oxidante adecuado como peróxidos, en presencia de complejos de hierro, los cuales actúan como catalizadores. El luminol es un sólido de color amarillo pálido, soluble en agua y en la mayoría de los solventes polares.



Luminol

Fórmula molecular: $C_8H_7N_3O_2$

Masa molecular: 177,16 g/mol

Punto de fusión: 319-320 °C

El luminol es empleado por los investigadores forenses y detectives criminalistas para detectar cantidades traza de sangre en el escenario de un crimen, aun cuando ésta haya sido limpiada, lavada o removida del lugar.

El detective prepara una solución de luminol, le adiciona el activador (peróxido de hidrógeno) y procede a esparcirla asperjándola en el área bajo investigación. El hierro de la hemoglobina presente en el lugar del crimen actúa como catalizador de la reacción química que produce luminiscencia, revelando la presencia y localización de la sangre.

Como la cantidad de catalizador (hemoglobina) necesaria para que ocurra la reacción es muy pequeña en relación con la cantidad de luminol, esta prueba permite la detección de trazas de sangre. El brillo luminoso azul persiste por aproximadamente 30 segundos y para detectarlo se requiere que la habitación esté a oscuras. Cualquier emisión de luz azul puede documentarse para la investigación del caso a través de una fotografía de larga exposición. Adicionalmente, el luminol no sólo es útil para encontrar manchas invisibles de sangre, sino que una vez detectada la sangre se puede extraer y secuenciar el ADN, pues el reactivo no produce interferencias indeseables.

El luminol también tiene aplicaciones en las investigaciones de biología celular, en experimentos donde se desea detectar la presencia de cobre, hierro y cianuros, pues otros complejos de hierro y cobre, como hexacianoferratos, poseen el mismo efecto catalizador de la hemoglobina. Por otro lado, muchas determinaciones químicas analíticas, en técnicas espectroscópicas y cromatográficas, se fundamentan en las propiedades quimioluminiscentes del luminol, como por ejemplo, las determinaciones de luminol, derivados del luminol, de peróxido de hidrógeno o el avance de reacciones que producen H_2O_2 , determinación de concentraciones de cationes metálicos o de analitos que afectan la concentración de catalizadores metálicos.

La **quimioluminiscencia** es el fenómeno de producción de luz como resultado de una reacción química. Una reacción quimioluminiscente generalmente arroja un producto en un estado electrónico excitado, el cual emite un fotón y se produce luz. La quimioluminiscencia no requiere una fuente de excitación, en oposición a la fluorescencia y fosforescencia.

El luminol, ampliamente usado como reactivo quimioluminiscente, no requiere un sistema de solvente orgánico; el emisor de luz es un compuesto directamente proveniente de la oxidación (o un isómero como el isoluminol) por efecto de un agente oxidante en solución acuosa básica. Como agente oxidante frecuentemente se emplea el peróxido de hidrógeno en esta reacción, pero también se han utilizado otros como perborato, permanganato, hipoclorito y yodo.

La especie química emisora de luz es el 3-aminofalato y la presencia de un catalizador es un factor decisivo para que se produzca la reacción. Muchos cationes metálicos catalizan

la reacción entre el luminol y el H_2O_2 en solución acuosa básica, los cuales incrementan la velocidad de oxidación para producir la especie emisora y por lo tanto, aumentan la intensidad de luz generada.

Procedimiento experimental

El luminol puede sintetizarse a partir del ácido 3-nitroftálico. El primer paso de la síntesis consiste en calentar hidrazina N_2H_4 con el ácido 3-nitroftálico en un solvente de alto punto de ebullición como trietilénglicol (punto de ebullición: 290 °C). Aquí ocurre una reacción de condensación con pérdida de H_2O , formándose la hidrazida 5-nitroftálica, una diamida cíclica. En el siguiente paso de la síntesis, se reduce el grupo nitro a un grupo amino, con ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) y se genera el luminol.

I. Síntesis de la hidrazida 5-nitroftálica

1. En un pequeño tubo de ensayo con tubo lateral, se vierten 0,3 g de ácido 3-nitroftálico y 0,4 mL de una solución acuosa de hidrazina al 10 %. (Esta solución se puede preparar diluyendo con agua destilada 15,6 g de una solución comercial de hidrazina al 64 %, hasta un volumen de 100 mL).
2. Simultáneamente, se calientan 4 mL de agua en un vaso de precipitado en placa caliente, hasta aproximadamente 80 °C.
3. Calentar el tubo de ensayo en un mechero micro hasta disolver totalmente el ácido 3-nitroftálico sólido.
4. Adicionar 0,8 mL de trietilénglicol y colocar el tubo de ensayo en posición vertical en un soporte con aro.
5. Colocar un termómetro sin sellar el sistema y una piedra de ebullición en el tubo de ensayo.
6. Acoplar la rama lateral del tubo de ensayo a un aspirador conectado a la trompa de agua. Emplear una trampa.
7. Calentar la solución con el mechero micro, hasta que ebulle vigorosamente y el vapor de agua sea removido por el aspirador de vacío. En este punto, la temperatura deberá ser de unos 120 °C aproximadamente.
8. Continuar calentando y permitir un ascenso rápido de temperatura hasta 200 °C en 1-2 minutos.

Se requiere observar atentamente la temperatura para evitar que la mezcla se caliente a más de 200 °C.

9. Retirar el mechero rápidamente y luego mantener un calentamiento suave a una temperatura entre 210-220 °C durante 2 minutos.
10. Permitir el enfriamiento del tubo hasta los 100 °C aproximadamente.
Frecuentemente el producto comienza a cristalizar en este punto.
11. Adicionar 4,0 mL de agua caliente que se ha preparado previamente.
12. Enfriar el tubo de ensayo a temperatura ambiente con agua corriente del chorro del lavadero como sistema enfriador externo.
13. Colectar los cristales marrones de la hidrazida 5-nitroftálica por filtración al vacío empleando un embudo Hirsch pequeño. No se requiere secar el producto para continuar con el siguiente paso de la síntesis.

II. Síntesis de luminol

1. Transferir la hidrazida 5-nitroftálica obtenida a un tubo de ensayo de 13x10cm.
2. Adicionar 1,30 mL de una solución de hidróxido de sodio al 10 %.
3. Agitar la mezcla hasta que la hidrazida se disuelva.
4. Adicionar 0,80 g de dihidrato de ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
5. Empleando una pipeta Pasteur, adicione 1-2 mL de agua para disolver el sólido remanente en las paredes del tubo de ensayo.
6. Adicionar una piedra de ebullición al tubo de ensayo y calentar hasta que la solución ebulle.
7. Agitar la solución y mantener la ebullición agitando durante 5 minutos.
8. Adicionar 0,5 mL de ácido acético glacial y enfriar el tubo de ensayo a temperatura ambiente, empleando el agua corriente del lavadero exteriormente.
9. Agitar la mezcla durante el paso de enfriamiento.
10. Colectar los cristales amarillo pálido o dorados de luminol, por filtración al vacío, empleando un embudo Hirsch pequeño.
11. Apartar una pequeña muestra del producto, dejándola secar durante toda la noche, para la medición del punto de fusión (319-320 °C).
12. El resto del producto se empleará para los ensayos de revelado de manchas latentes ocultas de sangre.

III. Ensayos de revelado de manchas ocultas de sangre

Usar lentes de seguridad, guantes y tapaboca.

1. Obtener sangre por punción venosa. Emplear anticoagulante EDTA en el tubo colector.
2. Generar 20 manchas de sangre sobre una tela de algodón y permitir que se sequen a temperatura ambiente. Cada mancha se genera con la aplicación de 10 gotas de sangre.
3. Lavar la tela manchada en lavadora automática a una temperatura de 30 °C, empleando un detergente y un suavizante.
4. Dejar secar la tela al aire libre.
5. El luminol sintetizado en la parte II de esta experiencia se prepara en solución básica con un agente oxidante fuerte de la siguiente manera:
 - a. Cubrir el fondo de un matraz Erlenmeyer con una capa de bolitas de KOH (u otra base cualquiera con pH mayor de 9: NaHCO_3 , Na_2CO_3 , NH_3).
 - b. Adicionar suficiente H_2O_2 (o dimetilsulfóxido) para cubrir la capa de KOH.
 - c. Añadir 0,025 g aproximadamente del luminol obtenido en el paso II, sin secar.
 - d. Tapar el matraz Erlenmeyer. Agitar vigorosamente de tal manera de incorporar aire a la solución.
 - e. Tapar con tapa para rociado en aerosol.
6. En un cuarto oscuro se aplica la solución de luminol en forma de aerosol sobre las manchas de la tela. Se considera que un resultado es positivo cuando se observa de inmediato la luminiscencia azul. Seguir las recomendaciones de seguridad que exige el uso de los reactivos empleados.

Nota

Esta experiencia práctica fue tomada y modificada por la autora, de: Pavia et al. (2000) y Castelló, Seguí, Feucht y Pascual (2002).

Referencias bibliográficas

- Brewster, R. Q., Van der Werf, C. A. y Mc Ewen, W. E. (1990). Curso Práctico de Química Orgánica. (3ª Ed.) España: Editorial Alhambra.
- Castelló, A., Seguí, M. A., Feucht, M. M. y Pascual, F. A. (2002). Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. Cuadernos de Medicina Forense. No. 28.
- Choksi, H. P., Barbush, M., Carlson, R. G., Givens, R.S., Kuwana, T. and Schowen, R. L. (1990). Biomed. Chrom. 4(3):96.
- Givens, R. S. and Schowen, R. L. (1998). Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography. New York: J. W. Bircks. Ed.
- Orlovic, M., Schowen, R. L., Givens, R. S., Alvarez, F., Matuszewski, B. and Parekh, N. (1989). J. Org. Chem. (54):3606.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. and Engel, R. G. (2000). Introduction to Organic Laboratory Techniques. (3rd Ed.) USA: Saunders College Publishing.
- Ponten, E., Glad, B., Stigbrand, M., Sjören, A. and Irgum, K. (1996). Anal. Chim. Acta (320):87.



PUBLICACIONES
VICERRECTORADO ACADÉMICO
CODEPRE

ISBN: 978-980-11-1906-7



9 789801 119067

ISBN: 978-980-11-1909-8



9 789801 119098

Este libro es el producto de varios años de docencia en el primer curso de Laboratorio de Química Orgánica, durante los cuales intenté desarrollar experiencias prácticas atractivas e interesantes para mis estudiantes, que no sólo llenasen el objetivo de aprender y adiestrarse en el uso de las técnicas experimentales exigidas en el programa oficial de la asignatura en el Pensum de la Licenciatura en Química de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes; sino que ofrecieran también, nueva información con ilustraciones sobre temas interesantes relacionados con la Química Orgánica y generasen motivación adicional para buscar literatura y discutir estos aspectos. Es así como, las experiencias prácticas presentadas en este libro, tienen dos objetivos: permitir el adiestramiento en una técnica experimental y ofrecer nueva información al estudiante.

Las notas introductorias a cada experiencia práctica, en conjunto, constituyen un “curso paralelo” dentro del curso de Laboratorio de Química Orgánica que pueden ser útiles como lecturas adicionales en los cursos teóricos de esta asignatura.

Todas las experiencias presentadas en este libro han sido puestas en práctica y probadas varias veces, en los cursos de laboratorio que he dictado, lo cual ha permitido su optimización.

Es la intención del libro, presentar una estructura de flexibilidad potencial en su uso, al incluir varias experiencias prácticas alternativas para el aprendizaje de cada técnica de laboratorio; de esta manera, el profesor y sus estudiantes pueden seleccionar una de las prácticas presentadas, según sus intereses y posibilidades.