

# **INTRODUCCIÓN A LA BIOQUÍMICA**

## **Prácticas de laboratorio**

**Documento revisado, complementado y organizado por Angelina Hormaza  
Medellín, agosto de 2010**



**UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA**

**SEDE MEDELLÍN**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA**

0



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**  
**SEDE MEDELLÍN**  
**DEPTO. DE BIBLIOTECAS**  
**BIBLIOTECA "EFE" GÓMEZ**

© Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín  
© Angelina Hormaza  
Documento revisado, complementado y organizado.

Primera Edición: Medellín, julio de 2008  
Primera Reimpresión, julio de 2010

ISBN: 978-958-728-077-7

Diseño de Carátula: Gustavo A. Velásquez R

Impresión: Universidad Nacional de Colombia  
Sede Medellín  
Centro de Publicaciones  
Tel: (4)4309770 - (4)4309775  
e-mail: cenpubli\_med@unal.edu.co

572  
I57

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. Solubilidad	1
2. Prueba cualitativa general para elementos	8
3. Estructura molecular y estereoisomería	18
4. Hidrocarburos	24
5. Reacción de alcoholes y fenoles	36
6. Reacción de aldehídos y cetonas	48
7. Reacción de ácidos carboxílicos y sus derivados	58
8. Síntesis de aspirina	67
9. Propiedades de las proteínas	74
10. Titulación de aminoácidos	83
11. Carbohidratos	93
12. Vitaminas: Determinación del ácido ascórbico	107
13. Lípidos: Preparación de jabón	113
14. Obtención de urea	120
15. Síntesis de sulfanilamida	127



## INTRODUCCIÓN

Con el presente documento se pretende ofrecer una guía de prácticas de laboratorio que cubran y complementen la parte teórica del Curso Introducción a la Bioquímica.

La fundamentación teórica presentada para cada práctica posibilita al estudiante la comprensión del tema y su relación con las actividades de laboratorio propuestas, las cuales están orientadas a la verificación de dichos fundamentos teóricos. Por otro lado, el diseño de las prácticas con formatos de tablas y cuadros sinópticos para el registro de los resultados facilita al estudiante la generalización de un determinado concepto. Además, este diseño refuerza el interés y el espíritu activo del estudiante en el desarrollo de la práctica y facilita por tanto la labor del docente, permitiendo lograr finalmente un verdadero trabajo de equipo.

La cantidad de prácticas ofrecidas en el presente manual confiere la posibilidad de seleccionar semestralmente un número adecuado de ellas, aspecto que imprime flexibilidad e innovación a las actividades propias de esta materia.

Este manual está diseñado fundamentalmente para los estudiantes que cursan la materia Introducción a la Bioquímica, sin embargo algunas de sus prácticas podrían implementarse en laboratorios de materias afines.

Quiero agradecer a todos los profesores de la Escuela de Química que de una u otra forma han colaborado en la realización del presente manual, en especial al profesor **Jorge Alberto Correa** por sus valiosas y oportunas observaciones para la presente edición, al igual que al técnico de laboratorio **Carlos A. Guerrero** por la redacción y recopilación anterior de algunas prácticas.

También expreso sinceros agradecimientos a las estudiantes de Química **Carolina Rosero** y **Sandra Borja** por su valiosa colaboración en la digitación y por las acertadas observaciones para la edición final del presente manual.

**Angelina Hormaza A.**  
Profesora Escuela de Química

## SOLUBILIDAD

### 1. OBJETIVOS

- Establecer si un soluto es soluble ó insoluble en un determinado solvente mediante las pruebas generales de clasificación de solubilidad.
- Familiarizar al estudiante con las pruebas sistemáticas de solubilidad y así poder inferir aspectos preliminares sobre la estructura molecular de dicho compuesto.

### 2. MARCO TEÓRICO

Disolución: Si una sustancia (soluta) se disuelve, quedan las partículas de soluto rodeadas de moléculas de solvente y ello ocurre si son mayores las fuerza de atracción soluto-solvente, que las de atracción soluto-soluta y solvente-solvente. La energía requerida para romper las uniones entre las moléculas de solvente y entre las de soluto, se obtiene de la liberada por las atracciones soluto-solvente.

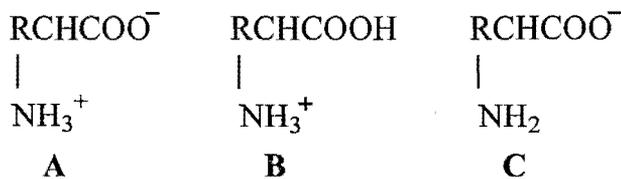
En las disoluciones, las atracciones soluto-solvente pueden ser: **Ión dipolo** (con solutos iónicos, como las sales inorgánicas), **dipolo-dipolo ó puentes de hidrógeno** (con compuestos orgánicos de naturaleza polar) y **fuerzas de Van der Waals** (con compuestos orgánicos de naturaleza no polar).

La transformación producida en una reacción química implica una variación en la solubilidad, así por ejemplo, un ácido insoluble en agua como el ácido benzoico ( $C_6H_5COOH$ ,  $Ar-COOH$ ), se disuelve ó incrementa su solubilidad en agua al reaccionar con una base fuerte (como el  $NaOH$ ) ó una base débil (como el  $NaHCO_3$ ), dado que se produce una sal, cuyos iones  $Ar-COO^-$  y  $Na^+$ , son más solubles en agua que la especie  $Ar-COOH$ .

También existen compuestos iónicos que por su alto peso molecular son insolubles en agua. El fenol ( $C_6H_5OH$ ) por ejemplo, tiene carácter ácido pero es muy débil y por ello no se disuelve en soluciones de bases débiles, para disolverse requiere reaccionar con una base fuerte y así formar el ión fenóxido ( $C_6H_5O^-$ ), el cual es soluble en agua.

Por su parte, una amina, que es una base orgánica, se disuelve o incrementa su solubilidad en agua al reaccionar con un ácido; un ejemplo es la fenilamina o anilina,  $C_6H_5-NH_2$ , que se disuelve en ácido clorhídrico ( $HCl$ ), con el cual forma el ión anilinio, ( $C_6H_5-NH_3^+$ ), nombre que tiene semejanza con el del ión amonio  $NH_4^+$ , formado a partir del amoniaco,  $NH_3$ .

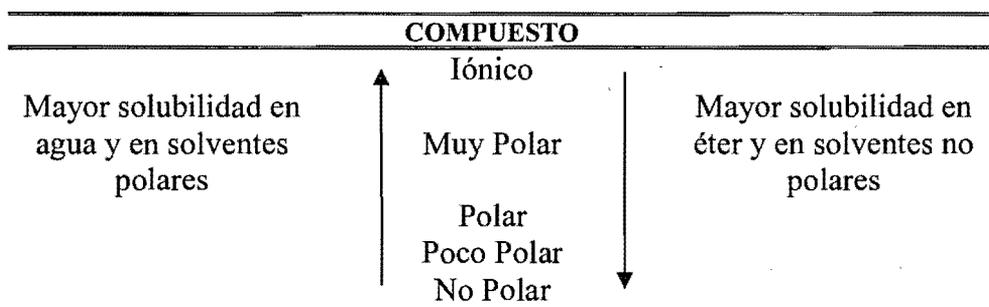
La estructura de los aminoácidos, con carga neta cero (Zwitterión) se ilustra en la figura 1A, de igual manera su forma ácida 1B y básica 1C. Estas últimas son más solubles en agua, que cuando el aminoácido se encuentra en forma de Zwitterión.



**Figura 1.** Estructura general de los aminoácidos. A Forma dipolar (Zwitterión).  
B Forma ácida. C Forma básica

El agua disuelve compuestos que contienen al menos 20% de oxígeno ó de nitrógeno, tales como alcoholes, aldehídos (entre ellos algunos carbohidratos), ácidos y aminas, todos ellos de peso molecular bajo, pues al aumentar la cadena hidrocarbonada (no polar), ésta va predominando sobre el grupo funcional polar. Así, los alcoholes de hasta tres carbonos son totalmente solubles en agua, en tanto que del butanol solo 7.9 gramos se disuelven en 100ml, pero ya el pentanol es insoluble.

En la medida en que un compuesto sea más polar y por ello más soluble en agua, será menos soluble en solventes menos polares como el cloroformo, benceno y éter, corroborando la ley general de solubilidad, es decir, lo semejante disuelve lo semejante (Esquema 1).

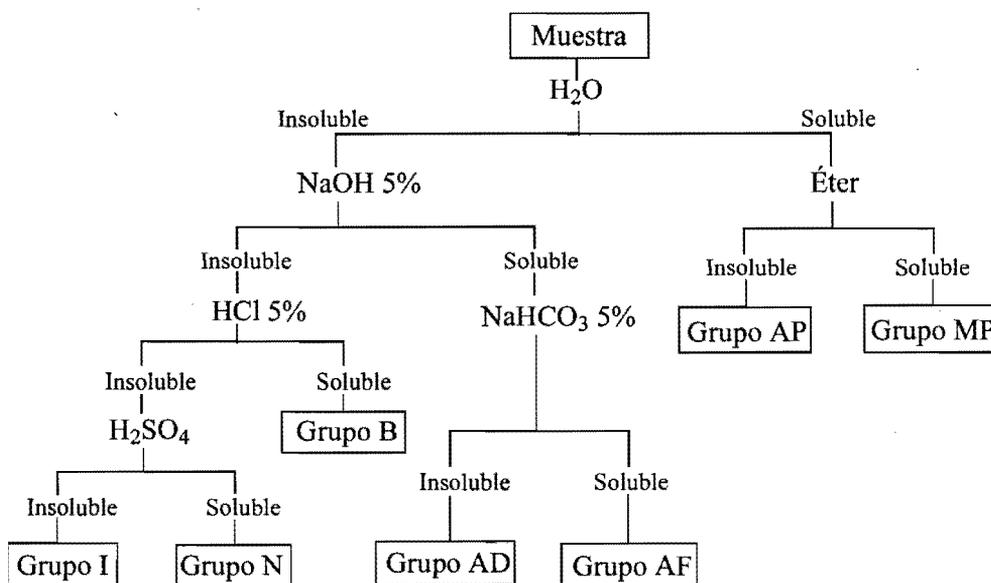


**Esquema 1.** Solubilidad de un compuesto según su carácter polar

El fenómeno de solubilidad no solamente depende de la semejanza en polaridad entre las moléculas de soluto y las de solvente, la **constante dieléctrica** ( $\xi$ ) del solvente juega también un papel importante. Así por ejemplo, el NaCl es bastante soluble en agua, 36 g se disuelven por cada 100ml de agua, mientras que en etanol la solubilidad decrece considerablemente. El momento dipolar del agua es ligeramente mayor que el del etanol, 1.85D frente a 1.70D y el NaCl tanto en agua como en etanol forma interacciones tipo ión-dipolo; la polaridad no explica la gran diferencia en solubilidad de NaCl en estos dos solventes. No obstante, si tenemos en cuenta la constante dieléctrica del agua que es 80 frente a la del etanol que solo es 24, vemos que el agua definitivamente puede solvatar mucho mejor los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  del NaCl.

### 3. PRUEBAS SISTEMÁTICAS DE SOLUBILIDAD

Estas pruebas consisten en una serie de ensayos de solubilidad realizados sobre una muestra orgánica desconocida con el propósito de ubicarla dentro de un grupo de sustancias afines en solubilidad. Es probable por ejemplo, que una sustancia desconocida pertenezca al grupo AF, ácido fuerte, ó al grupo B, bases orgánicas, ó al grupo MP, sustancias de mediana polaridad, etc. como se muestra en el siguiente diagrama:



**Esquema 2.** Clasificación de compuestos orgánicos de acuerdo a la solubilidad.

**Grupo MP :** Compuestos de mediana polaridad; pueden contener hasta 5 átomos de carbono: Alcoholes, aldehídos, ácidos, cetonas, aminas o éteres.

**Grupo AP:** Sustancias de alta polaridad: Aminoácidos, carbohidratos, glicoles, sales de aminas o de ácidos carboxílicos.

**Grupo AF:** Compuestos que son ácidos relativamente fuertes y de peso molecular grande: Ácidos carboxílicos, nitrofenoles.

**Grupo AD:** Sustancias que son ácidos débiles: Fenoles, tiofenoles, enoles, nitrocompuestos.

**Grupo B:** Compuestos que son bases: Aminas alifáticas primarias, secundarias o terciarias, aminas mixtas secundarias.

**Grupo N:** Sustancias neutras: Compuestos hasta de 9 átomos de carbono; cetonas, aldehídos, anhídridos, éteres, ésteres.

**Grupo I:** Compuestos inertes: Parafinas, halogenuros de alquilo, hidrocarburos aromáticos, feniléteres.

#### 4. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubos de ensayo  
Pipetas graduadas  
Espátula  
Goteros  
NaCl  
Acetamida  
Ácido benzoico

Formaldehído  
Glicerina  
1-propanol  
Agua  
Etanol  
Tolueno



## 6.2 CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A LA SOLUBILIDAD

MUESTRA	GRUPO
*	

### CONCLUSIÓN

---

---

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

R. Shriver, R. Fuson, D. Curtin, Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos, Ed. Limusa-Wiley, Mexico, 1972.

A. Meza, Química Orgánica Fundamental, 1994.

### PRUEBA CUALITATIVA GENERAL PARA ELEMENTOS

#### 1. OBJETIVOS

- Identificar por medio de pruebas específicas la presencia de ciertos elementos orgánicos (S, N, C, H y halógenos) aprovechando cambios en la coloración de las soluciones ó la formación de precipitados.
- Reconocer la importancia del método de la fusión sódica para la identificación de algunos elementos orgánicos.
- Representar las transformaciones que experimentan los compuestos en las diferentes pruebas a través de las correspondientes reacciones químicas.

#### 2. MARCO TEÓRICO

Una función importante de la química orgánica es la completa identificación y caracterización de la estructura de los nuevos compuestos orgánicos, ya sean estos aislados de su fuente natural ó producidos en el laboratorio. Ejemplos notables incluyen la determinación de la estructura de tintes y pigmentos de flores importantes, de medicinas valiosas, de sustancias antibióticas complejas y de muchas vitaminas y hormonas.

La caracterización de la estructura comienza con el aislamiento de la nueva sustancia en estado puro y pruebas cualitativas que revelan la presencia de elementos, como nitrógeno, azufre, halógenos, etc. Después, el análisis cuantitativo suministra la composición en peso de la sustancia, a partir de esto se determina una fórmula empírica. El peso molecular permite asignar la fórmula molecular definida, la cual expresa el número real de los átomos de cada elemento presentes en el compuesto.

La siguiente etapa en la determinación estructural involucra la identificación de grupos funcionales y de otras características estructurales presentes en la molécula, para lo cual se utilizan diferentes métodos químicos y físicos. En la parte química, principalmente reacciones cualitativas, así por ejemplo la prueba de Tollens para alquinos, la prueba de decoloración del Bromo para alquenos, la formación de hidrazonas para aldehídos y cetonas, entre otras.

En relación a los métodos físicos, cabe resaltar la utilización de técnicas tales como la espectroscopía de infrarrojo (IR), de Ultravioleta (UV) y de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) para la elucidación estructural. Estas técnicas se fundamentan en el registro de diferentes tipos de vibraciones a nivel molecular. Por último se combina la información parcial proveniente de los métodos físicos y químicos para proponer la estructura final. Generalmente la estructura asignada se confirma por medio de una síntesis independiente.

#### DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ELEMENTOS

**Carbono, hidrógeno y oxígeno.** Estos son los elementos que se presentan con mayor frecuencia en los compuestos orgánicos. La presencia de carbono e hidrógeno puede ser determinada cualitativamente calentando la sustancia en un tubo con óxido de cobre pulverizado seco, con lo cual se forma dióxido de carbono y agua. El carbono se detecta pasando los gases que se forman dentro de una solución acuosa de hidróxido de bario o calcio, en la cual el dióxido de carbono produce un

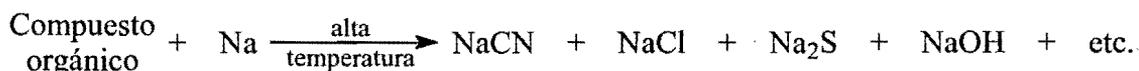
precipitado de carbonato. El hidrógeno se detecta por condensación de las gotas de agua en la parte superior del tubo de reacción que permanece fría.

No existe una prueba cualitativa satisfactoria para detectar oxígeno en compuestos orgánicos. Para determinar si está o no presente, es necesario recurrir al análisis cuantitativo. Si la suma de los porcentajes de todos los elementos constituyentes conocidos no es igual al 100%, el déficit se toma como el porcentaje de oxígeno.

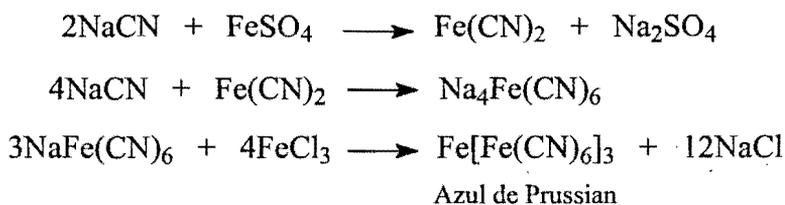
**Nitrógeno, halógenos y azufre.** La determinación cualitativa de estos elementos es más difícil en los compuestos orgánicos que en los inorgánicos debido a que muchos compuestos orgánicos no se encuentran apreciablemente ionizados en solución. Puesto que las pruebas usadas en el análisis cualitativo inorgánico están basadas en reacciones iónicas, éstas no pueden aplicarse directamente a los compuestos orgánicos. Así, el cloruro ó bromuro de sodio (NaCl ó NaBr) precipitan inmediatamente haluros de plata cuando se tratan con soluciones acuosas de nitrato de plata.

Para la determinación cualitativa es necesario por lo tanto, convertir tales elementos como nitrógeno, azufre y halógenos en sustancias inorgánicas ionizadas y así poder aplicar las pruebas convenientes. Esta conversión puede realizarse por varios métodos, de los cuales, el más general y conocido es la fusión con sodio metálico. Por este método se forman cianuro de sodio (NaCN), haluros de sodio (NaX), sulfuros de sodio (Na<sub>2</sub>S), etc., como se muestra a continuación. Los compuestos ionizados resultantes pueden entonces ser detectados aplicándoles las pruebas inorgánicas usuales.

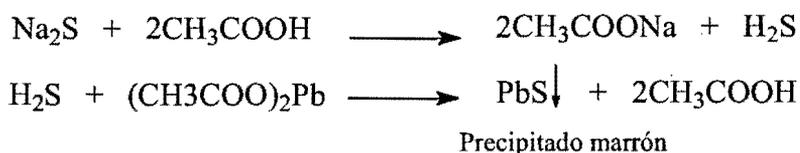
Compuesto orgánico que puede contener C, H, O, N, S y Cl



**Nitrógeno.** El filtrado alcalino se trata con sulfato ferroso y cloruro férrico acuoso, se calienta hasta ebullición por unos minutos y se acidifica con ácido clorhídrico. Si hay presencia de nitrógeno, se obtendrá un precipitado azul correspondiente al azul de Prussian:



**Azufre.** Una porción fresca del filtrado alcalino se acidifica con ácido acético y se trata con una solución acuosa de acetato de plomo, si hay presencia de azufre, se obtendrá un precipitado marrón oscuro del sulfuro resultante.



El azufre también puede detectarse usando una solución de nitroprusiato de sodio, la cual da una coloración violeta-rojiza intensa con soluciones que contienen azufre.



**Halógenos.** Una porción fresca del filtrado alcalino se acidifica con ácido nítrico y se calienta hasta ebullición por unos minutos a fin de expulsar el cianuro de hidrógeno (HCN) y el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Si en esta mezcla hay presencia de halógenos, el tratamiento con una solución de nitrato de plata formará el precipitado de haluro de plata correspondiente.



En lugar de la fusión sódica, puede emplearse otro método para identificar los halógenos, como lo es la prueba de Beilstein. En ésta se somete a calentamiento un compuesto halogenado, una llama verde brillante confirma la presencia del halógeno.

### IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES

Hasta hace unos años los únicos métodos disponibles para la identificación de grupos funcionales fueron las pruebas con reacciones químicas. Sin embargo en las últimas décadas se dispone de varios instrumentos espectroscópicos que identifican rápidamente muchos grupos funcionales y otras características estructurales. La química y los procedimientos instrumentales se complementan en gran aparte, así los métodos instrumentales son precisos pero probablemente no dan la identificación completa de una molécula desconocida, por lo tanto, las pruebas químicas siguen teniendo validez. En el área de la química orgánica se requiere la combinación de ambos métodos, dado los alcances y limitaciones de cada uno de ellos.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubo de ensayo con desprendimiento lateral	Compuesto orgánico (harina de pescado)
Manguera	Azúcar
Corchos	Óxido de cobre (CuO)
Gradilla con tubos de ensayo	Hidróxido de calcio o bario
Pinzas para tubos de ensayo	DDT
Mechero	Sodio metálico
Malla de asbesto	Sulfato ferroso 5%
Beakers	Ácido sulfúrico 20-25%
Gotero	cloruro férrico 5%
Embudo de cuello largo	Ácido acético
Papel filtro	Acetato de plomo 10%
Espátula de cobre	Nitroprusiato de sodio 5%
Varilla de vidrio	NaOH 10%
Pipetas graduadas	Ácido nítrico 10%
Aro metálico	Nitrato de plata 5-10%
Papel tornasol	

## 4. PROCEDIMIENTO

**RECOMENDACIÓN:** Para evitar una extensión o repetición de la prueba 4.1, el asistente encargado de la práctica deberá verificar que los estudiantes hayan realizado adecuadamente el montaje que aparece en la figura 1.

### 4.1. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CARBONO E HIDRÓGENO

Realice el montaje que aparece en la figura 1. En el tubo de ensayo A provisto con un tubo de desprendimiento, coloque 1-2g de óxido de cobre finamente pulverizado y seco y caliéntelo por algunos minutos en un mechero. Seguidamente adicione con mucho cuidado 0,1g de azúcar pulverizada y tape con un corcho.

Tome el tubo de ensayo B y agregue 5ml de una solución incolora de hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Caliente la mezcla de óxido de cobre y azúcar contenida en el tubo A y conecte el tubo de desprendimiento al tubo B de tal forma que los gases desarrollados pasen dentro de la solución de hidróxido de calcio. Al principio pasarán burbujas de aire a la solución contenida en el tubo B, no obstante después de un corto tiempo aparece el dióxido de carbono, lo cual se comprueba por el precipitado de carbonato de calcio que se forma en el interior del tubo. La presencia de hidrógeno se comprueba por la formación de pequeñas gotas de agua en las paredes frías de los ambos tubos. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

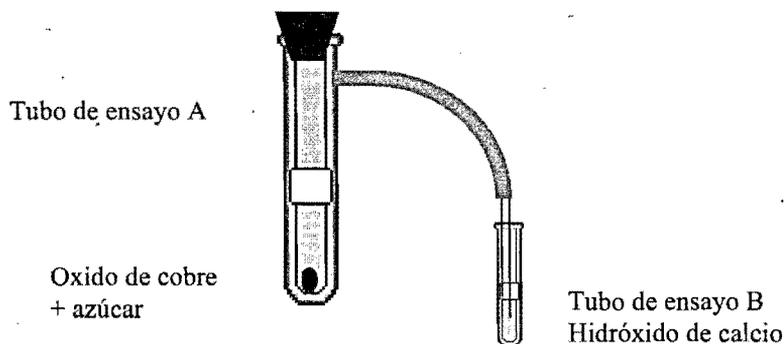
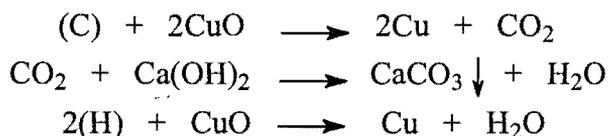


Figura 1. Montaje para la determinación de carbono e hidrógeno

### 4.2. DETERMINACIÓN DE HALÓGENOS

**Prueba de Beilstein.** En una espátula de cobre someta a calentamiento en una llama azul una pequeña cantidad de un compuesto orgánico halogenado (DDT). Una llama verde brillante debida a los haluros volátiles constituye una prueba positiva. Sin embargo, un compuesto no halogenado con trazas de nitrógeno también da resultados positivos para esta prueba. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

## Método de la fusión sódica

### PRECAUCIÓN:

- El sodio metálico se debe manipular con mucho cuidado. Nunca utilice grandes cantidades de sodio metálico y no lo toque con sus dedos – use pinzas o tenazas. No arroje los residuos pequeños de sodio en el agua o dentro del desagüe, colóquelos en una botella provista para ello.
- Lleve a cabo la fusión sódica con mucho cuidado, especialmente en la descomposición con agua del material fundido. Un exceso de sodio producirá en contacto con el agua una pequeña explosión. Para este experimento se deben utilizar gafas de protección todo el tiempo.

Coloque aproximadamente 0.1g de compuesto orgánico (harina de pescado) y un trozo de sodio metálico del tamaño de una arveja en un tubo de ensayo, tome el tubo con una pinza y caliente la mezcla de 20 a 25 minutos hasta el rojo vivo, asegurándose que la descomposición de la mezcla esté completa. Retire el tubo de la llama y deje que se enfríe, añada cuidadosamente 15ml de agua destilada y triture el residuo contenido en el tubo con una varilla de vidrio, traspase este contenido en un beaker agitando constantemente por unos pocos minutos, caliente hasta ebullición y filtre. La solución obtenida será empleada para realizar las siguientes pruebas.

### 4.3. DETERMINACIÓN DE AZUFRE

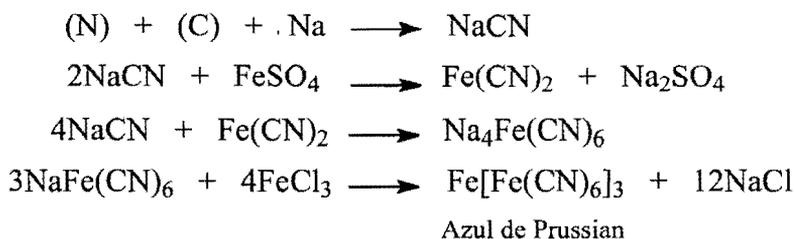
Tome 2 porciones de 3ml de la solución obtenida en la fusión sódica, acidifique una porción con ácido acético (verifique con papel tornasol), caliente hasta ebullición y añada 1-2 gotas de solución de acetato de plomo 10%, un precipitado negro correspondiente al sulfuro de plomo confirma la presencia de azufre.

A la segunda porción añada 1-2 gotas de solución de nitroprusiato de sodio, en este caso un color violeta indica la presencia de azufre. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

### 4.4. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO

Tome 3ml de la solución obtenida en la fusión sódica, agregue 5 gotas de una solución fresca de sulfato ferroso y 1-2 ml de hidróxido de sodio 10% para alcalinizar la solución (verifique con papel tornasol). Caliente suavemente hasta ebullición y filtre el precipitado correspondiente al sulfuro de hierro. Posteriormente acidifique la solución agregando gota a gota ácido sulfúrico diluido (20-25%) y añada 2 gotas de cloruro férrico. Un precipitado azul correspondiente al azul de prussian indica la presencia de nitrógeno. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

**NOTA:** Tener cuidado de no añadir demasiado ácido. Algunas veces solo se obtiene una solución de color azul. En este caso deje reposar la solución por unos minutos y después filtre, rastros del precipitado correspondiente al azul del prussian aparecerán en la superficie del papel filtro.



## 4.5. DETERMINACIÓN DE HALÓGENOS

Tome 3ml de la solución obtenida en la fusión sódica y acidifique con ácido nítrico diluido 10%. Si hay presencia de azufre y nitrógeno (como lo muestran las pruebas 4.3 y 4.4) caliente la solución suavemente hasta ebullición durante 5 ó 10 minutos para remover el ácido cianhídrico (HCN) ó ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) que podrían haberse formado. Posteriormente añada aproximadamente 5ml de nitrato de plata (5-10%) y continúe calentando suavemente hasta ebullición por unos minutos. Un precipitado pesado indica la presencia de halógeno, si solo aparece una leve turbiedad en la solución, es probable que se deba a la presencia de impurezas en los reactivos. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CARBONO E HIDRÓGENO

Muestra orgánica analizada: \_\_\_\_\_

ELEMENTO	PRESENCIA	AUSENCIA	OBSERVACIONES
Carbono			
Hidrógeno			

### 5.2 PRUEBA DE BEILSTEIN

Muestra orgánica analizada: \_\_\_\_\_

ELEMENTO	PRESENCIA	AUSENCIA	OBSERVACIONES
Halógenos			

### 5.3 MÉTODO DE LA FUSIÓN SÓDICA

Muestra orgánica analizada: \_\_\_\_\_

ELEMENTO	PRESENCIA	AUSENCIA	OBSERVACIONES
Azufre			
Nitrógeno			
Halógenos			

## 5.4 CONCLUSIONES

---

---

---

---

## 5.5 PREGUNTAS

- 5.5.1 Por qué la mayoría de los compuestos orgánicos halogenados, antes de calentarse con el sodio metálico, no dan ningún precipitado con la solución de nitrato de plata?
- 5.5.2 Cómo se determina el oxígeno en un compuesto orgánico?

## BIBLIOGRAFÍA

- A. Leigh, R. Elderfield, P. Smith, W. Bachmann., A Manual for the Organic Chemistry Laboratory. Ed. John Wiley & Sons, INC, New York, 1960.
- R. Adams, J. Johnson, Ch. Wilcox, Laboratory Experiments in Organic Chemistry, Ed. The Macmillan company, New York, 1965.

## ESTRUCTURA MOLECULAR Y ESTEREOISOMERÍA

## 1. OBJETIVOS

- Construir con modelos moleculares los diferentes tipos de estereoisómeros.
- Comprobar la diferencia entre estereoisomería conformacional y configuracional.
- Familiarizar al estudiante con el uso de las proyecciones que se usan en estereoquímica, lo cual le permitirá visualizar la ubicación real de los átomos entorno a un enlace sigma ( $\delta$ ) C-C, ó alrededor de un centro quiral.

## 2. MARCO TEÓRICO

Los estereoisómeros son compuestos que tienen la misma fórmula estructural, igual disposición de enlaces pero que difieren en la orientación de algunos de sus átomos o grupos atómicos. La disposición de los átomos en los estereoisómeros desempeña un papel crucial en los mecanismos de reacción. En la figura 1 encontramos algunos ejemplos de estereoisómeros.

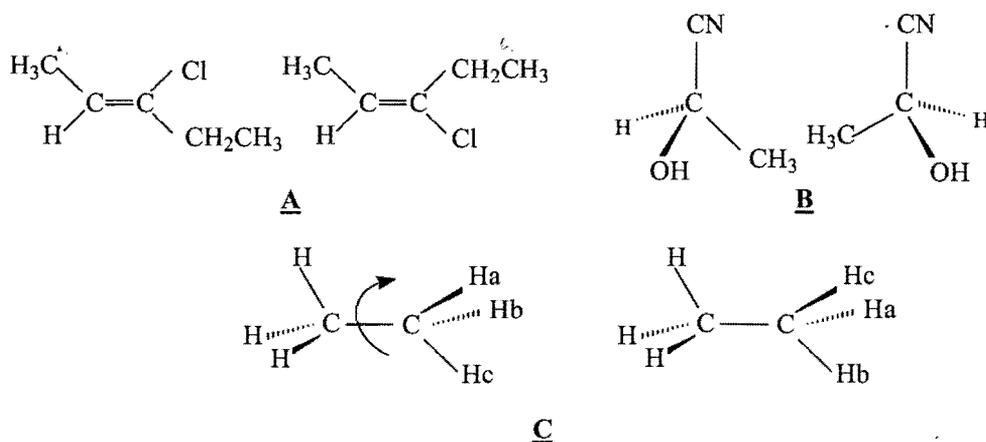


Figura 1. Ejemplos de estereoisómeros. **A** Isómeros geométricos del Z - 3 - cloro - 2 - penteno y E - 3 - cloro - 2 - penteno. **B** Isómeros ópticos del R(+)-2 - hidroxipropanitrilo y S(-)-2 - hidroxipropanitrilo. **C** Confórmeros.

Los estereoisómeros pueden ser compuestos diferentes, por ejemplo las moléculas de las parejas **A** y **B** (en la figura 1) no se pueden interconvertir entre sí a temperatura ambiente. Así mismo, los estereoisómeros pueden ser moléculas idénticas que solo difieren en que sus átomos o grupos se encuentran eclipsados ó alternados y que por tanto pueden interconvertirse entre sí. En el primer caso, los que no se interconvierten, constituyen un tipo de estereoisómeros llamados **configuracionales**, mientras que los segundos convertibles hacen parte de los estereoisómeros **conformacionales**.

## Estereoisómeros Conformacionales ó confórmeros

Estos resultan de la rotación del enlace sigma ( $\delta$ ) en torno al enlace sencillo C-C, pues la energía requerida para esta rotación es superada ampliamente por la temperatura ambiente. Como consecuencia de las n- posibles rotaciones en torno al enlace sigma ( $\delta$ ) C-C, el número de confórmeros es infinito, sin embargo se pueden visualizar dos conformaciones extremas: La eclipsada (**2B**) y la alternada (**2A**). Por ejemplo, una muestra de etano a temperatura ambiente existirá en ambas conformaciones, pero preferiblemente estará en la conformación alternada.

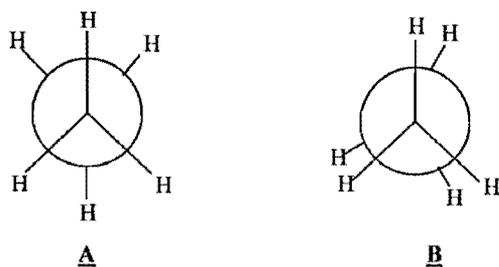


Figura 2. Conformaciones del etano. **A** Alternada. **B** Eclipsada

Estos conformeros se representan en la figura 2 por medio de las proyecciones de Newman. En la conformación alternada los átomos se encuentran los más alejado posible, así, el efecto de repulsión entre ellos es mínimo y explica porqué ésta conformación es mucho más estable que la eclipsada.

Los compuestos cíclicos también pueden presentar estereoisomería conformacional, que en estos casos, no se debe a la rotación libre sobre el enlace C-C, si no a la tensión angular. Esta tensión conduce a que ciertos átomos de la estructura cíclica no se ubiquen en el plano medio de la molécula, si no que están por encima o por debajo de dicho plano. En el laboratorio usted construirá el modelo molecular del ciclohexano y comprobará que hay al menos dos conformaciones posibles para esta molécula, conocidas con el nombre de conformaciones de silla (**3A**) y bote (**3B**).

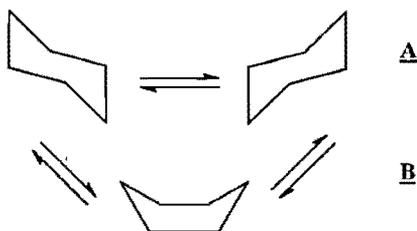


Figura 3. Conformaciones del ciclohexano. **A** Silla. **B** Bote.

### Estereoisómeros configuracionales

Entre ellos se encuentran los isómeros geométricos y los ópticos. Los *estereoisómeros geométricos* pueden ser *cis* (Z) y *trans* (E), según los principales grupos sustituyentes se ubiquen del mismo lado o en lados opuestos del plano principal. Los *isómeros ópticos* corresponden a compuestos que tienen al menos un centro quiral (ver Figura 4), así cuando la imagen especular no se puede superponer a la configuración del compuesto se denominan *enantiómeros*. Cuando hay dos ó más centros quirales y la imagen especular no puede superponerse a la configuración del compuesto, los isómeros se denominan *diastereoisómeros*.

La configuración de un centro quiral se ha designado clásicamente con los prefijos D ó L, según el grupo principal se encuentre a la derecha ó a la izquierda respectivamente, sin embargo para evitar ambigüedades se recomienda el uso de la configuración absoluta R ó S.

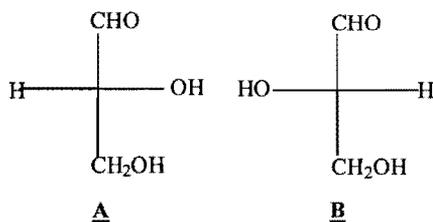


Figura 4. Isómeros ópticos del gliceraldehído (enantiómeros). **A** D(+) Gliceraldehído. **B** L(-) Gliceraldehído.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 ESTEREOISOMERÍA CONFORMACIONAL

Construya las moléculas listadas en la tabla de resultados y complete las casillas correspondientes.

#### 3.2 ESTEREOISOMERÍA CONFIGURACIONAL

Construya las moléculas listadas en la tabla de resultados y complete las casillas correspondientes.

### RESULTADOS

#### ESTEREOISOMERÍA CONFORMACIONAL

COMPUESTO	PROYECCIÓN DE NEWMAN DEL CONFÓRMERO MÁS ESTABLE	PROYECCIÓN DE NEWMAN DEL CONFÓRMERO MÁS ESTABLE	¿POR QUÉ ES LA MÁS ESTABLE?
BUTANO			
1,2-ETANODIOL			
ETANO			
CICLOHEXANO			
METILCICLOHEXANO			

## ESTEREOISOMERÍA CONFIGURACIONAL

COMPUESTO	PROYECCIÓN DE FISCHER	CONFIGURACIÓN RELATIVA Y ABSOLUTA	NÚMERO DE PLANOS DE SIMETRÍA
ÁCIDO 2-HIDROXIPROPANOICO			
D(-) 3CLORO 2-HIDROXIPROPANONITRILO			
2-BROMO 2-CLOROPROPANAL			
MESO 1,4 DICLORO -2,3 DIHIDROXIBUTANO			
ÁCIDO (2R,3S) (-) 2,3 DICLOROBUTANOICO			

### BIBLIOGRAFÍA

A. Pine, Hendrickson, Crom y Hammond , Química Orgánica, Ed. McGrawHill, segunda edición, pp.94-138.

A. Meza, Química Orgánica, capítulo 4, pp. 157-224

## HIDROCARBUROS

### 1. OBJETIVOS

- Efectuar algunas reacciones características de los hidrocarburos alifáticos.
- Comparar el comportamiento químico de alcanos, alquenos y alquinos.

### 2. MARCO TEÓRICO

#### CLASIFICACIÓN

Los hidrocarburos son compuestos constituidos exclusivamente por carbono e hidrógeno y se dividen principalmente en dos tipos, *hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos*. Esta clasificación data del siglo XIX, cuando la química orgánica estaba casi exclusivamente dedicada al estudio de materiales procedentes de fuentes naturales y por ello se acuñaron términos que reflejaban la procedencia de las sustancias. Dos de estas fuentes eran las grasas y los aceites, para estas sustancias se utilizó el término alifático, que se deriva de la palabra griega *aleiphar* (grasa).<sup>11</sup> Los hidrocarburos aromáticos se obtenían normalmente por tratamiento químico de extractos procedentes de plantas aromáticas y se caracterizaban por su olor.

Los hidrocarburos alifáticos se clasifican en tres grupos: Alcanos, alquenos y alquinos. Los *alcanos* son hidrocarburos que presentan únicamente enlaces simples, por lo que se les conoce también como compuestos saturados, es decir que contienen el número máximo de átomos de hidrógeno que puede poseer el átomo de carbono. Los *alquenos* presentan uno o más enlaces dobles en sus moléculas y los *alquinos* poseen enlaces triples. Los *hidrocarburos aromáticos*, son cíclicos y presentan enlaces dobles que les imparte un comportamiento químico particular. Los compuestos con enlaces múltiples (alquenos, alquinos e hidrocarburos aromáticos) se denominan compuestos insaturados, debido a que tienen un número de átomos de hidrógeno inferior al máximo y son capaces de reaccionar con hidrógeno bajo condiciones apropiadas.

#### 2.2 OBTENCIÓN

En la actualidad, el petróleo es la principal fuente mundial de gasolina y de algunos productos químicos orgánicos. El petróleo bruto, llamado crudo, es una mezcla compleja de compuestos alifáticos y aromáticos que además contiene derivados de azufre y nitrógeno; debido a su complejidad es necesario la separación de sus componentes mediante procesos de refinación que incluyen la destilación fraccionada, el cracking y la regeneración, métodos que permiten obtener una gran variedad de hidrocarburos de peso molecular menor, saturados e insaturados.

Tabla 1. Obtención de hidrocarburos alifáticos

HIDROCARBUROS	PROCESO SINTÉTICO
<b>Alcanos</b> $\begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \end{array}$	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} \xrightarrow{H_2 + Pt, Pd, \text{ ó } Ni} \begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \end{array}$ <p>Hidrogenación de alquenos</p>
	$R-MgX \xrightarrow{H_2O} R-H + MgXOH$ <p>Hidrólisis de reactivos de Grignard</p>
<b>Alquenos</b> $-C=C-$	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ X \quad X \end{array} + Zn \longrightarrow \begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} + ZnX_2$ <p>Deshalogenación de dihalogenuros vecinales</p>
	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ H \quad OH \end{array} \xrightarrow{\text{ácido}} \begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} + H_2O$ <p>Deshidratación de alcoholes</p>
	$R-C \equiv C-R \longrightarrow \begin{array}{c} R \quad R \\   \quad   \\ C=C \\   \quad   \\ H \quad H \end{array} \text{ ó } \begin{array}{c} R \quad H \\   \quad   \\ C=C \\   \quad   \\ H \quad R \end{array}$ <p><i>cis</i>                      <i>trans</i></p> <p>Reducción de alquinos</p>
	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ H \quad X \end{array} + KOH \longrightarrow \begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} + KX + H_2O$ <p>Deshidrohalogenación de halogenuros de alquilo</p>
<b>Alquinos</b> $-C \equiv C-$	$\begin{array}{c} W \quad X \\   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ Y \quad Z \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} X \\   \\ -C=C- \\   \\ Y \end{array} \longrightarrow -C \equiv C-$ <p>Un triple enlace carbono - carbono se genera del mismo modo que uno doble, por eliminación de átomos o grupos en dos carbonos adyacentes. Los grupos que se eliminan y los reactivos que se emplean son esencialmente los mismos que en la preparación de los alquenos.</p>

Otra fuente natural muy importante para la obtención de hidrocarburos (en especial aromáticos) es el carbón. Cuando el carbón se somete a pirólisis en ausencia de aire se originan tres tipos de productos: gas, alquitrán de hulla y coque. Por destilación del alquitrán se obtienen varios compuestos aromáticos, como son el benceno, naftaleno, fenol, cresoles y xilenos.

En la tabla 1 se ilustra los métodos más comunes en la obtención de hidrocarburos alifáticos. No obstante, en ciertos casos se emplean procesos sintéticos a nivel de laboratorio que permiten obtener productos específicos.

## 2.3 REACCIONES

Los alcanos están constituidos exclusivamente de enlaces  $\sigma$  entre los átomos de carbono e hidrógeno, ello sumado a la ausencia de heteroátomos (O, N, S) explica su notable inercia química que da origen al calificativo de **parafinas** (poca afinidad o reactividad). En efecto, estos compuestos sólo responden bajo condiciones drásticas, presentando **reacciones de sustitución** (Tabla 2).

Tabla 2. Reacción general en hidrocarburos alifáticos

Hidrocarburo	Reacción
Alcano	$\begin{array}{c}   \\ \text{---C---H} \\ / \end{array} + Z \longrightarrow \begin{array}{c}   \\ \text{---C---Z} \\ / \end{array} + H$ <p>Reacción de sustitución</p>
Alqueno	$\text{---C=C---} + YZ \longrightarrow \begin{array}{cc}   &   \\ \text{---C} & \text{---C---} \\   &   \\ Y & Z \end{array}$ <p>Reacción de adición</p>
Alquino	$\text{---C}\equiv\text{C---} + YZ \longrightarrow \begin{array}{cc}   &   \\ \text{---C} & \text{---C---} \\   &   \\ Y & Z \end{array} \xrightarrow{YZ} \begin{array}{cc} Y & Z \\   &   \\ \text{---C} & \text{---C---} \\   &   \\ Y & Z \end{array}$ <p>Reacción de adición</p>

En oposición a los alcanos, la presencia del enlace  $\pi$  en alquenos y alquinos hace que estos hidrocarburos sean un poco más reactivos que los alcanos, dando lugar principalmente a **reacciones de adición** (Tabla 2).

Tabla 3. Reacciones comunes en Hidrocarburos alifáticos

Hidrocarburo	Reacción
Alcano	$\begin{array}{c}   \\ \text{---C---H} \\   \end{array} + X_2 \longrightarrow \begin{array}{c}   \\ \text{---C---X} \\   \end{array} + HX$ <p>Halogenación</p>
	$C_nH_{2n+2} + \text{exceso } O_2 \xrightarrow{\text{llama}} n CO_2 + (n+1) H_2O + \Delta$ <p>Combustión</p>
Alqueno	$3R\text{---CH=CH---R} + 2KMnO_4 + 4H_2O \longrightarrow 3 \begin{array}{cc} OH & OH \\   &   \\ R\text{---CH} & \text{---CH---R} \end{array} + 2MnO_2 \downarrow + 2KOH$ <p>Color Violeta <span style="margin-left: 150px;">Glicol</span> <span style="margin-left: 100px;">Color Pardo</span></p> <p>Oxidación</p>
	$\text{---C=C---} + X_2 \longrightarrow \begin{array}{cc}   &   \\ \text{---C} & \text{---C---} \\   &   \\ X & X \end{array}$ <p>Adición de Halógenos (X = Br<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>)</p>

	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} + HX \longrightarrow \begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ H \quad X \end{array}$ <p style="text-align: center;">Adición de halogenuros de hidrógeno (HX = HBr, HCl, HI)</p>
	$\begin{array}{c}   \quad   \\ -C=C- \\   \quad   \end{array} \xrightarrow{H_2 + Pt, Pd, \text{ ó } Ni} \begin{array}{c}   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ H \quad H \end{array}$ <p style="text-align: center;">Adición de hidrógeno</p>
Alquino	<p>La adición de hidrógeno, halógenos y halogenuros de hidrógeno en los alquinos es muy similar a la adición en los alquenos, salvo que en este caso pueden consumirse dos moléculas de reactivo por cada triple enlace como se muestra a continuación.</p> $\begin{array}{c} -C \equiv C- \\   \quad   \end{array} + X_2 \longrightarrow \begin{array}{c} -C=C- \\   \quad   \\ X \quad X \end{array} + X_2 \longrightarrow \begin{array}{c} X \quad X \\   \quad   \\ -C-C- \\   \quad   \\ X \quad X \end{array}$

En los alcanos, la principal reacción de sustitución es la halogenación. Ellos también presentan reacciones de combustión y pirólisis (Tabla 3). En la combustión se obtiene dióxido de carbono, agua y calor, de ahí su importancia práctica. La pirólisis permite por acción del calor que los alcanos pesados se conviertan a alquenos, alcanos livianos y algo de hidrógeno.

Debido a las diferentes reacciones que experimentan los alquenos y alquinos, estos pueden ser identificados mediante varias pruebas, entre ellas, la oxidación con soluciones frías y diluidas de permanganato de potasio. Esta reacción es la base para la denominada prueba de *insaturación de Baeyer*, cuyo resultado positivo se observa por el cambio de coloración, de violeta en la solución de permanganato a pardo del precipitado de dióxido de manganeso formado (MnO<sub>2</sub>). Los glicoles producidos son incoloros y solubles en agua. (Ver reacciones de la Tabla 3).

De igual forma, otros compuestos que contienen grupos fácilmente oxidables, tales como aldehídos, algunos fenoles, aminas, entre otros, dan positiva la prueba de Baeyer.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubos de ensayo  
 Pipetas graduadas  
 Espátula  
 Balón de fondo redondo  
 Termómetro  
 Erlenmeyer  
 Piedras de ebullición  
 Hexano

Bromo en CCl<sub>4</sub> 5%  
 Permanganato de potasio 1%  
 Hidróxido de sodio 10%  
 Alcohol etílico 95%  
 Ácido sulfúrico concentrado  
 Reactivo de Baeyer  
 Carburo de calcio  
 Nitrato de plata 2%

## 4. PROCEDIMIENTO

### 4.1 REACCIONES DE ALCANOS

#### 4.1.1 HALOGENACIÓN

Tome dos tubos de ensayo completamente limpios y secos. En cada uno de ellos coloque 1 ml de hexano y agregue 0.5ml (más o menos 10 gotas) de una solución de bromo en tetracloruro de carbono al 5%. Agite bien los tubos y coloque uno de ellos en un lugar oscuro, deje el otro expuesto a la luz solar. Observe y compare los resultados obtenidos después de 10 minutos y escriba la reacción química correspondiente. Registre estos datos en la tabla de respuestas.

#### 4.1.2 PRUEBA DE INSATURACIÓN DE BAEYER

En un tubo de ensayo tome 1ml de una solución al 1% de permanganato de potasio (Reactivo de Baeyer) y agregue 0.5ml de hexano. Agite y observe. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

### 4.2 REACCIÓN DE LOS ALQUENOS

#### 4.2.1 PREPARACIÓN DEL ETILENO

El comportamiento químico de los alquenos será estudiado con base en el etileno, que se prepara en el laboratorio de la forma siguiente:

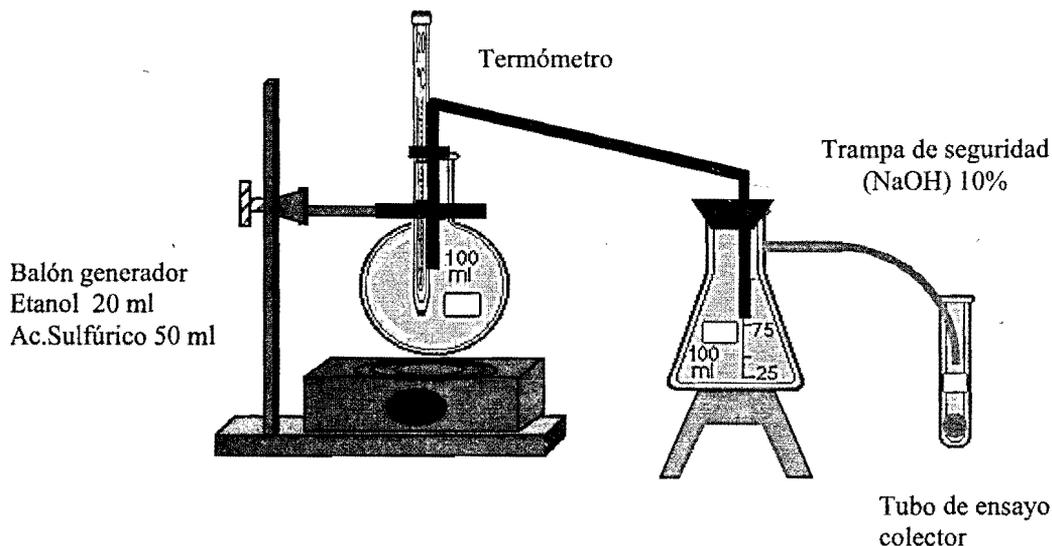


Figura 1. Montaje para la producción de etileno en el laboratorio

Coloque un balón de fondo redondo de 500ml sobre una malla de asbesto y sobre él un tapón con dos orificios: uno para un tubo de salida y el otro para un termómetro, cuyo bulbo debe quedar 1cm por encima del fondo del balón. Conecte el tubo de salida a un erlenmeyer de 250ml, que sirve como frasco, trampa de seguridad. Por último, la salida lateral (o una salida a través del tapón) de dicho erlenmeyer se extiende por medio de una manguera en cuyo extremo se inserta un pequeño tubo de vidrio.

Llene el frasco o trampa de seguridad hasta más o menos un tercio de su capacidad con solución de NaOH al 10%, con el fin de remover las impurezas ácidas que se desprenden con el etileno.

Coloque ahora en el balón 20ml de alcohol etílico al 95% y agregue lentamente y con agitación 50ml de ácido sulfúrico concentrado y luego piedras de ebullición. Tape el balón y asegure todas las conexiones, de tal modo que no se presenten escapes. Caliente a 150°C y controle la temperatura para mantenerla entre 155°C y 165°C, de tal forma que se obtenga un suministro suave y uniforme del etileno.

#### 4.2.2 REACCIÓN DE HALOGENACIÓN Y PRUEBA DE BAEYER

Haga burbujear el etileno en un tubo de ensayo que contenga 1ml de solución de bromo en tetracloruro de carbono. Observe y anote los resultados en la tabla de respuestas.

Después haga burbujear el etileno en un tubo de ensayo que contenga 1ml de reactivo de Baeyer. Observe los cambios que ocurren y compárelos con los obtenidos en los alcanos. Escriba la reacción química correspondiente en la tabla de resultados.

### 4.3 REACCIONES DE LOS ALQUINOS

#### 4.3.1 PREPARACIÓN DEL ACETILENO

Como compuesto representativo de este grupo de hidrocarburos trabajaremos con el etino o acetileno, que también se preparará en el laboratorio.

El acetileno se obtiene fácilmente en el laboratorio por hidrólisis del carburo de calcio, según la ecuación:



Tome un tubo de ensayo con desprendimiento lateral y adáptele una manguera terminada en un tubo de vidrio. Coloque unos tres o cuatro trozos de carburo de calcio. Para obtener el acetileno basta agregar agua.

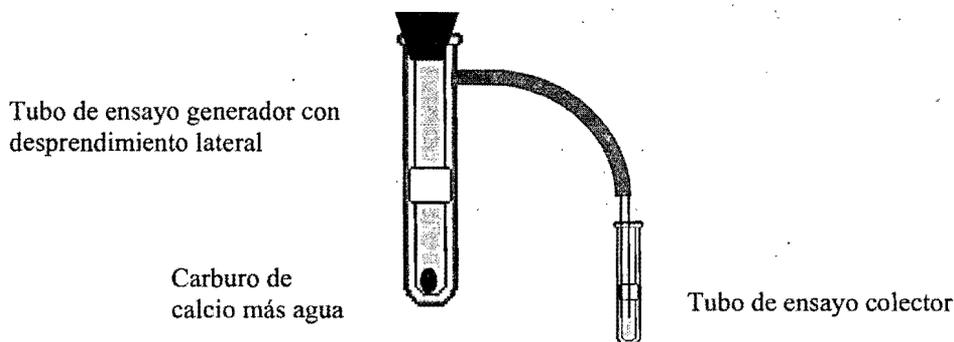


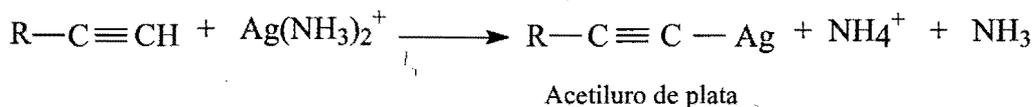
Figura 2. Montaje para la producción de acetileno a partir de carburo de calcio

#### 4.3.2 HALOGENACIÓN, PRUEBA DE BAEYER Y FORMACIÓN DE ACETILUROS

Prepare dos tubos de ensayo, uno con 1ml de solución de bromo en tetracloruro de carbono y el otro con 1ml de reactivo de Baeyer. Prepare un tercer tubo con 1ml de Nitrato de Plata,  $\text{AgNO}_3$ , al 2% y adicione gotas de  $\text{NaOH}$  (20%), con lo cual se observa la formación de un precipitado café, a continuación agregue gotas de hidróxido de amonio concentrado hasta lograr la desaparición del precipitado. Introduzca el tubo de desprendimiento del generador de acetileno en la solución de bromo y observe los cambios producidos. Agregue entonces 3ml de agua al generador que contiene

las piedras de carburo de calcio y tápelo inmediatamente. Coloque ahora el tubo de desprendimiento en la solución de permanganato de potasio y observe.

Por último, haga burbujear el acetileno en la solución amoniacal de nitrato de plata y observe. Esta reacción sirve para probar la acidez del hidrógeno de alquinos terminales, es decir aquellos compuestos que poseen el triple enlace en el extremo. El hidrógeno ácido puede ser reemplazado por ciertos metales, para formar sales conocidas como acetiluros, que son altamente explosivos. En el caso del nitrato de plata, la reacción forma un complejo amoniacal, que es el que reacciona con el alquino, tal como lo ilustra la siguiente ecuación:



Además, la prueba de formación de acetiluros se emplea **para diferenciar alquenos de alquinos terminales**, ya que tanto la bromación (halogenación) como la prueba de Baeyer son positivas para estas dos clases de hidrocarburos insaturados.

Anote sus observaciones en la tabla de resultados y compare el comportamiento de alcanos, alquenos y alquinos en las diversas pruebas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 REACCIÓN DE ALCANOS

#### 5.1.1 HALOGENACIÓN

Compuesto Hexano	Tubo sin exposición a la luz solar	Tubo expuesto a la luz solar
<b>OBSERVACIONES</b>		
<b>REACCIÓN</b>		

**CONCLUSIONES:**

---



---



---

### 5.1.2 PRUEBA DE INSTAURACIÓN DE BAEYER

COMPUESTO	PRUEBA DE BAEYER		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
Hexano				

CONCLUSIONES:

---

---

---

### 5.2 REACCIÓN DE ALQUENOS

#### 5.2.1 REACCIÓN DE HALOGENACIÓN

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Etileno		

CONCLUSIONES:

---

---

---

#### 5.2.2 PRUEBA DE BAEYER

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Etileno		

**CONCLUSIONES:**

**5.3 REACCIONES DE LOS ALQUINOS**

**5.3.1 HALOGENACIÓN**

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Acetileno		

**CONCLUSIONES:**

**5.3.2 PRUEBA DE BAEYER**

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Acetileno		

**CONCLUSIONES:**

**5.3.3 FORMACIÓN DE ACETILUROS**

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Acetileno		

## CONCLUSIONES:

---

---

---

## BIBLIOGRAFÍA

- G. Solomons, Química Orgánica, Ed. Limusa Wiley., segunda edición, México, 1999.  
R. Fessenden, and J. Fessenden, Química Orgánica, Ed. Iberoamericana, México, 1983.  
F. Carey, Química Orgánica, Ed. Mc Graw Hill, tercera edición, Madrid, 1999.  
R. Morrison, and R Boyd, Química Orgánica, Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1998.

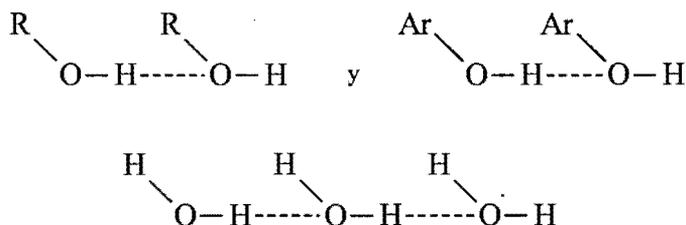
1. OBJETIVOS

- Reconocer el grupo funcional hidroxilo presente en los alcoholes y fenoles por medio de diferentes pruebas.
- Comparar la solubilidad de los diferentes tipos de alcoholes.
- Diferenciar los tres tipos de alcoholes (primarios, secundarios y terciarios) por medio de la prueba de Lucas.
- Comprobar que la oxidación es una de las principales reacciones de los alcoholes.

2. MARCO TEÓRICO

Los alcoholes y fenoles son análogos orgánicos del agua, H-OH, en el cual un hidrógeno es remplazado, ya sea por un grupo alifático (R-OH) ó un grupo aromático (Ar-OH) respectivamente.

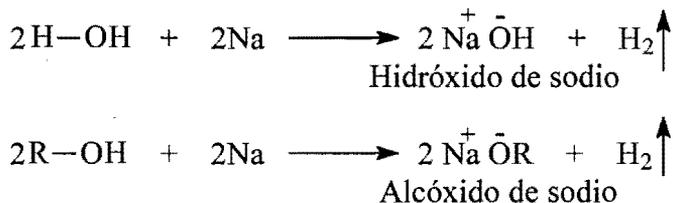
Solubilidad en agua



En forma análoga al agua, los alcoholes y fenoles forman fuertes puentes de hidrógeno intermoleculares, por ello los alcoholes de bajo peso molecular son miscibles con el agua, puesto que sus moléculas se mantienen unidas por el mismo tipo de fuerzas intermoleculares que las del agua: Puentes de hidrógeno. A medida que aumenta el peso molecular del alcohol, es decir, aumenta el grupo lipófilo, disminuye su solubilidad en agua.

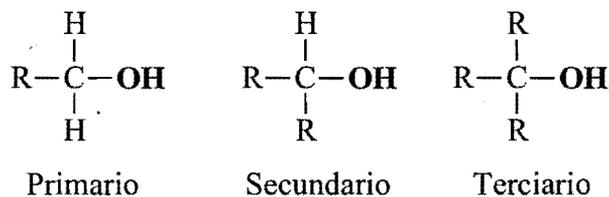
Reacción con sodio

Los alcoholes y fenoles son ácidos de fuerza similar al agua, esta propiedad se demuestra por su reacción con metales activos (como Na ó K) para liberar hidrógeno gaseoso y formar alcóxidos, los cuales representan bases fuertes.

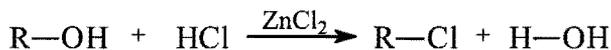


Clasificación de alcoholes

Los alcoholes se clasifican en primarios, secundarios y terciarios, dependiendo del tipo de carbono que porte el grupo hidroxilo (-OH). Su diferente naturaleza se comprueba al tratarlos con un reactivo particular, ellos usualmente difieren en la velocidad de reacción en el orden terciarios > secundarios > primarios.



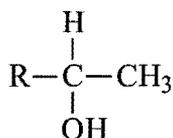
Una reacción que distingue las tres clases y que puede ser utilizada para determinar la estructura de un alcohol desconocido es la **prueba de Lucas**, con ella se observa la diferencia de velocidad con la cual los alcoholes se convierten en cloruros de alquilo (R-Cl).



Los alcoholes (de hasta cinco carbonos) son solubles en el reactivo de Lucas, sin embargo, los cloruros de alquilo generados de los correspondientes alcoholes son insolubles. La formación de un cloruro a partir de un alcohol, se manifiesta por la turbiedad que aparece cuando se separa el cloruro de la solución, en consecuencia, el tiempo que transcurre hasta la aparición de la turbiedad es una medida de la reactividad del alcohol. Un alcohol terciario reacciona de inmediato con el reactivo de Lucas, mientras que uno secundario reacciona en cinco minutos a temperatura ambiente y un alcohol primario no reacciona de forma apreciable.

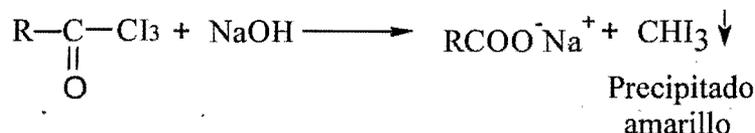
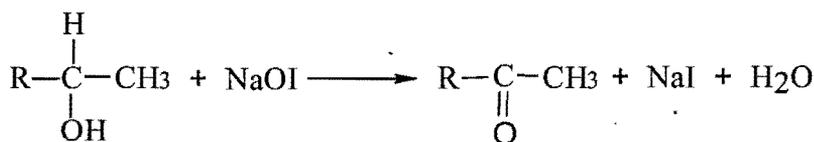
### La prueba del yodoformo

Esta prueba indica la presencia en un alcohol con la unidad estructural R-CH(OH)-CH<sub>3</sub>. Esta reacción es positiva para alcoholes con dicha estructura y para metilcetonas. En esta prueba los alcoholes o metilcetonas se tratan con yodo e hidróxido de sodio (hipoclorito de sodio, NaOI) formándose un precipitado amarillo correspondiente al yodoformo (CHI<sub>3</sub>, p.f. 119 °C).



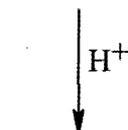
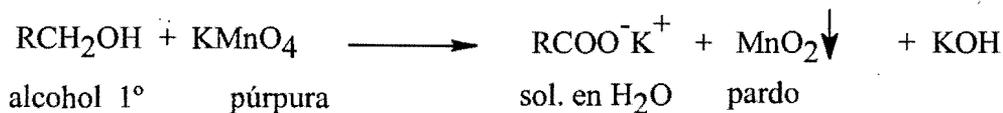
donde R es H, un grupo alquilo ó arilo

La reacción que conduce a la formación del yodoformo comprende oxidación, halogenación y degradación, como se muestra en las siguientes reacciones.

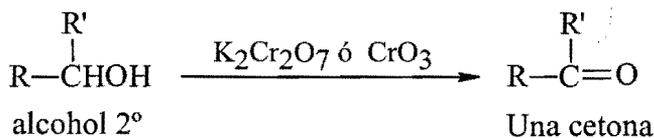


## Oxidación de alcoholes

La oxidación de un alcohol implica la pérdida de uno o más hidrógenos de la molécula. Un alcohol primario contiene dos hidrógenos en el carbono que soporta el grupo hidroxilo (-OH) y puede perder uno de ellos para dar un aldehído ó ambos para formar un ácido carboxílico. Un alcohol secundario al perder el único hidrógeno unido al carbono que soporta al grupo hidroxilo (-OH) se transforma en una cetona. Un alcohol terciario no contiene hidrógenos en el carbono que soporta el grupo hidroxilo (-OH), por lo cual no puede ser oxidado. Entre los reactivos más empleados para oxidar alcoholes están aquellos que contienen Mn(VII) ó Cr(VI), particularmente el permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>) ó el dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>).

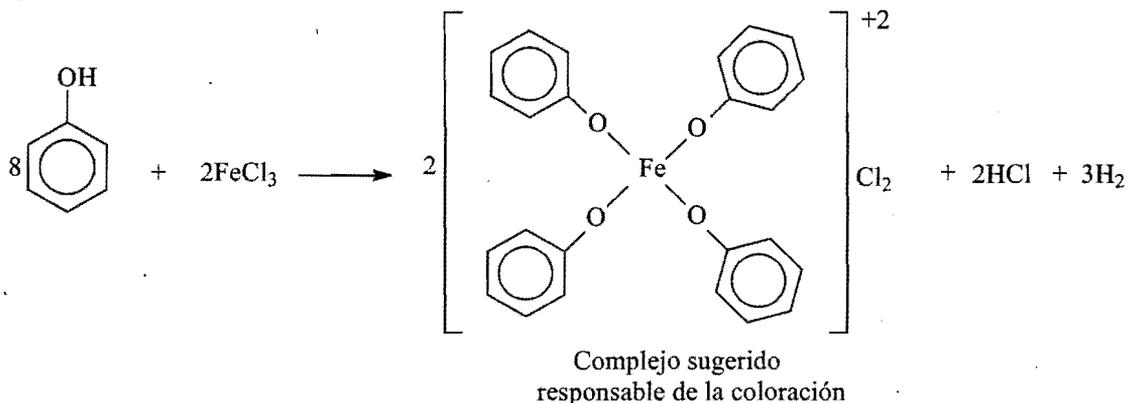


Un ácido carboxílico  
Insol. en H<sub>2</sub>O



## Reacción de fenoles con cloruro férrico

Los fenoles son compuestos de fórmula general Ar-OH donde Ar es fenilo o fenilo sustituido. Muchos fenoles (no todos) forman complejos coloreados (que van desde el verde hasta el azul y del violeta al rojo, dependiendo de la estructura del fenol) con cloruro férrico. El color es debido a la formación de complejos de coordinación con el hierro. Los alcoholes a pesar de que poseen el grupo hidroxilo (-OH) generalmente no reaccionan con este reactivo, por lo cual esta prueba puede ser utilizada para distinguir fenoles de alcoholes. La reacción sugerida en la formación de este tipo de complejos con el hierro se muestra a continuación:



### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Gradilla con tubos de ensayo	1-hexanol
Pinzas para tubo de ensayo	Ciclohexanol
Beakers	2-butanol
Mechero	Metanol
Malla	Sec-butanol
Termómetro	Etilenglicol
Espátula	FeCl <sub>3</sub> 1%
Pipetas graduadas	Hexano
Hielo	Fenol
Papel filtro	Sodio metálico
Etanol	Resorcinol
1-butanol	NaOH 10-20%
2-propanol	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 1%
ter-butanol	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado

- Solución de yodo en yoduro 10% (Se prepara disolviendo 10g de cristales de yodo en una solución de 20g de yoduro de potasio en 80ml de agua)
- Reactivo de Lucas (Se prepara disolviendo 34g de cloruro de zinc anhidro (fundido) en 25g (23ml) de ácido clorhídrico concentrado, con agitación y enfriamiento externo para evitar pérdidas del ácido clorhídrico)

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1 SOLUBILIDAD EN AGUA

En 6 tubos de ensayo, por separado, agregue 0,5ml de cada uno de los siguientes alcoholes: Etanol, 1-butanol, 2-metil-2-propanol, 1-hexanol, ciclohexanol y etilenglicol. A continuación agregue 2ml de agua a cada tubo, mezcle y observe. Registre los resultados en la tabla de respuestas y clasifique cada alcohol como muy soluble, moderadamente soluble ó insoluble.

#### 4.2. REACCIÓN CON SODIO

**PRECAUCIÓN:** Ser extremadamente cuidadoso al manipular el sodio. Asegúrese que todos los tubos de ensayo estén limpios y secos ya que el sodio reacciona violentamente con el agua. Para destruir los residuos una vez terminadas las observaciones, agregue suficiente metanol a cada uno de los tubos para que reaccione completamente con el sodio metálico en exceso, solamente cuando todo el sodio ha reaccionado puede desechar el contenido de cada tubo.

En 3 tubos de ensayo por separado y completamente secos, agregue 2ml de 1-butanol, 2-butanol y ter-butanol, en un cuarto tubo de ensayo coloque 2ml de hexano, el cual servirá como un patrón de comparación. Usando unas pinzas (recuerde que no debe tomar el sodio con sus dedos), agregue en cada uno de los tubos un pedazo pequeño de sodio metálico y anote los resultados en la tabla de respuestas. En algunos casos se requiere calentar el tubo en un baño de vapor para iniciar la reacción.

Cuando haya finalizado la prueba, agregue suficiente metanol a cada uno de los tubos para destruir el exceso de sodio.

#### 4.3. PRUEBA DEL YODOFORMO

En cuatro tubo de ensayo coloque por separado 1 ml de etanol, 1-butanol, *sec*-butanol y *ter*-butanol, añada 2–3ml de agua y 4-5ml de una solución al 10% de yodo en yoduro de potasio. Después adicione hidróxido de sodio (10–20%), gota a gota, hasta que el color café del yodo desaparezca y la mezcla conserve solo un color amarillo. Caliente el tubo a 60°C en un baño de agua por 2 minutos y enfríe en un baño de hielo. Si se forma un precipitado, note su apariencia y olor. Con algunos compuestos se forma inmediatamente en frío un precipitado de yodoformo. Si se desea confirmar la identidad de éste, filtre, seque los cristales y tome su punto de fusión. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.4. PRUEBA DE OXIDACIÓN

En tres tubo de ensayo agregue 5ml de una solución de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) al 1%, 1 gota de ácido sulfúrico concentrado y agite la solución. Añada ahora correspondientemente en cada tubo dos gotas de butanol, *sec*-butanol y *ter*-butanol y caliente suavemente en un baño de agua. Registre cualquier cambio en el olor ó color de la solución y anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.5. PRUEBA DE LUCAS

En tres tubos de ensayo coloque por separado 0,5ml de butanol, *sec*-butanol y *ter*-butanol. Añada en cada uno de ellos y en un cuarto tubo de ensayo 3ml del reactivo de Lucas, este último tubo servirá como un patrón comparativo. Agite y anote el tiempo que se requiere para que la reacción se lleve a cabo, esto es, cuando la solución adquiere una apariencia turbia y se separan dos fases. Registre sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.6. REACCIÓN DE FENOLES CON CLORURO FÉRRICO

**PRECAUCIÓN:** Los fenoles son corrosivos por ello debe evitarse el contacto directo con la piel, en caso de accidente lave inmediatamente el área afectada con abundante agua.

En cuatro tubos de ensayo, por separado, disuelva 1-2 cristales ó 1-2 gotas de fenol, resorcinol, etanol y 2-propanol en 5ml de agua. En un quinto tubo de ensayo agregue 5ml de agua como un patrón de comparación. A cada tubo adicione 1 ó 2 gotas de solución de cloruro férrico ( $FeCl_3$ ) al 1%, agite y registre sus resultados en la tabla de respuestas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 SOLUBILIDAD EN AGUA

COMPUESTO	ESTRUCTURA	SOLUBILIDAD
etanol		
1-butanol		
2-metil-2-propanol		
1-hexanol		
ciclohexanol		
etilen glicol		

#### CONCLUSIONES:

---

---

### 5.2 REACCIÓN CON SODIO

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
1-butanol		
2-butanol		
ter-butanol		
hexano		no reacciona

#### CONCLUSIONES:

---

---

### 5.3 PRUEBA DEL YODOFORMO

COMPUESTO	YODOFORMO		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Presencia	Ausencia		
etanol				
1-butanol		✓		
sec- butanol		✓		
ter-butanol		✓		

CONCLUSIONES:

---



---

### 5.4 PRUEBA DE OXIDACIÓN

COMPUESTO	OXIDACIÓN		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
1-butanol				
sec- butanol				
ter-butanol				

CONCLUSIONES:

---



---

### 5.5 PRUEBA DE LUCAS

COMPUESTO	TIEMPO PARA LA REACCIÓN	REACCIÓN	OBSERVACIONES
1-butanol			
sec-butanol			
ter-butanol			

#### CONCLUSIONES:

El alcohol terciario reacciona más rápido que el secundario y el primario.

### 5.6 REACCIÓN DE FENOLES CON CLORURO FÉRRICO

COMPUESTO	ESTRUCTURA	OBSERVACIONES
fenol		
resorcinol		
etanol		
2-propanol		

#### CONCLUSIONES:

Los fenoles reaccionan con el cloruro férrico formando complejos coloreados.

## 5.7 PREGUNTAS

5.7.1 Realice las ecuaciones correspondientes para cada una de las pruebas.

5.7.2 Cuál de los siguientes alcoholes es menos soluble en agua, el 1-pentanol ó el 1-decanol ?

5.7.3 Porqué los fenoles en reacción con el cloruro férrico a diferencia de los alcoholes forman productos coloreados?

## BIBLIOGRAFÍA

R. Adams, J. Johnson and Ch. Wilcox, Laboratory Experiments in Organic Chemistry, Ed. The Macmillan Company, New York, 1965.

H. Hart, Laboratory Manual Organic Chemistry a short course, Ed. Houghton Mifflin Company, Boston, 1987.

R. Morrison, and R. Boyd, Química Orgánica, Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1987.

A. Cotton and J. Wilkinson, Química Inorgánica Avanzada, Ed. Limusa Wiley S.A, segunda edición, México, 1973, pp. 879-894.

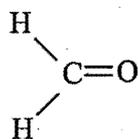
## REACCIONES DE ALDEHÍDOS Y CETONAS

## 1. OBJETIVOS

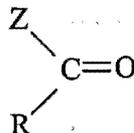
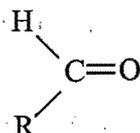
- Conocer algunas pruebas de laboratorio utilizadas para la identificación de aldehídos y cetonas.
- Llevar a cabo algunas reacciones de adición nucleofílica típicas de aldehídos y cetonas.
- Comprobar la coexistencia de formas tautoméricas en algunos compuestos carbonílicos.

## 2. MARCO TEÓRICO

Los aldehídos son sustancias de fórmula general RCHO (con excepción del formaldehído, HCHO, donde R es H) y las cetonas son compuestos de fórmula general RZCO, donde los grupos R y Z pueden ser alifáticos o aromáticos.

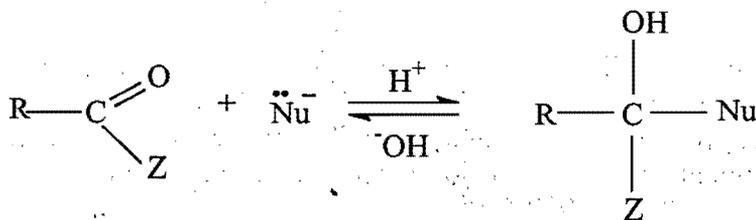


Aldehídos



Una cetona

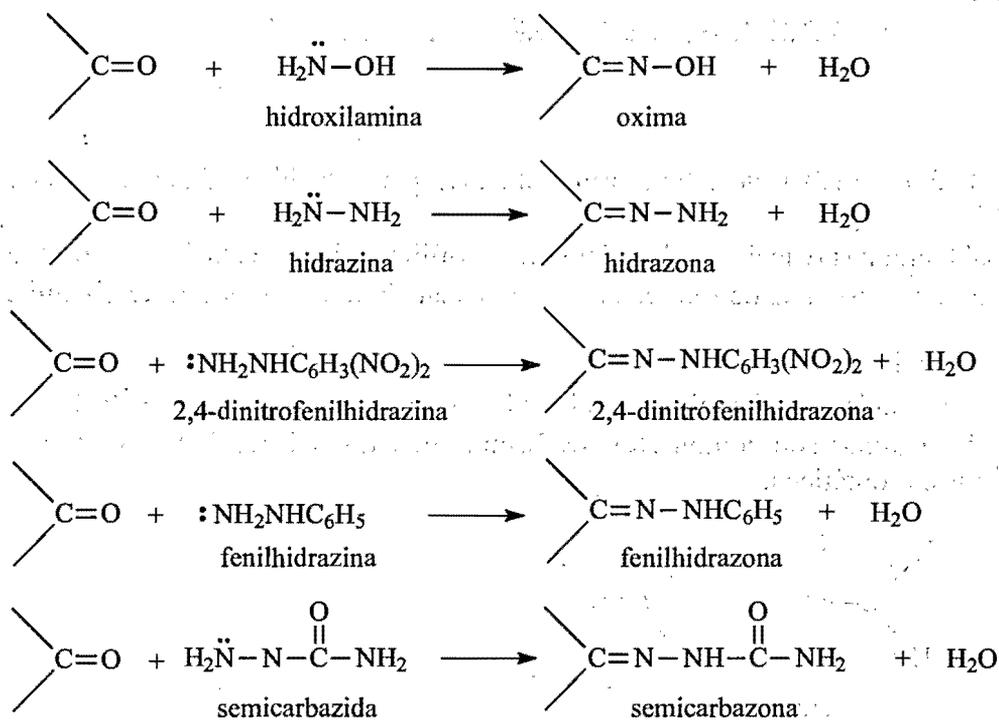
Los aldehídos y cetonas contienen el grupo carbonilo (C=O) y por ello a menudo se denominan colectivamente compuestos carbonílicos. El grupo carbonilo es el que determina en gran medida la química de aldehídos y cetonas y se caracteriza por su alta reactividad. La principal reacción que presentan este tipo de compuestos es la **adición nucleofílica** (Ecuación 1), la cual se puede efectuar en medio ácido ó en medio básico.



Ecuación 1. Reacción general de adición nucleofílica

El carbonilo contiene un doble enlace carbono-oxígeno, debido a que el oxígeno es más electronegativo que el carbono, los electrones  $\pi$  son fuertemente atraídos por el oxígeno, dando lugar a una polarización que genera un carácter electropositivo en el carbono carbonílico y lo convierte en un grupo más susceptible al ataque de reactivos nucleofílicos (Nu<sup>-</sup>), los cuales son ricos en electrones.

Entre las especies nucleofílicas más comunes tenemos: El ión cianuro (CN<sup>-</sup>), agua, alcoholes, carbaniones procedentes de los reactivos de Grignard e incluso derivados del amoníaco (ver esquema 1).

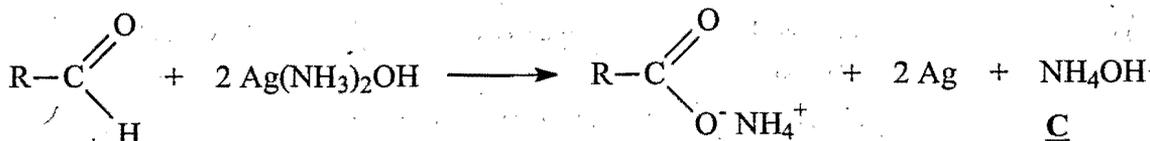
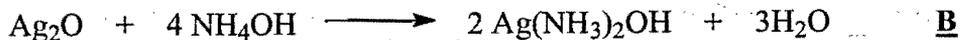


**Esquema 1.** Reacción del grupo carbonilo con los derivados del amoniaco

Los compuestos relacionados con el amoniaco se adicionan al grupo carbonilo para formar unos derivados que son de gran utilidad e importancia para la caracterización e identificación de aldehídos y cetonas. Los productos contienen un doble enlace carbono-nitrógeno que resulta de la eliminación de una molécula de agua y generalmente forman precipitados amarillos, dicho color permite precisamente su identificación. El ejemplo más conocido de estas reacciones tiene lugar con la 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DPH).

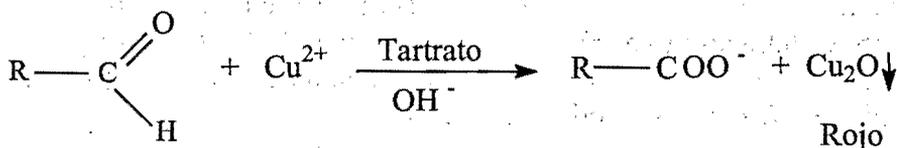
Los aldehídos se oxidan con facilidad a ácidos carboxílicos, no así las cetonas. La oxidación es por tanto la reacción más útil para diferenciar a los aldehídos de las cetonas. Por definición, un aldehído tiene un átomo de hidrógeno unido al carbono carbonílico y la cetona no, este hidrógeno es sustraído durante la oxidación, mientras que la reacción análoga para una cetona no tiene lugar, es decir, la separación de un grupo alquilo o arilo.

Los aldehídos no solo son oxidados por los reactivos dicromato y permanganato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  y  $\text{KMnO}_4$ ), sino también por agentes oxidantes débiles como el ión plata y el ión cúprico. El reactivo de Tollens emplea como agente oxidante el ión plata ( $\text{Ag}^+$ ), este es un complejo amoniacal de hidróxido de plata, que se reduce a plata metálica por la acción de aldehídos, polihidroxifenoles, azúcares reductores y otros compuestos fácilmente oxidables (ver esquema 2). La formación de un espejo sugiere la existencia de un aldehído alifático o aromático, en tanto que las cetonas no reaccionan.



Esquema 2. A - B Reacciones que tienen lugar en la preparación del reactivo de Tollens y C en su acción sobre un aldehído

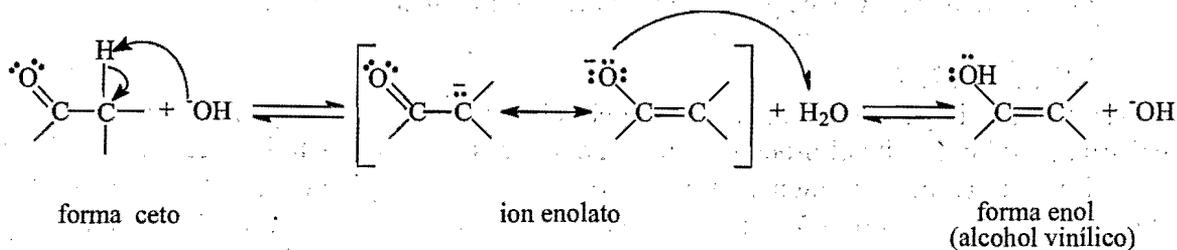
El reactivo de **Felhing** utiliza como agente oxidante el ión cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ), presente en una solución acuosa de  $\text{CuSO}_4$  en medio básico y estabilizada con tartrato de sodio y potasio, conocida como sal de Rochelle (ver ecuación 2). La formación de un precipitado de color rojo sugiere la existencia de un carbonilo en un aldehído alifático. La prueba también es positiva para  $\alpha$ -hidroxicetonas.



Ecuación 2. Reacción general de oxidación de un aldehído por acción del reactivo de Felhing

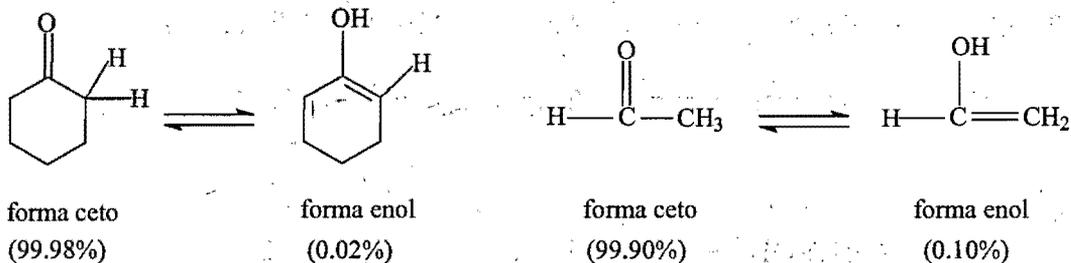
La oxidación con estos dos reactivos es útil en la detección de aldehídos, en particular para diferenciarlos de las cetonas.

Las cetonas y los aldehídos actúan como ácidos débiles, así en presencia de bases fuertes un protón del carbono alfa ( $\alpha$ ) (el carbono adyacente al grupo carbonilo) puede ser sustraído para formar un **ión enolato**, el cual se estabiliza por resonancia ya que la carga negativa se distribuye sobre los átomos de carbono y oxígeno. La protonación de la forma enolato se puede efectuar ya sea en el carbono alfa (regresando a la forma **ceto**) o en el átomo de oxígeno, dando un alcohol vinílico, que se conoce como la forma **enol**.



Esquema 3. Tautomería ceto-enol catalizada por base

De esta forma, una base cataliza un equilibrio entre las formas isoméricas ceto y enol de un compuesto carbonílico. Para las cetonas y los aldehídos simples, predomina la forma ceto.



Esquema 4. Equilibrio tautomérico ceto-enólico

Este tipo de isomerización, que se efectúa por migración de un protón alfa ( $\alpha$ ) y el movimiento de un doble enlace, se llama **tautomería** y los dos isómeros que se interconvierten, se conocen como **tautómeros**. Los tautómeros son isómeros verdaderos y se puede aislar respectivamente cualquiera de las formas tautoméricas.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubos de ensayo

Glucosa

Hidróxido de amonio

Solución de bromo en tetracloruro al 5%

Pipetas graduadas

Solución de Felhing B (Tartrato de Sodio y Potasio)

Formaldehído

Acetaldehído

2,4-dinitrofenilhidrazina

Acetona

Reactivo de Tollens

Tetracloruro de carbono

Solución de NaOH al 5%

Solución de Felhing A (Sulfato de cobre)

Benzaldehído

Ciclohexanona

solución de glucosa

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1 PRUEBA DE COEXISTENCIA DE TAUTÓMEROS

En un tubo de ensayo coloque 2ml de  $\text{CCl}_4$  y 4 gotas de acetona. Adicione entonces gota a gota y con agitación una solución de bromo en tetracloruro de carbono al 5%. Observe si el color rojizo desaparece. En otro tubo de ensayo coloque 2ml de  $\text{CCl}_4$  y agréguele 4 gotas de acetona y 1 gota de NaOH al 5%. Adicione entonces gota a gota una solución de bromo en tetracloruro de carbono. Compare la velocidad de desaparición del color rojizo del bromo en los dos tubos de ensayo. Anote los resultados en la tabla de respuestas y realice las correspondientes reacciones.

#### 4.2 PRUEBA DE FELHING

En un tubo de ensayo coloque 1ml de solución de Felhing A y 1ml de Felhing B. Adicione entonces 6 gotas de formaldehído. Repita el procedimiento pero ahora con benzaldehído, acetona y solución de glucosa. Si a temperatura ambiente no se ha formado un precipitado de color rojo, coloque entonces los cuatro tubos en un baño maría durante 5 minutos. Si al cabo de los 5 minutos no aparece precipitado, reporte el resultado como negativo en la tabla de respuestas.

#### 4.3 PRUEBA DE TOLLENS

En un tubo de ensayo coloque 1ml del reactivo de Tollens (1ml de  $\text{AgNO}_3$  más 1 gota de NaOH y gota a gota  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta que se disuelva un precipitado de color marrón) y adicione 6 gotas de formaldehído. Repita el procedimiento pero ahora con: Benzaldehído, acetona y glucosa.

Si a temperatura ambiente no se forma el espejo de plata, coloque entonces los tubos de ensayo al baño maría. Si al cabo de 5 minutos de calentamiento no aparece el espejo de plata, reporte el resultado como negativo en la tabla de respuestas.

#### 4.4 PRUEBA PARA LA FORMACIÓN DE LA 2,4 -DINITROFENILHIDRAZONA

Como se mencionó en el fundamento teórico, la reacción de los compuestos carbonílicos con amoniaco y sus derivados es de gran utilidad para la identificación de este tipo de compuestos debido a la formación de precipitados de color amarillo. Uno de los derivados del amoniaco más utilizados para esta prueba es la 2,4-dinitrofenilhidrazina, la cual genera las correspondientes 2,4-dinitrofenilhidrazonas. (ver esquema 1).

Coloque respectivamente en 3 tubos de ensayo 0.5 ml de los siguientes compuestos carbonílicos: Benzaldehído, acetaldehído y ciclohexanona. A continuación adicione a cada tubo de ensayo 0.5 ml de la 2,4-dinitrofenilhidrazina. Agite y observe los cambios producidos. En caso de no presentarse ningún precipitado a temperatura ambiente, someta los tubos de ensayo a calentamiento en baño maría durante 5 minutos. Anote los resultados en la tabla de respuestas.

### 5. RESULTADOS

#### 5.1 PRUEBA DE COEXISTENCIA DE TAUTÓMEROS

	Decoloración del bromo		REACCIÓN
	Si	No	
TUBO A			
TUBO B			

CONCLUSIONES:

---

---

---

### 5.2 PRUEBA DE FELHING

COMPUESTO	PRUEBA DE FELHING		OBSERVACIONES	REACCIÓN
	Positiva	Negativa		
formaldehído			Se forma un precipitado blanco.	
benzaldehído			Se forma un precipitado blanco.	
acetona			No se forma precipitado.	
glucosa			No se forma precipitado.	

### CONCLUSIONES:

Los compuestos formalesdehído y benzaldehído reaccionan positivamente con la prueba de Felhing, formando un precipitado blanco. La acetona y la glucosa no reaccionan con la prueba de Felhing.

### 5.3 PRUEBA DE TOLLENS

COMPUESTO	PRUEBA DE TOLLENS		OBSERVACIONES	REACCIÓN
	Positiva	Negativa		
formaldehído	X		Se forma un precipitado blanco.	
benzaldehído	X		Se forma un precipitado blanco.	
acetona			No se forma precipitado.	
glucosa			No se forma precipitado.	

**CONCLUSIONES:**

*Solo los aldehidos reaccionan con la 2,4-dinitrofenilhidrazina para dar un color rojo.*

**5.4 PRUEBA PARA LA FORMACIÓN DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA**

COMPUESTO	Prueba con la 2,4-dinitrofenilhidrazina		OBSERVACIONES	REACCIÓN
	Positiva	Negativa		
acetaldehído	x		<i>Se forma un color rojo.</i>	<i>Formación de un compuesto de color rojo.</i>
benzaldehído				
ciclohexanona			<i>Se forma un color rojo.</i>	

**CONCLUSIONES:**

*Se concluye que los aldehidos y las cetonas reaccionan con la 2,4-dinitrofenilhidrazina para dar un color rojo.*

**BIBLIOGRAFÍA**

A. Meza., Química Orgánica Fundamental, Capitulo 9.  
 X. A. Domínguez, Experimentos de Química Orgánica, Ed. Limusa-Wiley, S.A., Mexico, 1968, pp.67-70  
 L. G. Wade., Química Orgánica, Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A, México, 1993.

REACCIONES DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS Y SUS DERIVADOS

1 OBJETIVOS

- Comparar la acidez que presentan los ácidos carboxílicos frente a otras sustancias.
- Realizar algunas reacciones características de los derivados de ácidos carboxílicos.

2. MARCO TEÓRICO

Los ácidos carboxílicos (figura 1) son los compuestos más abundantes y comunes en química y bioquímica, ellos son los precursores de un gran grupo de derivados que incluyen a los haluros de ácido, anhídridos de ácido, ésteres y amidas, las cuales se clasifican como primarias (-NH<sub>2</sub>), secundarias (-NHR') ó terciarias (-NR'R'') según el número de hidrógenos presentes en el grupo amino (figura 1). Algunos ácidos carboxílicos como el ácido acético se conocen desde hace siglos y otros como las prostaglandinas, derivados del ácido araquidónico, han sido aislados solo recientemente.

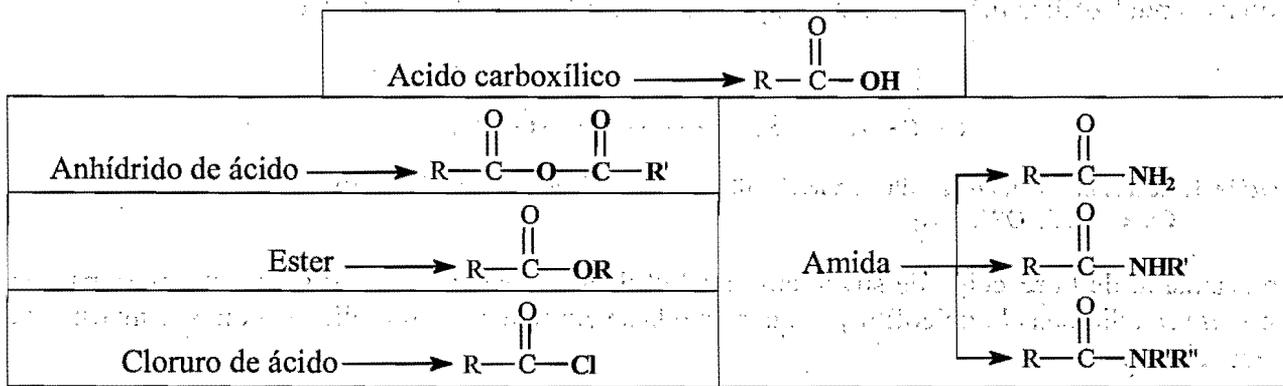


Figura 1. Estructura general de un ácido carboxílico y sus derivados

A pesar de que los ácidos carboxílicos y sus derivados, poseen un grupo carbonilo como los aldehídos y las cetonas, ellos no experimentan reacciones de adición si no de **sustitución nucleofílica** (ecuación 1). Esto se debe a que el grupo carbonilo está enlazado a ciertos átomos o grupos atómicos que son excelentes grupos salientes, lo cual no sucede en los aldehídos y cetonas, donde los grupos salientes -H y -R son demasiado inestables (figura 2).

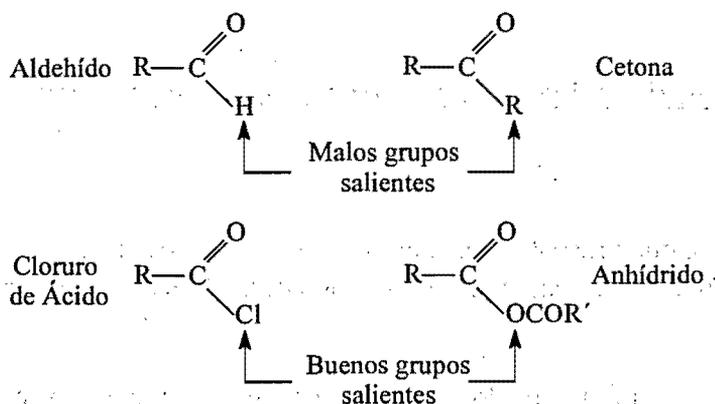
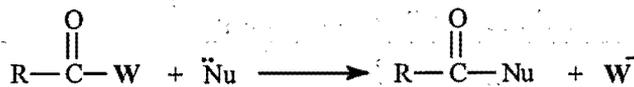


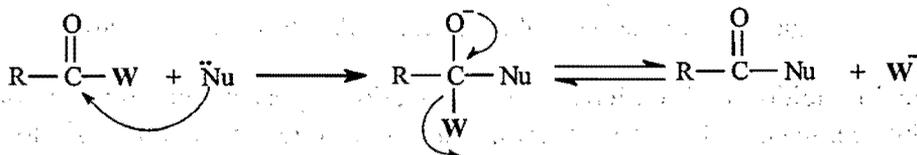
Figura 2.

Los ácidos carboxílicos y sus derivados reaccionan con diversos tipos de nucleófilos, por ejemplo con agua (hidrólisis), alcoholes (alcoholólisis), derivados del amoníaco (amonólisis), reactivos de Grignard e hidruros metálicos, entre otros, dando lugar a una amplia variedad de productos, de ahí su importancia en la síntesis orgánica. La característica fundamental en este tipo de reacciones es que el grupo carbonilo se conserva (ecuación 1). El esquema 1 presenta algunas de las reacciones de sustitución nucleofílica más comunes e importantes de esta clase de compuestos.



Ecuación 1. Reacción general de sustitución nucleofílica para los ácidos carboxílicos y sus derivados, donde  $\text{W} = \text{OH}, \text{Cl}, \text{OCOR}', \text{OR}', \text{NH}_2$

El mecanismo de la reacción de sustitución nucleofílica se realiza esencialmente en dos etapas, en la primera se adiciona el nucleófilo y en la segunda se elimina el grupo saliente, como se muestra en la ecuación 2.

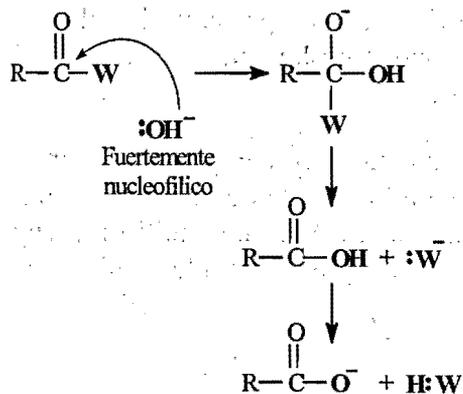


Ecuación 2. Mecanismo de la reacción de sustitución nucleofílica en ácidos carboxílicos y sus derivados.

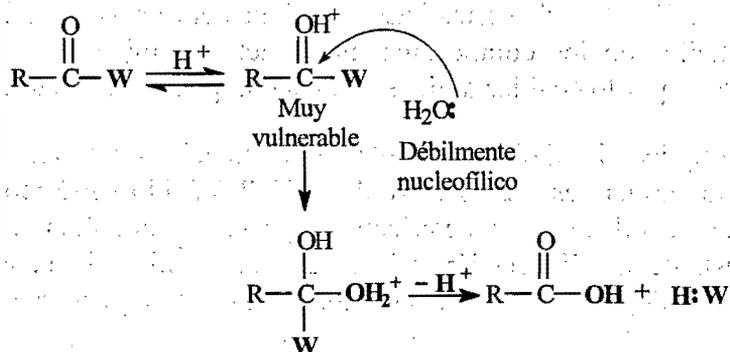
### Hidrólisis



#### Hidrólisis Básica



#### Hidrólisis Ácida



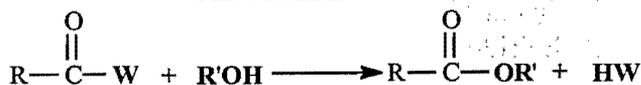
Los derivados de ácidos carboxílicos son hidrolizados más rápidamente en solución ácida ó básica que en neutra. Las soluciones alcalinas proporcionan iones hidróxido que actúan como reactivos nucleofílicos poderosos; las ácidas, en cambio, permiten la adición de un ión hidrógeno al oxígeno carbonílico, con ello la molécula será más vulnerable al ataque del agua, que es un reactivo nucleofílico débil.

### Amonólisis

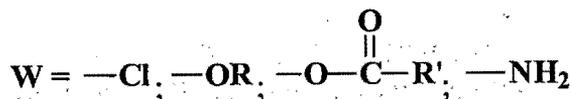


La amonólisis de los derivados de ácido conduce a la formación de amidas.

### Alcohólisis

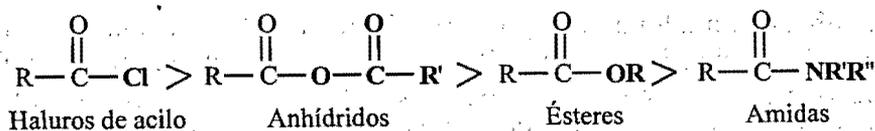


La alcohólisis de un éster se denomina transesterificación y tiene un valor sintético importante ya que a través de ella se puede cambiar la cadena del éster inicial, dependiendo del alcohol con que se lleve a cabo la reacción.



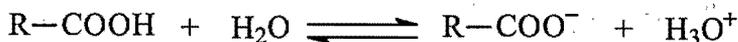
Esquema 1. Algunas reacciones específicas de los derivados de ácidos carboxílicos.

De los derivados de ácidos, los cloruros de acilo son los más reactivos hacia la sustitución nucleofílica, en tanto que las amidas las menos reactivas. En general, el orden de reactividad es el siguiente:



Este orden general de reactividad de los derivados de ácidos se explica teniendo en cuenta la basicidad de los grupos salientes, a mayor basicidad menor tendencia a desprenderse. Así, cuando reaccionan los cloruros de acilo, el grupo residual es el ión cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), cuando reaccionan los anhídridos, el grupo saliente es el ión carboxilato ( $\text{R-COO}^-$ ), si reaccionan los ésteres el grupo saliente es el ión alcóxido ( $\text{OR}$ ) y si se trata de una amida, el grupo saliente es el ión amiduro ( $\text{NR'R''}$ ). De todas estas bases, los iones cloruro son las bases más débiles y por tanto los cloruros de acilo son los compuestos más reactivos, mientras que los iones amiduro son las bases más fuertes, por lo cual las amidas son los compuestos menos reactivos.

La propiedad química más notable de los ácidos carboxílicos es su acidez, en comparación con los ácidos minerales (ácido clorhídrico  $\text{HCl}$  ó ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ellos pueden considerarse como ácidos débiles y se caracterizan por presentar en solución acuosa una reacción de equilibrio, cuya constante de disociación,  $K_a$ , es una medida de la tendencia relativa del ácido a disociarse generando una cierta concentración de iones  $\text{H}_3\text{O}^+$  (ver ecuación 3).



Ecuación 3. Disociación de ácidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos son más ácidos que los alcoholes y los fenoles debido principalmente a la estabilización por resonancia del anión carboxilato  $\text{RCOO}^-$ .

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

pipetas graduadas	tubos de ensayo
goteros	papel indicador de pH
Beakers	Etanol
Fenol	Ácido acético
Ácido benzoico	Ácido salicílico
Aceite comestible	NaOH al 10%
Anilina	Anhídrido acético
Cloruro de benzoilo	

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1 ACIDEZ RELATIVA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS

En un tubo de ensayo coloque 1ml de agua y agréguele 10 de gotas de etanol. Mida su pH con el papel indicador. Repita el procedimiento anterior pero ahora con ácido acético, fenol, ácido benzoico, ácido salicílico y acetato de sodio utilizando agua como solvente. Ordene las sustancias ensayadas de acuerdo a su acidez (de mayor a menor). Registre y discuta los resultados obtenidos en la tabla de respuestas.

#### 4.2 REACCIÓN DE ACETILACIÓN

Coloque 1ml de anilina en un tubo de ensayo completamente seco, adicione con precaución, gota a gota, un total de 2ml de anhídrido acético. Posteriormente someta la mezcla a ebullición durante 15 minutos y luego proceda a enfriar las paredes del tubo de ensayo con agua del grifo. La acetanilida formada se puede purificar disolviéndola en 20ml de agua caliente (a  $80^\circ\text{C}$ ), filtrándola

en caliente y enfriando a continuación. Escriba la ecuación química correspondiente para esta reacción.

#### 4.3 HIDRÓLISIS BÁSICA DE UNA AMIDA

En un tubo de ensayo adicione 0.5ml de acetamida ó 0.5g si esta sólida. Agregue 1ml de NaOH al 10% y caliente hasta ebullición, determine el olor del gas desprendido, pruébelo con el papel indicador. Registre los resultados en la parte final.

#### 4.4 HIDRÓLISIS ÁCIDA DE UNA AMIDA

Haga lo mismo que el ítem 4.3 pero ahora cambiando el NaOH por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10%. Registre los resultados en la parte final.

#### 4.5 FORMACIÓN DE SALES

Tome con la punta de la espátula una pequeña cantidad de ácido benzoico y colóquelo en un tubo de ensayo que contiene 3ml de agua. Adicione una muestra similar de ácido benzoico a un tubo de ensayo que contiene 3 ml de NaOH al 10%. Agite ambas muestras, observe y anote los resultados en la parte final.

### 5. RESULTADOS

#### 5.1 ACIDEZ RELATIVA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS

No.	COMPUESTO	ESTRUCTURA	pH
1	Etanol		
2	Ácido acético		
3	Fenol		
4	Ácido benzoico		
5	Ácido salicílico		
6	Acetato de sodio		

ORDEN DE ACIDEZ (mayor a menor):

---

---

**CONCLUSIONES:**

---

---

### 5.2 REACCIÓN DE ACETILACIÓN

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Anilina + anhídrido acético		

**CONCLUSIONES:**

---

---

### 4.3 HIDRÓLISIS BÁSICA DE UNA AMIDA

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Amida + hidróxido de sodio		

**CONCLUSIONES:**

---

---

### 4.4 HIDRÓLISIS ÁCIDA DE UNA AMIDA

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Amida + ácido sulfúrico		

**CONCLUSIONES:**

---

---

## 5.2 FORMACIÓN DE SALES

COMPUESTO	REACCIÓN	OBSERVACIONES
Ácido benzoico + agua		
Ácido benzoico + hidróxido de sodio		

### CONCLUSIONES:

---

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

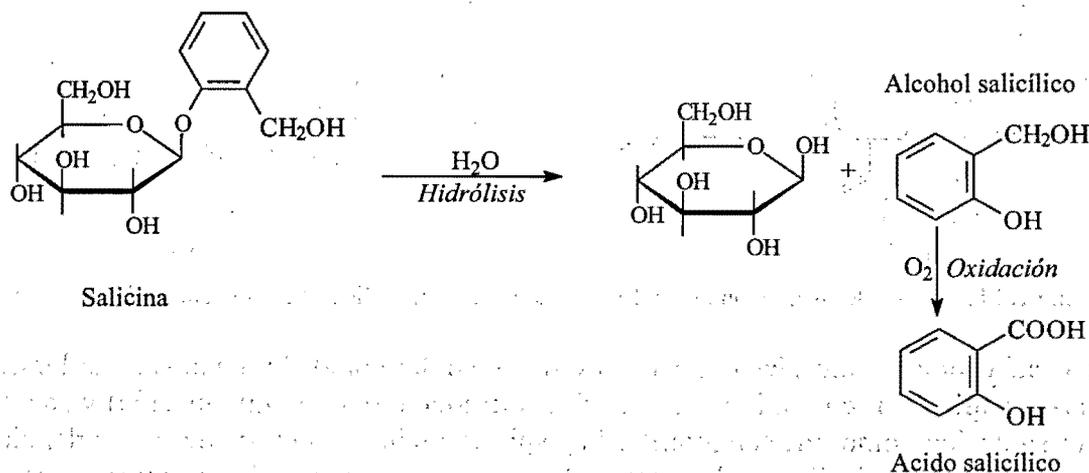
- G. Solomons, Química Orgánica, Ed. Limusa Wiley S.A, segunda edición, México, 1999.  
R. Fessenden, and J. Fessenden, Química Orgánica, Ed. Iberoamericana, México, 1983.  
F. Carey, Química Orgánica, Ed. Mc Graw Hill, tercera edición, Madrid, 1999.  
R. Morrison and R Boyd, Química Orgánica, Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1998.  
A. Meza, Química Orgánica Fundamental, Capítulo 10.

1. OBJETIVOS

- Obtener la aspirina (ácido acetilsalicílico) por medio de la acetilación del ácido salicílico con anhídrido acético.
- Determinar el rendimiento de la reacción en la obtención de la aspirina.

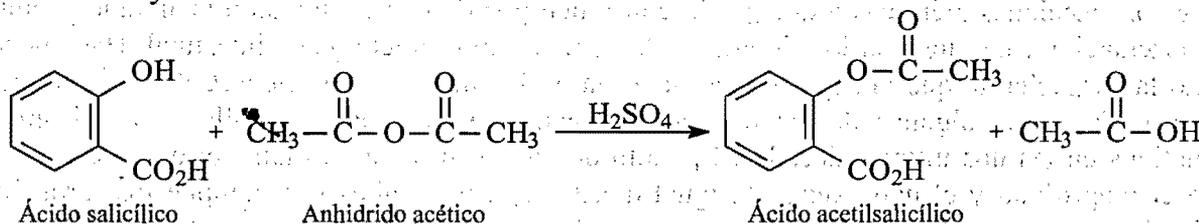
2. MARCO TEÓRICO

La aspirina es probablemente el medicamento más utilizado en el mundo para el tratamiento de dolores e inflamaciones menores, su uso se remonta desde finales del siglo XIX. Investigaciones mostraron que la fiebre disminuye masticando la corteza de sauce y en 1827 se encontró que el agente activo en dicha corteza es un compuesto aromático llamado salicina, el cual puede convertirse en alcohol salicílico haciéndose reaccionar con agua (hidrólisis), su posterior oxidación genera el ácido salicílico (ecuación 1). Este ácido resultó más efectivo que la salicina en el tratamiento de la fiebre y además se encontró que posee propiedades antiinflamatorias y analgésicas, pero desafortunadamente es demasiado corrosivo para las paredes del estómago.



Ecuación 1. Obtención del ácido salicílico a partir de la salicina

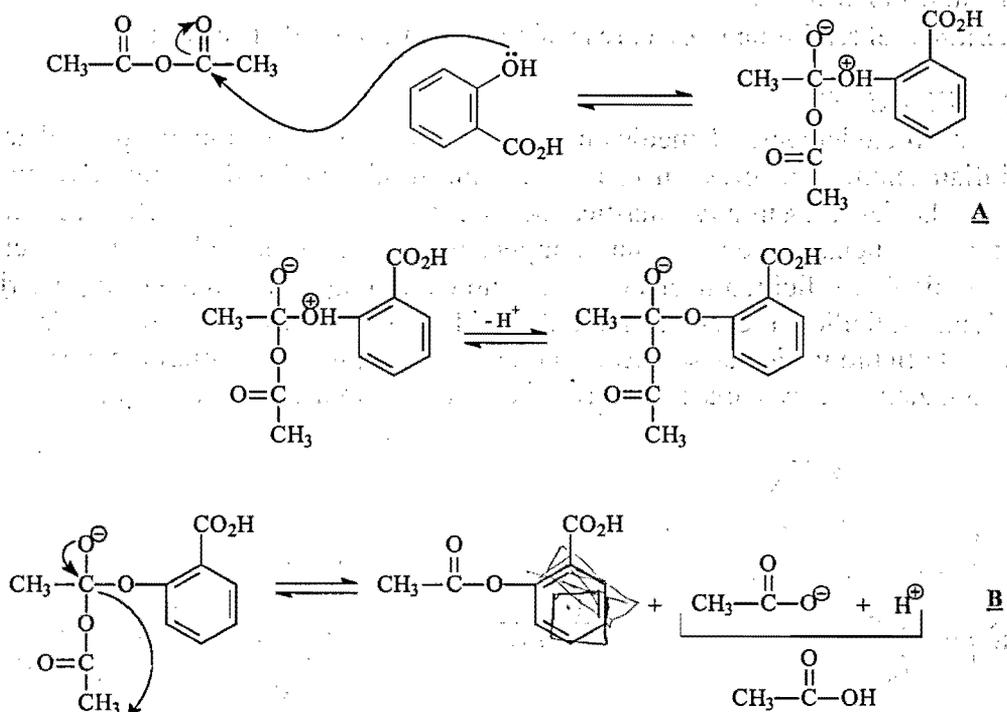
La conversión del grupo hidroxilo (-OH) del ácido salicílico en un éster acético (acetilación), genera el ácido acetilsalicílico (aspirina), que ha comprobado ser tan potente como el ácido salicílico y menos corrosivo para el estómago. Los dos agentes acetilantes más comunes son el cloruro de acetilo y el anhídrido acético, usualmente se utiliza como catalizadores el ácido sulfúrico concentrado y la piridina (ecuación 2). A nivel industrial la preparación de aspirina se obtiene del ácido salicílico y el anhídrido acético.



Ecuación 2. Preparación industrial de la Aspirina

Esta reacción ocurre mecanísticamente a través de una sustitución nucleofílica sobre un derivado de ácido (el anhídrido) y comprende las siguientes etapas individuales (esquema 1):

- A. Adición nucleofílica (del grupo hidroxilo del ácido salicílico al anhídrido).
- B. Eliminación del grupo saliente.



Esquema 1. Mecanismo de sustitución nucleofílica. **A** adición nucleofílica. **B** eliminación del grupo saliente

La aspirina actúa como: **analgésico** (calma cierto tipo de dolor como el reumatismo, dolor de cabeza y neuralgia), **antipirético** (contra la fiebre), **antihistamínico** (contra la inflamación) y además se ha descubierto su acción como **anticoagulante**. La aspirina inhibe la síntesis de prostaglandinas y de esa forma actúa bajando la fiebre, disminuyendo el dolor y bloqueando las infecciones. Pero en forma paralela, interfiere funciones importantes como la estimulación de la circulación sanguínea de la mucosa estomacal, la inhibición de la secreción de ácidos gástricos y el aumento de la producción de la mucosa estomacal y de bicarbonatos.

A pesar de que la aspirina es uno de los medicamentos favoritos, tiene algunos efectos secundarios, su toxicidad es tal, que solo unos 15g pueden ser fatales para un niño pequeño o mujeres que se encuentren en los tres últimos meses de embarazo, ocasionando retraso del parto, sangrado del estómago, reacciones alérgicas a quienes la consumen por tiempo prolongado (sangrados ocultos), mala circulación sanguínea en los riñones y alteraciones en el tracto gastrointestinal. Hace poco se suscitó la sospecha de que la aspirina desencadena en los niños el *síndrome de Reye* (enfermedad cerebral). Estas son algunas de las razones que han impulsado el desarrollo de medicamentos alternativos en las dos últimas décadas. Ejemplo de ellos son los antiinflamatorios no esteroideos como el ibuprofeno y el naproxeno. Al igual que la aspirina, ambos son compuestos aromáticos relativamente sencillos que contienen un grupo ácido carboxílico en una cadena lateral, ellos tienen aproximadamente la misma potencia que la aspirina pero tienden a ocasionar menos malestar

estomacal, además el naproxeno permanece activo en el organismo un tiempo seis veces mayor que la aspirina.

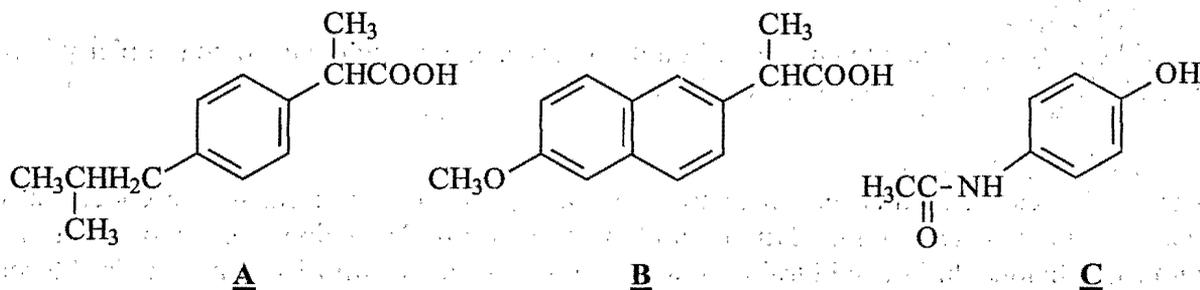
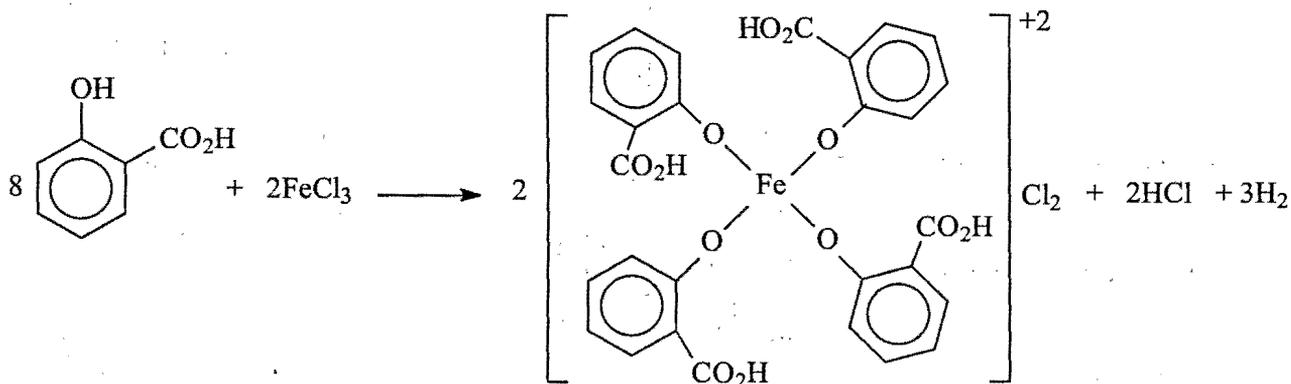


Figura 1. Antiinflamatorios no esteroidales. A Ibuprofeno. B Naproxeno. C Paracetamol o acetaminofén

Así mismo el paracetamol (acetaminofen), un derivado del *p*-aminofenol, ha remplazado a la aspirina al ser un buen antipirético y débil analgésico que evita las molestias de la acidez estomacal.

La aspirina usada para fines medicinales debe estar libre del ácido salicílico. Una prueba conveniente para detectar el ácido salicílico en la aspirina se realiza con la ayuda de una solución de cloruro férrico, la aspirina pura (que no contiene grupos fenólicos libres) no da ninguna coloración con este reactivo. Por el contrario, el ácido salicílico reacciona con el cloruro férrico dando lugar a un complejo de coloración azul-verdosa. A continuación se sugiere la posible estructura del complejo responsable de dicha coloración (esquema 2).



Esquema 2. Complejo sugerido responsable de la coloración azul-verdosa

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Matraz pequeño  
 Condensador  
 Papel Filtro  
 Ácido salicílico  
 Anhídrido acético  
 Ácido sulfúrico concentrado  
 Cloruro de calcio  
 Hielo  
 Tabletas de aspirina comercial

## 4. PROCEDIMIENTO

### PRECAUCIÓN.

El anhídrido acético es irritante en estado líquido o gaseoso, evite su contacto con la piel y la ropa. Sea cuidadoso cuando manipule ácido sulfúrico concentrado.

#### 4.1 Síntesis de aspirina.

Colocar 1g de ácido salicílico en un matraz de 50ml (el cual posteriormente se conectará a un condensador que debe tener en un extremo un tubo con cloruro de calcio seco, como se muestra en la figura 2), adicione 2ml de anhídrido acético y 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Mezcle el contenido del matraz en forma homogénea y caliente el matraz en baño maría por 20 minutos.

En caso de no disponer del equipamiento mostrado en la figura 2, utilizar un erlenmeyer de 250 ml, en el se adicionan los reactivos, se mezclan hasta homogenización y se someten a calentamiento en baño maría durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, remueva el matraz o erlenmeyer del baño, al contenido aún caliente, agregue cuidadosamente 5ml de agua – hielo y enfríe el contenido del recipiente colocándolo en un baño de hielo.

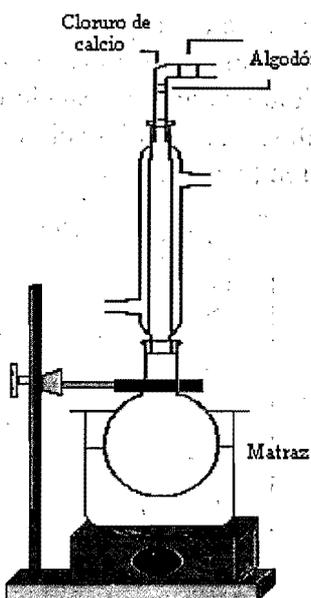


Figura 2. Montaje para la síntesis de aspirina

Filtre el producto al vacío, lave con 15ml de agua fría y deje secar a temperatura ambiente. Pese el sólido seco y determine el rendimiento de la reacción.

#### 4.2 Evaluación cualitativa de impurezas en la aspirina.

En tres tubos de ensayo agregue por separado un cristal pequeño de ácido salicílico, aspirina (que usted sintetizó) y aspirina comercial, disuelva con 1ml de metanol y agregue gota a gota 1ml de cloruro férrico. Registre y explique sus resultados en la tabla de respuestas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 SÍNTESIS DE ASPIRINA

Peso Teórico	Peso Experimental	% de Rendimiento

### 5.2 ESCRIBA LA REACCIÓN:

### CONCLUSIONES:

---

---

---

### 5.3 EVALUACIÓN CUALITATIVA DE IMPUREZA EN LA ASPIRINA.

Compuesto	Coloración con FeCl <sub>3</sub>
Aspirina sintetizada en el laboratorio	
Aspirina comercial	
Ácido salicílico	

### CONCLUSIONES:

---

---

---

### INCONVENIENTES DURANTE LA SÍNTESIS:

---

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

- H. Hart, Laboratory manual. Organic chemistry a short course, Boston, 1987.  
L. Anderson, R. Elderfield, P. Smith, W. Bachmann. A manual for the organic chemistry laboratory.  
J. Mc Murry, Química Orgánica, Ed. Internacional Thomson., México, 2001.  
K.P. Vollhardt. Organische Chemie. Editorial VCH – Verlagsgesellschaft, Alemania, 1988.  
L. Epe. Pharmakologie und Toxikologie. Profesor de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad Johannes Guttenberg – Mainz, Alemania, 2002.  
Cotton and J. Wilkinson, Química Inorgánica Avanzada, Ed. Limusa Wiley S.A, segunda edición, México, 1973, pp. 879-894.

PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS

1. OBJETIVOS

- Llevar a cabo algunas reacciones que permiten a través de una coloración específica el reconocimiento de algunos aminoácidos.
- Reconocer mediante reacciones de precipitación la desnaturalización de proteínas.

2. MARCO TEÓRICO

Las proteínas son biopolímeros constituidos por aminoácidos, los cuales se conectan unos con otros a través de enlaces amida (enlaces peptídicos). Las proteínas están presentes en carnes, huevos y cereales como frijol, garbanzo y lenteja, entre otros. Son los compuestos más abundantes en los seres vivos y desempeñan funciones importantes en casi todos los procesos biológicos. Entre sus funciones tenemos: Soporte estructural y movimiento del cuerpo humano, en el tejido conectivo (cartílago y tendones), como catalizadores biológicos (enzimas), como agentes de transporte (hemoglobina), como agentes de comunicación (hormonas) y finalmente como agentes de almacenamiento (albúmina).

Por convención, el aminoácido con el grupo amino libre se escribe siempre al lado izquierdo y se denomina aminoácido con N-terminal, el aminoácido con el grupo carboxilo libre, se escribe al lado derecho y se denomina aminoácido con el C-terminal (Figura 1).

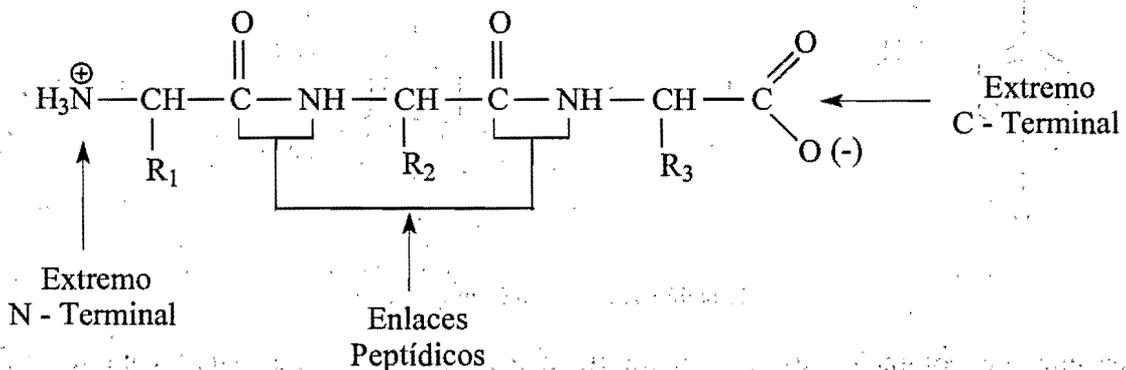


Figura 1. Estructura general de las Proteínas

En la estructura general de los aminoácidos R puede ser de naturaleza alifática, aromática, alcohólica, azufrada, básica, ácida y amídica.

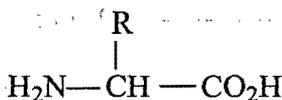
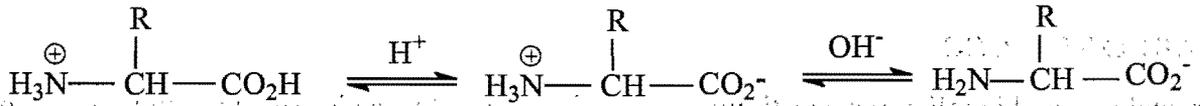


Figura 2. Estructura general de los aminoácidos

## PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

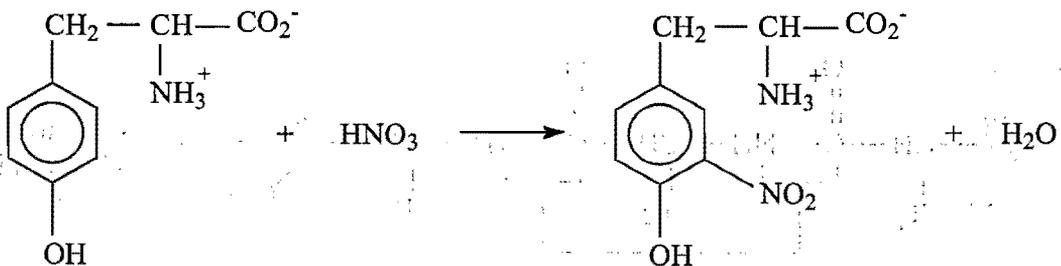
La presencia simultánea en los aminoácidos de un grupo básico y un grupo ácido justifica sus propiedades anfotéricas, es decir, su capacidad para aceptar y donar  $H^+$ . En una solución ácida fuerte, los aminoácidos están totalmente protonados. Si la solución es casi neutra, los aminoácidos existen como iones dipolares, llamados Zwitteriones. A valores de pH altos los aminoácidos se cargan negativamente ya que los iones hidróxido del medio reciben el  $H^+$  del aminoácido.



Esquema 1. Estructura general de los aminoácidos a diferente valor de pH

Las proteínas reflejan las propiedades químicas de los aminoácidos presentes en ella, así por ejemplo algunas de sus reacciones de coloración se deben a un aminoácido específico o a las uniones peptídicas presentes en ellos.

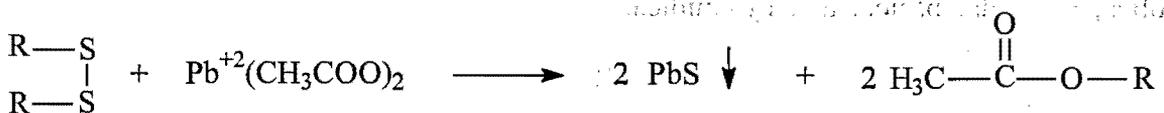
Entre este tipo de reacciones se encuentra la **reacción xantoprotéica**, que sirve para identificar los aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptófano) cuando se hacen reaccionar con ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ ). En esta reacción el anillo aromático sufre una sustitución electrofílica, que se identifica por el color amarillo del producto. En la ecuación 1 se muestra la reacción xantoprotéica entre la tirosina (Tyr) y el  $\text{HNO}_3$ .



color amarillo

Ecuación 1. Reacción Xantoprotéica

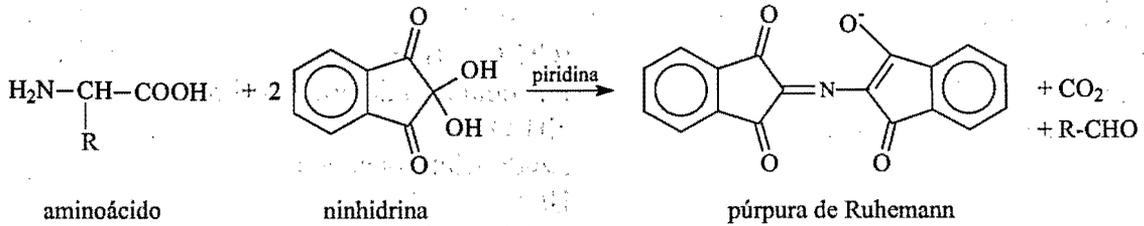
Otra reacción de coloración es la **prueba de azufre reducido**, que sirve para identificar los aminoácidos que contienen azufre en su estructura, tal como la cisteína (RSH) y la cistina (R-S-S-R), estos dos aminoácidos al reaccionar con NaOH y acetato de plomo producen un precipitado café a negro correspondiente al sulfuro de plomo  $\text{PbS}$ . La siguiente reacción sugiere los productos formados:



Ecuación 2. Prueba del azufre reducido

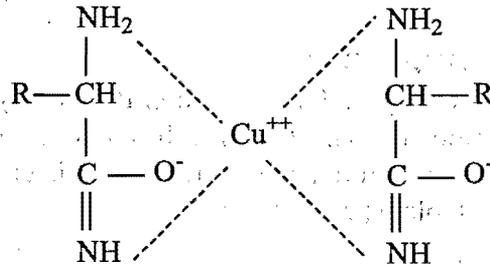
La **ninhidrina** es el reactivo más comúnmente utilizado para detectar aminoácidos y determinar su concentración en las soluciones. Cuando la ninhidrina reacciona con un aminoácido, independiente de su estructura, la cadena lateral se pierde en forma de aldehído, produciendo un tinte de color

púrpura. La intensidad del color es un indicativo de la concentración de los aminoácidos, así, entre más intenso mayor será la concentración de los aminoácidos presentes.



Ecuación 3. Reacción cualitativa con ninhidrina para identificar un aminoácido.

La prueba de Biuret representa otra reacción de coloración; en ella una proteína se mezcla con una solución de NaOH y una solución débil de sulfato de cobre, que da lugar a una coloración violeta. Este ensayo sirve para detectar la presencia de un enlace peptídico y será positivo cuando están presentes dos o más enlaces peptídicos. El color se debe a la presencia de un complejo de coordinación con  $\text{Cu}^{2+}$ , en el cual cuatro moléculas de agua normalmente coordinadas con el ión cúprico son desplazadas por los grupos amino de los enlaces peptídicos.



Una proteína será biológicamente activa cuando su estructura en todos los niveles (estructura primaria, secundaria terciaria y/o cuaternaria) no haya sido alterada. Con excepción de la estructura primaria, todos los niveles de estructura se mantienen estables por solvatación débil y por diferentes interacciones (puentes de hidrógeno, fuerzas salinas, dipolares e hidrofóbicas). Cambios pequeños en el ambiente pueden originar un cambio químico o conformacional que conducen a la **desnaturalización**: Pérdida de la estructura normal (a excepción de la primaria) y de la actividad biológica con formación de precipitados; tal desnaturalización puede ocurrir por exposición de la proteína al calor, luz UV, ácidos y bases, solventes orgánicos y sales de metales pesados, entre otros.

Un ejemplo de la desnaturalización de proteínas es la cocción de la clara de huevo; ésta contiene proteínas globulares solubles llamadas albúminas, que al calentarse se desenrollan y se coagulan para producir una masa sólida elástica e insoluble en agua.

Por otro lado, cuando una proteína se somete a un pH ácido, algunos de los grupos carbonilo de las cadenas laterales se protonan y pierden su carga iónica, produciéndose cambios conformacionales que provocan su desnaturalización.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Albúmina de huevo al 2%  
Fenilalanina  
Alanina  
Triptófano  
Ácido glutámico  
Lisina  
Valina  
Isoleucina  
ninhidrina

NaOH 50%  
CuSO<sub>4</sub> 5%  
(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb 2%  
Ferrocianuro de potasio al 5%  
NH<sub>4</sub>OH  
Ácido tricloroacético  
HCl  
CH<sub>3</sub>COOH  
HNO<sub>3</sub>

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1. REACCIÓN XANTOPROTÉICA

Coloque en 1 tubo de ensayo 2ml de proteína (albúmina de huevo) al 2%, luego adicione 1ml de ácido nítrico concentrado y caliente con precaución. Anote sus resultados en la tabla de respuestas. Repita este procedimiento tomando en lugar de la albúmina de huevo los aminoácidos tirosina y alanina.

#### 4.2 REACCIÓN DE AZUFRE REDUCIDO

Coloque en 1 tubo de ensayo 2ml de proteína (albúmina de huevo) al 2%, luego agregue 3ml de NaOH y 1ml de acetato de plomo al 2%. Caliente hasta obtener una coloración oscura en la solución. Repita esta prueba con los aminoácidos tirosina y cisteína en lugar de la albúmina de huevo. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.3 REACCIÓN DE NINHIDRINA

Coloque en 1 tubo de ensayo 1ml de proteína (albúmina de huevo) al 0.5%; calibre esta solución a un valor de pH igual a 7. (eventualmente se requiere adicionar gotas de una base). A continuación adicione 10 gotas de solución de ninhidrina al 0.2% y caliente en un baño de agua a 100 °C durante 10 minutos. Repita este procedimiento utilizando en lugar de la proteína, glicina y la glucosa. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.4 REACCIÓN DE BIURET

Coloque en 1 tubo de ensayo 1ml de una solución de proteína (albúmina de huevo) al 2%, adicione 1ml del reactivo de Biuret ya preparado. Un color violeta rosado deberá desarrollarse como señal positiva de esta reacción. Repita este procedimiento utilizando en lugar de la proteína el aminoácido glicina. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

El reactivo de Biuret es una combinación de NaOH y CuSO<sub>4</sub>

#### 4.5 COAGULACIÓN POR CALOR

Coloque en 1 tubo de ensayo 2ml de solución de proteína (albúmina de huevo), agregue 1ml de NaCl al 5% y caliente hasta ebullición. Repita este procedimiento con el aminoácido asignado en lugar de la proteína. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.6 PRECIPITACIÓN POR ÁCIDOS MINERALES FUERTES

Vierta por las paredes del tubo que contiene 2ml de proteína o aminoácido, 1ml de ácido nítrico concentrado, formando una capa debajo de la proteína. Observe el precipitado que se forma en la interfase. Repita este procedimiento con ácido clorhídrico concentrado. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

### 5. RESULTADOS

#### 5.1 REACCIÓN XANTOPROTÉICA

COMPUESTO	PRUEBA XANTOPROTÉICA		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
Proteína				
Aminoácido				

CONCLUSIONES:

---

---

---

#### 5.2 REACCIÓN DE AZUFRE REDUCIDO

COMPUESTO	PRUEBA DE AZUFRE REDUCIDO		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
Proteína				
Aminoácido				

CONCLUSIONES:

---

---

---

### 5.3 REACCIÓN DE NINHIDRINA

COMPUESTO	PRUEBA CON NINHIDRINA		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
Proteína				
Aminoácido				

CONCLUSIONES:

---

---

### 5.4 REACCIÓN DE BIURET

COMPUESTO	PRUEBA DE BIURET		REACCIÓN	OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa		
Proteína				
Aminoácido				

CONCLUSIONES:

---

---

### 5.5 COAGULACIÓN POR CALOR

COMPUESTO	COAGULACIÓN POR CALOR		OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa	
Proteína			
Aminoácido			

CONCLUSIONES:

---

---

## 5.6 PRECIPITACIÓN POR ÁCIDOS MINERALES FUERTES

COMPUESTO	PRECIPITACIÓN CON HNO <sub>3</sub> y HCl		OBSERVACIONES
	Positiva	Negativa	
Proteína			
Aminoácido			

### CONCLUSIONES:

---

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

- H. Hart, D. J Hart, L. E. Craine, Química Orgánica, Ed. Mc Graw Hill, novena edición, México, 1995.  
A. Calero, J. Restrepo. Manual de Prácticas de Bioquímica, Universidad del Valle, Santiago de Cali, 1987.  
L. G. Wade., Química Orgánica, Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana S.A, México, 1993.

1. OBJETIVOS

- Observar el comportamiento de algunos aminoácidos en medios de diferente acidez.
- Identificar las especies iónicas y la carga que presentan los aminoácidos a medida que varía el pH del medio y con ello la diferencia entre las constantes más importantes de los aminoácidos: pKa y pI.
- Realizar la titulación de un aminoácido y su correspondiente curva de titulación.
- Determinar a partir de la curva de titulación los valores de los pKa, pH y la posición de las formas iónicas del aminoácido.

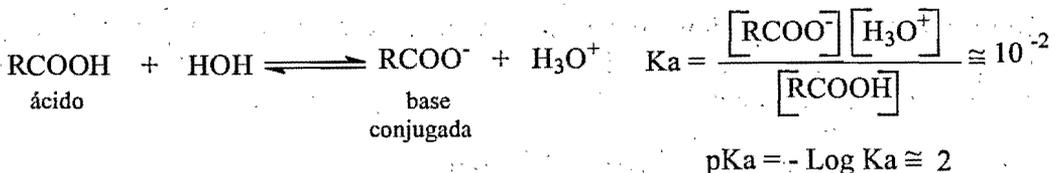
2. MARCO TEÓRICO

La actividad biológica de las enzimas y proteínas está en general influenciada por la acidez del medio en el cual se encuentran, pues los aminoácidos, sus unidades constitutivas, se pueden presentar en forma iónica o dipolar (zwitterión) dependiendo del pH del medio. Estas formas dipolares se han deducido de pruebas experimentales como son su baja solubilidad y su alta temperatura de fusión.

2.1 ACIDEZ, Ka y pKa.

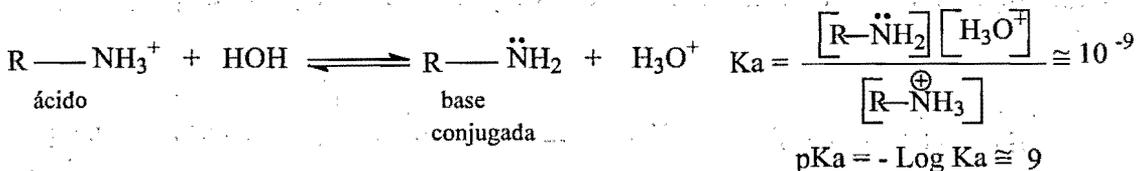
En 1923 Bronsted y Lowry definieron como ácidos a las sustancias capaces de donar o perder un protón (H<sup>+</sup>) en una reacción química; si esa capacidad es alta, se dice que el ácido es fuerte y por el contrario, si la tendencia a donar el protón es baja se dice que el ácido es débil. Esta tendencia de donación esta cuantificada por una constante de acidez, Ka, cuyo valor nos indica el carácter fuerte o débil del ácido considerado.

Los ácidos carboxílicos y las aminos protonadas son sustancias ácidas comunes. La ecuación 1 muestra la disociación de los ácidos carboxílicos y su correspondiente constante de equilibrio.



Ecuación 1. Disociación de ácidos carboxílicos

Las aminos protonadas pueden igualmente disociarse en agua, como se muestra a continuación en la ecuación 2.



Ecuación 2. Disociación de aminos

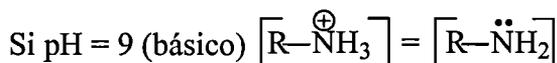
Por el valor de las constantes de acidez (Ka), se comprueba que los ácidos carboxílicos son ácidos más fuertes que las aminos protonadas.

## 2.2 ECUACIÓN DE HENDERSON HASSELBALCH (HH)

Para conocer las especies químicas predominantes a un determinado valor de pH se utiliza la ecuación de Henderson-Hasselbalch, cuya expresión se muestra a continuación:

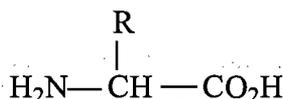
$$\text{pH} = \text{pKa} + \text{Log} \frac{[\text{Base onjugada}]}{[\text{ácido}]}$$

Si la aplicamos a los ácidos carboxílicos y a las aminas protonadas, podemos deducir que:

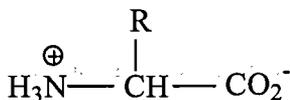


## 2.3 FORMA POLAR DE LOS AMINOÁCIDOS

Cualquiera de los 20 aminoácidos proteicos se puede representar por la siguiente estructura general:



Cuya forma iónica precisa depende de la acidez del medio donde se encuentra el aminoácido. Para los aminoácidos con el grupo R neutro, a pH celular cercano a 7, la estructura será la siguiente:



Esta es la forma dipolar o **Zwitterión**, cuya carga neta es cero, y que en presencia de un campo eléctrico, no se desplaza ni al cátodo ni al ánodo. Si el pH es diferente a 7 los aminoácidos presentan otras formas iónicas con cargas netas positivas o negativas.

## 2.4 PROPIEDADES ANFOTÉRICAS DEL IÓN DIPOLAR

Una característica de esta forma dipolar de los aminoácidos es su naturaleza anfotérica, ya que tienen la capacidad de reaccionar con los ácidos y con las bases. En medio ácido la especie predominante tendrá carga igual a +1, mientras que en medio básico la carga neta será igual a -1. (Figura 1). La figura 2 muestra la existencia de estas especies según el valor de pH.



Carga +1

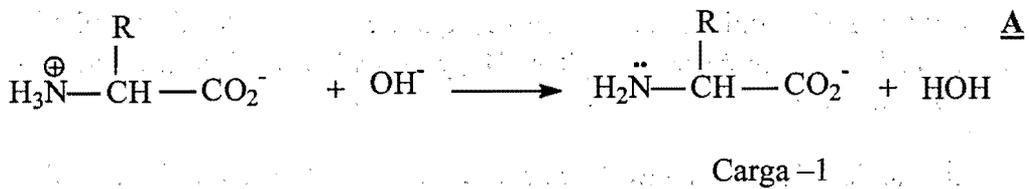


Figura 1. Estructura general de un aminoácido. A Medio ácido. B Medio básico

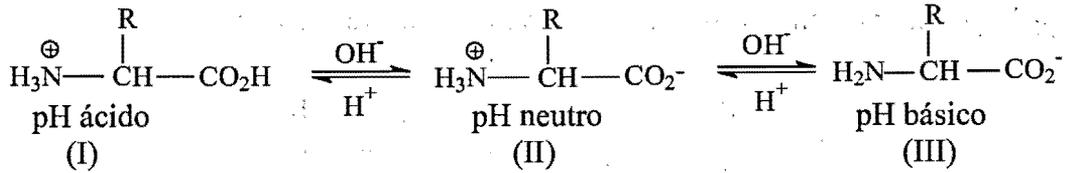


Figura 2. Especies iónicas de un aminoácido según valor de pH

Si suponemos que para el primer equilibrio, de I a II, el  $\text{pK}_a \cong 2$  y para el segundo equilibrio, de II a III, el  $\text{pK}_a \cong 9$ , la aplicación de la ecuación de Henderson Hasselbalch, nos permite afirmar lo siguiente:

A  $\text{pH} < 2.0$  el aminoácido existe fundamentalmente como la estructura I.

A  $\text{pH} \cong 2$ , el aminoácido existe en las formas I y II en concentraciones iguales de cada una.

A  $2.0 < \text{pH} < 9.0$ , la especie predominante del aminoácido es la dipolar II, que en este rango de pH existe en equilibrio con las otras formas. Si calculamos el valor medio del rango, 5.5, obtenemos el pH exacto al cuál solo existe la forma dipolar; es el llamado **punto isoeléctrico**,  $\text{pI}$ , definido como el pH al cuál el aminoácido es eléctricamente neutro, y por lo tanto no se desplaza bajo un campo eléctrico.

A  $\text{pH} = 9.0$ , coexisten en igual proporción dos formas del aminoácido, la II y la III.

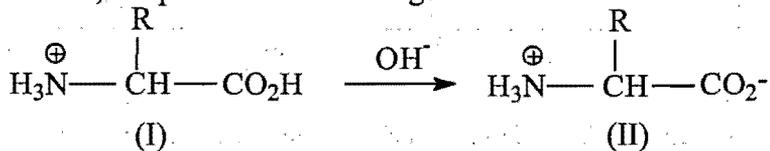
A  $\text{pH} > 9.0$ , el aminoácido existe predominantemente en la forma III.

## 2.5 TITULACIÓN DE UN AMINOÁCIDO

La titulación es un procedimiento analítico que consiste en agregar al aminoácido cantidades sucesivas de un agente titulante (ácido ó base) registrando simultáneamente los valores de pH que se generan. Los datos obtenidos se trasladan a un plano cartesiano, en donde los volúmenes del titulante se ubican en la abscisa (eje x) y los valores de pH en la ordenada (eje y), de la unión de estos puntos se obtiene una gráfica denominada "curva de titulación", a partir de la cual se puede determinar los valores de  $\text{pK}_a$  de los aminoácidos.

Consideremos el equilibrio en la figura 2, suponiendo que el aminoácido se encuentra en la forma I, la más protonada y se va a titular con NaOH; lo que va ocurriendo químicamente es:

- Sin adicionar NaOH, la medida del pH mostrará un valor cercano a 1 indicando la presencia de la especie I.
- Al agregar NaOH, empieza a ocurrir la siguiente reacción:

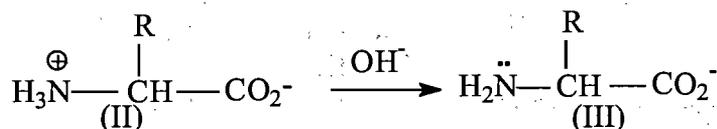


Y se establece un equilibrio entre las especies I y II, cuyo  $\text{pK}_a \cong 2$ . La base reacciona con el grupo  $\alpha\text{-COOH}$ , consume la especie I y produce la especie II. Si se agrega una cantidad de  $\text{OH}^-$

equivalente a la mitad de la cantidad de I, significa que se ha neutralizado la mitad de I y se ha formado igual cantidad de II, es decir, que  $[I] = [II]$  y según la ecuación de Henderson, el pH del medio será igual al  $pK_a$ , o sea 2.

Si se agrega una cantidad de  $OH^-$  equivalente a la de I, se habrá neutralizado todo el grupo  $\alpha-COOH$  y la forma I desaparecerá, transformándose totalmente en II, que es la forma dipolar, en este punto el pH del medio debe ser el punto isoeléctrico del aminoácido, 5.5.

- Al agregar más cantidad de NaOH ocurre la siguiente reacción:



y se establece un equilibrio entre las especies II y III, cuyo  $pK_a \cong 9$ . Nueva cantidad de base comienza a reaccionar con el grupo  $\alpha-NH_3^+$ ; se va consumiendo la especie II y se va generando la especie III.

La adición de 0.5 equivalentes de NaOH, para un total de 1.5 consume la mitad de la especie II y produce igual cantidad de III; es decir; que  $[II] = [III]$  y de acuerdo a la ecuación de Henderson Hasselbalch, el medio sería igual al  $pK_a$ , o sea 9.

La adición de otros 0.5 equivalentes de base, para un total de 2.0, habrá consumido toda la forma II, transformada ahora en la forma III; el pH de la solución tendrá que ser mayor que 9.

Ubicando los datos anteriores en un plano cartesiano, obtenemos la "curva de titulación" del aminoácido:

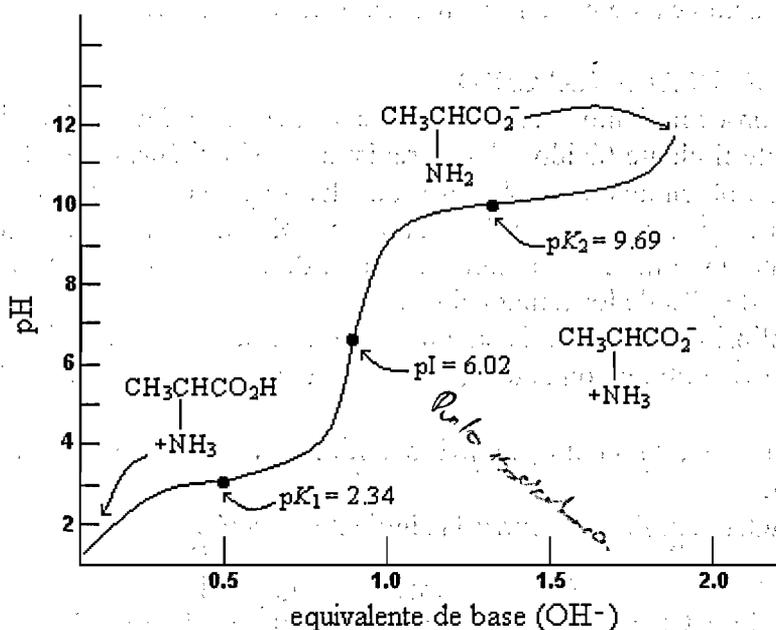
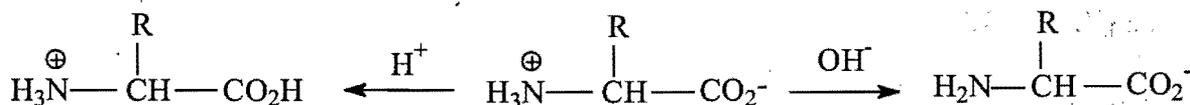


Figura 3. Curva de titulación de un aminoácido como el clorhidrato de alanina. (Tomado de Química Analítica Cuantitativa, R.A. Day Jr, A.L. Underwood).

La forma de la curva de titulación presenta dos regiones planas amortiguadoras y una inflexión con una verticalidad muy pronunciada; las regiones planas indican la mínima variación del pH a medida que se agrega la base, ello muestra la presencia de dos sistemas amortiguadores, el primero formado por las especies I y II, y el segundo por las especies II y III. La máxima capacidad de ellos se obtiene a la mitad de cada semititulación, cuando  $[I] = [II]$  y  $[II] = [III]$ ; al llevar estas igualdades a la ecuación de Henderson Hasselbalch, se deduce que la máxima capacidad ocurre cuando el  $pH = pK_a$ ; para el primer sistema el punto medio muestra un  $pH = 2$ , y ese será el  $pK_a$  del equilibrio entre las especies I y II, en el otro sistema el punto medio ocurre a un  $pH = 9$  y será por lo tanto el  $pK_a$  del equilibrio entre las formas II y III.

La región vertical de la curva indica una variación brusca del pH con mínimas adiciones de NaOH, denotando la finalización de la primera semititulación y obviamente la no presencia de sistemas amortiguadores; igual situación ocurre al inicio y final de toda la titulación (extremos de la curva), donde la presencia mayoritaria de una sola especie provoca esas variaciones bruscas en el pH. Lo práctico de este hecho es que normalmente sirve para mostrar el punto final de la titulación y para determinar con cierta aproximación el punto isoeléctrico del aminoácido, entendido como el pH correspondiente al punto medio de la parte más vertical de la curva de titulación, que en este caso sería 6.02.

Para la parte experimental, como no se dispone de la especie I, que es la más protonada, si no de la II (dipolar) que es la que se preparará a pH neutro, será necesario realizar dos titulaciones, una con NaOH y otra con HCl, tal como se indica en la reacción:



La unión adecuada de las dos gráficas obtenidas mostrará la curva de titulación global para el aminoácido.

**Nota:** Los valores de  $pK_a$  y  $pI$  para la titulación del aminoácido alanina corresponden a las condiciones específicas de medición efectuadas por los autores referenciados.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

- Aminoácidos disponibles de concentración 0.1 M
- Solución de NaOH 0.1 M
- Solución de HCl 0.1 M
- PH-metro
- Bureta de 25 ml
- Beakers de 50 ml
- Agitador magnético
- Agua destilada
- Papel milimetrado

#### 4. PROCEDIMIENTO

1. Con la ayuda del laboratorista conozca el funcionamiento del pH-metro.
2. En un beaker de 50ml agregue 15ml del aminoácido de concentración 0.1M y sumerja el electrodo indicador de pH; anote su valor.
3. Con un poco de NaOH 0.1M enjuague una bureta de 25ml; proceda luego a llenarla con NaOH 0.1M.
4. Deje caer desde la bureta y sobre el aminoácido 1.0ml de NaOH; agite la solución y proceda a medir y anotar el pH. Después de haber adicionado 10 ml de NaOH se recomienda seguir agregando volúmenes de 0.5 ml de NaOH para poder observar todos los cambios.
5. Repita este procedimiento hasta gastar entre 15 y 20ml de NaOH. No olvide medir y anotar el pH después de cada adición del titulante.
6. Consulte al laboratorista donde depositar el NaOH sobrante; proceda luego a enjuagar la bureta con abundante agua.
7. Inicie de nuevo el procedimiento desde el literal 4.2, pero usando en la bureta HCl 0.1 M en vez de NaOH 0.1 M.
8. En papel milimetrado proceda a graficar pH Vs ml de titulante; procurando obtener una sola curva de titulación para todo el experimento.
9. De la curva anterior deduzca y justifique, para el aminoácido que esta titulando, los valores de  $pK_{a1}$ ,  $pK_{a2}$  y pI. Compárelos con los reportados en la literatura.
10. Escriba la reacción que sufre la forma dipolar del aminoácido titulado con HCl y con NaOH. Ubique la posición de los productos en la curva de titulación.

#### 4. RESULTADOS

##### 5.1 TITULACIÓN CON NaOH

Aminoácido utilizado: \_\_\_\_\_  
pH inicial: \_\_\_\_\_

Volumen del titulante (ml)	Valor de pH	Volumen del titulante (ml)	Valor de pH

## 5.2 TITULACIÓN CON HCl

Aminoácido utilizado: \_\_\_\_\_

pH inicial: \_\_\_\_\_

Volumen del titulante (ml)	Valor de pH	Volumen del titulante (ml)	Valor de pH

## 5.3 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE TITULACIÓN Y DEDUCCIÓN DE LOS SIGUIENTES VALORES

El valor de  $pK_{a1}$  es: \_\_\_\_\_

El valor de  $pK_{a2}$  es: \_\_\_\_\_

El valor de pI es: \_\_\_\_\_

La reacción que sufre la forma dipolar del aminoácido titulado con HCl y NaOH es:

## 5.4 CONCLUSIONES

---

---

---

---

## BIBLIOGRAFÍA

Villa, Marín H., Prácticas de Laboratorio de Bioquímica, Universidad Nacional de Colombia, 1999.

Brown, T.L. y Lemay, H. Química, La Ciencia Central, Ed. Prentice Hall, tercera edición, México, 1989.

Conn, E; Stumpf, P.K. Bruening; Doi, R.H. Bioquímica Fundamental, Ed. Limusa, México, 1996.

Hart, H., Hart, D.J. y Craine, L.E. Química Orgánica, Ed. Mac Graw Hill, novena edición, México, 1995.

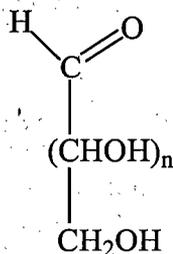
J. A. Correa, profesor Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. 2000.

## 1. OBJETIVO

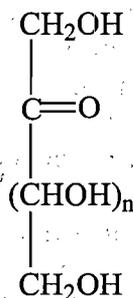
- Realizar algunas reacciones químicas que permiten identificar los carbohidratos.
- Llevar a cabo algunas pruebas específicas para diferenciar monosacáridos de disacáridos, aldosas de cetosas, pentosas de hexosas, así como azúcares reductores de no reductores.

## 2. MARCO TEÓRICO

Los carbohidratos se definen como polihidroxialdehídos, polihidroxicetonas o sustancias que por hidrólisis producen cualquiera de estos compuestos. El nombre de los carbohidratos se caracteriza por la terminación *osa* (sacarosa, glucosa, fructosa) y según el grupo carbonilo que presenten se clasifican en aldosas (función aldehído) o cetosas (función cetona).



polihidroxialdehído

A

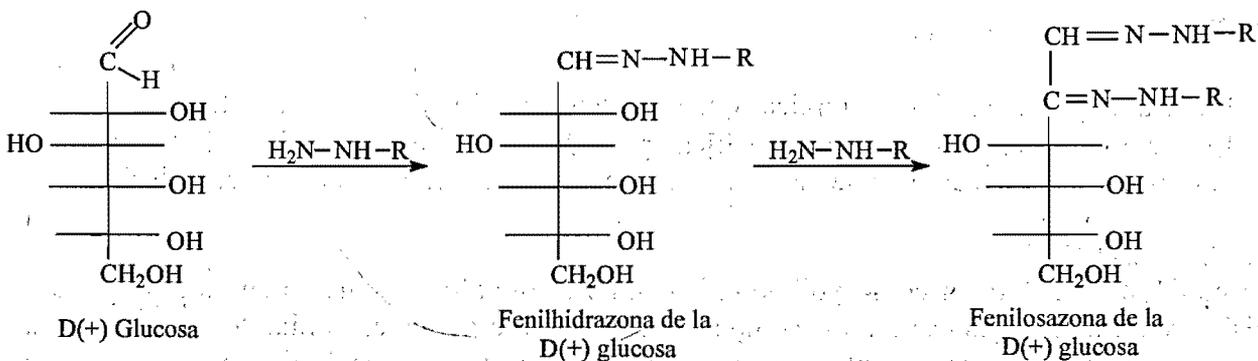
polihidroxicetona

BEsquema 1. Clases generales de monosacáridos: A aldosa, B cetosa

Los carbohidratos se clasifican de forma general como monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los monosacáridos comprenden todos los carbohidratos sencillos que no pueden hidrolizarse en otros más simples, por ejemplo, la glucosa (una aldosa). Los oligosacáridos son aquellos que por hidrólisis generan entre 2 y 10 unidades de monosacáridos, entre ellos tenemos melicitosa y sacarosa (disacáridos). Los polisacáridos al hidrolizarse generan moléculas más pequeñas (oligosacáridos y monosacáridos), el almidón es el ejemplo típico de esta clase de carbohidratos. Con excepción de los polisacáridos todos los carbohidratos son solubles en agua, poseen un sabor más ó menos dulce y son llamados azúcares.

Las aldosas, cetosas y en general los  $\alpha$ -hidroxialdehídos y  $\alpha$ -hidroxicetonas reaccionan hasta con tres moléculas de fenilhidrazina ( $\text{H}_2\text{N-NH-Ph}$ ). La reacción con una mol de fenilhidrazina forma la fenilhidrazona, que es demasiado soluble para ser aislada; la reacción de condensación con una segunda molécula de fenilhidrazina conduce a la formación de las osazonas (ecuación 1), en donde el C-1 y C-2 se han condensado con fenilhidrazina. Las osazonas son sólidos amarillos poco solubles y se utilizan en la identificación y determinación de la estructura de azúcares, pues se

forman en tiempos diferentes según el azúcar de donde provengan, cristalizan y presentan puntos de fusión definidos.

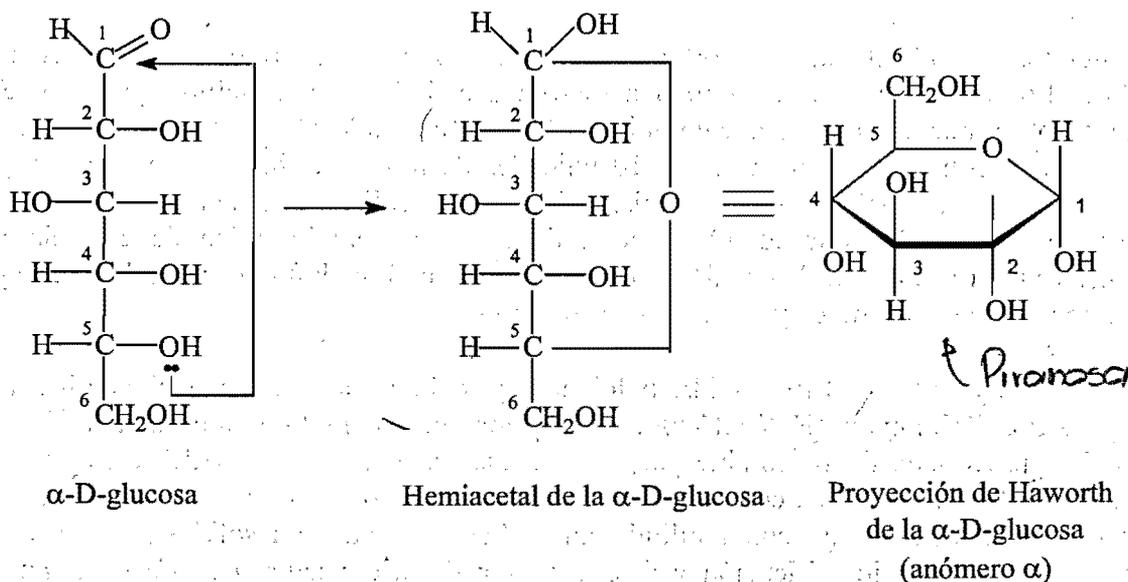


Ecuación 1. Reacción de la glucosa con la fenilhidrazina

Una reacción típica entre el grupo carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ) de aldehídos y cetonas y el grupo hidroxilo de alcoholes ( $-\text{OH}$ ) es la formación de hemiacetales y acetales (de aldehídos) y correspondientemente hemicetales y cetales (de cetonas).

Los hemiacetales o hemicetales acíclicos son estructuras inestables, por lo cual el producto que se aísla es siempre el acetal ó cetal (producto de la reacción entre el grupo carbonilo con dos moléculas de alcohol). La presencia simultánea del grupo carbonilo e hidroxilo en un carbohidrato conlleva por medio de una reacción intramolecular a la formación de un hemiacetal ó hemicetal de tipo cíclico (generalmente anillos de 6 ó 5 miembros, dependiendo de que grupo hidroxilo ataque al grupo carbonilo), la estabilidad del mismo justifica porque los carbohidratos se encuentran principalmente en esta forma cíclica y no en la forma abierta.

Las estructuras hemiacetálicas y hemicetálicas de carbohidratos se representan usualmente por medio de las proyecciones de Haworth, como se muestra en el Esquema 2.



Esquema 2. Conversión de la D-glucosa a su forma hemiacetálica y representación en la proyección de Haworth (anómero  $\alpha$ )

Las aldosas y las  $\alpha$ -hidroxicetosas se pueden oxidar bajo condiciones suaves, para ello se utiliza los reactivos de Tollens, Fehling o Benedict. Los disacáridos pueden dar reacciones positivas o negativas dependiendo de la forma de unión del enlace glicosídico (enlace acetálico o cetálico). Un azúcar que después de formarse conserva el grupo hidroxilo libre sobre el carbono hemiacetal o hemicetálico (carbono anomérico) siempre será reductor, en caso contrario se denomina no reductor (Figura 1).

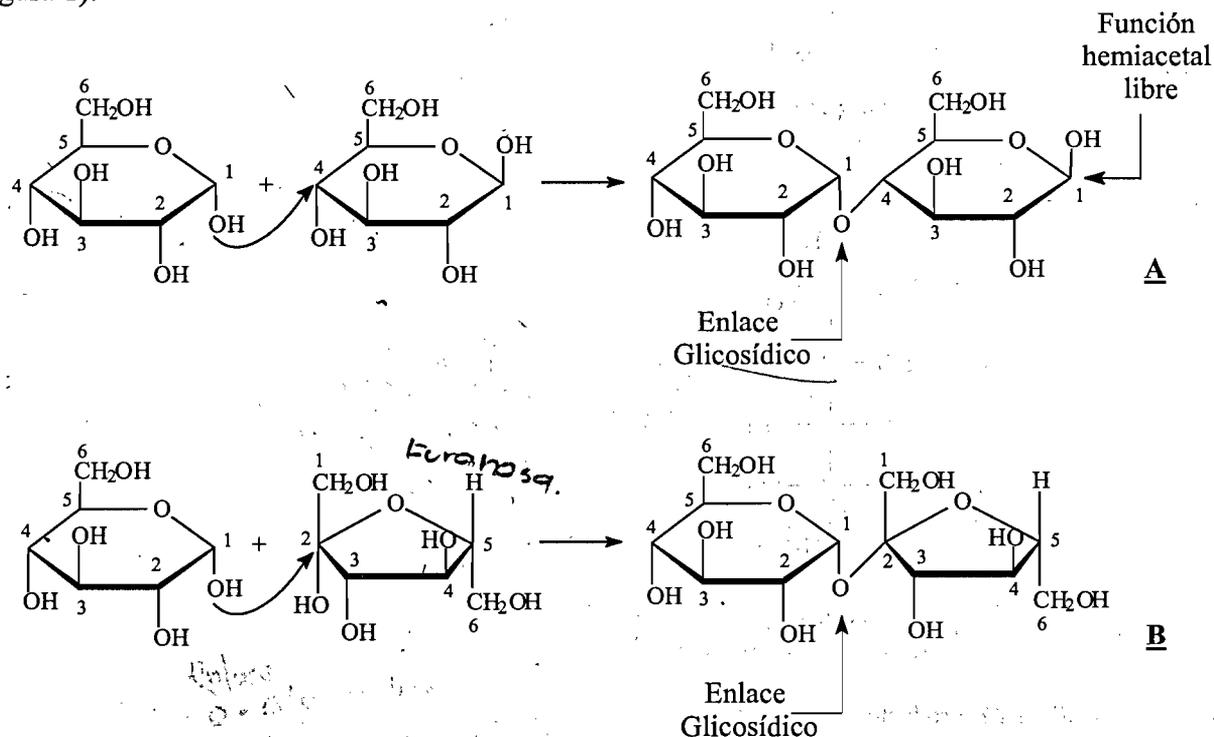
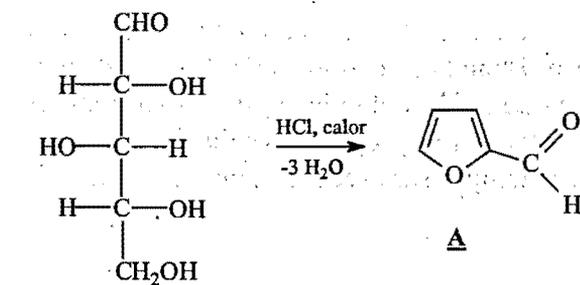


Figura 1. A Azúcar reductor (maltosa). B Azúcar no reductor (sacarosa).

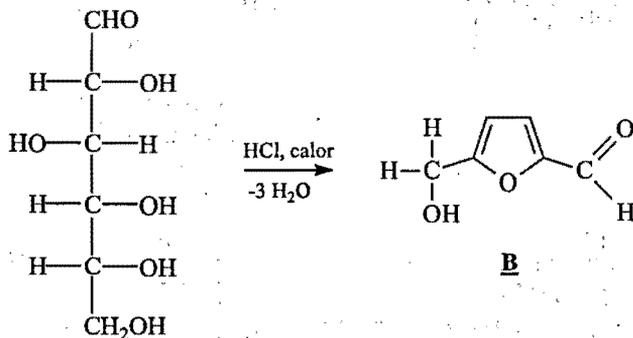
La reacción de hidrólisis de los disacáridos se realiza eficientemente en medio ácido (HCl / calor) o mediante enzimas específicas y conduce al rompimiento del enlace glicosídico liberando los dos monosacáridos.

El tratamiento de los disacáridos y polisacáridos con ácidos concentrados causa inicialmente hidrólisis y posteriormente los monosacáridos formados se convierten en furfurales si son pentosas o en hidroximetilfurfurales si son hexosas (ver figura 2) con la pérdida de tres moléculas de agua.

Los furfurales y los hidroximetilfurfurales se condensan con fenoles formando productos coloreados, así por ejemplo, en la **prueba de Molisch**, que es una prueba general para reconocer carbohidratos, el  $\alpha$ -naftol se condensa con estos compuestos generando productos de color púrpura.



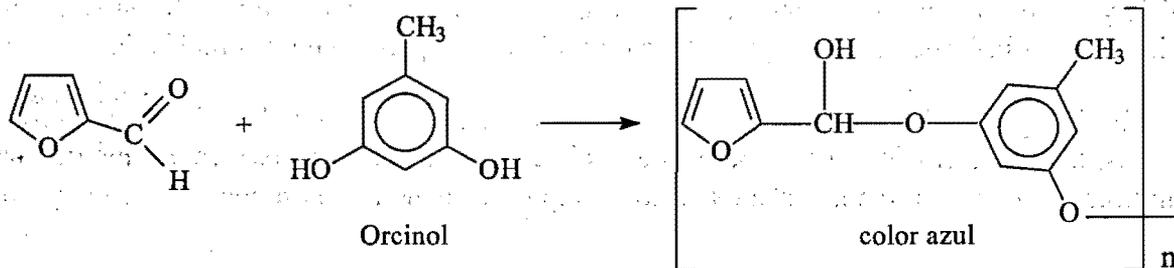
una pentosa  
(azúcar con 5 carbonos)



una hexosa  
(azúcar con 6 carbonos)

**Figura 2.** Productos de la hidrólisis de polisacáridos con ácidos concentrados **A** Furfural  
**B** Hidroximetilfurfural

Para diferenciar entre furfurales e hidroximetilfurfurales, es decir, entre pentosas y hexosas se utiliza pruebas como la de Bial y la de Seliwanoff. Así, en la **prueba de Bial** el orcinol permite reconocer las pentosas, nucleótidos o polisacáridos que contengan azúcares pentosas por una coloración azul. Esta coloración se atribuye a la formación de un producto de condensación, un complejo, para el cual se sugiere la estructura mostrada en la Figura 3.



**Figura 3.** Prueba de Bial. Estructura sugerida del producto de adición

Por otra parte, la **prueba de Seliwanoff** (ácido clorhídrico concentrado más resorcinol) es específica para hexosas, este ensayo se basa en la formación de un compuesto que resulta de la reacción del hidroximetilfurfural y el resorcinol, cuya coloración puede variar del rosa al rojo. Como las cetosas

se deshidratan mucho más rápido que las aldosas, la velocidad en la aparición del color permite su identificación a igual concentración de azúcar. Así por ejemplo, las cetohehexosas (como la fructosa) forman el hidroximetilfurfural más rápido que las aldohexosas con una coloración roja intensa, diferente a un ligero color rosado producido por las aldohexosas. La figura 4 muestra la estructura sugerida para el complejo ó producto de condensación en esta reacción de identificación de carbohidratos.

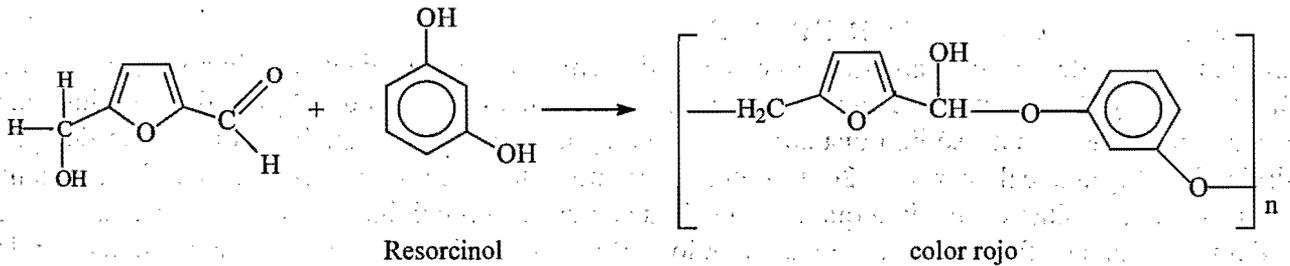
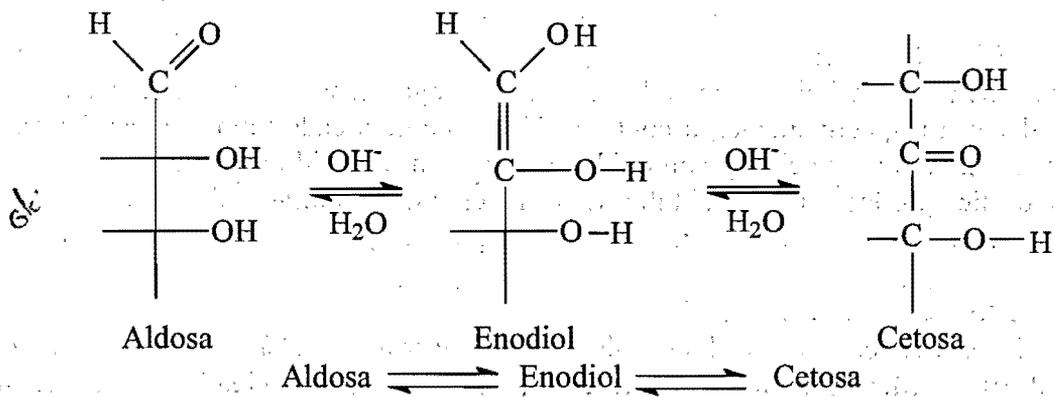


Figura 4. Prueba de Seliwanoff. Estructura sugerida del producto de adición

Tanto las aldosas como las  $\alpha$ -hidroxicetonas dan positiva la prueba de oxidación con los reactivos de Tollens, Fehling y Benedict, debido a que estas últimas en medio alcalino presentan un equilibrio de isomerización, como se muestra en el esquema 3.



Esquema 3. Equilibrio isomérico de las cetosas en medio alcalino.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubos de ensayo  
 Pipetas graduadas  
 Espátula  
 D(+)-Glucosa  
 D(-)-Fructosa  
 Sacarosa  
 Lactosa  
 Acetato de sodio galactosa

Hidrocloruro de fenilhidrazina  
 Reactivo de Fehling  
 Hidróxido de sodio 10%  
 Ácido clorhídrico concentrado  
 Ácido sulfúrico concentrado  
 $\alpha$ -naftol 1%  
 Orcinol  
 Resorcínol

- Reactivo de Bial (se prepara disolviendo 300mg de orcinol en 100ml de HCl concentrado. A esta solución se agregan 0.5ml de FeCl<sub>3</sub> al 10%)
- Reactivo de Seliwanoff (se prepara disolviendo 50mg de resorcinol en 3.3ml de HCl concentrado y se diluye con 100ml de agua)

#### 4. PROCEDIMIENTO

##### 4.1 REACCIÓN CON LA FENILHIDRAZINA

En tres tubos de ensayo coloque por separado 1ml de las siguientes soluciones: Sacarosa D(+)Glucosa y D(-)Fructosa. A cada solución se le adicionan 0.2g de hidrocloreuro de fenilhidrazina y 0.3 gramos de acetato sódico disuelto en 3ml de agua. Agite y colóquelos en un baño de agua hirviendo. Déjelos calentar por 20 minutos. Durante este tiempo los cristales de fenilosazona empiezan a precipitar y a medida que la solución se enfría está precipitación se ve favorecida. Anote el tiempo en que se forman las osazonas para los respectivos azúcares. Registre sus resultados en la tabla de respuestas.

##### 4.2. PODER REDUCTOR DE LOS AZÚCARES

En cuatro tubos de ensayo coloque por separado 2 ml de las siguientes soluciones: Sacarosa, lactosa, D(+)Glucosa y D(-)Fructosa. A cada tubo adicione 10 gotas de reactivo de Fehling (0.5 ml de Fehling A y B) y caliente la mezcla. Anote sus observaciones en la tabla de respuestas.

##### 4.3 PRUEBA DE MOLISCH

En cuatro tubos de ensayo adicione separadamente 1ml de agua destilada y 1ml de glucosa, fructosa, sacarosa y galactosa respectivamente, a continuación adicione a cada tubo 4 gotas del reactivo de Molisch ( $\alpha$ -naftol). A continuación y con cuidado añada 2ml de ácido sulfúrico concentrado de tal forma que se deslice por las paredes del tubo. La formación de un anillo violáceo indica la presencia del carbohidrato. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

##### 4.4 HIDRÓLISIS DE LA SACAROSA

En un tubo de ensayo coloque 1ml de solución de sacarosa al 5% y adicione 1ml de ácido clorhídrico al 10%. Mezcle bien y caliente en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Enfríe y neutralice cuidadosamente con solución de NaOH al 10%. Realice posteriormente una prueba de Fehling como se hizo anteriormente. Anote sus resultados en la tabla de respuestas.

#### 4.5 IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS

##### 4.5.1 PRUEBA DE BIAL

A 2ml del reactivo de Bial contenidos en un tubo de ensayo adicione 0.5ml de solución de D(+)xilosa. Caliente el contenido en un baño maría hasta que aparezca una coloración. Repita la experiencia utilizando como azúcares soluciones de lactosa y D(+)ribosa. Anote las observaciones en la tabla de respuestas.

##### 4.5.2 ENSAYO DE SELIWANOFF

A tres tubos de ensayo que contienen por separado 1 ml de: D(+)glucosa, D(-)fructosa y sacarosa, adicioneles 1ml del reactivo de Seliwanoff (resorcinol mas ácido clorhídrico concentrado). Colóquelos en un baño de agua y anote el tiempo de formación del color en cada tubo. Registre sus resultados en la tabla de respuestas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 REACCIÓN CON LA FENILHIDRAZINA

COMPUESTO	Tiempo hasta la formación de osazonas	OBSERVACIONES	REACCIÓN
sacarosa			
D(+)-glucosa			
D(-)-fructosa			

### CONCLUSIONES:

---

---

---

---

### 5.2 PODER REDUCTOR DE LOS AZÚCARES

COMPUESTO	OBSERVACIONES	REACCIÓN
sacarosa		
lactosa		
D(+)-glucosa		
D(-)-fructosa		

**CONCLUSIONES:****5.3 PRUEBA DE MOLISCH**

COMPUESTO	PRUEBA DE MOLISCH		OBSERVACIONES	REACCIÓN
	POSITIVA	NEGATIVA		
Glucosa				
Fructosa				
Sacarosa				
Galactosa				

**CONCLUSIONES:**

#### 5.4 HIDRÓLISIS DE LA SACAROSA

COMPUESTO	OBSERVACIONES Y REACCIÓN
sacarosa	

CONCLUSIONES:

---



---



---

#### 5.5 PRUEBA DE BIAL

COMPUESTO	PRUEBA DE BIAL		OBSERVACIONES Y REACCIÓN
	Positiva	Negativa	
D(+xilosa			
D(+ribosa			
lactosa			

CONCLUSIONES:

---



---



---

## 5.6 ENSAYO DE SELIWANOFF

COMPUESTO	Tiempo hasta la aparición del color	OBSERVACIONES Y REACCIÓN
D(+)-glucosa		
D(-)-fructosa		
sacarosa		

### CONCLUSIONES:

---

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

- H. Hart, D. Hart and L.E. Craine, Química Orgánica, Ed. Mc Graw Hill , novena edición, México, 1995.  
A. Calero, J. Restrepo. Manual de Prácticas de Bioquímica, Universidad del Valle, Santiago de Cali, 1987.  
L. G. Wade. Química Orgánica, Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana S.A, México, 1993.  
R. Morrison and R. Boyd. Química Orgánica, Ed. Adison Wesley Longman, México, 1998.

## VITAMINAS: DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

### 1. OBJETIVOS

- Cuantificar el contenido de ácido ascórbico presente en algunas frutas.
- Reconocer que la titulación es un método sencillo para la identificación de la vitamina C.

### 2. MARCO TEÓRICO

En 1912 el bioquímico inglés F. Hopkins descubrió que las ratas sometidas a una dieta de productos "purificados" que contenía todas las sustancias consideradas hasta ese momento necesarias para la nutrición, detenían su proceso de crecimiento, el cual volvía a reactivarse cuando a las ratas se le suministraba diariamente una pequeña cantidad de leche fresca.

Este y otros experimentos similares demostraron la existencia en los alimentos de ciertas sustancias orgánicas, desconocidas hasta entonces, indispensables para el desarrollo animal. Sustancias a las que posteriormente el bioquímico C. Funk propuso denominar **Vitaminas**. En tan solo veinte años (de 1928 a 1948) se identificaron todas las vitaminas, se determinó su estructura química, se produjeron de forma sintética en el laboratorio y se estableció su papel en los procesos nutritivos. Ellas son sustancias orgánicas, de naturaleza y composición variada, que se necesitan en pequeñas cantidades, pues su presencia es imprescindible para el desarrollo normal del organismo. Las necesidades vitamínicas varían según las especies, la edad y con la actividad.

Tanto niños como niñas hasta los 13 años de edad tienen un requerimiento promedio de 45mg/día de vitamina C. Entre los 14 y 18 años ronda los 75mg y a partir de los 19 años, las recomendaciones son de 90mg para el hombre y 75mg para la mujer. Durante el embarazo y la lactancia estas cifras trepan hasta los 120mg diarios de esta vitamina.

Los vegetales, hongos y microorganismos son capaces de elaborarlas por sí mismos, los animales, salvo algunas excepciones, carecen de esta capacidad, por lo que deben obtenerlas a partir de los alimentos. En algunos casos, los animales obtienen algunas vitaminas a través de sus paredes intestinales, cuya flora bacteriana simbiótica las produce. Ciertas vitaminas son ingeridas como provitaminas (inactivas) y posteriormente el metabolismo animal las transforma en activas (en el intestino, en el hígado, en la piel, etc.) tras alguna modificación en sus moléculas. Las vitaminas son sustancias lábiles ya que se alteran fácilmente por cambios de temperatura y pH, así como por almacenamientos prolongados.

Las vitaminas no generan calorías sino que intervienen como **cocatalizadores** (factores coenzimáticos) en las reacciones bioquímicas provocando la liberación de energía, es decir, su función es ayudar a la labor de las enzimas en la transformación de los substratos a través de las vías metabólicas.

Existen dos clases de vitaminas, las **liposolubles** que son insolubles en agua y químicamente se trata de lípidos insaponificables, caracterizados por su incapacidad para formar jabones, ya que carecen en sus moléculas de ácidos grasos unidos mediante enlaces éster; entre éstas encontramos las vitaminas A, E, K y D. Por su parte, las vitaminas **hidrosolubles** son coenzimas ó precursores



de coenzimas necesarias para muchas reacciones químicas del metabolismo, entre estas tenemos las vitaminas C, B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9 y B12.

Una de las vitaminas hidrosolubles más importante es la **vitamina C** ó **ácido ascórbico**, que puede ser sintetizada a partir de glucosa y galactosa por las plantas y muchos mamíferos, pero no por el hombre. Se absorbe en el intestino en un 90%; las dietas ricas en zinc o pectina pueden disminuir la absorción, en tanto que el consumo de alimentos cítricos la favorecen; sin embargo un exceso de vitamina C (por ejemplo suplementos de 12g) puede disminuir la absorción hasta un 16%; éste exceso se elimina en la orina. Su carencia produce el escorbuto, pero es muy poco frecuente en la actualidad ya que las necesidades diarias se cubren con el consumo mínimo de vegetales crudos.

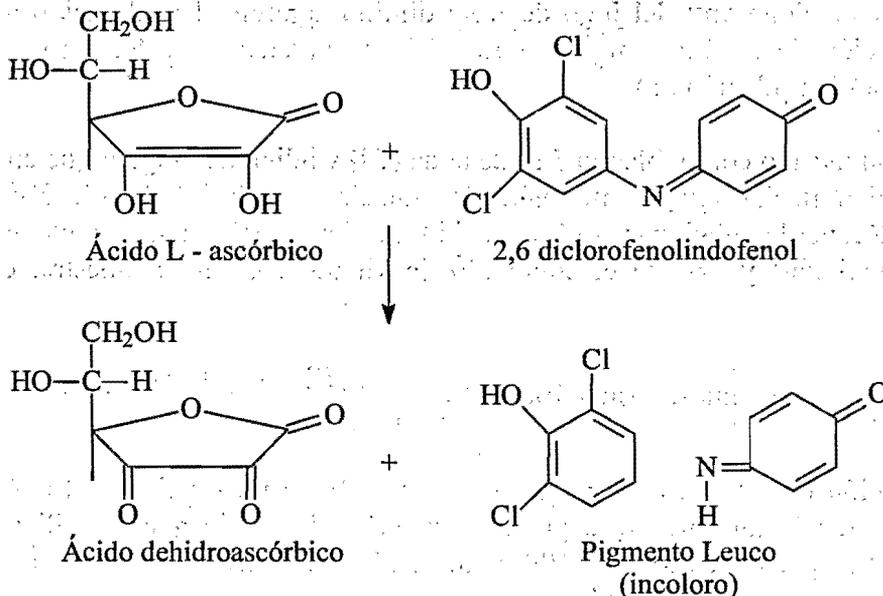
Por ser una vitamina soluble en agua apenas se acumula en el organismo; por lo cual se requiere un aporte diario. La vitamina C actúa en el organismo como transportadora de oxígeno e hidrógeno, pero también interviene en la asimilación de ciertos aminoácidos, del ácido fólico y del hierro. La vitamina C, al igual que la vitamina E tiene efectos antioxidantes; participa de forma decisiva en los procesos de desintoxicación que se producen en el hígado y además contrarresta los efectos de los nitratos (pesticidas) en el estómago.

Las mejores fuentes de la vitamina C son las frutas y vegetales, preferiblemente ácidos y frescos (Tabla 1). Ella también se encuentra en pequeñas cantidades en tejidos animales y suele destruirse por exposición al aire antes de llegar a la mesa.

**Tabla 1.** Contenido de vitamina C en 100g de sustancia

SUSTANCIA	VITAMINA C (mg)
Coliflor	35
Kiwi	50
Limón	30
Melón	30
Naranja	45
Tomate	20

El ácido ascórbico es oxidado por el colorante 2,6-diclorofenolindofenol a ácido dehidroascórbico. En esta reacción, el colorante se reduce a un compuesto incoloro permitiendo determinar fácilmente el punto final de la reacción (Esquema 1). Además del ácido ascórbico otros compuestos pueden decolorar el pigmento (2,6-diclorofenolindofenol), pero la especificidad puede aumentarse hasta cierto punto efectuando la reacción en solución ácida, en la cual las sustancias que interfieren reaccionan muy lentamente. El 2,6-diclorofenolindofenol se obtiene comercialmente en forma de tabletas y cada una es equivalente a 1mg de ácido ascórbico. Para la presente práctica se utilizará como solución patrón de ácido ascórbico una muestra que contiene 2mg de ácido ascórbico disueltos en 100 ml de solución ( $2\text{mg}/100\text{ml} = 20\text{mg/l}$ ). Esta información se incluye en la ecuación que permite calcular la cantidad de ácido ascórbico en una muestra determinada.



Esquema 1. Oxidación del ácido ascórbico por la acción del 2,6-diclorofenolindofenol

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Buretas (10ml)

Erlenmeyers

Beakers

Pipetas graduadas

Embudo de vidrio

Papel filtro

Ácido acético glacial

Jugos de frutas (jugo de limón, jugo de mora, otros)

Cloroformo

Carbón activado

Solución de 2,6-diclorofenolindofenol. (moler una tableta en aproximadamente 40ml de agua caliente, enfriar y diluir hasta 50ml; filtrar la solución si es necesario).

Solución patrón de ácido ascórbico (20mg/l, prepárese inmediatamente antes de usarse)

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se recomienda utilizar el jugo de limón o naranja por su naturaleza transparente.

Tome 15ml de la muestra (jugo de frutas) en un erlenmeyer, deje reposar durante 10 minutos y filtre.

Tome 5ml de este filtrado y agregue 15ml de agua destilada (esta será la muestra del jugo de frutas diluido).

En el caso de que el jugo de frutas tenga una coloración oscura (mora, fresa, etc) adicione a 15ml de la muestra 1g de carbón activado y agite durante 5 minutos. Deje reposar la mezcla durante 15 minutos y filtre. Tome 5ml de este filtrado y agregue 15ml de agua destilada (esta será la muestra del jugo de frutas diluido).

## 4.2 DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

En un erlenmeyer adicione 5ml del jugo de fruta diluido, agregue 1ml de ácido acético glacial y titule con la solución de 2,6-diclorofenolindofenol hasta obtener un color rosa estable. Anote el volumen usado para la titulación (T).

Repita la titulación usando como blanco 5ml de agua (Bl) y adicione al igual que en el caso anterior 1ml de ácido acético glacial. Igualmente realice la titulación con 5ml de la solución patrón de ácido ascórbico (Pt) (Recuerde adicionar 1ml de ácido acético glacial para mantener constante los parámetros de medición) y calcule el contenido de vitamina C en la muestra, con la siguiente fórmula:

$$\text{Vitamina C en la muestra (mg/100ml)} = \frac{T - Bl}{Pt - Bl} \times 2 \times \text{factor de dilución}$$

El factor de dilución en este caso corresponde al 25%. El resultado final del contenido de ácido ascórbico presente en la muestra, se expresa en mg/100ml y dado que se utiliza como solución patrón una muestra que contiene 2mg/100ml de ácido ascórbico se requiere multiplicar por el número 2 como se muestra en la fórmula.

$$\begin{array}{l} \text{Factor de dilución: } 5 \longrightarrow 20 \text{ ml} \\ X \longrightarrow 100 \text{ ml} \end{array} \quad X = 25\%$$

## RESULTADOS

### 5.1 DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Muestra biológica analizada: \_\_\_\_\_

Volumen empleado en la titulación del jugo de fruta (T)	
Volumen empleado en la titulación del blanco (Bl)	
Volumen empleado en la titulación del patrón de ácido ascórbico (Pt)	
Factor de dilución	0.25

Contenido de Vitamina C en la muestra (mg/100ml): \_\_\_\_\_

### CONCLUSIONES:

## BIBLIOGRAFÍA

- A. Calero, J. Restrepo. Manual de Prácticas de Bioquímica, Universidad del Valle, Santiago de Cali, 1987.
- [www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/guianutr/compo42.htm](http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/guianutr/compo42.htm). Marzo, 2004.
- [www.nutrar.com](http://www.nutrar.com). Marzo, 2004.
- [www.um.es/molecula/vita.htm](http://www.um.es/molecula/vita.htm). Marzo, 2004.

## LÍPIDOS: PREPARACIÓN DE JABÓN

## 1. OBJETIVOS

- Preparar jabón a partir de una grasa ó aceite por medio del proceso de saponificación.
- Comprobar las propiedades y efectividad del jabón obtenido.

## 2. MARCO TEÓRICO

Los lípidos son sustancias de origen natural que pueden extraerse a partir de tejidos vegetales ó animales mediante solventes orgánicos; comprenden muchas clases de compuestos que contienen una gran variedad de grupos funcionales, por lo cual se les ha dividido en dos grupos de acuerdo a su complejidad. Así, los **lípidos simples** son aquellos que no se hidrolizan con facilidad en medios acuosos ácidos ó básicos, como los esteroides, prostaglandinas y terpenos.

Por su parte, los **lípidos complejos** se hidrolizan con facilidad para formar constituyentes más simples; la mayor parte de estos son ésteres de ácidos carboxílicos de cadena larga (ácidos grasos). Los dos grupos principales de ésteres de ácidos grasos son las ceras (ésteres de alcoholes de cadena larga) y los glicéridos (ésteres de glicerol).

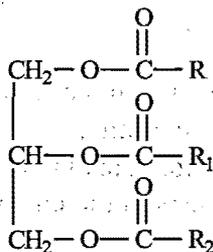
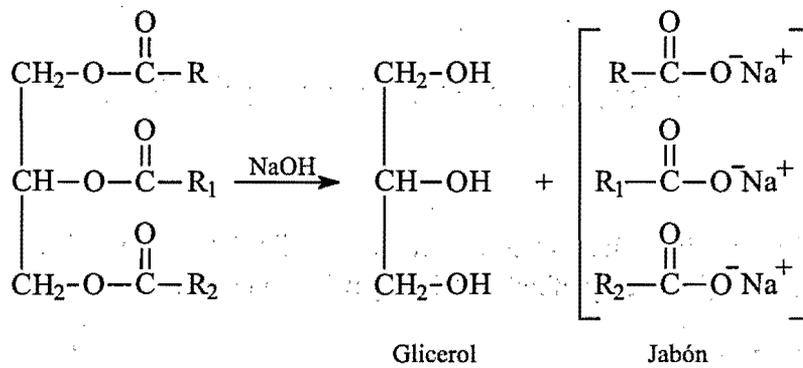


Figura 1: Estructura general de un triacilglicérido

Dentro de los lípidos, los glicéridos son los compuestos más abundantes; de ellos los triglicéridos, son los más comunes, en los cuales los tres grupos hidróxilo ( $-\text{OH}$ ) del glicerol se han esterificado con ácidos carboxílicos (Figura 1). De acuerdo a la saturación del ácido pueden presentarse en estado sólido (grasas) ó en estado líquido (aceites). La insaturación es mucho mayor en aceites que en grasas y tiende a disminuir el punto de fusión, por lo que a temperatura ambiente los aceites son líquidos. Las grasas son los principales constituyentes de las células almacenadoras en animales y representan una de las reservas alimenticias más importantes del organismo.

La hidrólisis catalizada en medio básico o reacción de saponificación (deriva de la palabra latina *saponis* "jabón") de grasas y aceites da origen al glicerol y sales de ácido carboxílico que se conocen como jabones (Ecuación 1).



**Ecuación 1.** Reacción de Saponificación

La composición del jabón depende del método de procesamiento, se le puede batir con aire para que flote ó añadir perfumes, colorantes y germicidas. Si se utiliza una sal potásica en lugar de sódica se obtienen los denominados jabones blandos, sin embargo químicamente, son lo mismo y cumplen la misma función.

Los jabones de sodio y potasio son solubles en agua mientras que los jabones de metales pesados incluyendo calcio y magnesio son insolubles en agua pero se solubilizan en solventes orgánicos. Existe una gran variedad de este tipo de jabones, entre los más comunes tenemos aquellos que contienen metales de cobalto, manganeso, aluminio y cobre. Estos jabones son empleados como catalizadores en muchos procesos químicos.

Las sales de ácidos carboxílicos (jabones) son anfipáticas, es decir, poseen un extremo polar ( $-\text{COO}^- \text{Na}^+$ ) y otro no polar (cadena carbonada) y al ser de tamaño suficientemente grande exhiben un comportamiento dual de solubilidad, así la parte polar es soluble en agua y se dice que es **hidrofílica**, en tanto que la parte no polar es soluble en solventes no polares por lo que se denomina **hidrófoba o lipofílica**.

En concordancia con la regla “sustancias similares son mutuamente solubles”, los extremos no polares buscan un ambiente similar. Al adicionar jabón en agua, sus moléculas se orientan de tal forma que los extremos no polares se buscan, se juntan en el centro de la micela, los extremos polares se proyectan hacia la periferia de la micela para interactuar con el agua de tal forma que los grupos carboxilatos envuelven la superficie de la micela creando una atmósfera iónica, la repulsión entre cargas similares hace que las micelas permanezcan dispersas (figura 2).

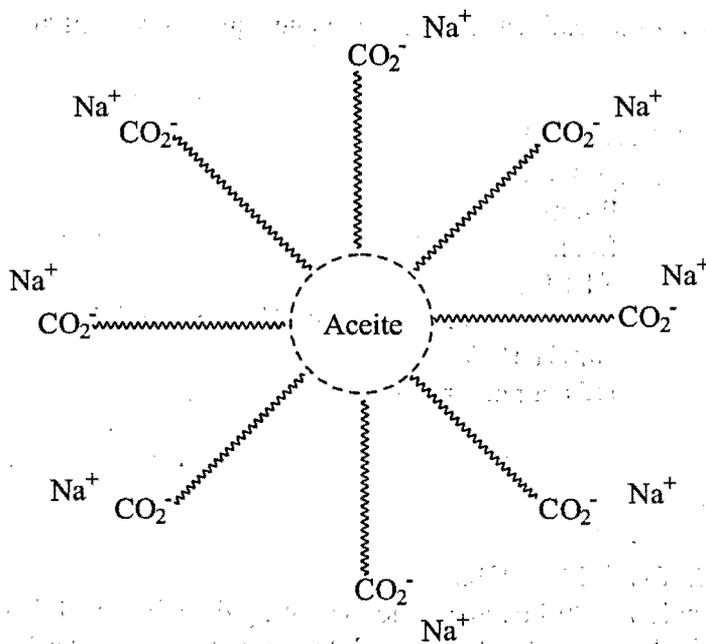


Figura 2 . Micelas de jabón

En el proceso de lavado, las sustancias grasosas, insolubles en agua, se disuelven en las cadenas no polares en el interior de la micela y las repulsiones entre cargas en la superficie hacen que el sistema se mantenga disperso dando lugar a una emulsión estable que se puede remover de la superficie que se está lavando.

### DETERGENTES

Por procesos sintéticos se han preparado detergentes que varían considerablemente en su estructura pero que exhiben al igual que el jabón un carácter **anfipático**, por tanto, su cadena saturada no polar y muy larga disuelve lípidos y el extremo polar es soluble en agua. Los detergentes más comunes corresponden a sales alquilsulfato o alquilbencenosulfonatos como el laurilsulfato de sodio o el laurilbencenosulfonato de sodio (figura 3).

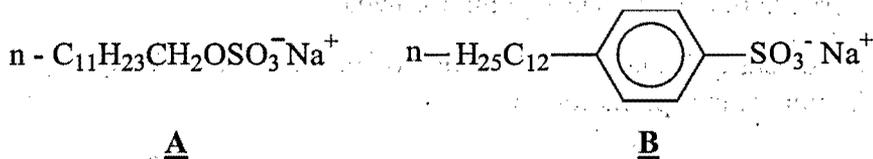


Figura 3. Detergentes. **A** laurilsulfato. **B** laurilbencenosulfonato

La ventaja de los detergentes se debe a la alta solubilidad en agua de los sulfatos y sulfonatos correspondientes, aún en presencia de aguas duras (iones calcio y magnesio), en tanto que los jabones, por su baja solubilidad acuosa en sales cálcicas o magnésicas de los ácidos carboxílicos se precipitan en presencia de iones  $Ca^{+2}$  ó  $Mg^{+2}$  dando lugar al carboxilato de calcio o de magnesio y así se inhibe su acción limpiadora.

En cuanto a los detergentes, su uso puede originar serios problemas de contaminación si la cadena carbonada es ramificada ya que esto dificulta la degradación biológica, por ello se sintetizan

principalmente detergentes con cadenas laterales lineales que no presentan tal problema (detergentes biodegradables).

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Tubos de ensayo	Goteros
Mecheros	Pipetas
Erlenmeyers	Beakers
Glicerina	KHSO <sub>4</sub>
CCl <sub>4</sub>	Bromo en tetracloruro de Carbono al 5%
Etanol	NaOH 10%
NaCl	HCl concentrado
CaCl <sub>2</sub> al 10%	

### 4. PROCEDIMIENTO

#### 4.1 REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN

En un beaker pequeño coloque 2ml de aceite de maíz o 3g de cebo, 5ml de etanol (adicionándolo en porciones de 1ml) y 10ml de NaOH al 50%. Coloque el beaker en un baño de agua caliente por lapso de 30 minutos agitando continuamente. Al cabo de este tiempo retire el beaker y proceda a filtrar el precipitado formado (jabón) y lávelo repetidas veces con una solución de cloruro de sodio al 10%. Con el jabón obtenido se realizarán diferentes pruebas.

#### PROPIEDADES DEL JABÓN

Coloque la mitad del jabón obtenido en un erlenmeyer y adicione 15ml de agua, agite la mezcla fuertemente hasta que el jabón se disuelva. Tome 4 tubos de ensayo y agregue a cada uno de ellos 3ml de la solución jabonosa preparada anteriormente y realice los siguientes ensayos.

4.2 A un primer tubo de ensayo adicione de 3 a 5ml de agua, tape y agite durante un minuto y observe la duración de la espuma formada.

4.3 A un segundo tubo de ensayo agregue 2ml de una solución de CaCl<sub>2</sub> al 10%, tape, agite durante un minuto y observe la duración de la espuma formada.

4.4 A tercer tubo de ensayo añada 2ml de solución de CuSO<sub>4</sub> al 5%, tape, agite durante un minuto y observe la duración de la espuma formada.

Compare la cantidad y el tiempo que tarda la espuma en desaparecer en cada uno de los casos anteriores y anote sus observaciones en la tabla de resultados.

A continuación adicione 2ml de acetato de etilo sobre los tubos de ensayo de las pruebas 1, 2 y 3. Agite la mezcla y registre sus observaciones en la tabla de respuestas.

4.5 Al cuarto tubo de ensayo adicione en caliente y con precaución 5ml de HCl concentrado. Deje enfriar la suspensión y observe la formación de una masa aceitosa. ¿Qué color tiene?, ¿Químicamente a que tipo de sustancia corresponde? Luego adicione a este tubo de ensayo 2ml de acetato de etilo, agite la mezcla y registre sus observaciones en la tabla de resultados.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN

COMPUESTO Aceite o Grasa	REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN	CARACTERÍSTICAS
Jabón		

CONCLUSIONES:

---

---

### PROPIEDADES DEL JABÓN

#### 5.2 OBSERVACIONES CON LA ADICIÓN DE AGUAS DURAS

ENSAYO	REACCIÓN	OBSERVACIONES GENERALES (formación de espuma )	OBSERVACIONES (adición del acetato de etilo)
Agua			
CaCl <sub>2</sub>			
CuSO <sub>4</sub>			

CONCLUSIONES:

---

---

#### 5.3 OBSERVACIONES CON LA ADICION DE HCl

ENSAYO	REACCION	OBSERVACIONES	OBSERVACIONES (adición del acetato de etilo)
HCl			

## CONCLUSIONES:

---

---

### 5.4 PREGUNTAS

- 5.4.1 Qué se conoce a cerca de la aplicación industrial de los jabones de metales pesados?
- 5.4.2 Los detergentes también se conocen con el nombre de sindets y existen sindets catiónicos, neutros e incluso anfotéricos, escriba las características principales para estos detergentes e incluya un ejemplo para cada uno de ellos.

### BIBLIOGRAFÍA

- R. Brewster, C. Vanderwert; W. MacEwan, Curso Práctico de Química Orgánica, Ed. Alambra, Madrid, 1978
- X.A. Domínguez, Experimentos en Química Orgánica, Ed. Limusa-Wiley, S.A, México, 1966.
- H. Hart, D. Hart and L.E. Craine, Química Orgánica, Ed. Mc Graw Hill, novena edición, México, 2001.
- R. Morrison and R Boyd. Química Orgánica, Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1998.
- L. G. Wade. Química Orgánica, Ed. Prentice Hall Hispanoamericana, segunda edición, México, 1993.
- A. Meza, Reacciones de Acidos Carboxílicos y derivados, Guía de laboratorio.

Agradecimientos al profesor de la Escuela de Química C. M García por las sugerencias en la parte experimental de la presente práctica.

1. OBJETIVOS

- Separar la urea de una muestra de orina por medio de procesos físicos.
- Reconocer algunas características y propiedades de la urea.

2. MARCO TEÓRICO

El exceso de nitrógeno resultante del consumo y la degradación de aminoácidos es excretado por el organismo en forma de amoniaco, urea y ácido úrico (figura 1). Todas estas sustancias son tóxicas cuando se presentan en altas concentraciones y existen por tanto ciertos mecanismos que impiden su acumulación abundante en las células. Pese a que el producto final varía de un organismo a otro, es posible hacer algunas generalizaciones; en la mayoría de los mamíferos, particularmente los seres humanos, el producto principal es la urea, por lo que se les designa organismos *ureotélicos*. Muchos animales acuáticos, excretan el nitrógeno amínico en forma de amoniaco y se les denomina *amonotélicos*. Los pájaros y los reptiles terrestres, cuyo consumo de agua es limitado, excretan el nitrógeno en forma semisólida como suspensiones de ácido úrico sólido; a estos organismos se les llama *uricótelicos*. Los anfibios ocupan una posición intermedia, el renacuajo que es un animal acuático excreta amoniaco y después de la metamorfosis, durante la cual el hígado adquiere las enzimas necesarias, excreta urea.

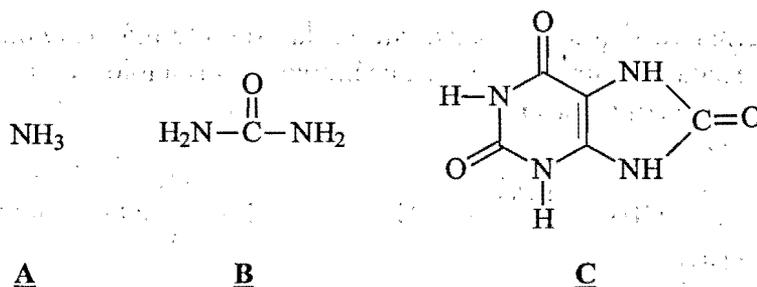
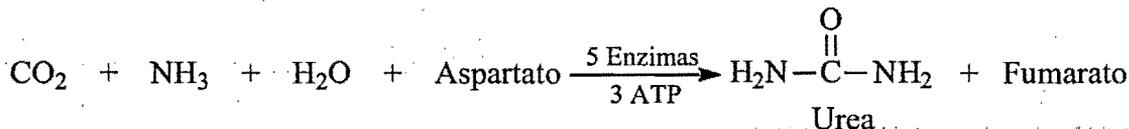


Figura 1. Productos finales del metabolismo de los aminoácidos. A Amoniaco B Urea C Ácido úrico

La urea se produce gracias al funcionamiento de las enzimas del ciclo de la urea, localizadas en el hígado. De aquí pasa la urea a la sangre por circulación, la cual, por diálisis en los riñones permite el paso de urea a la orina. El ciclo de la urea consta de cinco reacciones, cada una catalizada por una enzima diferente. La ecuación 1 muestra la reacción general de la formación de urea en el organismo. En una persona adulta los valores normales de urea van de 60-90mg/dl de orina, esta cantidad varía dependiendo del consumo de proteína.



Ecuación 1. Síntesis de urea en el organismo. En la reacción existen otros productos fosfatos derivados como el AMP y el ADP.

La urea fue aislada de la orina por Roulle en 1773 y sintetizada por Wöhler en 1828. Wöhler encontró que la urea podía obtenerse por la evaporación de una solución acua que contenía cianato

de amonio. La obtención de la urea en esta forma tiene especial importancia en la química orgánica, ya que fue la primera síntesis de una sustancia presente en el organismo humano a partir de un compuesto inorgánico. La ecuación 2 muestra la metodología empleada por Wöhler a partir del cianato de amonio.

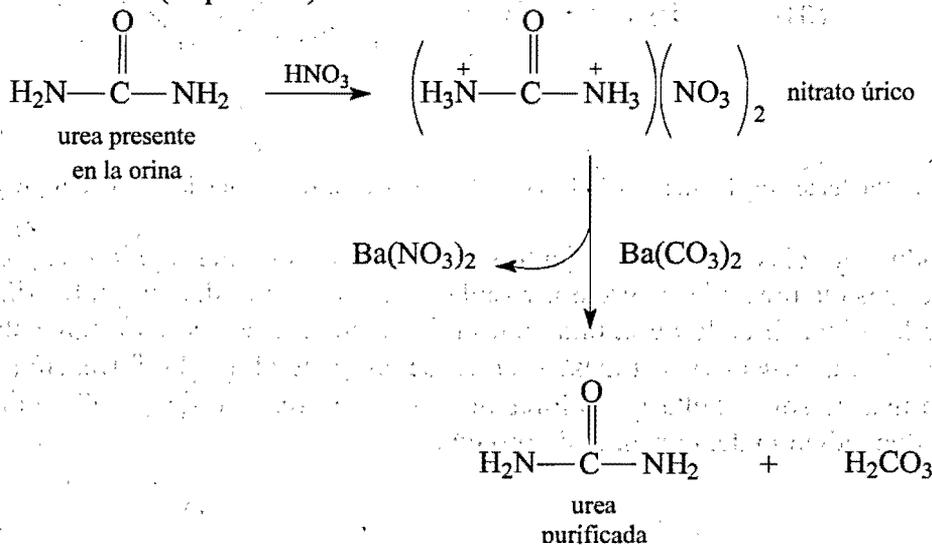


Ecuación 2. Método sintético de Wöhler para la urea

La urea es producida industrialmente por la reacción de dióxido de carbono con exceso de amoníaco bajo condiciones de presión y tiene gran aplicabilidad como fertilizante. Por acción de ácido sulfúrico concentrado frío, el nitrato de urea es convertido a nitrourea,  $\text{H}_2\text{N-CO-NH-NO}_2$ , la cual por reducción da lugar a la semicarbazida,  $\text{H}_2\text{N-CO-NH-NH}_2$ , que es útil en la identificación de compuestos carbonílicos. La urea tiene la propiedad de formar cristales que pueden incorporar un segundo componente en los espacios libres de la red cristalina y así formar compuestos de inclusión.

Como se mencionó anteriormente, el método de Wöhler parte del cianato de amonio, el cual a su vez se obtiene del cianuro de sodio ( $\text{NaCN}$ ), que es extremadamente venenoso y debe ser manipulado bajo condiciones estrictas de seguridad, por esta razón no es posible implementar esta metodología con la infraestructura del laboratorio.

Una metodología alternativa y que se desarrollará en la presente práctica consiste en la separación de la urea a partir de una muestra de orina, aislándola en principio como ácido úrico y de este finalmente obtener la urea (esquema 1).



Esquema 1. Obtención de la urea a partir de una muestra de orina.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Beakers

Probetas

Mechero

Montaje baño maría

Orina fresca

Etanol

Cloruro de sodio

Ácido nítrico concentrado

Embudo cuello largo y büchner  
Papel filtro  
Hielo

Carbonato de bario  
Carbón activado  
Permanganato de potasio al 5%

## 4. PROCEDIMIENTO

### 4.1 OBTENCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL NITRATO ÚRICO.

En un beaker colocar 250ml de orina fresca y evaporar con ayuda de un mechero hasta reducir el volumen a 80ml, luego calentar en baño maría hasta obtener un residuo, el cual se mezcla con 50ml de etanol y se agita vigorosamente. Calentar nuevamente agitando la muestra y realizar la correspondiente extracción. Esta primera muestra de etanol se filtra y el residuo resultante se somete a posteriores procesos de extracción. A los extractos etanólicos se les agrega 25ml de agua y se evapora la muestra hasta un volumen de 15ml. Después se coloca la mezcla en un baño de hielo – sal y se adiciona gota a gota ácido nítrico concentrado hasta la formación de un precipitado, correspondiente al nitrato úrico. Durante la adición de ácido nítrico es importante mantener la mezcla bien agitada y completamente fría.

Recolectar el precipitado de nitrato úrico por filtración (preferiblemente al vacío) y lavarlo con una pequeña cantidad de ácido nítrico frío. Disolver el nitrato úrico en 30ml de agua caliente y agregar de 2 a 5 gotas de solución de permanganato de potasio. Enfriar suavemente y agregar de 4 a 5g de carbón activado y calentar la solución durante 20 minutos. Mantener el volumen constante añadiendo pequeñas cantidades de agua. Filtrar la solución caliente y evaporar el filtrado sobre un baño maría hasta un volumen de 13ml. Enfriar en un baño de hielo, agitar completamente y purificar en la forma descrita anteriormente. Recolectar el precipitado por filtración y lavar los cristales con una pequeña cantidad de ácido nítrico concentrado frío. Los cristales resultantes de nitrato úrico deben ser prácticamente incoloros, un producto coloreado, indica que la purificación debe ser repetida.

### 4.2 OBTENCIÓN DE LA UREA.

Colocar los cristales de nitrato úrico obtenidos anteriormente en un beaker y disolver en 8ml de agua destilada. Después agregar carbonato de bario pulverizado en pequeñas porciones, agitando constantemente. Adicionar por cada gramo de nitrato úrico 1.2g de carbonato de bario (este exceso garantiza la liberación de la urea del nitrato úrico). Una vez formados los cristales de nitrato de bario, agregar cerca de 1g de carbón activado y calentar sobre baño maría por 50 minutos. Filtrar la solución caliente y lavar el residuo con unos pocos mililitros de agua caliente. Transferir el filtrado (el cual debe ser prácticamente incoloro) a un pequeño crisol y evaporar casi a sequedad sobre baño maría. Durante la evaporación, los cristales de nitrato de bario usualmente se separan. Recristalizar los extractos con aproximadamente 10ml de etanol caliente. Recolectar los cristales de urea por filtración y secarlos a temperatura ambiente. El producto debe ser incoloro, si es necesario recristalice nuevamente con etanol caliente y carbón activado. Pese el producto y determine el rendimiento de la reacción.

### 4.3 PROPIEDADES DE LA UREA

**4.2.1 SOLUBILIDAD.** En un tubo de ensayo tome una pequeña cantidad de urea y agregue 2ml de agua. Describa lo observado.

4.2.2 pH. Determine el valor de pH a la solución preparada en el numeral anterior. Comente los resultados.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 OBTENCIÓN DE LA UREA

	Características generales	Peso (mg)	Volumen inicial de orina (dl)	Concentración experimental (mg/dl)	Concentración teórica (mg/dl)	% de rendimiento
UREA						

El rendimiento total del contenido de urea en la muestra de orina utilizada es:

### CONCLUSIONES:

### 5.2 PROPIEDADES DE LA UREA

PROPIEDADES DE LA UREA	OBSERVACIONES GENERALES
SOLUBILIDAD	
pH	

### CONCLUSIONES:

## INCONVENIENTES DURANTE LA SÍNTESIS:

---

---

---

### 6.3 PREGUNTAS

6.3.1 Cuál es el origen del nitrógeno, que es eliminado del cuerpo en forma de urea?

6.3.3 Con cuál ácido particular está relacionado la urea?

### BIBLIOGRAFÍA

R. Adams, J. Johnson, C. Wilcox. Laboratory experiments in organic chemistry. Ed. The Macmillan Company, New York.

A. Lehninger. Bioquímica, Ed. Omega, segunda edición, Barcelona, 1991.

R. Bohinski. Bioquímica. Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1998.

G. Solomons. Química Orgánica. Ed. Limusa Wiley S.A, segunda edición, México, 1999.

SÍNTESIS DE SULFANILAMIDA

1. OBJETIVOS

- Obtener la sulfanilamida a través de una estrategia sintética que incluye varias etapas.
- Determinar la eficiencia de la estrategia sintética utilizada con base en el rendimiento de la sulfanilamida.

2. MARCO TEÓRICO

La sulfanilamida pertenece a un grupo de compuestos que poseen en su mayoría valiosas propiedades terapéuticas contra varios tipos de infecciones bacteriales y que se conocen comúnmente como **drogas sulfa** (figura 1).

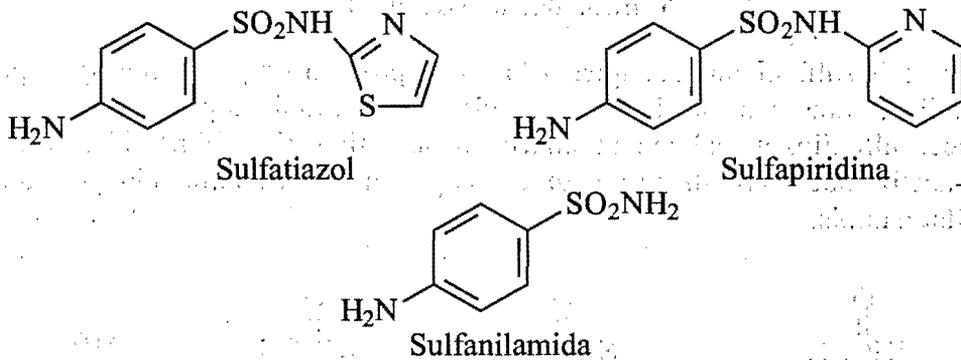


Figura 1. Estructura de algunas drogas sulfa

Las drogas sulfa utilizadas para combatir las infecciones microbianas se parecen estructuralmente al ácido p-aminobenzoico (PABA). Este último es un precursor vital en la síntesis microbiana del ácido fólico (figura 2), el que a su vez se convierte en ácido tetrahidrofólico, coenzima de extrema importancia en la biosíntesis de purinas y pirimidinas (timina), indispensables en la producción de los ácidos nucleicos (ARN y ADN). Al aplicar drogas sulfa, estas inmediatamente actúan por competitividad, inhibiendo la incorporación del PABA durante la producción del ácido fólico (figura 3). Luego, al disminuir la concentración de este ácido se reduce la producción de los ácidos nucleicos, lo que provoca la muerte del organismo infeccioso.

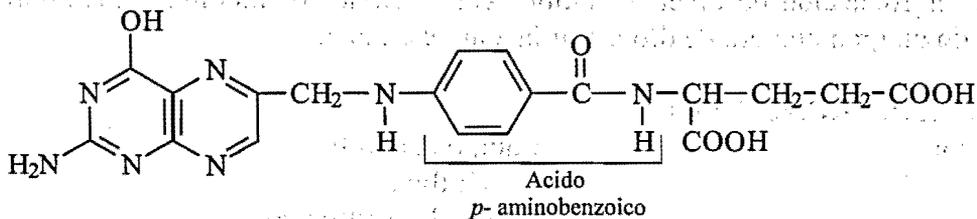


Figura 2. Estructura del ácido fólico

En el caso específico de la sulfanilamida, su estructura difiere del PABA por la presencia del grupo sulfanamida en lugar del grupo carboxilo, esta similitud en tamaño, forma y grupos funcionales hace que ocupe el mismo sitio que el PABA sobre las enzimas (figura 3).

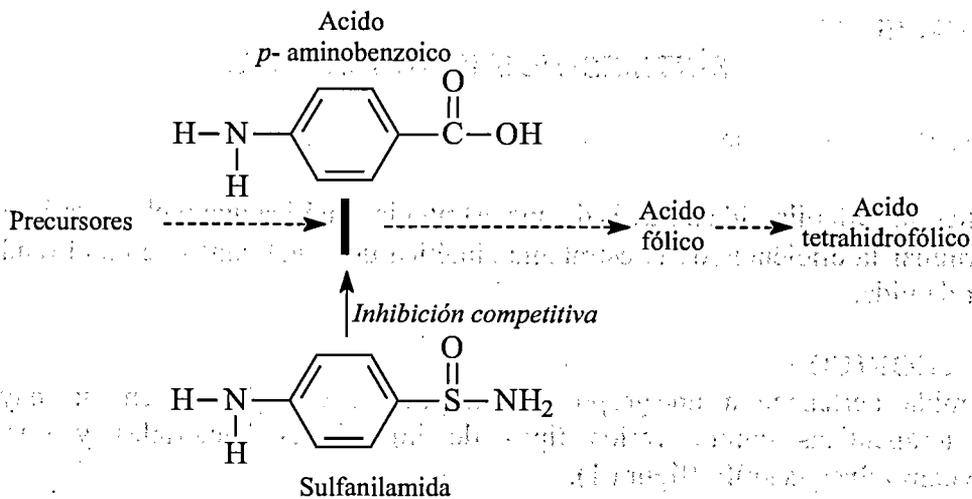
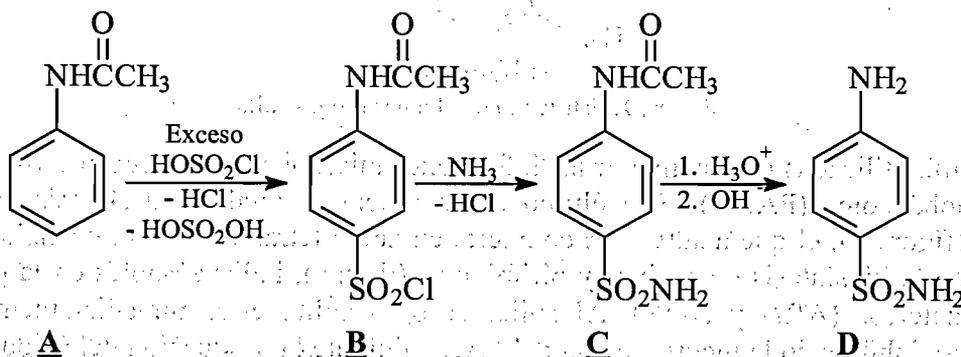


Figura 3. Acción de la sulfanilamida

La preparación de la sulfanilamida (esquema 1), es un proceso simple de múltiples pasos. Se parte de la acetanilida, que por acción del ácido clorosulfónico produce el cloruro de *p*-acetamidobencensulfonilo, el cual con amoníaco es convertido a la sulfonamida. En el paso final, el grupo amino-acetil (que sirve de protector al grupo amino) es removido por hidrólisis ácida, generando sulfanilamida.



Esquema 1. Síntesis de la Sulfanilamida. **A** Acetanilida **B** cloruro de *p*-aminobencensulfonilo. **C** Sulfonamida. **D** Sulfanilamida

A pesar de la introducción de diversos antibióticos naturales (penicilina y streptomina), aún se sigue utilizando un gran número de drogas sulfa a nivel clínico.

### 3. MATERIALES Y REACTIVOS

Vidreos de reloj

Beakers

Mechero

Pipetas graduadas

Erlenmeyer

Espátula

Equipo para reflujo

Acetanilida

Ácido clorosulfónico

Hidróxido de amonio concentrado

Ácido clorhídrico concentrado y al 10%

Hielo

## 4. PROCEDIMIENTO

### PRECAUCIÓN

Los reactivos utilizados en esta práctica son extremadamente corrosivos, por lo que se recomienda que la síntesis en su totalidad se realice en una campana de extracción y se maneje los reactivos con las medidas de precaución adecuadas.

Registre los datos obtenidos en cada etapa de la síntesis en la tabla de resultados al final de la práctica.

#### 4.1. Síntesis de cloruro de *p*-aminobencensulfonilo (B)

En un erlenmeyer seco coloque 7g de acetanilida, fúndala con ayuda de un mechero, luego enfríe y agite el contenido del erlenmeyer con una varilla de vidrio de tal forma que el fondo quede revestido con la acetanilida fundida. Enfríe completamente en un baño de hielo y agregue 36g de ácido clorosulfónico y mezcle con precaución (tenga cuidado con los gases de ácido clorhídrico desprendidos durante la reacción), retire y espere durante cinco minutos para que la mezcla llegue a temperatura ambiente y traspase el erlenmeyer a un baño de agua hirviente durante unos minutos para completar la reacción. Enfríe el recipiente a temperatura ambiente y lentamente con agitación constante vierta la mezcla aceitosa de reacción a un beaker de 400ml que contenga una mezcla de 150g de hielo molido y 50ml de agua. Desmenuzar completamente la mezcla con una varilla de vidrio y agitar el precipitado de cloruro de *p*-aminobencensulfonilo hasta observar una suspensión acuosa regular. Filtrar el producto al vacío, lavar con 25ml de agua fría, secar, pesar y guardar para la preparación de sulfonamida.

#### 4.2 Síntesis de la Sulfonamida (C)

Tomar 25ml de hidróxido de amonio concentrado en un erlenmeyer de 125ml, enfriar en un baño de hielo y luego agregar en pequeñas porciones el cloruro de *p*-acetamidobencensulfonilo sintetizado en el numeral 4.1. (se verifica inmediatamente una reacción exotérmica) y mezcle el contenido del erlenmeyer hasta obtener una pasta delgada. Para completar la reacción, calentar el contenido hasta ebullición por cinco minutos (tenga cuidado con los vapores de amoniaco desprendidos durante la reacción). Enfríar la mezcla de reacción sobre un baño de hielo y lentamente agregar 40 a 50ml de ácido clorhídrico al 10% hasta que la mezcla sea ácida (verifique con papel tornasol). Filtrar el producto al vacío y lavar con 25ml de agua fría. Pese y determine el rendimiento de la reacción.

#### 4.3 Síntesis de la Sulfanilamida (D)

Transferir el producto obtenido en el numeral 4.2 a un matraz de 100ml. Agregar 15ml de agua, 7ml de ácido clorhídrico concentrado y someter la mezcla a reflujo por 20 minutos. Durante este tiempo el sólido debe disolverse, retire y agregue 10ml de agua y 0.5g de carbón activado a la mezcla, la cual se somete nuevamente a reflujo por cinco minutos. En caliente filtre la solución al vacío con la ayuda de un baño de hielo y recolecte el producto. Recristalice el producto con agua hirviente usando cerca de 10ml de agua por cada gramo de producto obtenido. Seque el producto a temperatura ambiente, péselo y determine el rendimiento de la reacción.

## 5. RESULTADOS

COMPUESTO	CARACTERÍSTICAS GENERALES	PESO EXPERIMENTAL	PESO TEÓRICO	% DE RENDIMIENTO
<b>B</b> cloruro de <i>p</i> -aminobencensulfonilo.				
<b>C</b> Sulfonamida				
<b>D</b> Sulfanilamida				

### CONCLUSIONES:

---

---

### INCONVENIENTES DURANTE LA SÍNTESIS

---

---

### BIBLIOGRAFÍA

- H. Hart, Laboratory manual, Organic chemistry a short course, Boston, 1987.  
L. Anderson, R. Elderfield, P. Smith, W. Bachmann. A manual for the organic chemistry laboratory.  
J. Moore, D. Dalrymple. Experimental methods in organic chemistry, USA, 1971.  
R. Bohinski. Bioquímica. Ed. Addison Wesley Longman, quinta edición, México, 1998.  
G. Solomons. Química Orgánica, Ed. Limusa Wiley, segunda edición, México, 1999.