

# **FUNDAMENTOS DE METODOLOGIA BIOQUIMICA**

**Area de QUIMICA ORGANICA**

## **NOTA ACLARATORIA**

Este guión NO es una guía de trabajo en un Laboratorio de Química Orgánica. Es una colección de los experimentos programados para realizar en el curso de Fundamentos de Metodología Bioquímica de la Licenciatura de Bioquímica dentro del Area de Química Orgánica, en la que se han incluido las normas y conocimientos más básicos que deben recordarse antes de entrar en un laboratorio de Química Orgánica. Por ello, se recomienda encarecidamente que el alumno acuda a textos de Química Orgánica Experimental donde se explican de forma detallada las técnicas básicas y las diferentes formas de proceder en un laboratorio de Química Orgánica, desde como realizar un cuaderno de laboratorio hasta que como hacer un montaje para llevar a cabo reacciones en atmósfera inerte.

Entre los diversos textos de Química Orgánica Experimental que se pueden encontrar, nuestra recomendación se dirige hacia los siguientes:

- Técnicas experimentales en síntesis orgánica. M.A.; Martínez Grau, A.G. Csaky. Ed. Síntesis. (recomendado).
- Experimental Organic Chemistry. L.M. Harwood, C.J. Moody, J.M. Percy. 2nd edition. Ed. Blackwell

Los guiones de los experimentos se han pensado para alumnos sin una elevada experiencia en un laboratorio de Química Orgánica, ya que en esta Asignatura confluyen alumnos procedentes de diversas Licenciaturas (Medicina, Veterinaria, Biología) en las que no se estudian de forma exhaustiva procedimientos experimentales de Química Orgánica. Dado que NO es posible, ni legal, ni ético realizar programas diferentes para alumnos diferentes (el programa de una asignatura debe ser único para un curso académico), se espera de aquellos alumnos procedentes de Licenciaturas con una mayor formación en Química Orgánica Experimental (Química, Farmacia) que no sólo lleven a cabo las Prácticas de forma adecuada (se recuerda que la asistencia es obligatoria) sino que ayuden a aquellos compañeros con un inferior nivel de conocimientos en esta materia.

El Profesor.

## NORMAS A SEGUIR EN UN LABORATORIO

### NORMAS GENERALES

#### **Material que el alumno debe de llevar al acudir al laboratorio:**

- Bata de laboratorio
- Un paño.
- Gafas de seguridad.
- Espátula.
- Pinzas de madera.
- Papel indicador de pH.
- Cuaderno
- Etiquetas.

#### **Preparación:**

Antes de acudir al laboratorio es preciso haber preparado la práctica: haber leído el guión, comprender el fundamento teórico de la práctica que se va a realizar, haber efectuado los cálculos previos (por ejemplo, conocer las cantidades de productos que se han de utilizar en la preparación de disoluciones), etc.

#### **Puntualidad:**

El tiempo de permanencia en el laboratorio es limitado y hay que aprovecharlo. Además, hay una serie de explicaciones que se dan a los alumnos antes de comenzar y que requieren su presencia.

#### **Limpieza:**

- Se debe enjuagar y homogeneizar o secar el material antes de su utilización.
- Cualquier sólido o líquido que se derrame se limpiará inmediatamente.
- Procurar que no caiga agua por el suelo.
- No se deben introducir pipetas ni ningún otro material en las botellas o frascos de los reactivos. Se pone la cantidad necesaria en un vaso y se toma de él. De igual forma, nunca se devolverán los reactivos sobrantes a sus recipientes.
- Al abandonar el laboratorio el material quedará limpio y ordenado. Los reactivos quedarán ordenados (no cambiados de mesa ni abandonados junto a la balanza).

### SEGURIDAD

#### **- Es obligatorio utilizar bata y gafas de seguridad.**

- Llevar lentes de contacto en el laboratorio no es recomendable, ya que si hay vapores irritantes por ejemplo, los de cloruro de hidrógeno) se pueden acumular entre la lente y el ojo, ocasionando lesiones en éste.
- Está totalmente prohibido fumar.
- No se puede comer ni beber en el laboratorio.
- Los líquidos peligrosos por inhalación (atención a las etiquetas) se manejarán bajo la campana extractora, que permanecerá conectada durante su utilización.
- Para percibir el olor de una sustancia nunca se colocará la nariz directamente sobre la boca del recipiente que la contiene, sino que se "abanicará" con la mano, dirigiendo el vapor suavemente a la nariz.
- No pipetear nunca con la boca.
- No dejar líquidos inflamables cerca de los mecheros, placas calefactoras o cualquier otra fuente de calor.
- Cuando se hagan disoluciones con ácidos fuerte, adicionar siempre **el ácido sobre el agua** y no al revés.
- Los ácidos y bases se podrán echar por la fregadera teniendo siempre **el grifo de agua abierto** con el fin de diluirlos.
- Para calentar un líquido en un tubo de ensayo, se calentará por la parte más alta a la que llegue el líquido, inclinando el tubo y agitando, y nunca por el fondo del mismo, para evitar que el líquido salte.
- Al calentar tubos de ensayo **tener cuidado de no dirigir la boca del tubo hacia uno mismo ni hacia cualquier otra persona.**
- Nunca agitar un tubo de ensayo poniendo el dedo en la boca del mismo.
- Está prohibida la realización de cualquier experiencia no programada, a no ser por indicación del profesor.
- Al abandonar el laboratorio hay que asegurarse de que el agua y el gas quedan cerrados y placas calefactoras desconectadas.
- Ante cualquier problema hacer uso de los elementos de seguridad del laboratorio: lavaojos, ducha, botiquín, etc.
- Si se presenta cualquier duda o problema consultar al profesor de prácticas.

## CUADERNO DE LABORATORIO

Durante la realización de trabajos prácticos es fundamental la utilización de un cuaderno de laboratorio. Es aconsejable el uso de un cuaderno cuadriculado, ya que la cuadrícula facilita la escritura y lectura de tablas de datos y la realización de borradores de gráficas. ¡ No confiar nunca a la memoria la retención de un dato u observación, siendo desaconsejable el uso de hojas sueltas !.

Las anotaciones en el cuaderno se realizarán con tinta permanente. No conviene utilizar lapiceros, ya que lo que se escribe con ellos puede borrarse accidentalmente o quedar ilegible.

Anotar siempre lo que ocurre y no lo que se sabe que "debería ocurrir". Si lo que se observa, y los datos que se obtienen no coinciden con lo previsto, busque una explicación, pero nunca se debe falsear los datos ni las conclusiones.

Las correcciones se realizarán pasando una línea por encima de lo que se quiere eliminar, de forma que sea posible su lectura en caso de que fuera necesario reutilizar esa información. Nunca se debe eliminar información de forma permanente, aunque sean páginas enteras.

La información recogida en el cuaderno de prácticas debe permitir la repetición del experimento en idénticas condiciones y la realización del guión de la práctica y, básicamente consistirá en:

- Los nombres de los autores, el nombre del profesor de prácticas, el título de la práctica y la fecha de realización.
- Los datos obtenidos con sus unidades y precisión.
- El procedimiento seguido. Se trata de describir con todo detalle el desarrollo de la práctica, indicando lo que realmente ha ocurrido.
- La información necesaria para el tratamiento de los datos y para la interpretación y justificación de los resultados obtenidos
- Todo aquello que pueda ser necesario para la posterior realización del guión de prácticas.
- El significado de las abreviaturas y símbolos utilizados, sobretodo si no están reconocidos oficialmente.
- Las referencias de libros o apuntes que es necesario utilizar en la manipulación de los datos o en la redacción del guión.
- Es conveniente, cuando no imprescindible, anotar las condiciones del laboratorio, tales como la temperatura ambiente, la presión, etc.

## EL GUIÓN DE PRACTICAS

Tras la realización de una práctica de laboratorio es imprescindible presentar los resultados a través del correspondiente guión. Para ello hay que tener en cuenta una serie de reglas que buscan, básicamente, la claridad y precisión del contenido y que se enumeran a continuación:

- El guión de prácticas debe ser original.
- Debe de ser conciso sin perjudicar la claridad. Estará escrito de manera organizada y comprensible de forma que una persona familiarizada con la materia que no haya realizado el experimento pueda seguirlo, comprenderlo y repetirlo personalmente.
- El guión se presentará escrito por una cara y, aunque no se trata de hacer un ensayo literario, hay que procurar la máxima corrección gramatical. Se evitará el uso de abreviaturas personales.
- Todos los datos y resultados irán acompañados de las unidades y la precisión.
- Las expresiones matemáticas deben ir acompañadas del significado de los símbolos que contienen, que coincidirán en lo posible con los recomendados por los organismos oficiales.
- En el guión se indicará el origen de todos los datos que se utilicen y no sean obtenidos en la práctica, así como el de las constantes utilizadas.
- El guión se realizará tras haber realizado la práctica, lo antes posible.

El guión se organiza en varios apartados, que pueden ser los siguientes: Título, nombre y resumen; introducción; método experimental; resultados; discusión y referencias (si se han utilizado).

La extensión de estos apartados es variable, según la práctica de que se trate, pudiendo ser conveniente en algunos casos la supresión de alguno o la división en subapartados de otros.

TITULO, NOMBRE Y RESUMEN

En la primera página se incluirán:

- El título de la práctica.
- El nombre de los autores y el del nombre del profesor de la práctica.
- La fecha.
- Un pequeño resumen que informará brevemente (10-15 líneas) de los objetivos de la práctica y de los resultados más significativos (con su precisión y sus unidades).

#### INTRODUCCIÓN

En este apartado se indicará el propósito del experimento y una breve introducción teórica que contendrá las ecuaciones oportunas. Cada ecuación irá en una línea y todas ellas se numerarán consecutivamente. Cuando sea necesario referirse a ellas se hará a través de su número.

#### MÉTODO EXPERIMENTAL

Este apartado contiene la descripción del método experimental tal como se ha seguido. No hay que olvidar que lo consignado en el guión debe responder exactamente a la realidad de la práctica. Esto no significa que deba copiarse explícitamente el guión de la práctica.

Se incluirán las figuras que se consideren necesarias para describir el método, numerándolas y haciendo referencia a ellas en el texto a través de su número. Es conveniente incluir un pie para cada figura, que indique lo que representa.

Este apartado contendrá, igualmente, aquellas ecuaciones que se utilicen a lo largo de la práctica en la parte estrictamente experimental.

#### RESULTADOS

Incluiremos aquí todos los resultados experimentales con el mayor detalle posible, haciendo uso de las tablas y gráficas necesarias. Mientras que las gráficas son más útiles para ver la relación entre las variables y para detectar valores incorrectos, las tablas nos proporcionan el dato con total precisión. En función de esto se decidirá la conveniencia de utilizar tablas o gráficas o las dos. Los datos que no se consideren válidos se indicarán también, haciendo notar que no se han utilizado en los cálculos. La causa de la discrepancia, si se conoce, se indicará en el apartado dedicado a la Discusión.

Los datos y resultados se indicarán siempre con sus unidades y se realizará el correspondiente tratamiento de errores, dando junto a cada resultado su imprecisión.

#### DISCUSIÓN

Una vez obtenidos los resultados se analizará su calidad a la vez que se comparan, si es posible, con datos obtenidos de la bibliografía.

Se incluirán aquí, de forma clara y precisa, las explicaciones que se consideren oportunas para justificar los errores y los datos incorrectos, forma de mejorar la precisión, etc. y aportar ideas sobre cómo se podrían solucionar problemas aparecidos en la realización de la práctica.

## INTRODUCCIÓN AL TRABAJO DE LABORATORIO

### APARATOS Y MATERIAL DE LABORATORIO

#### 1. La balanza y su uso

Una de las primeras operaciones que se realizan en un laboratorio es la de pesar una sustancia para determinar su masa. Esta operación tiene una importancia primordial. De que se realice bien o mal va a depender por ejemplo: que una disolución tenga la concentración adecuada, que un análisis resulte positivo o que el rendimiento de una reacción sea el correcto y deseable.

Para pesar un cuerpo se utiliza la balanza. Con ella se compara la masa desconocida de la sustancia que se pesa, con la masa conocida de una serie de pesas. Cuando se habla de " pesar una sustancia " lo que realmente se determina es su masa, debido a que la fuerza que la gravedad ejerce sobre la sustancia y las pesas es la misma. De ahí que sea permisible emplear el término peso por el de masa.

Las pesadas que se llevan a cabo en un laboratorio no siempre se realizan con la misma atención y cuidado. Hay distintos tipos de balanzas y el uso de una u otra dependerá de la magnitud del peso a medir. Generalmente la precisión de una balanza está relacionada con su capacidad, por lo que de una balanza diseñada para pesar kilogramos no se podrá esperar mucha precisión si se quieren reproducir pesadas de décimas de miligramos

<u>Tipo de balanza</u>	<u>Capacidad</u>	<u>Precisión</u>
Granatario	2 kg	0.10 g
Analítica	200 g	0.10 mg
Semi-micro	100 g	0.01 mg
Micro	30 g	1.00 µg

Para un adecuado uso y conservación de las balanzas:

- El profesor de prácticas enseñará al alumno el manejo de la balanza.
- El platillo de la balanza debe estar perfectamente limpio. Siempre que se termine una pesada, se desocupará la balanza, se limpiará su entorno y el reactivo a pesar se devolverá a su armario o estante del que se cogió.
- Los reactivos sólidos nunca deben ponerse directamente sobre el platillo de la balanza, ya que esto podría conducir no sólo a la contaminación del sólido, sino incluso, en algunos casos, al deterioro del plato de la balanza por corrosión.

#### *¿ Cómo se pesa un sólido ?*

Para pesar cualquier sólido se deben seguir las siguientes instrucciones:

- Tener en cuenta las características generales e instrucciones de uso de la balanza a utilizar.
- Leer dos veces la etiqueta del frasco del reactivo que indica el nombre del producto, antes de usarlo. Una equivocación conduce no sólo a errores experimentales, sino, en ocasiones, a accidentes.
- Para pesar se utilizará un recipiente limpio y seco (vaso de precipitados, vidrio de reloj, un pesa sustancias, etc.)
- Pesarse este recipiente y se anota la lectura.
- Para evitar derramamientos de sólido sobre el platillo de la balanza es conveniente retirar el recipiente ya pesado, poniendo cuidado (máxima limpieza) para no " añadir materia no controlable " al recipiente ya pesado.
- Agregar al recipiente anterior el sólido a pesar siguiendo alguno de los métodos indicados en la Fig.1.
- Pesarse de nuevo con cuidado el recipiente con el reactivo agregado. Anote la lectura.
- Calcular la cantidad de reactivo pesado como diferencia entre las dos lecturas.

#### 2. Transferencia de sólidos

Existen diversos métodos:

- Uno de ellos consiste en añadir al recipiente de pesada con el soluto, una porción del disolvente que vamos a utilizar, y con ayuda de una varilla agitadora de vidrio disolver el soluto. Una vez disuelto, se lleva esta disolución,

mediante un embudo, al matraz. El recipiente de pesada se lava varias veces con porciones de disolvente hasta que todo el soluto ha sido transferido al matraz.

- Otro método consiste en pasar con mucho cuidado los cristales pesados al matraz directamente. Para ello podemos ayudarnos con un embudo con diámetro de vástago adecuado al tamaño de los cristales. Como en el método anterior, se debe arrastrar el sólido al matraz lavando con pequeñas porciones del disolvente que vayamos a utilizar

- Cuando los pesos y volúmenes son pequeños, el método que produce menor error experimental consiste en utilizar directamente el matraz como recipiente de pesada.

### 3. Trabajo con líquidos

#### *Transferencia de líquidos*

Para evitar salpicaduras al verter un líquido de un recipiente a otro se apoya una varilla de vidrio sobre el borde del recipiente de modo que el líquido fluya por la varilla.

Si el recipiente tiene una abertura pequeña debe utilizarse un embudo limpio en el que caiga el líquido procedente de la varilla.

#### *¿ Cómo leer el volumen de un líquido ?*

Como ya es conocido, la superficie de un líquido o de una disolución suele adoptar una forma curvada conocida como menisco. Para medir un volumen con exactitud con el material volumétrico que utilizaremos en este curso (probetas, pipetas, buretas, etc.) debe:

- Situarse de modo que el ojo esté horizontal a la superficie del líquido.
- Realizar la lectura del volumen justo en la tangente al menisco.

#### *¿ Con qué se mide el volumen de un líquido ?*

Para medir los volúmenes de los líquidos se utilizan probetas, pipetas o buretas.

Las probetas se usan cuando no es necesaria una gran precisión en la medida del volumen. Las pipetas y buretas miden con mayor precisión por lo que son especialmente adecuadas para volúmenes pequeños.

##### a) Uso de las pipetas

Las pipetas, en sus diferentes tipos, han sido calibradas de forma que o bien no quede volumen detenido (contengan y vacíen el volumen especificado) o bien, viertan por simple acción de la gravedad el volumen especificado, por lo que es correcto que algunas gotas de líquido queden retenidas en la punta. **No soplar nunca por el extremo opuesto de la pipeta.**

Para utilizar una pipeta actuar del modo siguiente:

- Seleccionar la pipeta adecuada para el volumen a medir. Esta debe estar perfectamente limpia y seca, sin gotas de agua adheridas a las paredes interiores.

- Tomar el frasco o recipiente con el líquido a medir, asegurándose de que se trata del líquido deseado.

- ¡ No introducir nunca la pipeta directamente en los frascos de reactivos !. Transferir unos mililitros del líquido a un vaso de precipitados limpio ayudándose de una varilla de vidrio.

- Introducir el extremo de la pipeta por debajo de la superficie del líquido y con ayuda de una pera de goma, **nunca con la boca** (preguntar al profesor el funcionamiento de la pera), succionar una pequeña cantidad de disolución para homogeneizar (mojar) la superficie interna y después desechar esta porción.

- Seguidamente la pipeta llenar ligeramente por encima de la marca de enrase. Sacar el extremo de la pipeta y manteniéndola en posición vertical dejar caer el volumen de líquido en exceso.

- Una vez enrasada correctamente la pipeta (recordar como se lee un menisco) quitar la última gota que queda en el extremo, tocando ligeramente con la punta la pared interior del vaso de precipitados.

- Situar la pipeta sobre el recipiente al que se quiere verter el líquido. Durante el vertido, mantener el extremo de la pipeta por encima del nivel del líquido y contra la pared del frasco receptor. Esperar unos segundos hasta que el líquido haya escurrido bien, antes de sacar la pipeta.

##### b) Uso de la bureta

Una bureta está graduada para medir cantidades variables de líquido. Tienen, en general, las marcas principales señaladas por números que indican mililitros.

- Para que el volumen medido sea correcto, la bureta debe estar limpia y se debe homogeneizar con dos o tres porciones de la disolución a llenar, inclinando y girando la bureta cada vez, de tal forma que toda la superficie interior esté en contacto con la disolución utilizada, desechando estos líquidos de lavado.

- A continuación se llena la bureta, con la llave cerrada, por encima de la línea del 0. El líquido se deja escurrir, con la llave abierta, a través del pico de la bureta para llenar el espacio de la parte inferior, sin que queden burbujas de aire. Finalmente, se deja caer líquido hasta enrasar en 0 (recuerda cómo se mide un menisco).

- El pico de la bureta debe entrar dentro del recipiente de recogida para evitar pérdidas por salpicaduras.

- Para llevar a cabo adecuadamente la experiencia, la llave de la bureta se debería manipular con la mano izquierda y con la derecha agitar el erlenmeyer con la mezcla reaccionante, favoreciendo así una rápida mezcla de las disoluciones.

- Se abre la llave y se deja caer gota a gota la cantidad deseada de disolución y se anota el nivel de líquido utilizado, que será el volumen de disolución transferida.

- Si la cantidad de líquido contenido en la bureta no es suficiente, se dejará caer el líquido hasta el último de los enrasos, *¡ no dejando caer la parte no graduada !*. La bureta se vuelve a llenar, se enrasa a cero y se continúa la experiencia.

#### **4. Preparación de disoluciones**

Una disolución es una mezcla homogénea de las moléculas, átomos o iones de dos o más sustancias diferentes, que reciben el nombre de componentes de la disolución. La mayoría de las disoluciones que se utilizan contienen dos componentes, a uno de ellos se le llama disolvente y al otro soluto. En general se llama disolvente al componente que se encuentra en mayor proporción.

##### ***Método experimental***

Para preparar una disolución deben seguirse los siguientes pasos:

- Calcular las cantidades de soluto y disolvente necesarias para obtener la disolución de concentración deseada.

- A continuación se pesa o mide el volumen de soluto según se ha explicado anteriormente.

- Una vez que el soluto se encuentra en el recipiente donde se va a preparar la disolución (matraz enrasado) debe "ajustarse" el volumen de la disolución:

- Añadir el disolvente al matraz hasta el comienzo del cuello (evitar llenar parte de este).

- Girar y agitar suavemente el matraz hasta que se disuelva, el sólido transferido.

- Deja reposar la disolución para que adquiera la temperatura ambiente.

- Adicionar nuevamente más disolvente, con cuidado, hasta cerca de la marca de enrase. Añadir la última porción con un cuentagotas hasta que la tangente a la curva del menisco coincida con la curva de enrase grabada en el matraz.

- Tapar el matraz y mezclar bien la disolución agitando e invirtiendo varias veces el matraz.

## TÉCNICAS BÁSICAS

### FILTRACIÓN

La filtración es un método para separar partículas sólidas de un líquido, siendo una de las técnicas más frecuentes utilizadas en el laboratorio.

#### - Filtración por gravedad

Se realiza a través de un embudo de vidrio provisto de un filtro de papel, cónico o de pliegues (ver en la figura de la derecha como se realiza un filtro de pliegues). El líquido pasa a su través por efecto de la gravedad, quedando la parte sólida retenida en el filtro.

El filtro cónico es útil cuando lo que interesa recoger de una mezcla que se está filtrando es la parte sólida, ya que su superficie es lisa y es más fácil de separar el sólido una vez depositado. Si lo que interesa es lo que permanece en disolución, se utiliza el filtro de pliegues ya que la filtración es más rápida.

El papel se acopla a un embudo cónico y se adiciona una pequeña cantidad del disolvente que se utiliza en la disolución y el papel humedecido se presionará contra el embudo para conseguir una fuerte adherencia. A continuación se va adicionando la disolución a filtrar, evitando salpicaduras. Nunca se llenará el embudo del todo, para impedir que el sólido o el líquido se introduzca entre el papel y la pared del embudo.

#### - Filtración a presión reducida

Es más rápida que la filtración por gravedad y es muy adecuada para retener importantes cantidades de sólido. En la actualidad se utilizan embudos que disponen de placas filtrantes de diferente porosidad y que evitan el uso de papel y buchner. Puede ser conveniente la colocación de un frasco de seguridad para impedir la contaminación del filtrado con agua procedente de la trompa; esto no siempre es necesario, especialmente si se actúa correctamente: la interrupción del vacío debe hacerse desconectando primero la goma que une el kitasato (también llamado fiola) con la trompa de agua y sólo después se cerrará el grifo de agua.

#### **Lavado**

El precipitado, después de transferido al papel de filtro se lava sobre el mismo con sucesivas porciones de disolvente, para eliminar el líquido de filtrado adherido al precipitado. El líquido de lavado se añade con cuidado por el extremo superior favoreciendo que resbale y empuje hacia abajo al sólido.

Si el sólido que se filtra es algo soluble en el disolvente no deben utilizarse cantidades excesivas de líquido para lavar. Una misma cantidad de lavado, adicionada en pequeñas porciones sucesivas es incluso más eficaz. El líquido de lavado, en general, debe estar frío.

#### **Secado**

La eliminación de disolvente de la sustancia cristalizada se realiza mediante secado.

Una vez que el sólido filtrado se mantiene durante un tiempo en la placa filtrante son varios los métodos que se siguen para conseguir un adecuado secado del producto.

El más común consiste en colocar los cristales de la sustancia obtenida entre papel de filtro y dejar que se sequen al aire. Este método no es válido cuando la sustancia es muy higroscópica.

Otro método es introducir la sustancia, colocada en un crisol o vidrio de reloj, en una estufa, teniendo la precaución de que la temperatura no sea superior al punto de fusión de la muestra y considerando además que dicha muestra fundirá a menor temperatura que si estuviera pura. Sustancias que subliman fácilmente o se descomponen por el calor no deben secarse por este método.



1. Dóblese el papel por la mitad



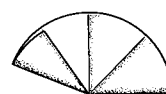
2. Dóblese el papel en cuartos



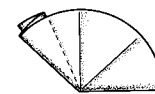
3. Dóblese el papel en octavos



4. Abrase el papel hasta la mitad



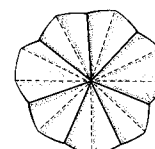
5. Usando el pulgar y los índices, dóblese sobre la línea del octavo



6. Dóblese volviendo hacia la línea del cuarto



7. Continúese el proceso de plegado alterno hasta haber completado los pliegues en octavos de su tamaño original



8. Cuando se abra el papel se obtendrá el filtro de pliegues completo

El tercer método de secado está basado en el empleo de un desecador de vacío, el cual combina la acción del vacío con la de un agente químico desecante apropiado. Este método tampoco es adecuado para sustancias que tengan tendencia a sublimar.

## RECRISTALIZACION

La RECRISTALIZACION es una técnica utilizada para la purificación de sustancias sólidas, basada en la mayor solubilidad que suelen presentar los sólidos en un disolvente en caliente que en frío. La recristalización puede llevarse a cabo en un disolvente puro o en una mezcla de disolventes, variando en ese caso el proceso de ejecución. El modo más frecuente de realizar una recristalización consiste en preparar una disolución saturada en caliente del sólido a purificar, utilizando el disolvente adecuado; filtrar para eliminar las impurezas insolubles que se hallen presentes y dejar que se separe la sustancia que estaba disuelta, cristalizada y en un mayor grado de pureza.

El proceso de filtración para eliminar impurezas insolubles ha de realizarse cuando la disolución esté en caliente, y evitar así pérdidas del producto que nos interesa. Por esta misma razón, el embudo, papel y recipiente receptor de la disolución filtrada también deben estar calientes.

El tamaño de los cristales obtenidos depende de la velocidad de cristalización y, en general, lo mejor suele ser dejar que el enfriamiento sea lento o moderado.

## EXTRACCIÓN

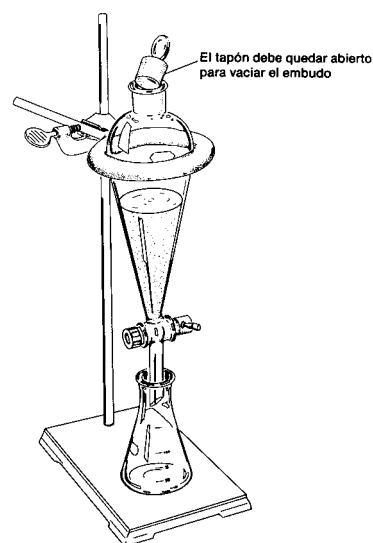
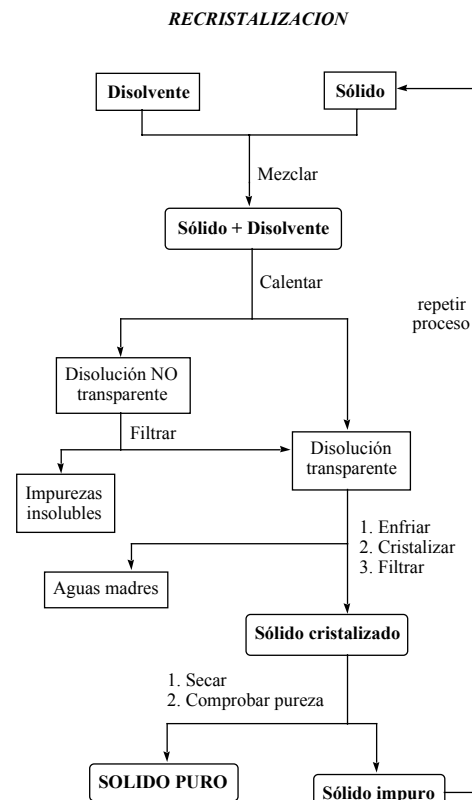
La extracción es un proceso mediante el cual una sustancia que se encuentra en una mezcla sólida o disuelta en un determinado disolvente es transferida a otro disolvente. Es, pues, una técnica que sirve para separar una sustancia de otras con las que se encuentra mezclada y que no sean solubles en ese segundo disolvente. La sustancia a separar puede tratarse tanto de un sólido como de un líquido y en función del tener una muestra sólida o líquida el método de trabajo será diferente.

### •Extracción líquido-líquido sencilla

Esta técnica se utiliza en muchas ramas de la Química. Se puede utilizar para separar un determinado compuesto de otros que lo acompañan por ejemplo en una planta o tejido animal; para aislar una sustancia orgánica del medio de reacción acuoso en que fue obtenida, etc. En otros casos puede ocurrir que una disolución orgánica contenga restos de ácidos inorgánicos, de hidróxidos o sales. Estos restos se eliminan lavando (extrayendo) esta disolución orgánica con una disolución acuosa básica, ácida o simplemente con agua, respectivamente. Otro ejemplo muy importante es la extracción de un compuesto orgánico aprovechando su carácter ácido o básico. De esta forma la sustancia orgánica pasa a la fase acuosa en forma de la correspondiente sal, que es insoluble en la fase orgánica.

### Fundamento

El fundamento teórico que explica esta transferencia de un producto de un disolvente a otro es el siguiente: Tenemos la sustancia o soluto S disuelta en el disolvente 1. Si agitamos esta disolución con otro disolvente de esa sustancia - disolvente 2- que sea inmisible con el disolvente 1, resultará que este soluto S se distribuirá o se repartirá ahora entre ambos disolventes. Este sistema está constituido por dos fases líquidas, ya que los dos disolventes, como dijimos, son inmiscibles entre sí. Dejando el sistema en reposo, las dos fases líquidas se separan en dos capas, llegándose a un



equilibrio, en el que la relación de las concentraciones de la sustancia S en cada disolvente es constante  $K=C_1/C_2$  (K: coeficiente de reparto y  $C_1$  y  $C_2$  concentraciones en el equilibrio del soluto S en los disolventes 1 y 2). K depende de la temperatura y del sistema de disolventes considerado, pero es independiente de la cantidad de S y del volumen de los disolventes.

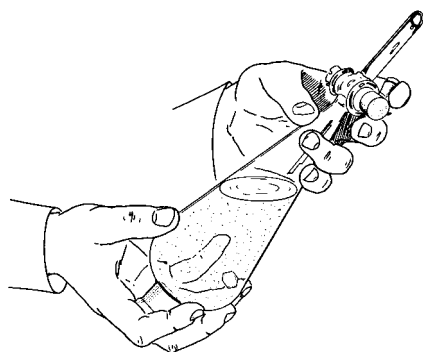
*El disolvente extractor deberá ser inmiscible con el disolvente en que se encuentra disuelta la sustancia a extraer y deberá disolver a ésta mejor que el otro disolvente.*

El rendimiento de una extracción es mejor cuando en lugar de extraer con un volumen de A ml en una sola vez, se extrae en varias veces, por ejemplo, dos veces con dos volúmenes de A/2 ml.

### **Equipo y procedimiento operativo**

La pieza fundamental utilizada en esta técnica es el embudo de decantación

• Primeramente se introduce la disolución en el embudo de decantación y, a continuación, el volumen requerido del disolvente extractor. Las soluciones deben estar frías, el embudo nunca se debe llenar totalmente, y siempre debe colocarse un vaso debajo del embudo para remediar posibles roturas.



• Seguidamente se cierra bien el embudo con su tapón (si el embudo tiene un orificio en la boca y el tapón una ranura vertical, éstos no deben coincidir) y se coge con ambas manos, sujetando con una la llave y con la otra el tapón. Se invierte, sujetándolo siempre de la misma forma y se agita suavemente. En este momento es muy importante tener en cuenta que al mezclarse los dos disolventes, se suman las presiones de vapor. Esto ocasiona una sobrepresión interior que se disminuye, abriendo con cuidado la llave para que los gases acumulados salgan (ver figura) y cerrándola luego. Este proceso de agitar y abrir la llave se repite varias veces hasta que no haya más salida de gases.

• A continuación se le deja reposar sobre el aro y se espera a que las dos capas se separen nítidamente. Ahora deberemos asegurarnos de la identidad de las dos capas (densidades). Cuando las dos capas se han separado, se quita el tapón, se abre la llave y con cuidado se deja caer la capa inferior recogiendo en un erlenmeyer (vigilar la interfase). Después se vierte en otro erlenmeyer la capa superior pero por la boca del embudo para evitar que se impurifique con restos de la capa inferior que pudieran quedar en la llave.

## **DESTILACIÓN**

La destilación es una técnica muy importante para la purificación de líquidos o separación del soluto y del disolvente en una disolución. Se utiliza pues para separar componentes de una mezcla en función de sus distintos puntos de ebullición.

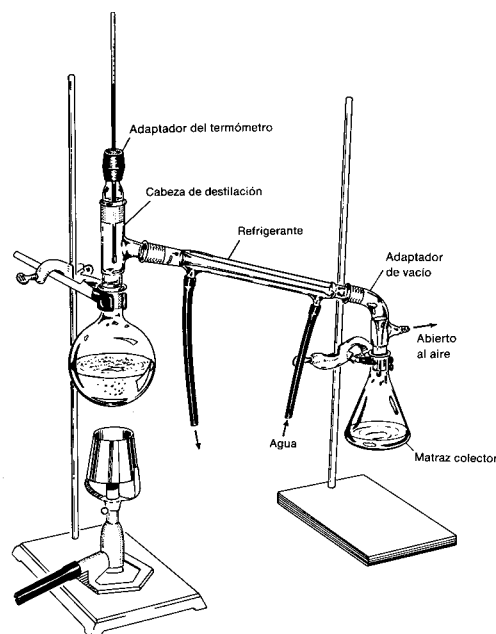
La destilación es un proceso en el que :

- Se evapora una sustancia por calentamiento
- Se condensa el vapor producido y,
- Se recoge el líquido en un recipiente aparte.

Los distintos tipos de destilación que se pueden realizar son : sencilla, por arrastre de vapor, fraccionada o a presión reducida en función de los condicionantes del proceso de separación (estabilidad de los productos, viabilidad experimental, etc.). En la página siguiente se incluyen algunos montajes para cada una de estas técnicas. A continuación se consideran algunos aspectos particulares de los distintos tipos de destilación.

### **• Destilación sencilla**

Una destilación sencilla se lleva a cabo con el equipo representado en el esquema de la derecha que consta de:



- Matraz de destilación de boca esmerilada, donde se sitúa la mezcla a destilar. Este matraz va sujeto a un soporte mediante unas pinzas.

- Cabeza de destilación o T de destilación unida por un lado al matraz y por otro al refrigerante, y en la que se coloca un termómetro en la parte superior utilizando un macho guía. El termómetro debe quedar situado como se indica en la figura. De esta manera el bulbo quedará bañado completamente con el vapor y la lectura será correcta.

- Refrigerante que va unido a la cabeza de destilación. A lo largo del mismo existen dos zonas, una interna por donde pasa y se condensa el vapor que proviene del matraz de destilación y otra externa por donde circula el agua de refrigeración.

- Adaptador que une el refrigerante y el colector.

- Matraz colector donde se recoge el destilado. A pesar de que todas las uniones entre piezas de vidrio se hacen mediante muelles o clips, es conveniente situar debajo del matraz colector algún soporte para evitar que se rompa.

#### • Destilación por arrastre de vapor

La destilación con arrastre de vapor permite separar sustancias que son insolubles en agua y ligeramente volátiles de otras que no lo son.

Cuando se mezclan dos líquidos A y B que son miscibles y no interaccionan entre sí, constituyen una disolución ideal y siguen la Ley de Raoult, siendo la presión de vapor de la disolución :

$$P_T = P_A + P_B = P_A^0 \cdot X_A + P_B^0 \cdot X_B$$

siendo  $P^0$  las presiones de vapor de los componentes sin mezclar y X las fracciones molares de los componentes.

En un mezcla formada por dos líquidos inmiscibles, A y B, la presión de vapor total a una temperatura dada es igual a la suma de las presiones de vapor que tendrían, a esa temperatura, ambos componentes sin mezclar :

$$P_T = P_A^0 + P_B^0$$

ejerciendo cada componente su propia presión de vapor.

La mezcla hervirá a una temperatura la que la presión de vapor total sea igual a la presión externa. Esta temperatura permanece constante durante toda la destilación y es inferior a la de A y B.

Dado que la temperatura durante una destilación con arrastre de vapor de una sustancia volátil nunca es superior a 100 °C, es posible la purificación de sustancias que hierven a temperaturas superiores a 100 °C a presión atmosférica y que se descomponen antes o al llegar a su punto de ebullición.

#### • Destilación a presión reducida (o vacío)

Este tipo de destilación es especialmente utilizada en la purificación de productos con muy altos puntos de ebullición y/o que se descomponen en el proceso de calentamiento.

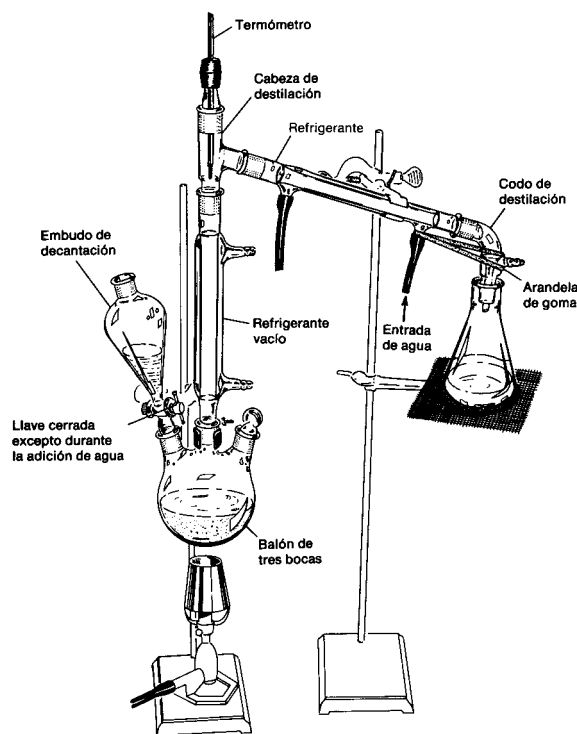
Si la presión total sobre la disolución a destilar es menor que la presión atmosférica, las contribuciones de las presiones de vapor a una temperatura menor serán lo suficientemente grandes como para permitir la destilación a temperatura inferior al punto de ebullición.

Según sea el interés por el líquido destilado o no, los equipos utilizados tienen características diferentes. En el proceso rutinario de eliminación de disolventes, en el trabajo de laboratorio se utiliza el equipo denominado como rotavapor.

#### Observaciones

- Elegir un matraz de destilación adecuado al volumen a destilar. El matraz no debe llenarse más de las 2/3 partes de capacidad ni tampoco debe ser excesivamente grande.

- Dar un poco de grasa en las juntas esmeriladas.



- Añadir unos trocitos de plato poroso al matraz de destilación para controlar los saltos de la disolución a destilar (salvo en rotavapor).
- Unir todas las piezas de vidrio con muelles o clips.
- Conectar el refrigerante, teniendo en cuenta que la goma unida a su parte superior va al desagüe y la de la parte inferior al grifo del agua (intercambio de calor en contracorriente). No abrir demasiado el grifo del agua, un pequeño caudal continuo es suficiente y evitará que salten las gomas.
- Se debe utilizar un baño de calefacción de agua o de silicona (según la temperatura a alcanzar) para que la calefacción sea más uniforme.
- Ajustar la temperatura de la fuente de calor. No introducir nunca el matraz de destilación en un baño que esté a temperatura próxima o superior a la de destilación, se evitarán así sobrecalentamientos y que todo destile de golpe o salte.

## REFLUJO

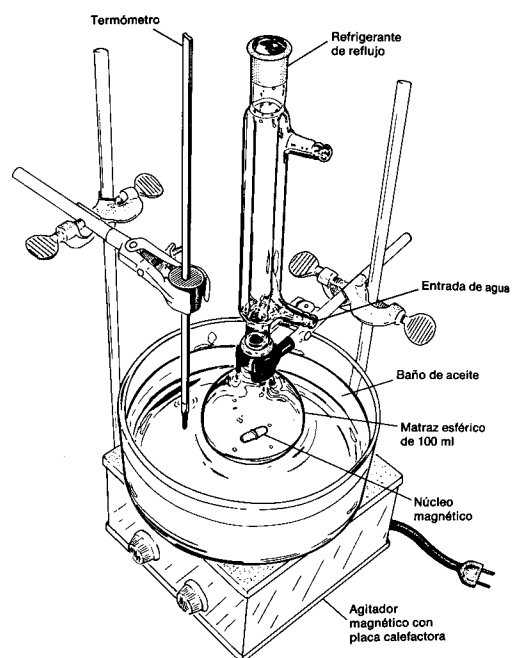
Un montaje para reflujo permite realizar procesos a temperaturas superiores a la ambiente (reacciones, recristalizaciones, etc), evitando la pérdida de disolvente y que éste salga a la atmósfera..

Básicamente consta de un matraz donde se coloca la disolución y de un refrigerante, acoplado en vertical, al que según la finalidad del experimento se acoplan otros elementos (ver esquema a la derecha) en función de que sea necesario llevar a cabo adiciones, mediciones de temperatura interna, etc..

El refrigerante se conecta mediante tubos de goma, al grifo de agua por su parte inferior y al desagüe por la parte superior (en contracorriente).

El matraz se sumerge parcialmente en el baño calefactor y todo el montaje en posición vertical debe ser adecuadamente asegurado mediante un pie, pinzas y clips o muelles de sujeción.

Para evitar ebulliciones violentas es conveniente introducir en el matraz con la disolución un agitador magnético o porcelana porosa.



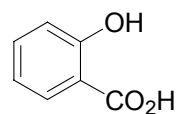


**GUIONES  
DE LOS EXPERIMENTOS**

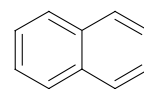


**PRACTICA 1. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS****SEPARACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO Y NAFTALENO**

La práctica consiste en aislar el ácido salicílico y el naftaleno de una mezcla de ambos al 50%. El procedimiento consiste en una extracción en medio básico de una disolución que contiene la mezcla, seguida del aislamiento y purificación de cada compuesto a partir de las disoluciones obtenidas.



ácido salicílico



naftaleno

La práctica se basa en el hecho de que los ácidos orgánicos son solubles en medio básico acuoso en forma de sus correspondientes sales. Por lo tanto, cuando una disolución que contiene ácido salicílico y naftaleno en un disolvente orgánico ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) es extraída con NaOH acuoso, el ácido salicílico pasará a la fase acuosa y el naftaleno permanecerá en la fase orgánica. Las dos fases son inmiscibles y podrán ser fácilmente separadas. Posteriormente, el ácido salicílico sólido es aislado de la fase acuosa, aprovechando el hecho de que es poco soluble en medio acuoso neutro o ácido. Para ello, se precipita de la disolución básica por neutralización (o ligera acidificación) con ácido clorhídrico. Finalmente, se purificaría por recristalización en etanol acuoso.

El naftaleno es aislado de la fase orgánica por eliminación del disolvente,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Este tiene un bajo punto de ebullición ( $40^\circ\text{C}$ ) y es eliminado fácilmente por destilación.

**Parte experimental**

En un vaso de precipitados se coloca una mezcla de 1 g de ácido salicílico y 1 g de naftaleno, se añaden 50 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y la mezcla se agita hasta obtener una disolución transparente. La disolución se transfiere entonces a un embudo de decantación, donde es extraída con 25 ml de NaOH 2N (ver *Extracción líquido-líquido* en TÉCNICAS BÁSICAS).

Las dos fases inmiscibles son separadas por decantación. ¿Cuál será la fase orgánica y cuál la fase acuosa?

La fase acuosa se guarda aparte, y la fase orgánica es extraída en el embudo de decantación con otros 25 ml de NaOH 2N.

Las dos porciones acuosas se reúnen en un erlenmeyer y a la disolución acuosa básica resultante se añade HCl 12N hasta pH neutro o ligeramente ácido. El ácido salicílico precipita en forma de sólido blanco que se separa por filtración a presión reducida manteniéndola hasta su secado.

La fase orgánica, que contiene el naftaleno, se transfiere a un matraz redondo y se elimina con ayuda de un rotavapor. El matraz se calienta en un baño de agua. El  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hierve a  $40^\circ\text{C}$  y es recogido por condensación en el otro extremo del montaje de destilación. Cuando se ha eliminado todo el disolvente, el residuo que queda en el matraz de destilación es naftaleno puro.

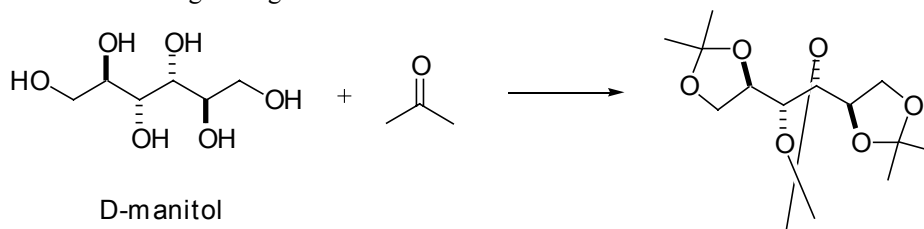
Para analizar la adecuada realización del proceso de separación, analiza la pureza de ambos productos separados mediante su punto de fusión

**Cuestiones**

- Cuando se efectúa la extracción en el embudo de decantación aparecen dos fases ¿ Por qué ?. Explica razonadamente cómo distingues cuál es la fase orgánica y cuál es la fase acuosa.
- ¿ Por qué se utiliza NaOH ? ¿ Qué fenómeno químico se produce ?. Escribe la fórmula del producto resultante.
- ¿ Qué fenómeno químico se produce cuando la disolución de ácido salicílico en NaOH acuoso se neutraliza ?. ¿ Por qué precipita el ácido salicílico ? ¿ Cómo recuperarías este producto sólido ?
- ¿ Por qué se puede recuperar el naftaleno de su disolución en cloruro de metileno ?
- Explicar porqué el naftaleno es soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pero no en agua.

**PRACTICA 2. ELABORACION DE CARBOHIDRATOS (III)****SINTESIS DE 1,2:3,4:5,6-TRI-O-ISOPROPILIDEN-D-GLUCOFURANOSA**

En las mismas condiciones que la D-glucosa sólo forma dos acetales con acetona, el D-manitol es capaz de formar tres acetales de cinco miembros contiguos según la reacción indicada..

***Parte experimental***

Se disuelven 0.38 g de iodo y 1.25 g de manitol en 60 ml de acetona y la mezcla, colocada en un matraz, se calienta en un baño a reflujo 30 minutos. Al cabo de dicho tiempo se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente y se añade una disolución acuosa saturada de tiosulfato de sodio hasta conseguir la decoloración total. La disolución resultante se concentra parcialmente en el rotavapor hasta obtener la tercera o cuarta del volumen de partida. Se deja enfriar la disolución y se añaden 25 ml de agua y 15 ml de cloroformo. La mezcla resultante se transfiere a un embudo de decantación y se separa la fase orgánica (que se guarda). La fase acuosa se extrae dos veces con 15 ml de cloroformo. Se juntan los tres extractos orgánicos, se secan con sulfato de sodio, se filtra y el filtrado se trasvasa a un matraz y se evapora a sequedad en el rotavapor. El sólido blanco que se obtiene es 1,2:3,4:5,6-tri-O-isopropiliden-D-manitol. El punto de fusión del producto debe ser de 70-72 °C

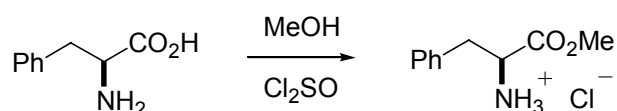
***Cuestiones***

- 1.- Proponga un mecanismo de formación del producto.
- 2.- ¿Para qué se añade tiosulfato de sodio al final de la reacción?
- 3.- ¿Por qué debe reducirse el volumen de la mezcla final de reacción?
- 4.- ¿Cuál es el papel del iodo en la reacción?

**PRACTICA 3. ELABORACION DE AMINOACIDOS(I)****SINTESIS DEL ESTER METILICO DE FENILALANINA**

Los aminoácidos se obtienen, generalmente, por hidrólisis de proteínas por lo que su forma natural es aquella con los grupos amino y ácido libres. Sin embargo, estos grupos pueden interferir en gran cantidad de reacciones, especialmente, el grupo carboxilo ya que posee un hidrógeno extremadamente ácido.

Para evitar dichas interferencias, lo más habitual es formar el correspondiente éster metílico. En esta práctica se llevará a cabo la esterificación con metanol en presencia de un ácido generado en el medio. (ATENCIÓN! En la práctica se utilizará cloruro de tionilo que es extremadamente tóxico, irritante y corrosivo por lo que debe manipularse siempre en la vitrina).

**Parte experimental**

Se suspenden 1.00 g de L-fenilalanina en 25 ml de metanol (matraz de 100 mL) enfriado en baño de hielo. La disolución resultante se trata con 0.6 ml de cloruro de tionilo muy lentamente (ATENCIÓN! La adición del cloruro de tionilo debe ser lenta ya que puede producirse el calentamiento excesivo de la reacción o incluso la proyección de gotas desde la mezcla de reacción). Una vez terminada la adición se deja en el baño de hielo y se deja que este llegue a temperatura ambiente durante toda la noche. Se evapora a sequedad (rotavapor) y el residuo se tritura con diclorometano. Una vez triturado el residuo se evapora el disolvente para eliminar el cloruro de tionilo sobrante. Este paso se realiza tres veces. Al final queda un sólido blanco que es el producto buscado en forma de clorhidrato

**Cuestiones**

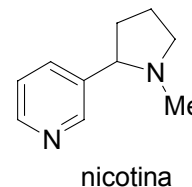
- 1.- ¿Qué ácido se genera en la reacción? ¿Se desprende algún gas?
- 2.- ¿Cuál es el mecanismo de la esterificación?
- 3.- ¿En qué será soluble el sólido obtenido?



**PRACTICA 5. EXTRACCION DE PRODUCTOS NATURALES (I)****EXTRACCION DE LA NICOTINA DEL TABACO**

El alcaloide que se halla en mayor proporción en la hoja del tabaco es la nicotina. Le acompañan pequeñas cantidades de nornicotina, anabasina y al menos otros siete alcaloides.

La nicotina es una base nitrogenada formada por dos heterociclos (piridina y pirrolidina). Ambos nitrógenos pueden protonarse para formar sales. Dados los valores de  $pK_a$  de los iones piridinio ( $pK_a = 8$ ) y pirrolidinio ( $pK_a = 3$ ) podemos decir que a  $pH = 7$  la nicotina se encuentra protonada en un 90% en el anillo de pirrolidina. Esta característica hace que la nicotina se parezca a la acetilcolina, dando lugar a los efectos conocidos de vasoconstricción (ocasionando a largo plazo endurecimiento de las arterias) y ansiedad en ausencia de su consumo (adicción).



Para la realización de la práctica es posible utilizar cigarrillos; sin embargo, dado que la mayoría de los fabricantes intentar eliminar en lo posible la nicotina (aunque mantienen intactos el resto de componentes cancerígenos del tabaco), resulta más aconsejable utilizar cigarrillos puro o picadura (mucho mejor si el tabaco está bien seco y triturado).

**NOTA IMPORTANTE:** La nicotina es extraordinariamente tóxica. La dosis letal es de 60 mg para un varón adulto de 70 Kg, por lo que debe manejarse con sumo cuidado. (Sin embargo... el tabaco mata por otros motivos aún peores...)

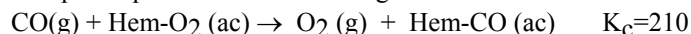
**Parte experimental**

En un vaso de precipitados de 400 ml poner 8.5 g de tabaco de puro seco y triturado y 100 ml de una solución de hidróxido de sodio al 5%. Agitar la mezcla durante 5 minutos. Montar un aparato de filtración a vacío con placa filtrante y kitasatos de 250 ml. Añadir Celite hasta la mitad de la placa filtrante y a continuación agua para empaquetar la Celite. Filtrar cuidadosamente (para no revolver la tierra de diatomeas) conectando la trompa de agua. Lavar con agua el sólido filtrado, pasando agua destilada por la placa filtrante y recogéndola en el mismo kitasatos donde tenemos la solución acuosa que contiene la nicotina. Tirar el sólido filtrado a la basura (¡nunca por el desagüe!). Pasar el líquido filtrado a un embudo de decantación de 250 ml y extraer la disolución acuosa con 25 ml de éter (¡no agitar demasiado el embudo ya que se formarán emulsiones difíciles de romper!). Repetir dos veces la operación con 25 ml de éter cada vez. Unir todos los extractos orgánicos (¡asegurarse de coger la fase correcta!), secarlos con sulfato de sodio anhidro, filtrar en un erlenmeyer, pasar el filtrado a un matraz y evaporar el éter en rotavapor sin calentar el agua del baño para evitar la descomposición de la nicotina. El residuo oleoso que queda es, en su mayor parte, nicotina.

**Cuestiones**

1.- La nicotina no es, ni mucho menos, el único componente tóxico del tabaco. En la combustión de los cigarrillos también se forman cantidades apreciables de monóxido de carbono que llegan a inutilizar la hemoglobina provocando a largo plazo enfisemas pulmonares.

De hecho, el monóxido de carbono que penetra en los pulmones reduce la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a través del cuerpo ya que forma un complejo de coordinación con la hemoglobina de la sangre, que es más estable que el que se forma con el oxígeno:



Un fumador de una media de 10 cigarrillos / día (o un fumador pasivo de 22 cigarrillos / día) está expuesto a una concentración de CO de  $2,1 \times 10^{-6}$  mol/l. Siendo la concentración de O<sub>2</sub>  $8,8 \times 10^{-3}$  mol/l, calcular:

a) la relación  $[\text{CO}]/[\text{O}_2]$                       b) la relación  $[\text{Hem-CO}]/[\text{Hem-O}_2]$

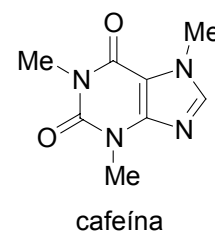
¿Qué sugieren estos datos? (... además de que debe dejarse de fumar)

2.- ¿Por qué el anillo de pirrolidina de la nicotina es más básico que el anillo de piridina?

3.- ¿Existe algún carbono asimétrico en la nicotina? En caso afirmativo indique cuál o cuales y escriba todos los posibles estereoisómeros.

**PRACTICA 6. EXTRACCION DE PRODUCTOS NATURALES (III)****EXTRACCION DE LA CAFEINA DE LA COCA-COLA**

La cafeína también se encuentra en bebidas refrescantes como la Coca-Cola de la que también es posible llevar a cabo su extracción, puesto que el resto de componentes son solubles en agua. La cafeína en estos refrescos se encuentra en una proporción de unos 0.1 mg/ml, unas seis veces menor que en el café. Procede de las nueces de cola. De hecho, la cola es una bebida basada en el extracto de nuez de cola que se puede adquirir en forma de jarabe. Si a este jarabe se le añade ácido fosfórico, caramelo, agua y dióxido de carbono tenemos la clásica Coca-Cola. El límite de cafeína establecido por la FDA en Estados Unidos es de 17 mg por cada 100 mL. Para poder regular este nivel de cafeína, los fabricantes eliminan toda la cafeína inicialmente y luego añaden al jarabe la permitida legalmente.

***Parte experimental***

Se vierten unos 180 ml de Coca-Cola en un vaso de precipitados de 250 ml y se agita con una varilla para eliminar la mayor cantidad posible de dióxido de carbono. A continuación se vierte en un embudo de decantación y se añaden 15 ml de diclorometano. Se agita vigorosamente cuidando de evitar que salte el tapón por efecto de la presión (CUIDADO! deben liberarse los gases adecuadamente del embudo de decantación. Ver técnicas básicas). Se separa la fase orgánica y la fase acuosa se extrae dos veces más con 15 ml de diclorometano. Las fases orgánicas se juntan, se secan y se destilan en un matraz previamente tarado, en el rotavapor para dar un residuo blanco que es esencialmente cafeína pura.

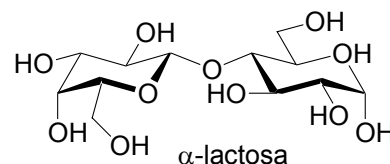
La cafeína puede purificarse mediante recristalización en una mezcla de tolueno y hexano, o bien mediante sublimación.

***Cuestiones***

- 1.- ¿Cuál es la fase orgánica en el proceso de extracción de la cafeína, la inferior o la superior? Indique porqué.
- 2.- ¿Hay algún hidrógeno ácido en la cafeína? En caso afirmativo indique cuáles.
- 3.- Escriba la reacción ajustada que tiene lugar entre el ácido clorogénico y el tetraacetato de plomo. ¿Qué tipo de reacción es?

**PRACTICA 7. EXTRACCION DE PRODUCTOS NATURALES (IV)****AISLAMIENTO DE CASEINA**

Para llevar a cabo el aislamiento de la caseína de la leche se deberá trabajar con leche descremada con el fin de evitar que la grasa de la leche interfiera en el proceso de aislamiento. Es necesario, en primer lugar, precipitar la caseína añadiendo un ácido (*cortar la leche*). Hay que tener cuidado de no calentar demasiado para evitar que la lactosa de la leche se convierta en glucosa y galactosa. Una vez separada la caseína puede separarse la proteína soluble, la albúmina, permitiéndose así la precipitación de la lactosa.

***Parte experimental***

Introducir 200 ml de leche descremada en un vaso ancho de 600 ml. Calentar la leche hasta 40 °C y añadir gota a gota una disolución de ácido acético diluido (10% en agua). Agitar continuamente la mezcla con una varilla de vidrio durante todo el proceso de adición. Continuar añadiendo ácido acético hasta que no precipite más caseína. Agitar la caseína hasta que se forme una gran masa amorfa. Separar la caseína, con ayuda de una varilla y/o espátula y colocarla en otro vaso de precipitados. Añadir 5 g de carbonato de calcio en polvo al primer vaso (que contiene el líquido del que se ha separado la caseína). Agitar la mezcla resultante y guardarla, ya que contiene lactosa.

Filtrar la masa de caseína al vacío durante 15 minutos utilizando una placa filtrante con un papel de filtro previamente humedecido. Presionar la caseína con una espátula durante el filtrado. Secar la caseína entre papeles de filtro repitiendo el proceso de secado varias veces. Dejar secar durante uno o dos días antes de pesarla para calcular el rendimiento.

***Cuestiones***

- 1.- ¿Cuántos carbonos asimétricos tiene la lactosa? ¿En cuántos estereoisómeros se puede resolver?
- 2.- Escriba por separado los componentes de la lactosa. ¿Cuántos grupos hidroxilo se encuentran en ecuatorial en cada uno de dichos componentes?
- 3.- ¿Cree que tendría poder óptico la lactosa? ¿Es posible predecir su valor? ¿Y el signo? En caso afirmativo indique el signo y un valor aproximado.
- 4.- Sabiendo que la densidad de la leche es 1.03 g/l, ¿cuál es el porcentaje aislado de caseína? ¿y de lactosa?