



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
ORGÁNICA**

**COMPENDIO DE EXPERIMENTOS DE
QUÍMICA ORGÁNICA IV (1606)**

SEMESTRE 2027-1

Dr. Diego Isaac Martínez Bourget

Coordinador del Laboratorio de Química Orgánica IV

1606 – Química

Créditos y reconocimientos

Con la colaboración en el diseño y montaje de los experimentos: Norma Castillo Rangel, Adrián Vázquez Sánchez y J. Oscar Humberto Pérez Díaz.

El experimento de síntesis de butirato de etilo se desarrolló con fondos del **PAPIME No. PE204623**.

Agradecimiento a la Dra. Irma Gavilán Cruz por su valiosa aportación de los diagramas ecológicos incluidos en el presente manual.

El presente manual es una actualización y modificación del previo elaborado por la QFB. Consuelo García Manrique (2014), **ISBN: 978-607-02-5346-1**.

Programa de prácticas — Semestre 2027-1

Sem.	Fechas	Práctica	Nota
1	17-21 ago	Bienvenida, reglamentos, evaluación y firmas	
2	24-28 ago	Entrega de kits / Práctica 1: Ácidos carboxílicos I — Reacción del haloformo	
3	31 ago-4 sep	Práctica 2: Ácidos carboxílicos II — Reacción de Kolbe-Schmitt	
4	7-11 sep	Práctica 3: Derivados de ácidos carboxílicos I — Síntesis de benzocaína / butirato de etilo / anhídrido ftálico	
5	14-18 sep	Práctica 4: Ácidos carboxílicos III — Síntesis de ácido benzoico por reacción de Grignard	G3 sin sesión (16 sep)
6	21-25 sep	Práctica 5: Derivados de ácidos carboxílicos II — Síntesis de paracetamol / fluoresceína	
7	28 sep-2 oct	Práctica 6: Lípidos I — Aislamiento de trimiristina	
8	5-9 oct	Práctica 7: Lípidos II — Saponificación de trimiristina	
9	12-16 oct	Práctica 8: Aminoácidos y péptidos I — Síntesis del ácido hipúrico	G1 y G2 sin sesión (12 oct)
10	19-23 oct	Práctica 9: Aminoácidos y péptidos II — Reacción pseudo-Sanger e identificación de aminoácidos	
11	26-30 oct	Práctica 10: Carbohidratos I — Análisis e identificación de carbohidratos	
12	2-6 nov	Taller de RMN	G1 y G2 sin sesión (2 nov)
13	9-13 nov	Práctica 11: Carbohidratos II — Hidrólisis química del almidón (G3 y G4) / EFI (G1 y G2)	G1 y G2 realizan EFI
14	16-20 nov	EFI (G3 y G4)	G1 y G2 sin sesión (16 nov)
15	23-27 nov	Resultados, retroalimentación, cierre y devolución de kits	

ÉTICA E INTEGRIDAD ACADÉMICA EN EL LABORATORIO

Laboratorio de Química Orgánica IV (1606)

Semestre 2027-1

En concordancia con el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, el Reglamento de Higiene y Seguridad para los laboratorios de la Facultad de Química y el Reglamento Interno de los Laboratorios de Química Orgánica vigente, se enuncian a continuación los puntos de observancia obligatoria en el desarrollo de la asignatura Laboratorio de Química Orgánica IV (1606), tanto dentro como fuera del laboratorio:

- Todo documento solicitado por el profesorado de la asignatura debe ser elaborado por el propio alumnado. El plagio, parcial o total, queda estrictamente prohibido; quien incurra en él quedará sujeto a las sanciones académicas correspondientes.
- Todo elemento (texto, figura, esquema, espectro o dato) incluido en investigaciones previas, trabajos, tareas o reportes de laboratorio que no sean generados derivado del trabajo experimental y que no sea de la autoría del alumnado debe estar debidamente referenciado o será considerado como plagio.
- Queda prohibido inventar cualquier dato que no se haya obtenido directamente durante un experimento. Los datos que no coincidan con lo esperado deberán reportarse tal como se obtuvieron, analizarse y justificarse con fundamento químico y pensamiento crítico. Inventar información en un reporte de laboratorio constituye una falta grave a la integridad académica.
- Las observaciones experimentales y cualquier otro dato deben anotarse en el momento en que se generan, sin reconstruirlos con posterioridad. Es obligatorio el uso de bitácora, ya que constituye el respaldo de la autoría del trabajo y el principal elemento probatorio ante cualquier duda sobre un resultado.
- El uso de herramientas de inteligencia artificial generativa se admite únicamente como apoyo para organizar ideas o mejorar la redacción, siempre que se declare de forma explícita la herramienta y la finalidad con que se empleó. No se permite su uso para generar datos, discusiones ni conclusiones presentadas como producto del trabajo experimental propio.
- Queda prohibido modificar los procedimientos experimentales del presente Compendio; cualquier actualización requiere aval por escrito de la Jefatura del Departamento de Química Orgánica.
- Los incidentes en el laboratorio (derrames, salpicaduras o roturas de material o equipo) deben declararse de inmediato, pues su ocultamiento representa un riesgo para todo el grupo.
- Los residuos generados en el laboratorio se depositan conforme al diagrama ecológico de cada práctica; el incumplimiento de esto constituye una infracción ambiental.
- Detectada cualquier falta a la integridad académica, el profesorado documentará el hecho, escuchará a las personas involucradas y aplicará las sanciones que correspondan conforme a los criterios de evaluación entregados en la primera sesión y a los lineamientos y reglamentos vigentes de la Facultad de Química. En casos graves o de reincidencia, el asunto se turnará a la Jefatura del Departamento de Química Orgánica y, en su caso, al H. Consejo Técnico de la Facultad, conforme a la Legislación Universitaria.

PRÁCTICA 1



ÁCIDOS CARBOXÍLICOS I

REACCIÓN DEL HALOFORMO

I. Objetivos.

- a) Sintetizar ácido benzoico a partir de acetofenona, por medio de una reacción de desmetilación oxidativa o haloformo.
- b) Comprobar la presencia de un grupo ácido carboxílico por medio de pruebas características.

II. Introducción.

La reacción de haloformo es una reacción característica que sufren las metil-cetonas en presencia de cloro, bromo o yodo en medio fuertemente alcalino (OH^-), para dar un carboxilato metálico (RCO_2Na o K) y trihalometano, comúnmente conocido como haloformo (CHX_3), con la particularidad de que dicho carboxilato muestra un carbono menos que la cadena original. Los aldehídos no llevan a cabo dicha reacción salvo por el acetaldehído. La utilidad sintética de dicha reacción es la desmetilación oxidativa de metil-cetonas, para la obtención de ácidos carboxílicos o amidas como lo reporta Cao L.

La reacción procede mediante 3 halogenaciones sucesivas sobre los 3 hidrógenos alfa del metilo adyacente al carbonilo; una vez realizadas las tres halogenaciones, procede un ataque nucleofílico por parte de un hidróxido al carbonilo desplazando al trihalometano como grupo saliente.

III. Investigación previa.

1. Propón, paso a paso, el mecanismo de trihalogenación y ruptura $\text{C}-\text{C}$ de esta reacción, y explica por qué se detiene exactamente en el tercer halógeno.
2. El pK_a de los protones alfa de una metilcetona es ≈ 20 y el del agua (ácido conjugado del hidróxido) es 15.7. Explica por qué el hidróxido del medio basta para generar el enolato que inicia la reacción.
3. Calcula los equivalentes de NaOCl respecto a la acetofenona con las cantidades de esta práctica. Predice qué producto predominaría si se usara solo 1 equivalente.
4. Explica, a nivel molecular, qué debe observarse al agregar NaHCO_3 al producto purificado.
5. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Acetofenona	0.5 mL	Disolución HCl 50% v/v	5 mL
Disolución NaOCl 13% v/v	18 mL	Na ₂ SO ₄ anhidro	2.0 g
Bisulfito de sodio NaHSO ₃	100 mg	Disolución de KI al 10%	2.0 mL
Diclorometano CH ₂ Cl ₂	6 mL	Agua destilada	15 mL
Disolución NaHCO ₃ al 10%	0.25 mL		

V. Material.

Esta práctica se realiza completamente con el material del kit. No es necesario solicitar material adicional por papeleta.

VI. Reacción y Relación Estequiométrica

Reacción: Ácido benzoico	Acetofenona	NaOCl 13%	Ácido benzoico
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			

VII. Procedimiento.

HCl 50%: Es corrosivo, manéjalo con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO₃ 10%.

En el matraz Erlenmeyer de 50 mL, con agitación magnética, coloca 0.5 mL de acetofenona y 18 mL de disolución de NaOCl al 13% v/v (mide con la probeta de 10 mL en dos porciones sucesivas). Agita vigorosamente a temperatura ambiente durante 40 minutos.

Al finalizar, sin dejar de agitar, adiciona 100 mg de NaHSO₃ para destruir el exceso de hipoclorito. Confirma que la reacción se completó con la prueba de KI: en dos vasos de

precipitados coloca 1 mL de disolución de KI al 10% en cada uno; a uno agrega 1 gota de NaOCl (control positivo, vira a café) y al otro 1 gota de tu mezcla de reacción (problema). Si tu problema también vira a café, continúa agregando NaHSO₃ hasta que dé negativo.

Retira la barra de agitación y transfiere la mezcla al embudo de separación. Extrae con CH₂Cl₂ (3 × 2 mL); junta las fases orgánicas y consérvalas, no las deseches todavía.

Enjuaga el matraz Erlenmeyer y coloca en él la fase acuosa; ponlo en baño de hielo y acidifica con HCl 50% v/v hasta pH 2-3 — comenzará a precipitar un sólido blanquecino. Filtra al vacío con el embudo Büchner y lava los cristales con agua helada; reserva un poco del sólido crudo para su punto de fusión.

Purifica el ácido benzoico por recrystalización empleando agua como disolvente. Filtra al vacío, seca y pesa el producto; calcula tu rendimiento y determina el punto de fusión del crudo y del recrystalizado.

Coloca un poco del producto recrystalizado sobre el vidrio de reloj y agrega unas gotas de disolución de NaHCO₃ al 10%; observa y registra lo que ocurre.

A la fase orgánica que reservaste, agrega Na₂SO₄ (2 espátulas) para retirar el exceso de agua. Realiza una CCF comparando la acetofenona (una gota diluida en 2 mL de CH₂Cl₂ o AcOEt) contra tu fase orgánica, para verificar si quedó materia prima sin reaccionar (eluyente hexano:AcOEt 9:1).

VIII. Cuestionario.

1. Calcula tu rendimiento experimental y compáralo con el teórico. Si obtuviste menos del 70%, señala dos causas concretas de tu propio procedimiento que expliquen la pérdida de producto.
2. Analiza tus puntos de fusión y explica la diferencia entre el crudo y el recrystalizado en términos de pureza.
3. Reporta el resultado que obtuviste en tu prueba de KI y, con base en él, indica si tu primera adición de bisulfito fue suficiente o tuviste que repetirla. Escribe la ecuación de la reacción entre el bisulfito y el hipoclorito.
4. Interpreta tu placa de CCF: ¿cuántas manchas observaste y con qué R_f? ¿Indican que quedó acetofenona sin reaccionar?
5. Con tu rendimiento, tu punto de fusión y tu CCF, decide qué variable cambiarías primero si repitieras la práctica, y justifica tu elección.
6. Investiga cómo se obtiene el ácido benzoico a nivel industrial y compara esa ruta con la que empleaste, en términos de materias primas y condiciones.

IX. Bibliografía.

1. Cao, L.; Ding, J.; Gao, M.; Wang, Z.; Li, J.; Wu, L. *Org. Lett.* **2009**, 11, 3810.

2. Mayo, D. W.; Pike, R. M.; Butcher, S. S.; Trumper, P. K. *Microscale Organic Laboratory* **1994**, Editorial John Wiley & Sons Inc., Estados Unidos de Norteamérica.
3. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. *Química Orgánica* **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
4. Ávila, G.; García, C. *et al.* *Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico* **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
5. Williamson, K. *Macro and Microscale Organic Experiments* **2010**, Editorial Cengage Learning, 6ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.
6. Pavia, D. L. *Introduction to Organic Laboratory Techniques, a Microscale Approach* **2006**, Editorial Cengage Learning, 4ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Solución HCl (50%) (1 L)

Medir con una probeta graduada 500 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y adicionarlo lentamente dentro de un matraz aforado de 1000 mL y aforar agua destilada, el matraz aforado debe encontrarse dentro de un baño de hielo, agitar suavemente hasta homogenizar, proceder a verter dentro del recipiente donde se almacenará. Importante: NO invertir el orden de adición, use bata, guantes y lentes de seguridad. La solución desprende calor.

Disolución de Bicarbonato de sodio al 10% (1 L)

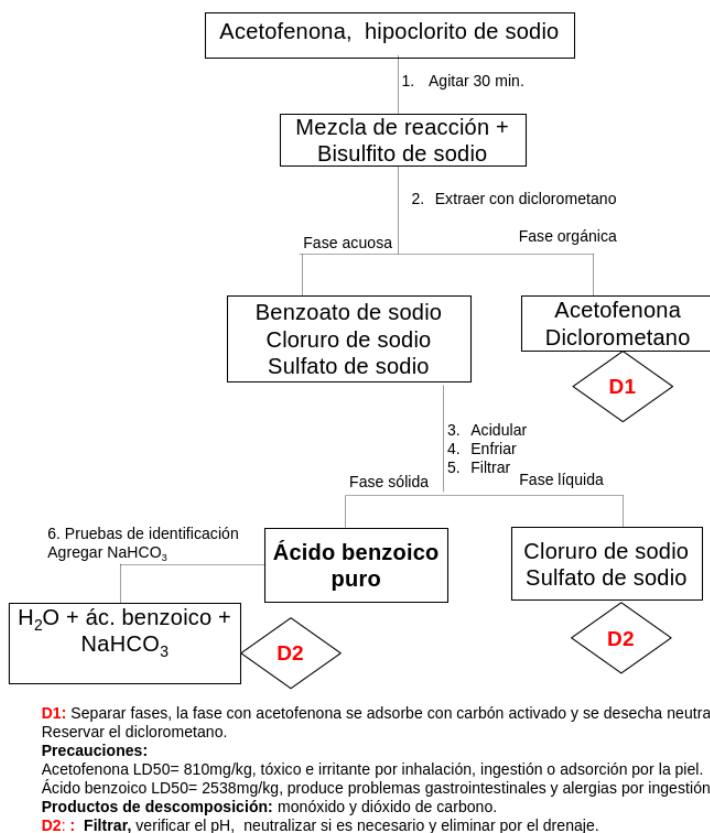
Pesar 100 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y verter dentro de matraz aforado de 1000 mL que contenga agua destilada, homogenizar lentamente la sal, posteriormente aforar hasta a 1000 mL (1 L) de volumen final.

Disolución ácida de KI al 10% (100 mL)

Pesar 1.0 g de KI y adicionales al interior de un matraz aforado añadir 80 mL de agua destilada, agitar suavemente, enseguida agregar 5 mL de Ácido Clorhídrico concentrado lentamente, agitar suavemente, por ultimo aforar a 100 mL con agua destilada. Almacenar en un frasco ámbar. Tiempo de vida de almacenamiento 1 semana.

XI. Manejo de Residuos.

ÁCIDO BENZOICO REACCIÓN DE HALOFORMO



Esquema 1. Diagrama de flujo de la reacción de haloformo y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 2



ÁCIDOS CARBOXÍLICOS II

REACCIÓN DE KOLBE-SCHMITT

I. Objetivos.

- a) Realizar una reacción de carboxilación de fenoles.
- b) Aplicar la metodología descrita por Kolbe-Schmitt para la obtención de un ácido hidroxicarboxílico aromático.

II. Introducción.

Los ácidos carboxílicos hidroxaromáticos son intermediarios sintéticos muy importantes para la obtención de diversos productos de valor agregado, tales como fármacos, cosméticos, conservadores de alimentos, agentes antisépticos, fungicidas, colorantes, poliésteres, coadyuvantes textiles y, actualmente, polímeros de cristal líquido. El método más convencional para la preparación de estos ácidos es la reacción de Kolbe-Schmitt.

La reacción de Kolbe-Schmitt ha sido el procedimiento estándar para la preparación de ácidos hidroxaromáticos por más de 150 años. En 1860, Hermann Kolbe, en la Universidad de Marburg, logró obtener ácido salicílico a partir de fenol, sodio y dióxido de carbono a presión atmosférica; a pesar de varias modificaciones, el rendimiento nunca superó el 50%. La modificación que realizó Rudolf Schmitt en 1884 —llevar a cabo la reacción bajo presión— dio excelentes resultados sintéticos.

En general, la carboxilación ocurre en posición orto al grupo hidroxifenólico, aunque también se ha observado sustitución en posición para. El agua inhibe la carboxilación de fenoles monohidroxílicos; sin embargo, fenoles más reactivos (di- y trihidroxílicos) pueden carboxilarse en solución alcalina. Con fenoles como el resorcinol, la monocarboxilación se lleva a cabo en excelentes rendimientos mediante calentamiento moderado en presencia de disoluciones acuosas ligeramente concentradas de bicarbonatos alcalinos, en sistemas abiertos que permiten el acceso de dióxido de carbono atmosférico.

III. Investigación previa.

1. Propón, paso a paso, el mecanismo de carboxilación de Kolbe-Schmitt sobre el resorcinol y explica por qué ocurre en posición orto/para al hidroxilo y no en meta.
2. El resorcinol tiene $pK_a \approx 9.3$ y el ácido carbónico (ácido conjugado del bicarbonato) tiene $pK_a \approx 6.3$. Con estos valores, explica por qué el bicarbonato de sodio basta para que la carboxilación proceda.
3. Explica, a nivel molecular, qué debe observarse al agregar NaHCO_3 a una disolución acuosa del producto purificado.

- Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Resorcinol	0.5 g	Bicarbonato de sodio	2.5 g
Ácido clorhídrico concentrado	5 mL	Disolución NaHCO_3 10%	0.5 mL

V. Material.

Esta práctica se realiza completamente con el material del kit. No es necesario solicitar material adicional por papeleta.

VI. Reacción y Relación Estequiométrica

Reacción: Kolbe-Schmitt	Resorcinol	NaHCO_3	Ácido 2,4-dihidroxibenzoico
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			

VII. Procedimiento.

HCl concentrado: Es corrosivo, manéjalo con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO_3 10%.

En el matraz bola de fondo plano de 25 mL, con barra de agitación magnética, agrega 0.5 g de resorcinol, 4 mL de agua y 2.5 g de bicarbonato de sodio. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y calienta la mezcla lentamente hasta llevarla a reflujo; mantenla a reflujo durante 1 hora.

Al finalizar, enfría la mezcla a temperatura ambiente y viértela en el vaso de precipitados de 50 mL que contenga 7.5 mL de agua helada. Coloca el vaso en baño de hielo y adiciona, gota a gota y con agitación continua, ácido clorhídrico concentrado hasta pH 1.0.

Deja enfriar en el baño de hielo hasta que cristalice el ácido 2,4-dihidroxi-benzoico. Filtra al vacío con el embudo Büchner y lava los cristales con agua helada; reserva un poco del sólido crudo para su punto de fusión.

Purifica el producto por recrystalización empleando agua como disolvente. Filtra al vacío, seca y pesa el producto; calcula tu rendimiento y determina el punto de fusión del crudo y del recrystalizado.

Disuelve un poco del sólido obtenido en un volumen mínimo de agua y verifica el pH de la disolución con papel indicador. Agrega unas gotas de disolución de NaHCO_3 , observa y registra lo que ocurre.

VIII. Cuestionario.

1. Con tu rendimiento y tus puntos de fusión (crudo vs. recrystalizado), evalúa qué tan pura quedó tu síntesis y explica la diferencia entre ambos valores en términos de pureza.
2. Describe el resultado que obtuviste al agregar NaHCO_3 a tu producto disuelto, y menciona dos formas más en que podrías confirmar la identidad del ácido 2,4-dihidroxibenzoico, distintas a la usada en esta práctica.
3. ¿Qué otro compuesto podrías usar en lugar de bicarbonato de sodio para esta carboxilación? ¿Podrías aplicar las mismas condiciones para carboxilar fenóxido de sodio en lugar de resorcinol? Justifica tu respuesta.

IX. Bibliografía.

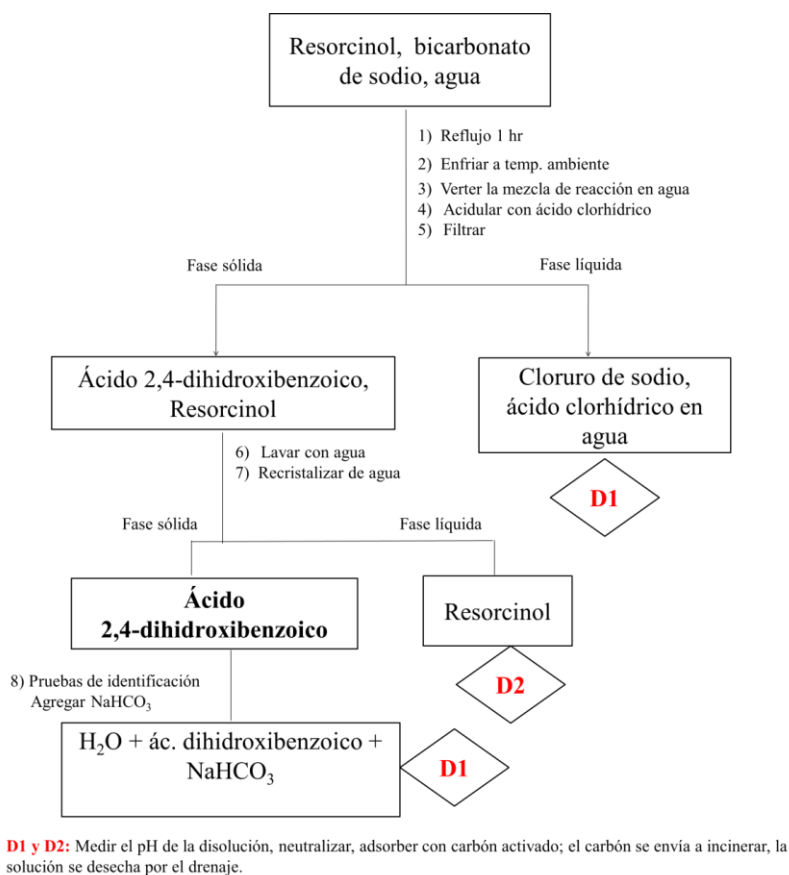
1. Lindsey, A. S.; Jeskey, H. *Chem. Rev.* **1957**, 57(4), 583-620.
2. Rahim, M. A.; Matsui, Y.; Kosugi, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, 75, 619-622.
3. Li, J. J. *Name Reactions* **2008**, 3ª Edición, Springer Ed., 339-341, Nueva York.
4. Fieser, L. F.; Williamson, K. *Organic Experiments* **1992**, Editorial D.C. Heath & Company, Estados Unidos de Norteamérica.
5. Ávila, G.; García, C. *et al.* *Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico* **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Disolución de Bicarbonato de sodio al 10% (1 L)

Pesar 100 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y verter dentro de matraz aforado de 1000 mL que contenga agua destilada, homogenizar lentamente la sal, posteriormente aforar hasta a 1000 mL (1 L) de volumen final.

XI. Manejo de Residuos.



Esquema 2. Diagrama de flujo de la reacción de Kolbe-Schmitt y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 3



DERIVADOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS I SÍNTESIS DE BENZOCAÍNA / BUTIRATO DE ETILO / ANHÍDRIDO FTÁLICO

I. Objetivos.

- Sintetizar un éster mediante una esterificación de Fischer-Speier con catálisis ácida: benzocaína a partir de ácido 4-aminobenzoico y etanol, o butirato de etilo a partir de ácido butírico y etanol.
- Desplazar el equilibrio de esterificación hacia el producto mediante la eliminación del agua formada en el seno de la reacción.
- Obtener un anhídrido simétrico sólido por la acción deshidratante de un anhídrido líquido en exceso sobre un ácido dicarboxílico aromático.
- Evaluar la pureza de los productos obtenidos a partir del rendimiento, el punto de fusión y la cromatografía en capa fina.

II. Introducción.

Los ácidos carboxílicos son compuestos orgánicos que presentan sobre el mismo átomo de carbono un carbonilo y un hidroxilo, lo que confiere una reactividad muy particular a este tipo de compuestos. Existen además compuestos derivados de éstos, denominados derivados de ácidos carboxílicos, en los que el hidroxilo se ha sustituido por otro nucleófilo tal como halógeno, alcoxi, tioalcoxi, aciloxi o amino. Este cambio de grupo funcional modifica sustancialmente las propiedades y la reactividad de la molécula.

La reacción principal de sustitución nucleofílica que llevan a cabo los ácidos carboxílicos y sus derivados se denomina *adición-eliminación*: parte de un compuesto trigonal plano con hibridación sp^2 , pasa por un intermediario tetraédrico (sp^3) y finaliza regenerando la hibridación y la geometría de la materia prima. La velocidad con que ocurre depende de qué tan buen grupo saliente es el sustituyente unido al acilo, lo que establece un orden de reactividad entre los distintos derivados.

En esta sesión se explotan dos consecuencias prácticas de ese comportamiento. La esterificación de Fischer-Speier es un equilibrio: el ácido y el alcohol conviven con el éster y el agua, de modo que el rendimiento no depende únicamente del tiempo de reflujo sino de cuánto se logre desplazar ese equilibrio, ya sea usando uno de los reactivos en exceso o retirando el agua conforme se forma. La segunda reacción aprovecha que un anhídrido líquido y volátil, usado en exceso, puede deshidratar a un ácido dicarboxílico aromático cuya geometría permite el cierre a un anhídrido cíclico de cinco miembros; el anhídrido ftálico así obtenido se conservará como materia prima para la Práctica 5 (Derivados de ácidos carboxílicos II).

III. Investigación previa.

1. Ordena de mayor a menor reactividad frente a la sustitución nucleofílica de acilo: cloruro de ácido, anhídrido, éster y amida. Con ese orden, explica por qué el anhídrido acético deshidrata al ácido *o*-ftálico y no ocurre el proceso inverso.
2. Propón, paso a paso, el mecanismo de la esterificación de Fischer-Speier para la síntesis que realizará tu equipo, señalando el intermediario tetraédrico y la etapa en que se forma el agua.
3. Calcula los equivalentes de etanol respecto al ácido en tu esterificación. Predice, en términos del equilibrio, qué rendimiento esperarías con cantidades equimolares.
4. Explica qué función cumple la trampa Dean-Stark en la síntesis de butirato de etilo y qué función la trampa con CaCl_2 en la de anhídrido ftálico, y por qué no son intercambiables.
5. La benzocaína se sintetiza en presencia de H_2SO_4 concentrado y precipita al llevar la mezcla a pH 9-10. Indica en qué forma se encuentra la amina durante el reflujo y predice qué obtendrías si detuvieras la adición de NaOH en pH 4.
6. Investiga un uso industrial de la benzocaína, uno del butirato de etilo y uno del anhídrido ftálico, señalando qué propiedad de cada compuesto lo hace útil.
7. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa las tablas de la sección VI a partir de las reacciones balanceadas.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Benzocaína			
Ácido 4-aminobenzoico	0.5 g	Etanol absoluto	5 mL
H_2SO_4 concentrado	0.8 mL	Disolución NaOH 10% m/v	9 mL
Etanol absoluto (recristalización)	5 mL	Hexano:AcOEt 1:1 (eluyente)	10 mL
Butirato de etilo			
Ácido butírico	5.3 mL	Etanol absoluto	10 mL
H_2SO_4 concentrado	1.5 mL	Cloruro de calcio anhidro CaCl_2	0.5 g
Agua destilada	45 mL	Disolución NaHCO_3 15%	20 mL
Disolución de salmuera	10 mL	Na_2SO_4 anhidro	3 g
Anhídrido ftálico			
Ácido <i>o</i> -ftálico	0.5 g	Anhídrido acético	0.83 mL

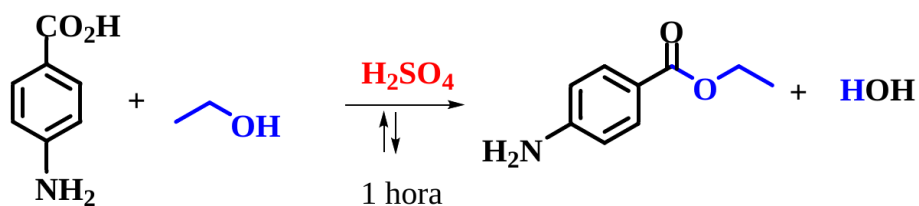
Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Cloruro de calcio anhidro CaCl ₂	0.5 g	Hexano	5 mL

V. Material.

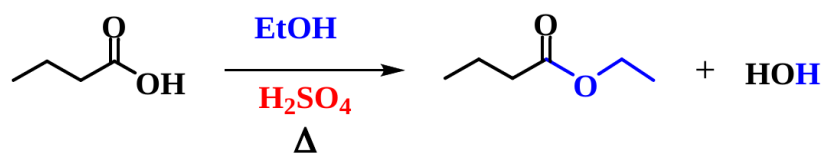
Además del kit, esta práctica requiere el siguiente material, que debes solicitar por papeleta. Los artículos marcados con (*) corresponden únicamente a la síntesis de butirato de etilo; si tu equipo sintetiza benzocaína, solicita una sola trampa de humedad.

Material	Cant.	Material	Cant.
Matraz bola de fondo plano de 10 mL 14/23	2	Refrigerante de agua 14/23	1
Trampa de humedad para microescala	2	Frasco vial	1
Trampa Dean-Stark con llave de teflón (*)	1	Embudo de separación de 50 mL con tapón (*)	1
T de destilación 14/23 (*)	1	Colector corto 14/23 (*)	1
Termómetro (*)	1	Portatermómetro (*)	1

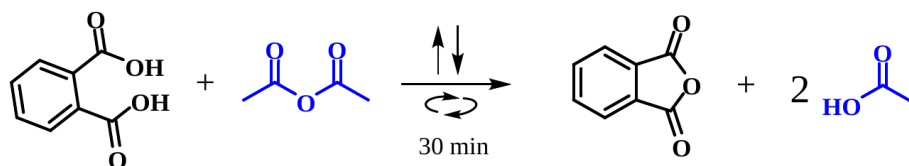
VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción 1: Benzocaína	Ácido 4-amino-benzoico	EtOH	H ₂ SO ₄	Benzocaína
Masa molar (g/mol)				
Masa (g)				
Volumen (mL)				
Densidad (g/mL)				
Cantidad de sustancia (mmol)				
Equivalentes químicos				
Propiedades físicas				



Reacción 2: Butirato de etilo	Ácido butírico	EtOH	H ₂ SO ₄	Butirato de etilo
Masa molar (g/mol)				
Masa (g)				
Volumen (mL)				
Densidad (g/mL)				
Cantidad de sustancia (mmol)				
Equivalentes químicos				
Propiedades físicas				



Reacción 3: Anhídrido ftálico	Ácido <i>o</i> -ftálico	Ac ₂ O	Anhídrido ftálico
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			

VII. Procedimiento.

Cada equipo realiza **una** de las dos esterificaciones —benzocaína o butirato de etilo, según le indique tu profesor— y, en paralelo, la síntesis de anhídrido ftálico.

H₂SO₄ concentrado: Es corrosivo y provoca quemaduras graves en piel y ojos. Añádalo siempre lentamente y sobre la mezcla, nunca a la inversa. En caso de contacto, retira guantes y ropa contaminada, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO₃ 10%.

Benzocaína

En el matraz bola de fondo plano de 25 mL, con barra de agitación magnética, coloca 0.5 g de ácido 4-aminobenzoico y 5 mL de etanol absoluto. Añade lentamente y gota a gota 0.8 mL de H₂SO₄ concentrado; observarás que el sólido inicial se disuelve. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y mantén la mezcla a reflujo con agitación durante 1 hora.

Deja enfriar a temperatura ambiente y vierte la mezcla sobre el vaso de precipitados de 50 mL que contenga 9 mL de disolución de NaOH al 10% m/v y aproximadamente 10 g de hielo. Agita hasta que precipite la benzocaína y verifica el pH; si es necesario, agrega más disolución de NaOH hasta alcanzar pH 9-10. Filtra al vacío con el embudo Büchner y reserva una pequeña porción del sólido crudo para determinar su punto de fusión.

Purifica el resto por recrystalización con el par de disolventes etanol/agua: disuelve el sólido en el **menor** volumen posible de etanol caliente (aprox. 5 mL) y mantén ese volumen constante durante todo el proceso; enseguida agrega el segundo disolvente —agua helada o trozos de hielo— hasta turbidez persistente y deja cristalizar en baño de hielo. Filtra al vacío, seca, pesa y determina el punto de fusión del recrystalizado.

Realiza una placa de CCF comparando el ácido 4-aminobenzoico contra tu benzocaína, empleando hexano:AcOEt 1:1 como eluyente. Mide los R_f de ambas manchas.

Butirato de etilo

En el matraz bola de fondo plano de 25 mL, con barra de agitación magnética, coloca 5.3 mL de ácido butírico y 10 mL de etanol absoluto, y añade lentamente 1.5 mL de H₂SO₄ concentrado. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y coloca en su parte superior la trampa de humedad cargada con CaCl₂. Mantén la mezcla a reflujo con agitación durante 1 hora.

Suspende el calentamiento y deja enfriar un poco. Carga la trampa Dean-Stark con 10 mL de agua destilada, mantén cerrada la llave lateral y móntala entre el matraz y el refrigerante (**Figura 1**). Esta precarga es indispensable: llena la trampa hasta el brazo de retorno, de modo que el condensado se separe en dos fases desde la primera gota.

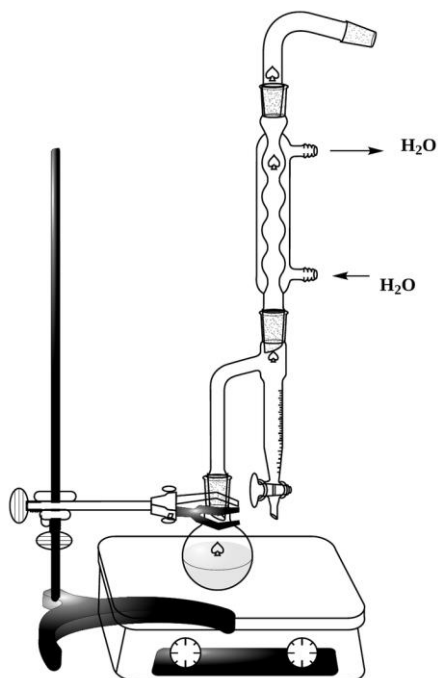


Figura 1. Sistema con trampa Dean-Stark para la síntesis de butirato de etilo.

Reanuda el calentamiento a reflujo durante 30 minutos más. Dentro de la trampa, la fase orgánica —menos densa— se acumula en la parte superior y retorna al matraz por el brazo lateral, mientras el agua y el etanol quedan retenidos en la fase acuosa inferior. Si el nivel de la fase acuosa alcanza el brazo de retorno, drénala por la llave lateral. Registra el volumen de fase acuosa ganado respecto a los 10 mL precargados.

Apaga el calentamiento, eleva el sistema y deja enfriar a temperatura ambiente. Vierte la mezcla de reacción en el embudo de separación de 50 mL, agrega 15 mL de agua helada y agita; el éster queda en la fase orgánica (superior), así que desecha la fase acuosa. Lava la fase orgánica con 10 mL de salmuera y desecha nuevamente la fase acuosa.

Neutraliza la fase orgánica con disolución de NaHCO_3 al 15% (2×10 mL). **Precaución:** se desprende CO_2 y el embudo se presuriza; agita con el tapón sujeto y ventea con frecuencia. Verifica que la fase acuosa salga a pH 7. Finalmente lava con agua (2×10 mL), recupera la fase orgánica y sécala con Na_2SO_4 anhidro.

Monta un sistema de destilación simple: matraz bola de fondo plano de 10 mL con barra de agitación, T de destilación, termómetro con portatermómetro, refrigerante y colector corto. Decanta con cuidado la fase orgánica seca hacia el matraz —sin arrastrar el desecante— y destila. Descarta como cabeza de destilación todo lo que salga por debajo de 110°C y colecta la fracción que destila entre 115 y 125°C sobre el matraz Erlenmeyer de 25 mL sumergido en baño de hielo. Pesa y mide el volumen colectado para calcular el rendimiento.

Anhídrido ftálico

Anhídrido acético: Es corrosivo y lacrimógeno. Mídalo y transfíerelo exclusivamente dentro de la campana, evitando

cualquier derrame. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos.

En el matraz bola de fondo plano de 10 mL, con barra de agitación magnética, coloca 0.5 g de ácido *o*-ftálico y, dentro de la campana, 0.83 mL de anhídrido acético. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y coloca en su parte superior la trampa de humedad cargada con CaCl₂. Mantén la mezcla a reflujo con agitación durante 30 minutos.

Deja enfriar un poco y coloca el matraz en baño de hielo hasta que solidifique el producto. Filtra al vacío con el embudo Büchner; si es necesario, ayúdalo con hexano muy frío (aprox. 5 mL) para transferir y lavar los cristales. Seca, pesa y determina el punto de fusión.

Etiqueta el anhídrido ftálico con el nombre del producto, la fecha y tu número de equipo, y guárdalo en el frasco vial: será una de las materias primas de la práctica de Derivados de ácidos carboxílicos II.

VIII. Cuestionario.

1. Calcula el rendimiento del éster que sintetizaste y el del anhídrido ftálico. Toma el más bajo de los dos y señala dos momentos concretos de tu sesión en los que perdiste producto.
2. Compara el punto de fusión de tu producto crudo con el del recrystalizado. Si el intervalo de fusión de tu producto final abarcó más de 2 °C, explica qué te dice eso sobre la muestra que llevaste al aparato.
3. Si sintetizaste benzocaína: reporta el R_f del ácido 4-aminobenzoico y el de tu producto, indica cuál eluyó más y explícalo en términos de polaridad; con base en tu placa, di si quedó materia prima sin reaccionar. Si sintetizaste butirato de etilo: reporta el volumen que ganó la fase acuosa de la trampa respecto a los 10 mL precargados, compáralo con el agua que teóricamente produce tu reacción y explica a qué se debe la diferencia.
4. El anhídrido ftálico puro funde a 131 °C. Compara tu valor experimental con ese dato y, si difiere, propón una causa concreta relacionada con la forma en que filtraste, lavaste y secaste tus cristales.
5. Explica para qué empleaste el hexano frío al filtrar el anhídrido ftálico y argumenta, con lo que observaste, si podría sustituirse por agua o por etanol.
6. Con el rendimiento que obtuviste, argumenta si tendría sentido sustituir el H₂SO₄ concentrado por H₂SO₄ diluido en tu esterificación. Responde apoyándote en lo que observaste, no solo en la teoría.
7. Elige la variable que cambiarías primero si repitieras la práctica —tiempo de reflujo, exceso de etanol, forma de eliminar el agua o disolvente de recrystalización— y justifica tu elección con tus propios datos.

IX. Bibliografía.

1. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
2. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
3. Williamson, K. Macro and Microscale Organic Experiments **2010**, Cengage Learning Brooks/Cole, 6ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.
4. Mayo, D. W.; Pike, R. M.; Trumper, P. K. Microscale Organic Laboratory **1994**, 3ª Edición, Editorial John Wiley & Sons Inc., Estados Unidos de Norteamérica.
5. Pavia, D. L. Introduction to Organic Laboratory Techniques, a Microscale Approach **2006**, Editorial Cengage Learning, 4ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.
6. Vogel, A. I. Textbook of Practical Organic Chemistry **1996**, Editorial Prentice-Hall, 5ª Edición, Londres, Inglaterra.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Disolución de NaOH al 10%

Pesar 100 g de hidróxido de sodio (NaOH) y verter dentro de un matraz aforado de 1000 mL que contenga 500 mL de agua destilada y se encuentre dentro de un baño de hielo, agite suavemente la disolución, afore el matraz lentamente hasta un volumen final de 1000 mL (1 L). La disolución desprende calor.

Disolución de Bicarbonato de sodio al 15% (1 L)

Pesar 150 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y verter dentro de matraz aforado de 1000 mL que contenga agua destilada, homogenizar lentamente la sal, posteriormente aforar hasta a 1000 mL (1 L) de volumen final.

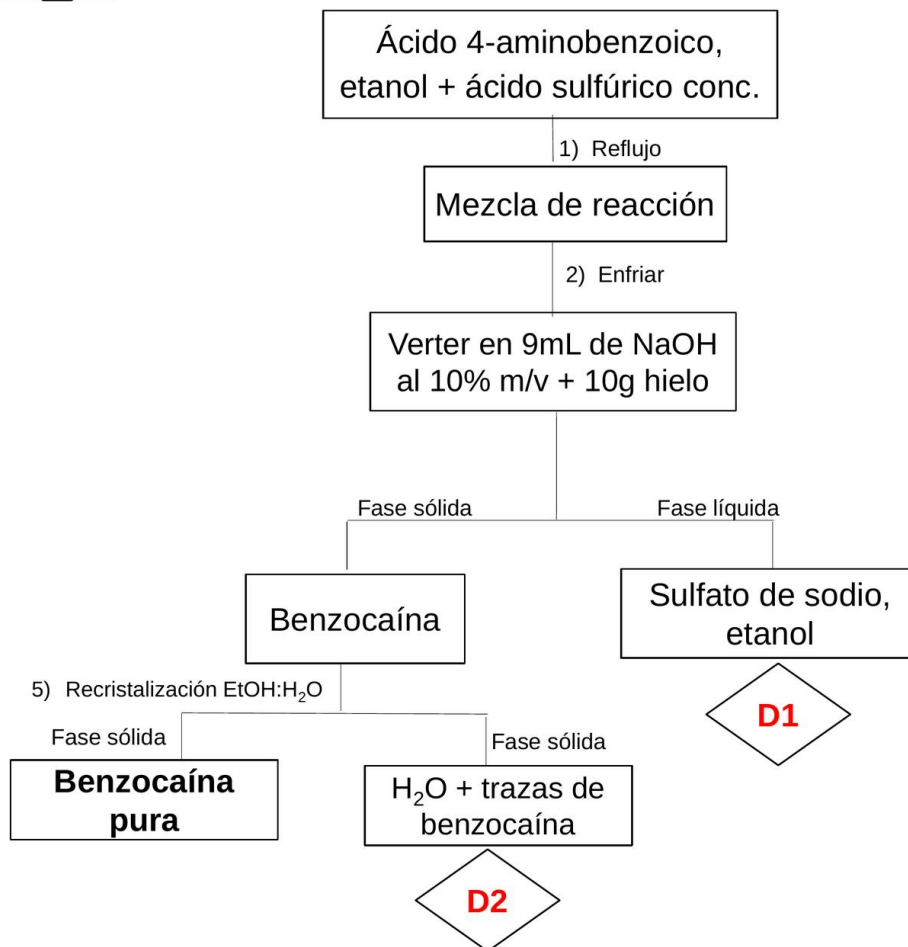
Disolución de salmuera (NaCl saturada) (1 L)

Pesar 400 g de cloruro de sodio (NaCl) y agregarlos a 1 L de agua destilada con agitación constante. Debe quedar sal sin disolver en el fondo del recipiente: ésa es la señal de que la disolución está saturada. Decantar o filtrar el sobrenadante al momento de usarla.

XI. Manejo de Residuos.



BENZOCAÍNA



D1: Desechar la disolución por el drenaje si presenta un pH neutro. En caso contrario, neutralizar primero y luego desechar .

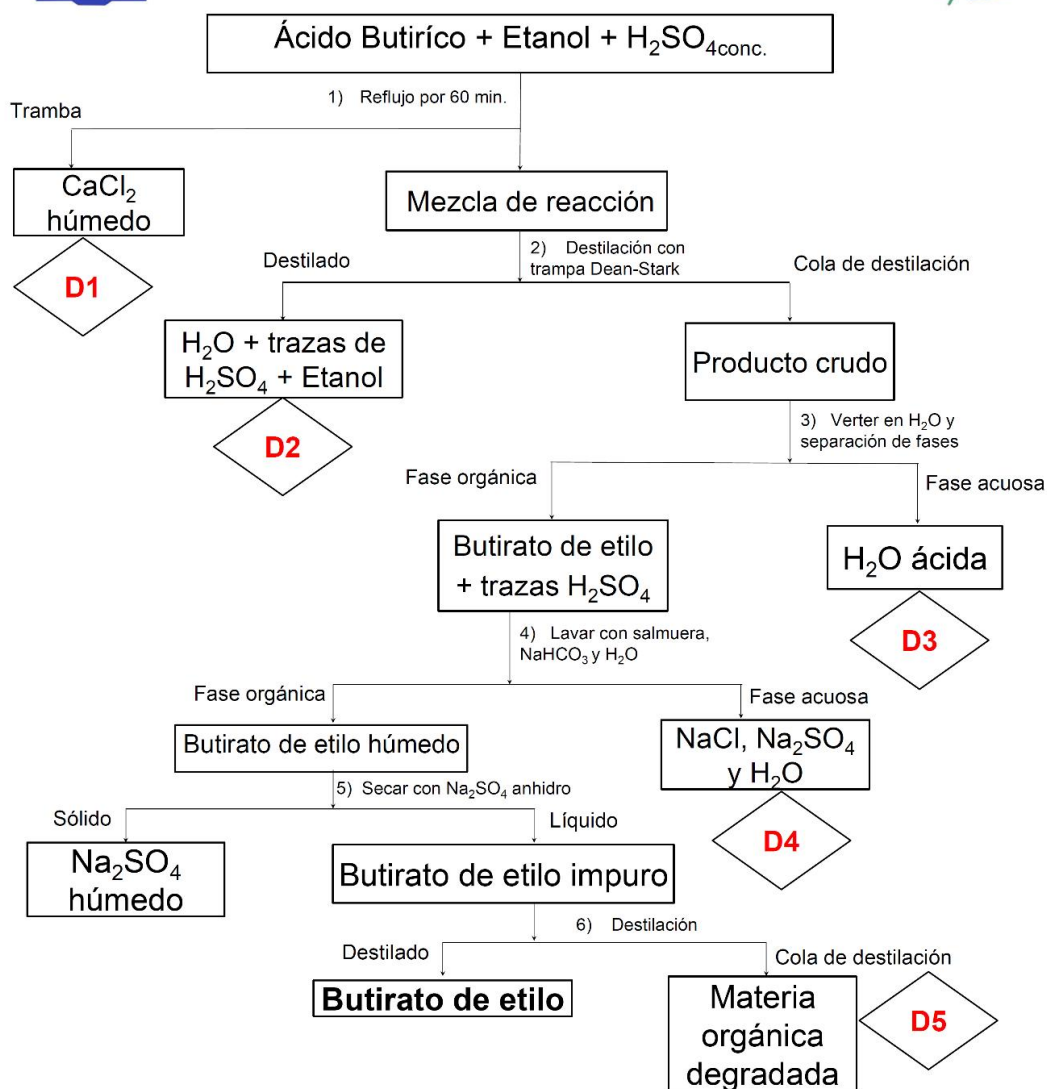
D2: Adsorber sobre carbón activado e incinerar. La fase sólida se neutraliza y desecha.

Esquema 3. Diagrama de flujo de la síntesis de benzocaína y su manejo de residuos.



Síntesis de Ésteres

Obtención de Butirato de Etilo

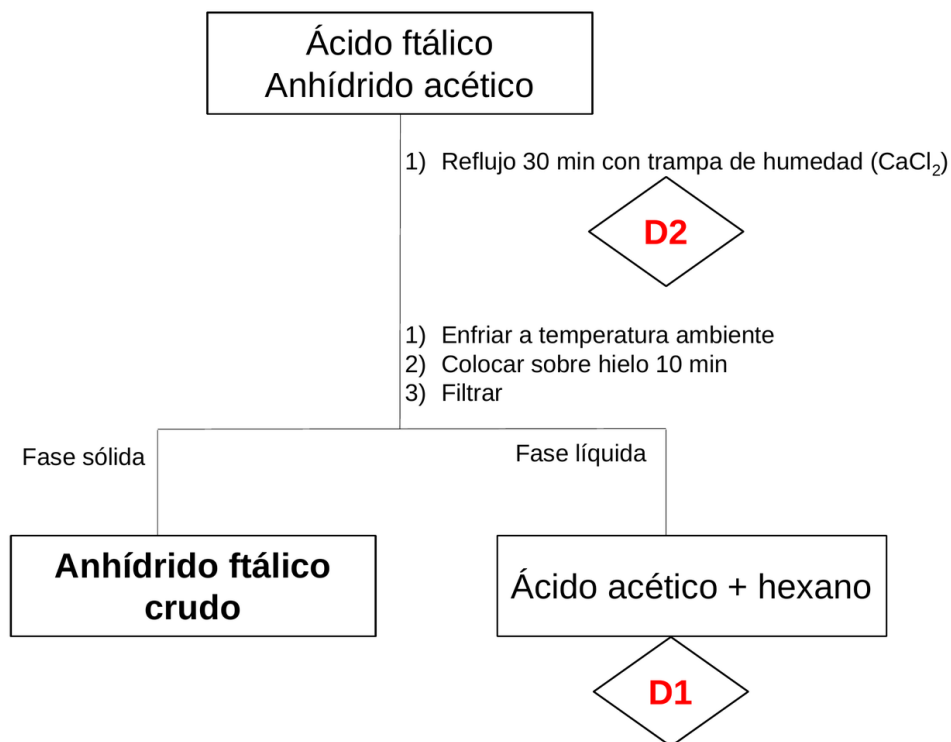


- D1:** Secar en mufla para su re-uso
D2: Recuperar el etanol por destilación, si el volumen es considerable.
D3 Y D4: Verificar pH y desechar neutro
D5: Mandar a incineración.

Esquema 4. Diagrama de flujo de la síntesis de butirato de etilo y su manejo de residuos.



ANHÍDRIDO FTÁLICO



D1: Recuperar el hexano por densidad y verificar el pH al residuo. Neutralizar y desechar por el drenaje.

D2: Se reserva para su reutilización o se envía a incineración.

Esquema 5. Diagrama de flujo de la síntesis de anhídrido ftálico y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 4



ÁCIDOS CARBOXÍLICOS III SÍNTESIS DE ÁCIDO BENZOICO POR REACCIÓN DE GRIGNARD

I. Objetivos.

- Preparar un reactivo de Grignard, el bromuro de fenilmagnesio, a partir de bromobenceno y magnesio metálico en condiciones estrictamente anhidras.
- Carboxilar el organomagnesiano con dióxido de carbono sólido para obtener ácido benzoico.
- Aplicar una separación ácido-base para aislar el producto de la mezcla de reacción.
- Reconocer las condiciones experimentales que exige el manejo de un organometálico sensible al agua y al oxígeno.

II. Introducción.

Los compuestos organometálicos son moléculas que contienen al menos un enlace directo entre un átomo de carbono y un metal. La diferencia de electronegatividad entre ambos polariza ese enlace de modo que el carbono queda con densidad electrónica negativa: se comporta como un carbanión. Esto invierte la polaridad habitual del carbono unido a un halógeno, que en un haluro de alquilo es electrofílico, y por ello los organometálicos son una de las herramientas más poderosas para formar enlaces carbono-carbono.

Victor Grignard describió en 1900 la preparación de organomagnesianos por inserción de magnesio metálico en el enlace carbono-halógeno, trabajo por el que recibió el premio Nobel de Química en 1912. El reactivo de Grignard reacciona con prácticamente cualquier electrófilo con carbono deficiente en electrones: aldehídos y cetonas para dar alcoholes, ésteres para dar alcoholes terciarios, nitrilos para dar cetonas y, como en esta práctica, dióxido de carbono para dar ácidos carboxílicos con un carbono más que el halogenuro de partida.

La contrapartida de esa reactividad es su fragilidad: el carbanión es una base muy fuerte y reacciona de inmediato con cualquier fuente de protones, incluida la humedad ambiental. De ahí que todo el material deba estar seco, que se empleen disolventes anhidros —éter etílico o tetrahidrofurano, que además estabilizan al magnesio por coordinación— y que el sistema se proteja con trampas de humedad durante toda la formación del organometálico.

III. Investigación previa.

- Propón el mecanismo de formación del bromuro de fenilmagnesio y el de su carboxilación con CO_2 , indicando en cada etapa el nucleófilo y el electrófilo.

2. El reactivo de Grignard reacciona con agua. Escribe esa reacción y predice cómo se manifestaría en tu sistema si el material no estuviera seco.
3. Explica la función del cristal de yodo al iniciar la reacción y por qué el bromobenceno se agrega primero en un volumen pequeño y sin agitar.
4. Justifica el uso de hielo seco en lugar de CO₂ gaseoso, considerando la humedad, la estequiometría y el control de la temperatura.
5. El aislamiento extrae la fase etérea con NaOH al 5% y acidifica después la fase acuosa. Con las estructuras implicadas y sus pKa, explica el cambio de fase del producto en cada paso y predice qué impurezas quedan en el éter.
6. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos —con atención a la inflamabilidad del éter etílico y del THF— y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Magnesio en viruta	0.15 g	Yodo (cristal)	0.1 g
Bromobenceno	0.65 mL	Tetrahidrofurano anhidro	4 mL
Dióxido de carbono sólido	10 g	Éter etílico	20 mL
Disolución de H ₂ SO ₄ al 5%	5 mL	Disolución de NaOH al 5%	15 mL
Ácido clorhídrico concentrado	3 mL	Sílica gel con indicador	15 g

La sílica gel con indicador se recupera al final de la sesión: si está rosa contiene humedad y debe secarse en estufa a 100 °C durante una hora; si está azul se encuentra anhidra y en condiciones de uso.

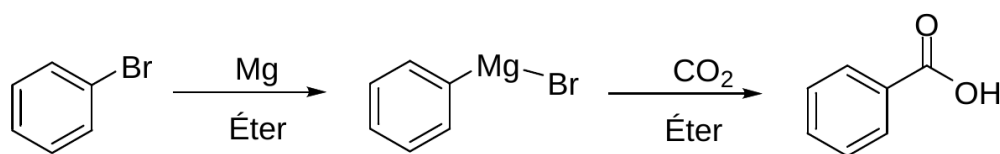
V. Material.

Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material. Los artículos marcados con (†) se entregan secos de estufa y deben mantenerse en condiciones anhidras: no los enjuagues ni los dejes destapados.

Material	Cant.	Material	Cant.
Matraz bola de dos bocas, fondo plano, 25 mL (†)	1	Embudo de adición con tapón (†)	1
Trampa contra la humedad (†)	2	Refrigerante de agua 14/23 (†)	1
Matraz Erlenmeyer de 125 mL	1	Embudo de separación de 50 mL con tapón	1
Embudo de sólidos	1	Pipeta graduada de 5 mL (†)	1

Material	Cant.	Material	Cant.
Frasco vial (†)	1		

VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción: Ácido benzoico	Bromobenceno	Mg	CO ₂	Ácido benzoico
Masa molar (g/mol)				
Masa (g)				
Volumen (mL)				
Densidad (g/mL)				
Cantidad de sustancia (mmol)				
Equivalentes químicos				
Propiedades físicas				

VII. Procedimiento.

Éter etílico y THF: Son extremadamente inflamables. Trabaja con la campana encendida, sin ninguna fuente de ignición cerca y mantén los disolventes fríos para reducir su volatilidad.

H₂SO₄ y HCl concentrados: Son corrosivos. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO₃ 10%. El hielo seco produce quemaduras por frío: manipúlalo con pinzas o guantes térmicos, nunca a mano descubierta.

A) Formación del bromuro de fenilmagnesio

Prepara las dos trampas de humedad: coloca una borla pequeña de algodón, encima sílica gel con indicador —debe estar azul— y otra borla de algodón. Ayúdate con la espátula y el embudo de sólidos.

En el matraz bola de dos bocas de 25 mL, con barra de agitación magnética, coloca 0.15 g de viruta de magnesio, un cristal de yodo y 0.5 mL de THF anhidro. En la boca inclinada adapta el embudo de adición con la llave cerrada y, sobre él, una trampa de humedad; en la boca recta adapta el refrigerante en posición de reflujo y, en su parte superior, la segunda trampa (Figura 2).

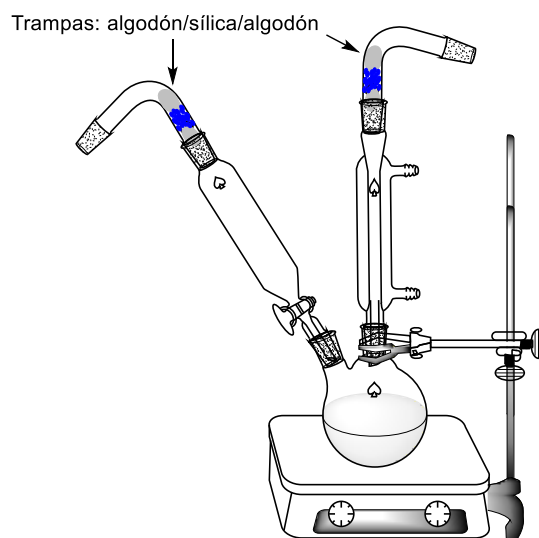


Figura 2. Sistema para la formación del reactivo de Grignard en condiciones anhidras.

Coloca 0.65 mL de bromobenceno en el embudo de adición y tápalo de inmediato con la trampa. Deja gotear al matraz alrededor de 0.1 mL, **sin agitar**, para lograr una concentración local alta que inicie la reacción. Sabrás que arrancó porque el color del yodo desaparece y aparece una ebullición sostenida.

Si la reacción no inicia, puedes inducirla agregando otro cristal de yodo, calentando suavemente con agitación continua, frotando el cristal de yodo contra el magnesio sobre la pared del matraz con movimiento circular, o añadiendo unas gotas de una reacción ya iniciada.

Una vez iniciada, agrega 3.5 mL de THF anhidro al embudo de adición para diluir el bromobenceno restante y añade esa disolución gota a gota, manteniendo una ebullición suave y continua sin permitir que se suspenda. Si la ebullición disminuye sensiblemente, calienta con suavidad. La reacción termina cuando todo el magnesio se ha desintegrado y la disolución adquiere una turbidez de color café; de ser necesario, calienta a reflujo 10 minutos más.

B) Carboxilación y aislamiento del ácido benzoico

Vierte con cuidado la disolución del reactivo de Grignard sobre el matraz Erlenmeyer de 125 mL que contenga 10 g de hielo seco. En esta etapa se forma el carboxilato de magnesio correspondiente.

Una vez consumido por completo el dióxido de carbono, adiciona 10 mL de éter etílico y coloca el matraz en un baño de agua. Agrega lentamente disolución de H_2SO_4 al 5% hasta pH ácido, controlando la adición porque el proceso es exotérmico.

Transfiere la mezcla al embudo de separación de 50 mL. Enjuaga el matraz Erlenmeyer con otros 10 mL de éter etílico y agrégalos al embudo para asegurar la transferencia completa del producto. Agita con cuidado, venteando con frecuencia, y deja separar las fases: desecha la fase acuosa y conserva la fase etérea.

Extrae la fase etérea con disolución de NaOH al 5% (3×5 mL) y verifica que las fases acuosas resulten básicas. Reúne las fracciones acuosas en un mismo recipiente y colócalas en baño de hielo-agua.

Adiciona ácido clorhídrico hasta pH 1: se formará un precipitado blanco de ácido benzoico. Recupera el sólido por filtración al vacío con el embudo Büchner, lávalo con agua helada y déjalo secar hasta masa constante.

Pesa el producto, calcula el rendimiento y determina su punto de fusión. Evalúa la pureza comparando tu valor experimental con el reportado en la literatura (121-123 °C).

VIII. Cuestionario.

1. Reporta tu rendimiento y tu punto de fusión. Si el rendimiento quedó por debajo del 50%, identifica en qué etapa concreta de tu sesión se perdió más producto y explica en qué te basas para afirmarlo.
2. Describe cómo se veía tu mezcla al momento en que consideraste iniciada la reacción y cuánto tiempo tardó en arrancar. Si tuviste que inducirla, indica qué método usaste y si funcionó.
3. Al terminar la adición, ¿quedó magnesio sin reaccionar en tu matraz? Con base en eso, calcula qué fracción del bromobenceno pudo haberse convertido realmente en reactivo de Grignard.
4. Reporta el pH que midieron tus fases acuosas básicas y el pH final al que precipitó tu producto. Explica qué habría ocurrido si hubieras detenido la acidificación en pH 5.
5. Compara tu punto de fusión experimental con el intervalo reportado (121-123 °C) y decide si tu producto requiere una recristalización adicional. Justifica con tu propio dato.
6. En la Práctica 1 obtuviste ácido benzoico por reacción de haloformo. Compara ambos métodos usando los rendimientos que tú obtuviste en cada sesión y señala qué ventaja práctica tiene cada ruta.

IX. Bibliografía.

1. Peltzer, R. M.; Gauss, J.; Eisenstein, O.; Cascella, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142(6), 2984-2994.
2. Stucky, G. D.; Rundle, R. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86(22), 4825-4833.
3. Okoth, R.; Cronan, E. *J. Chem. Educ.* **2022**, 99(8), 3087-3092.

4. Pfennig, V. S.; Villella, R. C.; Nikodemus, J.; Bolm, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, 61(13), e202117449.
5. Christensen, S. H. Organometallic methods for forming and cleaving carbon-carbon bonds **2014**, Technical University of Denmark.
6. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. Organic Chemistry **2012**, 2ª Edición, Oxford University Press.
7. Smith, M. B. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure **2020**, 8ª Edición, Wiley.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Preparación de material en condiciones anhidras

Colocar el material marcado en la papeleta dentro de la estufa a 120 °C durante toda la noche o un mínimo de 4 horas.

Tratamiento de la viruta de magnesio

La viruta de magnesio debe estar libre de óxido (no estar negra). Si fuera el caso se debe tratar: 1) lavar las virutas con éter de petróleo o hexano; 2) lavar con ácido clorhídrico al 2% hasta que el magnesio esté brillante; 3) lavar con agua hasta neutralidad, colocando el magnesio en un embudo Büchner e inundándolo con agua fría, removiendo sin romper el papel filtro y abriendo la llave de vacío, o bien pasando el magnesio a un vaso de precipitados con agua fría, agitando y filtrando al vacío; 4) lavar con acetona fría siguiendo el mismo procedimiento y colocarlo en un recipiente que pueda taparse herméticamente; 5) secar al vacío; 6) tapar el recipiente y guardarlo en un desecador bien cerrado hasta el momento de usarlo. Es preferible no secar en estufa para evitar la oxidación.

Sílica con indicador y cloruro de calcio anhidro

El cloruro de calcio anhidro CaCl_2 o la sílica con indicador deben ponerse también a la estufa en un vaso de precipitados, en cantidad suficiente para llenar 2 trampas por cada alumno.

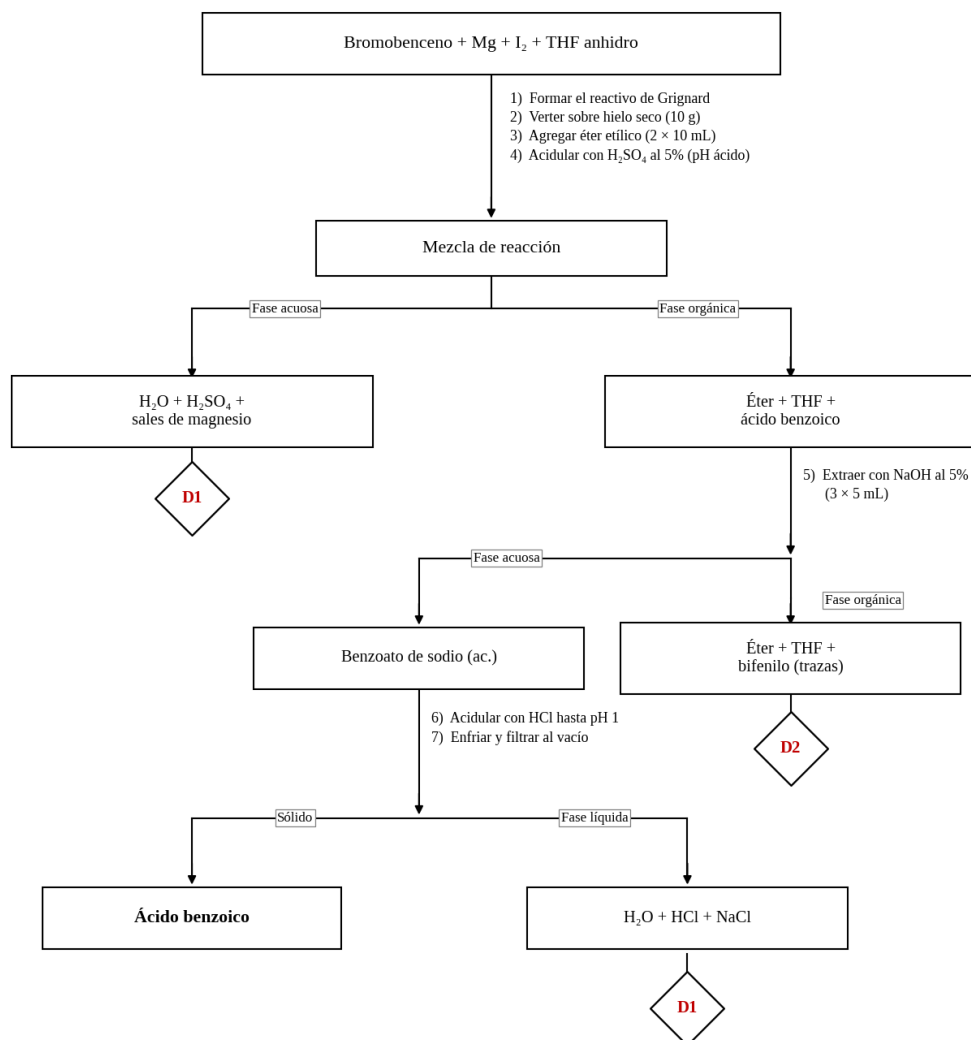
Preparación de ácido sulfúrico al 5%

A 400 mL de agua destilada adicionar por las paredes lentamente 19.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. ¡PRECAUCIÓN! La reacción es exotérmica y chisporrotea, por lo que debe hacerse de preferencia sobre un baño de hielo. Se termina aforando a 500 mL. Nota: $\delta = 1.8 \text{ g/mL}$ para el H_2SO_4 .

Solución de cloruro de amonio al 10%

A 300 mL de agua destilada adicionar en porciones 50 g de cloruro de amonio y terminar aforando a 500 mL.

XI. Manejo de Residuos.



D1: Medir el pH de la disolución, neutralizar y desechar por el drenaje.
D2: Recuperar el disolvente por destilación; el residuo se envía al colector de residuos orgánicos no halogenados.

Esquema 6. Diagrama de flujo de la síntesis de ácido benzoico por reacción de Grignard y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 5



DERIVADOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS II SÍNTESIS DE PARACETAMOL / FLUORESCEÍNA

I. Objetivos.

- Obtener una amida mediante la acetilación regioselectiva de una amina aromática primaria: paracetamol a partir de 4-aminofenol y anhídrido acético.
- Emplear un anhídrido de ácido como agente acilante en una doble acilación de Friedel-Crafts para sintetizar fluoresceína a partir de anhídrido ftálico y resorcinol.
- Relacionar la estructura π deslocalizada de la fluoresceína con sus propiedades fluorescentes y su dependencia del pH.

II. Introducción.

La acetilación es una reacción de sustitución en la que se introduce un grupo acetilo (CH_3CO) desplazando el hidrógeno activo de un hidroxilo o de un grupo amino. Cuando se desplaza el hidrógeno de un hidroxilo se obtiene un éster; cuando se desplaza el de una amina se obtiene una amida. El grupo acetilo funciona además como grupo protector de hidroxilos y es muy empleado en la síntesis de fármacos inhibidores no selectivos de la COX-1, como la aspirina y el paracetamol, donde facilita el acceso del fármaco a la membrana celular.

La acilación de Friedel-Crafts es una de las reacciones más importantes de la síntesis orgánica: produce cetonas aromáticas a partir de anillos aromáticos y haluros o anhídridos de ácido, generalmente catalizada por un ácido de Lewis, aunque en ocasiones procede perfectamente en presencia de ácidos de Brønsted, como ocurre en esta práctica. Los anhídridos son el segundo derivado de ácido carboxílico más reactivo, solo precedidos por los haluros de ácido.

La luminiscencia, término introducido por Wiedemann en 1888, describe los fenómenos de emisión de luz que no están condicionados a un incremento de la temperatura; más precisamente, es la emisión espontánea de radiación desde una especie electrónicamente excitada. En la fluorescencia el papel central lo juegan los *fluoróforos*, la parte de la molécula que absorbe energía de una longitud de onda específica y emite radiación de mayor longitud de onda: los electrones promovidos a niveles excitados se relajan hasta el LUMO y liberan en forma de luz la energía previamente absorbida.

La fluoresceína es uno de los pigmentos fluorescentes mejor conocidos. Fue sintetizada por primera vez por Adolf von Baeyer en 1871, absorbe con $\lambda_{\text{máx}} = 494 \text{ nm}$ y emite con $\lambda_{\text{máx}} = 523 \text{ nm}$, muestra una fuerte dependencia del pH y tiene aplicaciones que van del ámbito médico al trazado de contaminantes en ríos.

III. Investigación previa.

1. Propón el mecanismo de acetilación del 4-aminofenol con anhídrido acético y explica, con argumentos de nucleofilia, por qué se acetila el grupo amino y no el hidroxilo.
2. Compara el anhídrido acético, el cloruro de acetilo y el ácido acético como agentes acilantes, y justifica por qué esta síntesis emplea el anhídrido.
3. Propón el mecanismo de la doble acilación de Friedel-Crafts entre el anhídrido ftálico y el resorcinol, y explica por qué el H_2SO_4 concentrado basta como catalizador sin un ácido de Lewis.
4. Explica qué requisitos estructurales debe cumplir una molécula para ser fluorescente y cuáles de ellos presenta la fluoresceína pero no sus materias primas.
5. Dibuja las especies de la fluoresceína que predominan en medio ácido y en medio alcalino, y predice en cuál observarás mayor emisión bajo luz UV.
6. Investiga en qué consiste la extinción de emisión por agregación y predice qué observarás al comparar la disolución concentrada de fluoresceína sódica con su dilución 1:10.
7. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa las tablas de la sección VI a partir de las reacciones balanceadas.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Paracetamol			
4-Aminofenol	0.4 g	Anhídrido acético	0.35 mL
Agua destilada	15 mL	AcOEt:Hexano 9:1 (eluyente)	10 mL
Fluoresceína			
Anhídrido ftálico	0.05 g	Resorcinol	0.07 g
H_2SO_4 concentrado	0.15 mL	Disolución NaOH 1 M	10 mL

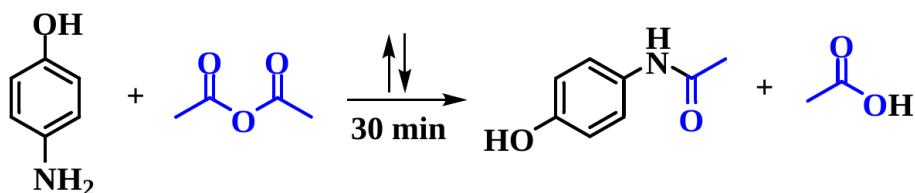
El anhídrido ftálico puede ser el que tu equipo sintetizó y guardó en la Práctica 3.

V. Material.

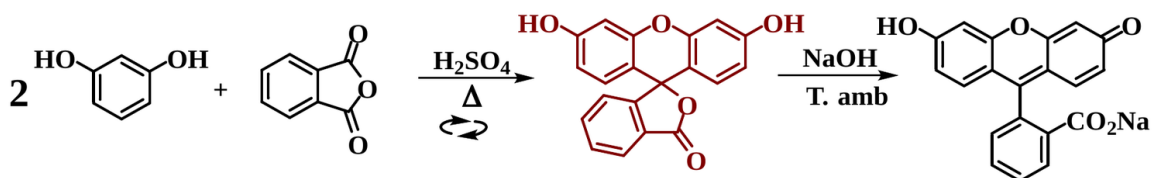
Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Matraz bola de fondo plano de 10 mL 14/23	2	Pipeta graduada de 1 mL	2
Tubo de ensaye	2	Frasco vial	1

VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción 1: Paracetamol	4-Amino-fenol	Ac ₂ O	Paracetamol
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			



Reacción 2: Fluoresceína	Resorcinol	Anhídrido ftálico	Fluoresceína
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			

VII. Procedimiento.

A) Paracetamol

Anhídrido acético: Es corrosivo y lacrimógeno. Mídelo y transfíerelo exclusivamente dentro de la campana. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos.

En el matraz bola de fondo plano de 10 mL, con barra de agitación magnética, adiciona 0.35 mL de anhídrido acético, 0.4 g de 4-aminofenol y 0.5 mL de agua. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y mantén la mezcla a reflujo con agitación durante 30 minutos.

Deja enfriar ligeramente y coloca el matraz en baño de hielo unos 10 minutos, hasta que precipite el producto. Filtra al vacío con el embudo Büchner y lava con agua fría; reserva una porción de paracetamol sin recrystalizar para su punto de fusión.

Purifica el resto por recrystalización de agua. El paracetamol crudo suele presentar un ligero color violeta; si lo consideras necesario, emplea carbón activado durante la recrystalización. Filtra al vacío, seca, pesa y calcula el rendimiento; determina y compara el punto de fusión del crudo contra el recrystalizado.

Realiza una placa de CCF comparando el 4-aminofenol contra tu paracetamol, empleando AcOEt:hexano 9:1 como eluyente. Mide los R_f de ambas manchas.

B) Fluoresceína

H₂SO₄ concentrado: Es corrosivo y provoca quemaduras graves en piel y ojos. En caso de contacto, retira guantes y ropa contaminada, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO₃ 10%.

NaOH 1 M: Es corrosivo, manéjalo con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos.

En el segundo matraz bola de fondo plano de 10 mL, con barra de agitación magnética, agrega 0.05 g de anhídrido ftálico y 0.07 g de resorcinol. Coloca el matraz en baño de hielo, llévalo a la campana y agrega con una pipeta Beral limpia 3 gotas de H₂SO₄ concentrado; deja enfriar un par de minutos.

Antes de calentar, introduce con cuidado la mezcla de reactivos en la cámara de luz UV y observa si las materias primas emiten fluorescencia por sí mismas. Registra lo que veas.

Calienta sobre la parrilla con agitación magnética hasta que los sólidos fundan y reaccionen entre sí; obtendrás un sólido de color rojizo. Deja enfriar a temperatura ambiente, vuelve a introducir la mezcla en la cámara de luz UV y observa si ahora emite fluorescencia.

Diluye la mezcla fría con 3 mL de agua y 5 mL de disolución de NaOH 1 M hasta pH 8, y agita en la parrilla hasta homogenizar por completo. Observa de nuevo la disolución de fluoresceína sódica bajo luz UV.

En el vaso de precipitados de 30 mL prepara 10 mL de una disolución **1:10** de fluoresceína sódica en agua. Transfiere unos 3 mL a un tubo de ensaye y obsérvalo dentro de la cámara de luz UV. Anota todas tus observaciones y compáralas con las de la disolución concentrada.

Nota: enjuaga todo el material con un poco de disolución de NaOH 1 M antes de lavarlo, y coloca la disolución de enjuague en el contenedor de residuos correspondiente.

VIII. Cuestionario.

1. Calcula tu rendimiento de paracetamol y compara los puntos de fusión del crudo y del recrystalizado. Si usaste carbón activado, explica qué cambió en el aspecto de tu producto y por qué.
2. Interpreta tu placa de CCF: reporta el R_f del 4-aminofenol y el de tu paracetamol, indica cuál eluyó más y explícalo en términos de polaridad. Con base en tu placa, ¿quedó materia prima sin reaccionar?
3. Describe, en el orden en que las hiciste, las cuatro observaciones bajo luz UV: materias primas, mezcla fundida, disolución alcalina y dilución 1:10. Explica cada cambio a partir de la estructura de la especie presente en ese momento.
4. Con base en el tiempo que tardó en fundir y reaccionar tu mezcla de anhídrido ftálico y resorcinol, argumenta qué tan reactivos son los anhídridos de ácido comparados con los ésteres que trabajaste en la Práctica 3.
5. Si empleaste el anhídrido ftálico que tú mismo sintetizaste, comenta si su punto de fusión y su aspecto influyeron en el resultado de la fluoresceína. Si usaste el reactivo comercial, explica qué diferencia esperarías.
6. Explica por qué la fluoresceína es un compuesto dependiente del pH y señala, estructural y ópticamente, dos diferencias entre la fluoresceína y la rodamina.

IX. Bibliografía.

1. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
2. Williamson, K. Macro and Microscale Organic Experiments **2010**, Editorial Cengage Learning, 6ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.
3. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
4. Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications* **2012**, Wiley-VCH, 2ª Edición, Weinheim, Alemania.

5. Sauer, M.; Hopkens, J.; Enderlein, J. Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging **2011**, Wiley-VCH, 1ª Edición, Weinheim, Alemania.
6. Pay, A. L.; Kovash, C.; Loge, B. A. *J. Chem. Educ.* **2017**, 94(10), 1580-1583.
7. Burgess, K.; Ueno, Y.; Jiao, G. S. *Synthesis* **2004**, (15), 2591-2593.
8. Mayo, D. W.; Pike, R. M.; Trumper, P. K. Microscale Organic Laboratory **1994**, 3ª Edición, Editorial John Wiley & Sons Inc., Estados Unidos de Norteamérica.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

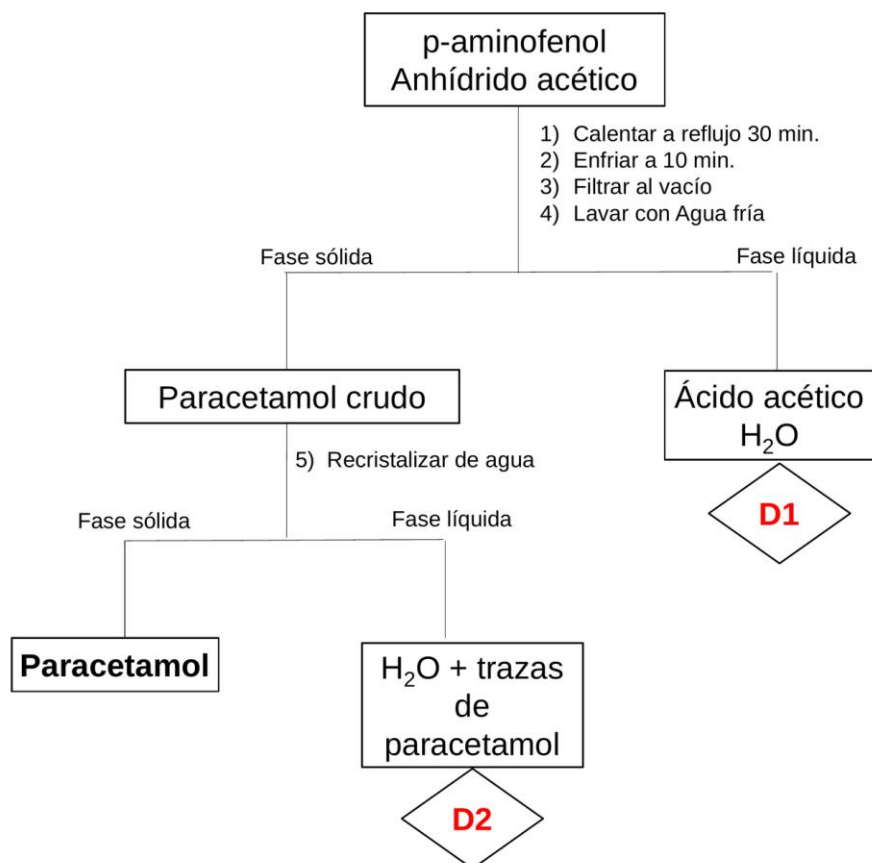
Disolución de NaOH 1M (1 L)

Pesar 40 gramos de NaOH y colocarlos al interior de un matraz aforado de 1000 mL, colocar éste dentro de un baño de hielo y aforar a 1 L con agua destilada. Agitar suavemente cuando la disolución esté a temperatura ambiente y almacenar.

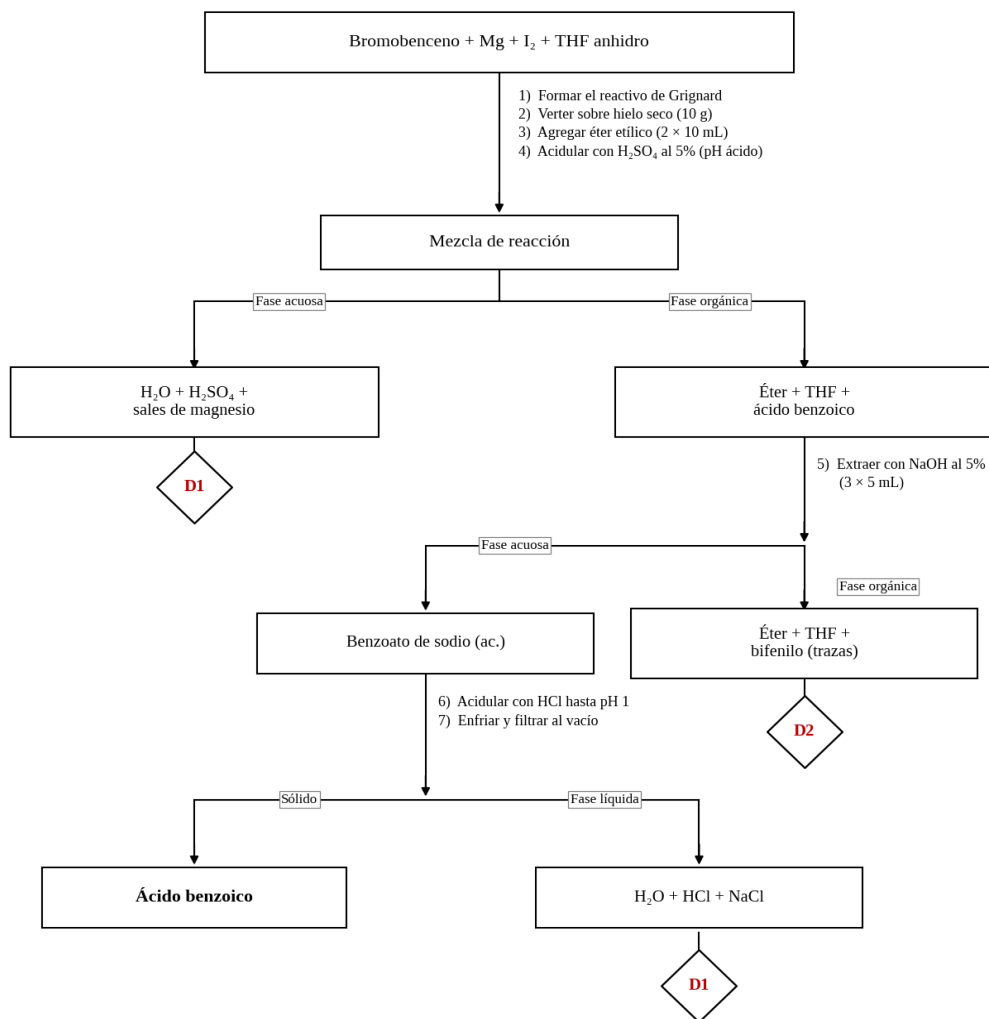
XI. Manejo de Residuos.



PARACETAMOL



Esquema 7. Diagrama de flujo de la síntesis de paracetamol y su manejo de residuos.



D1: Medir el pH de la disolución, neutralizar y desechar por el drenaje.
 D2: Recuperar el disolvente por destilación; el residuo se envía al colector de residuos orgánicos no halogenados.

Esquema 8. Diagrama de flujo de la síntesis de fluoresceína sódica y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 6



LÍPIDOS I

AISLAMIENTO DE TRIMIRISTINA

I. Objetivos.

- a) Aislar un triglicérido a partir de una fuente natural mediante una extracción sólido-líquido continua en sistema Soxhlet.
- b) Purificar la trimiristina obtenida por precipitación con un par de disolventes y evaluar su pureza por punto de fusión y cromatografía en capa fina.

II. Introducción.

Los lípidos son un grupo de compuestos químicos muy diverso cuyo único común denominador es la solubilidad en disolventes apolares, debida a la presencia de grandes regiones hidrocarbonadas y a la ausencia o escasa presencia de grupos funcionales polares.

La gran mayoría de los organismos utiliza los lípidos como reservorio de energía, al ser fácilmente metabolizados y generar gran cantidad de energía por mol. Los mamíferos los acumulamos en forma de grasas; los peces y algunos insectos, en forma de ceras; los vegetales, en forma de aceites, incluso de aroma y sabor muy agradables. Los fosfolípidos y esteroides constituyen alrededor de la mitad de las membranas biológicas, y otros lípidos cumplen funciones como cofactores de enzimas, acarreadores de electrones, pigmentos fotoabsorbentes, agentes emulsificantes, vitaminas u hormonas.

Precisamente por su alta solubilidad en disolventes orgánicos apolares y su casi nula solubilidad en agua, los lípidos pueden separarse fácilmente de otras biomoléculas mediante procesos de extracción. El sistema Soxhlet lleva esa idea al extremo: recircula el disolvente de manera continua, de modo que la muestra se pone en contacto una y otra vez con disolvente limpio y caliente, con lo que se alcanza una extracción exhaustiva empleando un volumen de disolvente mucho menor que en una extracción por lotes.

III. Investigación previa.

1. Dibuja la estructura de la trimiristina e identifica el ácido graso que la compone. Anota su masa molar y su punto de fusión reportado.
2. Explica el ciclo de un sistema Soxhlet y por qué extrae con disolvente “siempre limpio”. Predice qué pasaría con el rendimiento si detuvieras la extracción en el segundo ciclo en lugar del sexto.
3. Compara la polaridad del diclorometano y del metanol, y explica por qué la trimiristina se disuelve en el primero y precipita al agregar el segundo. Propón otro disolvente de extracción viable y justifica tu elección.

- La nuez moscada contiene también aceites esenciales aromáticos. Predice si se extraerán junto con el triglicérido y cómo se manifestaría su presencia en tu producto.
- Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de los disolventes empleados en esta práctica.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Nuez moscada en polvo *	5-6 g	Diclorometano	75 mL
Metanol	80 mL		

* La nuez moscada deberá ser proporcionada por el estudiante.

V. Material.

Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Equipo Soxhlet completo	1	Matraz bola de fondo plano de 125 mL	1
Matraz Erlenmeyer de 250 mL	1	Matraz Erlenmeyer de 100 mL	1
Probeta graduada de 25 mL	1	T de destilación 14/23	1
Colector corto 14/23	1	Tapón de vidrio esmerilado 14/23	1
Vaso de precipitados de 100 mL	1	Clips	2

VI. Datos experimentales.

Registra en la siguiente tabla los datos de tu extracción; los necesitarás para responder el cuestionario.

Dato	Valor experimental
Masa de nuez moscada empleada (g)	
Ciclos completados en el Soxhlet	
Masa de trimiristina obtenida (g)	
Rendimiento de extracción (% m/m)	
Punto de fusión experimental (°C)	
Punto de fusión reportado (°C)	
Rf de la trimiristina	

VII. Procedimiento.

Diclorometano y metanol: Son volátiles y nocivos por inhalación. Trabaja con la campana encendida y no los vapores sobre la mesa de trabajo. El metanol además es inflamable y tóxico por ingestión.

Engrasa bien todas las juntas del sistema Soxhlet. Coloca 75 mL de CH_2Cl_2 y una barra de agitación magnética en el matraz bola de fondo plano de 125 mL y monta el sistema de extracción.

Elabora un cartucho de papel filtro y llénalo con aproximadamente 5-6 g de nuez moscada; pesa la nuez con exactitud y anota el dato. Coloca el cartucho dentro de la cámara del Soxhlet, inicia la agitación magnética y lleva el sistema a reflujo de diclorometano. Permite que se completen al menos 6 ciclos de sifoneo.

Retira con cuidado el cartucho y deséchalo. Si en el matraz quedan trazas de sólidos, realiza una filtración por gravedad antes de continuar.

Monta un sistema de destilación simple y destila aproximadamente 50 mL de diclorometano, hasta que la disolución de trimiristina quede en unos 25 mL. Colecta el destilado en el matraz Erlenmeyer de 100 mL sumergido en baño de hielo; ese disolvente se recupera para su reutilización.

Transfiere la disolución concentrada al matraz Erlenmeyer de 250 mL, enjuaga el matraz de destilación con 5 mL de diclorometano y reúne ambas fracciones.

Mide 70 mL de metanol frío en la probeta graduada y adiciónalo lentamente y con agitación suave sobre el concentrado. Deja reposar el matraz en un recipiente con hielo hasta que se forme el sólido. Filtra al vacío y lava el sólido con 2 porciones de 10 mL de diclorometano:metanol 1:1.

Seca el sólido y calcula el rendimiento de la extracción respecto a la masa de nuez moscada inicial. Determina el punto de fusión experimental y realiza una placa de CCF para verificar su pureza.

Etiqueta el producto con el nombre, la fecha y tu número de equipo, y almacénalo: será tu materia prima de la siguiente sesión.

VIII. Cuestionario.

1. Reporta tu rendimiento de extracción en % m/m respecto a la nuez moscada empleada. Compáralo con el contenido de trimiristina reportado para la nuez moscada y explica la diferencia.
2. Con tu punto de fusión experimental y tu placa de CCF, evalúa qué tan pura quedó tu trimiristina. Si observaste más de una mancha, propón qué son las manchas adicionales.

3. Indica cuántos ciclos completó tu sistema y en qué momento notaste que el disolvente que retornaba ya salía prácticamente incoloro. Con base en eso, argumenta si valía la pena extender la extracción.
4. Explica cómo podrían separarse y recuperarse para su reutilización el diclorometano y el metanol empleados en esta práctica.
5. Con lo que observaste, propón una modificación concreta al procedimiento que aumentaría tu porcentaje de extracción y justifica por qué funcionaría.

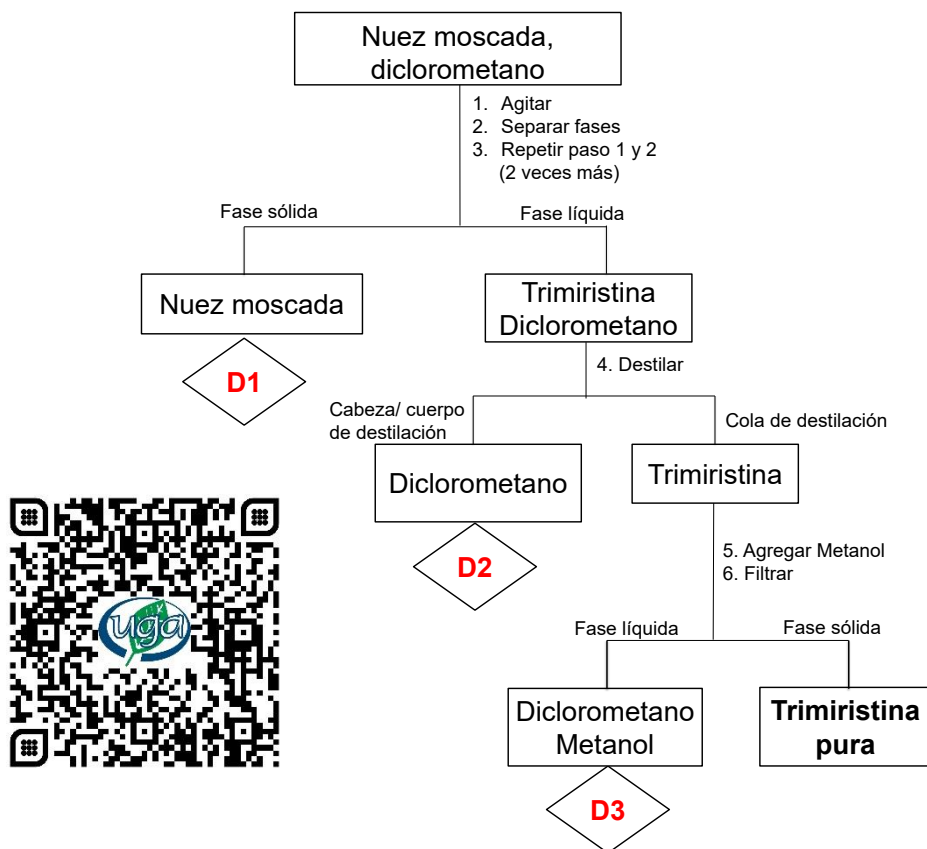
IX. Bibliografía.

1. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
2. Doyle, P. M.; Mungall, W. Experimental Organic Chemistry **1980**, John Wiley & Sons, Estados Unidos de Norteamérica.
3. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Esta práctica no requiere disoluciones preparadas: los disolventes se emplean tal como se reciben. El diclorometano recuperado en la destilación se almacena etiquetado para su reutilización.

XI. Manejo de Residuos.



D1: Deseche al bote de basura.

D2: Desecho apto para volver a utilizar.

D3: Recuperar las sustancias por destilación para volver a ser usadas.

Esquema 9. Diagrama de flujo de la extracción de trimiristina y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 7



LÍPIDOS II

SAPONIFICACIÓN DE TRIMIRISTINA

I. Objetivos.

- a) Realizar una reacción de hidrólisis alcalina (saponificación) sobre un triglicérido.
- b) Obtener ácido mirístico a partir de la trimiristina aislada en la práctica anterior y evaluar su pureza.

II. Introducción.

La hidrólisis alcalina de triglicéridos o de algunos aceites vegetales se conoce comúnmente como saponificación de grasas, ya que se forma la sal sódica o potásica del ácido graso correspondiente, mejor conocida como jabón; de ahí el nombre de la reacción, del latín *sapo* = jabón.

La disociación de las grasas en medio básico es un proceso exotérmico; sin embargo, se requiere adicionar calor al sistema para que la reacción se complete en un tiempo razonable. A diferencia de la hidrólisis ácida, que es un equilibrio, la saponificación es irreversible: el carboxilato formado ya no es electrofílico y no puede volver a esterificarse en esas condiciones, lo que desplaza el proceso por completo hacia los productos.

El producto directo de la reacción es el carboxilato sódico, soluble en el medio acuoso-alcohólico. Para aislar el ácido graso libre es necesario acidificar: al protonar el carboxilato se obtiene un ácido de cadena larga, prácticamente insoluble en agua, que precipita y puede recuperarse por filtración.

III. Investigación previa.

1. Escribe la reacción balanceada de saponificación de la trimiristina y calcula los equivalentes de NaOH respecto al triglicérido. Explica por qué se requiere más de un equivalente.
2. Propón el mecanismo de la hidrólisis alcalina de un éster y explica por qué, a diferencia de la ácida, la saponificación es irreversible.
3. La mezcla se acidifica hasta pH 2-3. Indica qué especie predomina antes y después de acidificar, y predice qué obtendrías si detuvieras la adición en pH 8.
4. La recrystalización emplea el par metanol-agua. Con base en la estructura del ácido mirístico, explica por qué el metanol es mejor elección que el etanol.

- Identifica el segundo producto orgánico que libera la reacción, indica en qué fase queda tras la acidificación y explica cómo comprobarías su presencia.
- Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

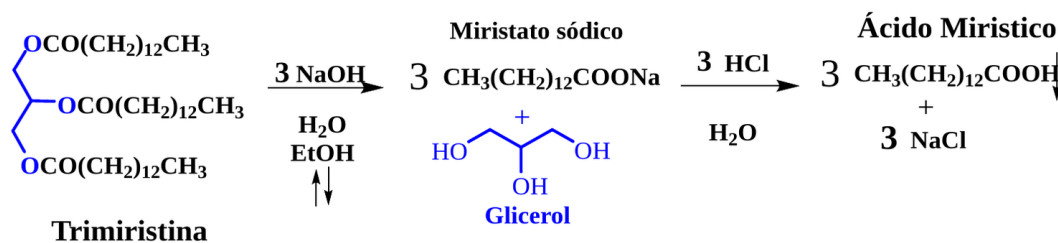
Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Trimiristina	0.5 g	Hexano	5 mL
Etanol	10 mL	Metanol	10 mL
Éter etílico	5 mL	Disolución HCl 20% v/v	10 mL
Disolución de NaOH al 20%	2.5 mL	Agua destilada	10 mL

La trimiristina es la que tu equipo aisló y almacenó en la Práctica 6.

V. Material.

Esta práctica se realiza completamente con el material del kit. No es necesario solicitar material adicional por papeleta.

VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción: Saponificación	Trimiristina	NaOH	Ácido mirístico
Masa molar (g/mol)			
Masa (g)			
Volumen (mL)			
Densidad (g/mL)			
Cantidad de sustancia (mmol)			
Equivalentes químicos			
Propiedades físicas			

VII. Procedimiento.

NaOH 20% y HCl 20%: Ambos son corrosivos. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos; para el ácido, enjuaga después con disolución de NaHCO_3 10%.

En el matraz bola de fondo plano de 25 mL, con barra de agitación magnética, agrega 0.5 g de trimiristina, 10 mL de etanol y 2.5 mL de disolución de hidróxido de sodio al 20% m/v. Adapta el refrigerante en posición de reflujo y calienta la mezcla a reflujo durante 1 hora, para favorecer que todo el triglicérido se transforme en la sal sódica soluble.

Al finalizar, vierte la mezcla de reacción sobre el vaso de precipitados de 50 mL que contenga aproximadamente 10 g de hielo y 10 mL de disolución de ácido clorhídrico al 20% v/v. Agita vigorosamente durante 10 minutos, deja reposar y verifica que el pH sea 2-3.

Diluye con 10 mL de agua destilada, filtra al vacío el sólido formado con el embudo Büchner y lávalo con agua helada (3×2 mL). Reserva una porción del crudo para su punto de fusión.

Purifica el ácido mirístico por recristalización con el par de disolventes metanol-agua. Filtra al vacío, seca y pesa el producto; calcula el rendimiento de la reacción.

Determina el punto de fusión experimental y compáralo con el de la trimiristina de partida.

Realiza una placa de CCF para comprobar la pureza del producto, comparándola con la materia prima, empleando como eluyente hexano:Et₂O 1:1; también puedes emplear hexano:AcOEt 9:1. De ser necesario, revela la cromatoplaqueta con vapores de I₂.

VIII. Cuestionario.

1. Reporta tu rendimiento y explica qué evidencia experimental concreta de tu sesión indica que el sólido que aislaste es ácido mirístico y no trimiristina sin reaccionar.
2. Compara el punto de fusión de tu producto con el de la trimiristina que aislaste en la práctica anterior. Explica la diferencia entre ambos valores a partir de las estructuras.
3. Interpreta tu placa de CCF: reporta los R_f de la trimiristina y del ácido mirístico e indica cuál corrió más. Explica el resultado en términos de polaridad.
4. Si la disolución de ácido clorhídrico hubiera estado al 1% en lugar de al 20%, predice qué habría pasado con tu aislamiento y justifica tu respuesta con el pH que mediste.
5. Describe dos ventajas de la saponificación frente a la hidrólisis ácida para este sustrato, apoyándote en lo que observaste durante la sesión.

IX. Bibliografía.

1. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
2. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
3. Doyle, P. M.; Mungall, W. Experimental Organic Chemistry **1980**, John Wiley & Sons Inc., Estados Unidos de Norteamérica.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Solución de HCl al 20% (1 L)

Medir con una probeta graduada 200 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y adicionarlo lentamente dentro de un matraz aforado de 1000 mL y aforar agua destilada, el matraz aforado debe encontrarse dentro de un baño de hielo, agitar suavemente hasta homogenizar, proceder a verter dentro del recipiente donde se almacenará. Importante: NO invertir el orden de adición, use bata, guantes y lentes de seguridad. La solución desprende calor.

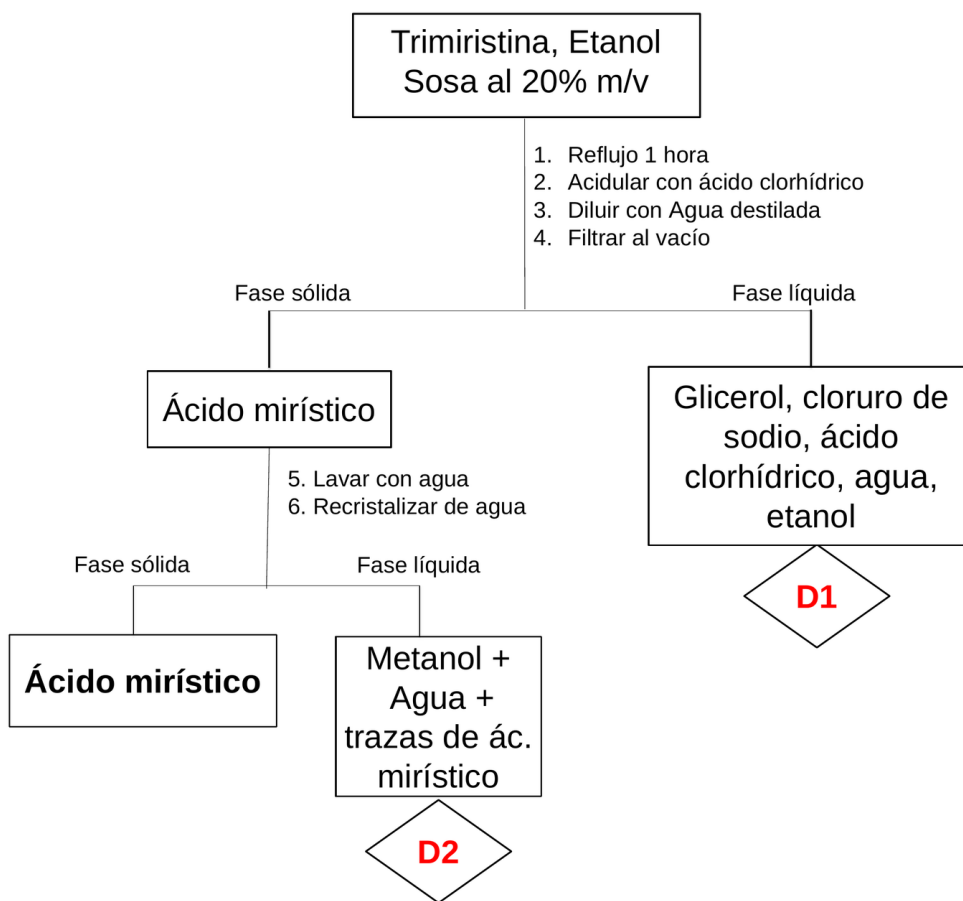
Disolución de NaOH al 20% (1 L)

Pesar 200 g de hidróxido de sodio (NaOH) y verter dentro de un matraz aforado de 1000 mL que contenga 500 mL de agua destilada y se encuentre dentro de un baño de hielo, agite suavemente la disolución, afore el matraz lentamente hasta un volumen final de 1000 mL (1 L). La disolución desprende calor.

XI. Manejo de Residuos.



ÁCIDO MIRÍSTICO



D1: Si es necesario neutralice el ácido y emulsificar el glicerol.

D2: Neutralizar y desechar, debido a que el porcentaje de metanol es menor al 10%

Esquema 10. Diagrama de flujo de la obtención de ácido mirístico y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 8



AMINOÁCIDOS Y PÉPTIDOS I

SÍNTESIS DEL ÁCIDO HIPÚRICO

I. Objetivos.

- Ejemplificar la formación de un enlace amida análogo al enlace peptídico.
- Aplicar las condiciones de una reacción de Schotten-Baumann para acilar el grupo amino de un aminoácido.
- Sintetizar ácido hipúrico a partir de glicina y cloruro de benzoilo, y evaluar su pureza por punto de fusión.

II. Introducción.

Los aminoácidos son compuestos químicos que presentan un grupo ácido carboxílico y un grupo amino dentro de la misma molécula; cuando el grupo amino se ubica sobre el carbono α se denominan α -aminoácidos.

Cada α -aminoácido presenta, en el átomo de carbono adyacente al carboxilo, además del grupo amino, una cadena R que es única para cada uno. Al tener cuatro sustituyentes diferentes sobre el $C\alpha$, los aminoácidos son moléculas quirales con actividad óptica; la única excepción es la glicina, cuya R es un segundo átomo de hidrógeno. Según las proyecciones de Fischer, todos los aminoácidos proteinogénicos son L -aminoácidos.

Los aminoácidos son los bloques de construcción de las proteínas e intermediarios del metabolismo. Para la especie humana existen 21 aminoácidos, de los cuales el organismo puede sintetizar únicamente 11; el resto deben ingerirse en la dieta diaria. El cuerpo humano no almacena aminoácidos para uso posterior.

La reacción de Schotten-Baumann permite acilar aminas con cloruros de ácido en medio acuoso alcalino. La base cumple dos funciones simultáneas: mantiene desprotonado al grupo amino para que conserve su nucleofilia y neutraliza el HCl que se libera en la acilación. El resultado es un enlace amida formado en condiciones suaves, el mismo tipo de enlace que une a los aminoácidos en un péptido.

III. Investigación previa.

- Propón el mecanismo de la reacción entre la glicina y el cloruro de benzoilo, y explica por qué reacciona el grupo amino y no el carboxilato.
- Dibuja las especies de la glicina que predominan a pH 1, 6 y 13, y explica por qué la reacción requiere medio alcalino para proceder.

3. El cloruro de benzoilo también se hidroliza con agua. Escribe esa reacción competitiva, explica por qué la síntesis funciona aun en medio acuoso y predice qué subproducto genera el exceso de cloruro de benzoilo.
4. El aislamiento acidifica hasta pH 2 y después lava el sólido con diclorometano. Explica qué se elimina en cada uno de esos pasos.
5. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Glicina	0.3 g	NaOH en lentejas	1.0 g
Cloruro de benzoilo	0.5 mL	Disolución HCl 50% v/v	2 mL
Disolución NaOH 40%	0.8 mL	Diclorometano CH ₂ Cl ₂	5 mL
Agua destilada	12 mL		

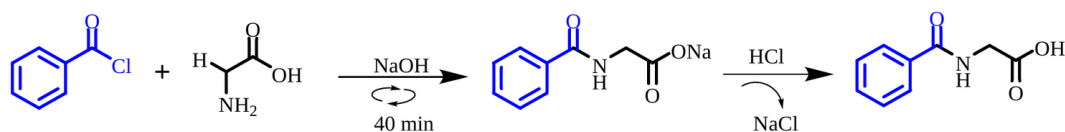
El estudiante deberá llevar el día del experimento una jeringa con aguja de 3 mL.

V. Material.

Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Matraz bola de fondo plano de 10 mL 14/23	1	Trampa de Claisen con tapón de hule	1
Trampa de humedad para microescala 14/23	1		

VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción: Ácido hipúrico	Cloruro de benzoilo	Glicina	NaOH 40%	Ácido hipúrico
Masa molar (g/mol)				
Masa (g)				
Volumen (mL)				
Densidad (g/mL)				
Cantidad de sustancia (mmol)				
Equivalentes químicos				
Propiedades físicas				

VII. Procedimiento.

Cloruro de benzoilo: Es lacrimógeno y corrosivo. Manéjalo dentro de la campana. En caso de contacto, retira guantes y ropa contaminada, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y traslada a la persona al aire libre por 3-5 minutos.

NaOH 40% y HCl 50%: Son corrosivos, manéjalos con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos; para el ácido, enjuaga después con disolución de NaHCO₃ 10%.

Monta el sistema de la **Figura 3**. En el matraz bola de fondo plano de 10 mL, con barra de agitación magnética, añade 0.3 g de glicina y 2 mL de agua; agita hasta disolver por completo la glicina y enseguida adiciona 0.5 mL de cloruro de benzoilo.

Adapta la trampa de Claisen: en una entrada coloca una trampa de humedad que contenga en su interior 4 lentejas de NaOH y en la otra un tapón de hule atravesado por la jeringa cargada con 1 mL de disolución de NaOH al 40%.

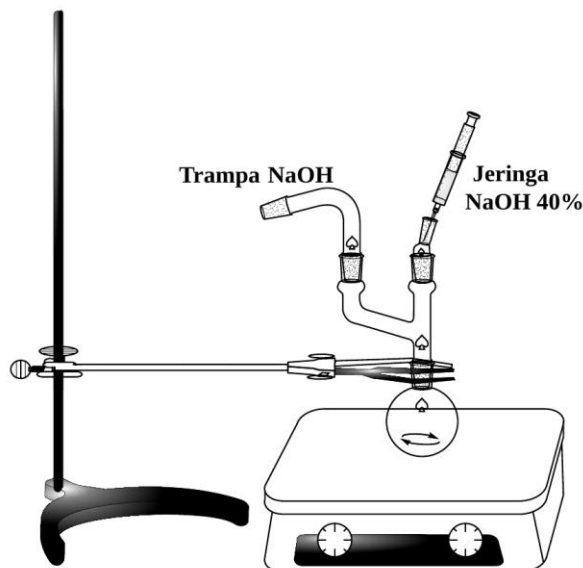


Figura 3. Sistema para la síntesis de ácido hipúrico.

Adiciona la disolución de NaOH al 40% gota a gota, con agitación magnética y a temperatura ambiente. Al terminar la adición observarás dos fases; continúa agitando 40 minutos más a temperatura ambiente. Conforme avance la reacción, las dos fases desaparecerán para dar una sola.

Vierte el contenido del matraz en el vaso de precipitados de 30 mL, colócalo en baño de hielo y adiciona gota a gota 2 mL de disolución de HCl al 50% hasta pH 2.

Filtra al vacío el sólido formado con el embudo Büchner, lávalo con 10 mL de agua destilada helada para eliminar los rastros de HCl y después con 5 mL de diclorometano. Reserva una porción del producto crudo para determinar su punto de fusión.

Purifica el producto por recrystalización simple de agua. Filtra al vacío, seca y pesa el producto; determina el punto de fusión del crudo contra el recrystalizado y calcula el rendimiento experimental.

VIII. Cuestionario.

1. Reporta tu rendimiento y tus dos puntos de fusión (crudo y recrystalizado). Explica la diferencia entre ambos en términos de pureza.
2. Describe en qué momento de tu sesión desaparecieron las dos fases y cuánto tiempo tardó. Explica a nivel molecular qué cambió en el sistema para que eso ocurriera.
3. Reporta el pH al que precipitó tu producto. Predice qué habrías obtenido si hubieras detenido la acidificación en pH 6 y justifica con la estructura del ácido hipúrico.
4. El lavado con diclorometano retira un subproducto. Indica cuál es, explica por qué se disuelve en ese disolvente y describe si notaste algún cambio en el aspecto del sólido tras el lavado.

5. Explica por qué el cloruro de benzoilo se adiciona antes que la base y qué habría pasado si se hubieran invertido las adiciones.
6. Investiga de qué fuente natural se obtiene el ácido hipúrico y qué papel cumple en el organismo.

IX. Bibliografía.

1. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
2. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
3. Williamson, K. Macro and Microscale Organic Experiments **2010**, Editorial Cengage Learning, 6ª Edición, Estados Unidos de Norteamérica.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Solución de HCl al 50% (1 L)

Medir con una probeta graduada 500 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y adicionarlo lentamente dentro de un matraz aforado de 1000 mL y aforar agua destilada, el matraz aforado debe encontrarse dentro de un baño de hielo, agitar suavemente hasta homogenizar, proceder a verter dentro del recipiente donde se almacenará. ***Importante:** *NO** invertir el orden de adición, use bata, guantes y lentes de seguridad. La solución desprende calor.

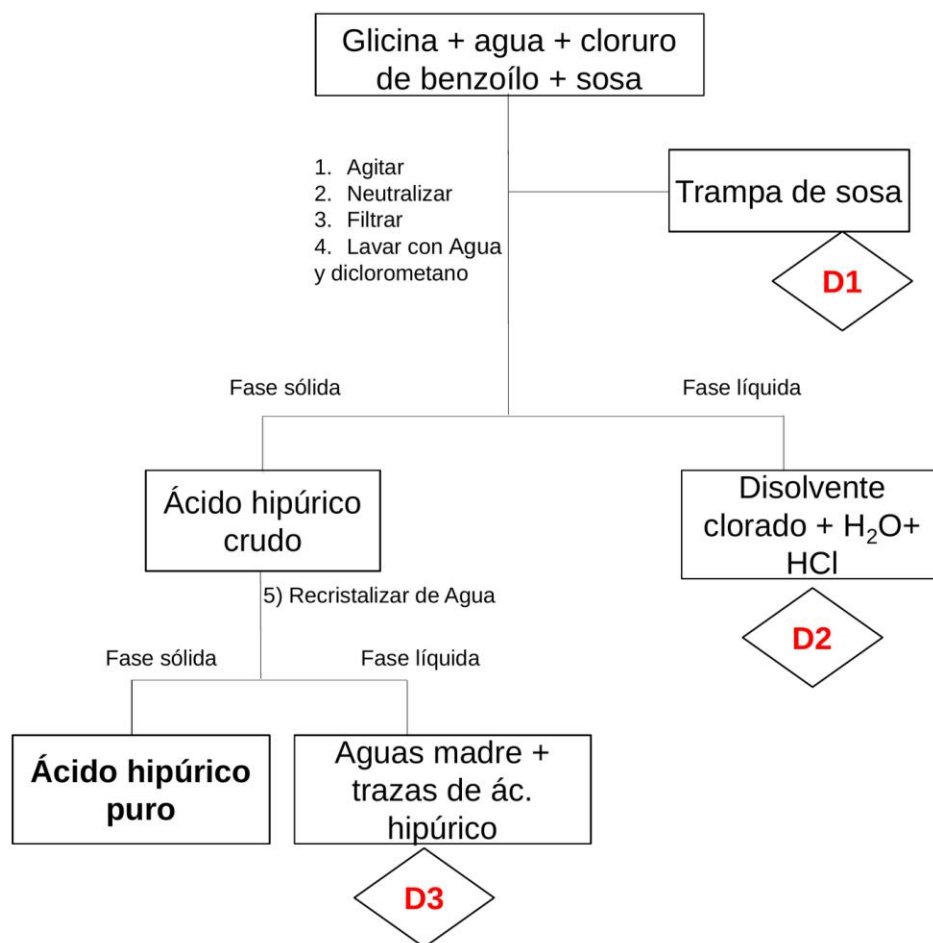
Disolución de NaOH al 40% (1 L)

Pesar 400 g de hidróxido de sodio (NaOH) y verter dentro de un matraz aforado de 1000 mL que contenga 500 mL de agua destilada y se encuentre dentro de un baño de hielo, agite suavemente la disolución, afore el matraz lentamente hasta un volumen final de 1000 mL (1 L). ***Importante:** La disolución desprende calor. Use bata, guantes y lentes de seguridad.

XI. Manejo de Residuos.



ÁCIDO HIPÚRICO



D1: Las hojuelas de sosa se disuelven en agua y se neutralizan.

D2: Destilar para recuperar el disolvente clorado. Neutralizar la cola del destilado.

D3: Neutralizar y eliminar por el drenaje.

Esquema 11. Diagrama de flujo de la síntesis de ácido hipúrico y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 9



AMINOÁCIDOS Y PÉPTIDOS II

REACCIÓN PSEUDO-SANGER E IDENTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS

I. Objetivos.

- Ejemplificar la reacción tipo Sanger para la identificación del amino terminal de una cadena peptídica.
- Sintetizar un derivado 2,4-dinitrofenil-aminoácido mediante una reacción de S_NAr .
- Identificar cualitativamente diversos aminoácidos mediante la reacción con ninhidrina.
- Observar la presencia de aminoácidos en rastros de huellas dactilares.

II. Introducción.

La secuencia de aminoácidos constituye la estructura primaria de las proteínas, y conocerla es de gran importancia. Hoy existen métodos automatizados y muy eficientes para determinarla, pero no siempre fue así: en 1945 Frederick Sanger propuso una reacción de gran sencillez y relevancia incalculable para la época, una sobria sustitución nucleofílica aromática empleando 2,4-dinitrofluorobenceno frente a un péptido, seguida de una hidrólisis ácida suave. De ese modo, en 1953 pudo determinar la secuencia de los 51 aminoácidos que constituyen la insulina, trabajo por el que recibió el premio Nobel de Química en 1958.

La identificación de aminoácidos de esta práctica se fundamenta en la formación de un complejo altamente colorido llamado púrpura de Ruhemann, que absorbe a 570 nm. Se trata de una sencilla reacción de formación de iminas entre una tricetona aromática, la ninhidrina, que funciona como grupo cromóforo, y el grupo amino libre de los aminoácidos. En el campo de la criminalística esta reacción se emplea para la búsqueda y detección de huellas dactilares, dado que el sudor de palmas y dedos contiene cantidades moderadas de ciertos aminoácidos.

III. Investigación previa.

- Propón el mecanismo de la sustitución nucleofílica aromática entre el 2,4-dinitroclorobenceno y el aminoácido. Explica el papel de los grupos nitro y por qué la reacción no procede sobre clorobenceno.
- La reacción emplea 4 equivalentes de K_2CO_3 y no NaOH. Justifica la elección de la base y el número de equivalentes.
- Propón el mecanismo de la reacción entre un aminoácido y la ninhidrina hasta el púrpura de Ruhemann, e indica qué fragmento del aminoácido termina en el cromóforo.

- La prolina es un aminoácido secundario. Con base en el mecanismo anterior, predice si dará el mismo color que los demás aminoácidos y explica por qué.
- Tras la extracción con CH_2Cl_2 el producto permanece en la fase acuosa. Explica por qué y qué se elimina en la fase orgánica.
- Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de reactivos y productos, y completa la tabla de la sección VI a partir de la reacción balanceada.

IV. Reactivos.

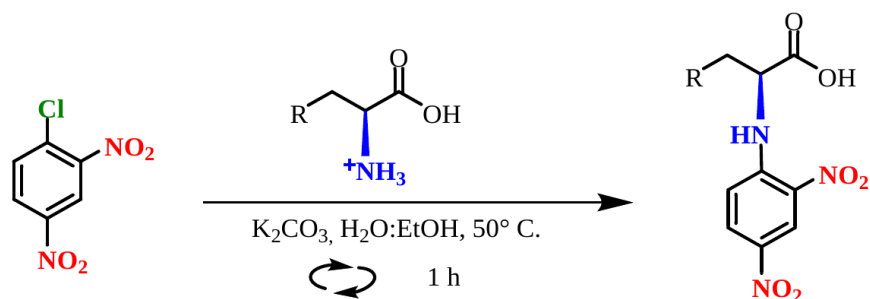
Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
2,4-Dinitroclorobenceno	0.4 g	Glicina o <i>L</i> -Fenilalanina	0.15 / 0.33 g
Carbonato de potasio K_2CO_3	1.1 g	Diclorometano CH_2Cl_2	30 mL
Etanol	10 mL	HCl concentrado	1.5 mL
Disolución de ninhidrina 0.2%	8 mL	Agua destilada	10 mL
Disoluciones 0.5% de <i>L</i> -ácido glutámico, <i>L</i> -fenilalanina, glicina, <i>L</i> -arginina, <i>L</i> -leucina, metionina y <i>L</i> -prolina	1 mL c/u		

V. Material.

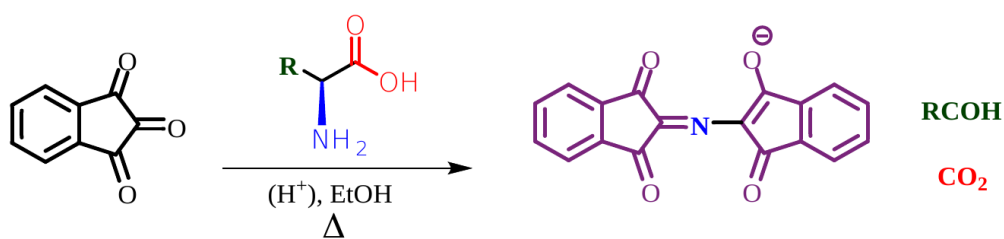
Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Gradilla	1	Tubos de ensaye de 16×150 mm	10
Pinzas para tubo de ensaye	1	Refrigerante de aire 14/23	1
Termómetro	1	Embudo de separación de 50 mL con tapón	1
Vaso de precipitados de 150 mL	1		

VI. Reacción y Relación Estequiométrica



Reacción 1: Pseudo-Sanger	2,4-Dinitroclorobenceno	Phe / Gly	K ₂ CO ₃	Producto DNB-AA
Masa molar (g/mol)				
Masa (g)				
Volumen (mL)				
Densidad (g/mL)				
Cantidad de sustancia (mmol)				
Equivalentes químicos				
Propiedades físicas				



Reacción 2. Formación del púrpura de Ruhemann entre un aminoácido y la ninhidrina.

VII. Procedimiento.

A) Reacción pseudo-Sanger

2,4-Dinitroclorobenceno: Es nocivo por ingestión y por contacto con la piel y los ojos. Usa guantes en todo momento. En caso de contacto con la piel, lava con abundante agua y jabón; en caso de contacto con los ojos, lava con agua abundante.

HCl concentrado: Es corrosivo, manéjalo con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO_3 10%.

Prepara un baño de agua a 50 °C y coloca en él el matraz bola de fondo plano de 25 mL con barra de agitación magnética (**Figura 4**). Agrega 0.33 g de *L*-fenilalanina o 0.15 g de glicina, según te corresponda, y 1.1 g de K_2CO_3 disueltos en 5 mL de agua destilada. Agita durante 3 minutos.

A esa disolución agrega 0.4 g de 2,4-dinitroclorobenceno y 5 mL de etanol, y acopla al matraz el refrigerante de aire. Agita vigorosamente a 50 °C durante 1 hora.

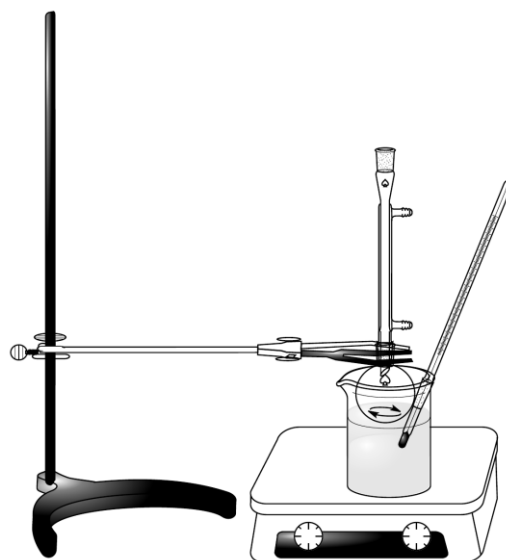


Figura 4. Sistema para la reacción pseudo-Sanger.

Deja enfriar a temperatura ambiente, diluye la mezcla con 5 mL de agua, viértela al embudo de separación de 50 mL y extrae con CH_2Cl_2 (3×10 mL). El producto deseado permanece en la fase acuosa.

Transfiere la fase acuosa al matraz Erlenmeyer de 50 mL, colócalo en baño de hielo y acidifica con HCl concentrado hasta pH 1, hasta la formación de un sólido amorfo de color amarillo.

Filtra al vacío, retira las aguas madre del matraz Kitasato y colócalas en el contenedor de residuos apropiado. Seca el sólido, pésalo y determina su punto de fusión (DNB-Phe: 185-186 °C; DNB-Gly: descompone a 195-202 °C).

B) Identificación de aminoácidos con ninhidrina

Prepara primero un blanco: agrega a un tubo de ensaye 1 mL de agua y 1 mL de disolución de ninhidrina, y caliéntalo 1 minuto en el baño María.

En cada uno de los 7 tubos restantes coloca 1 mL de una de las disoluciones de aminoácido disponibles (*L*-ácido glutámico, *L*-fenilalanina, glicina, *L*-arginina, *L*-leucina, metionina y *L*-prolina) y añade 1 mL de disolución de ninhidrina. Agita manualmente para homogenizar y espera 5 minutos a temperatura ambiente; observa si hay algún cambio.

Calienta después los tubos 1-2 minutos en baño María. Anota tus observaciones para cada aminoácido, incluyendo el color y el tiempo en que apareció, y toma fotografías.

C) Revelado de huellas dactilares

Sobre un pedazo de cartón o papel traza dos recuadros. En el recuadro A) coloca un par de huellas dactilares quitándote el guante e imprimiendo directamente la huella. En el recuadro B) frótate con un dedo sin guante la superficie de la frente o la nariz e imprime nuevamente un par de huellas.

Vuelve a colocarte los guantes, asperja la disolución de ninhidrina sobre ambos recuadros y deja secar un par de minutos. Calienta gentilmente el papel sobre la superficie caliente de la parrilla. Observa, anota y toma fotografías de ambos recuadros.

VIII. Cuestionario.

1. Reporta tu rendimiento y tu punto de fusión del derivado DNB-aminoácido. Compáralo con el valor indicado en el procedimiento y decide si tu producto está puro.
2. Organiza en una tabla los resultados de la prueba de ninhidrina para los 7 aminoácidos: color observado a temperatura ambiente, color tras calentar y tiempo de aparición. Señala cuál dio un color distinto y explícalo con base en su estructura.
3. Compara los dos recuadros de huellas que revelaste. Explica por qué las huellas de zonas grasas revelan con mayor intensidad y qué te dice eso sobre la composición del residuo dactilar.
4. Con base en el resultado que obtuviste, argumenta si la reacción procedería igual en medio ligeramente ácido y justifica tu respuesta con el mecanismo.
5. La reacción se lleva a cabo en agua con etanol como cosolvente. Explica qué función cumple cada uno y propón un disolvente alternativo, justificando tu elección.

IX. Bibliografía.

1. Sanger, F. *Biochemistry J.* **1945**, 39(5), 507-515.
2. Levy, A. L.; Chung, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 2899-2900.
3. Friesen, J. B. *J. Chem. Educ.* **2015**, 92, 487-504.
4. Girod, A.; Ramotoswki, R.; Weyermann, C. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 223(1-3), 10-24.
5. Weyermann, C.; Roux, C.; Champod, C. *J. Forensic Sci.* **2011**, 56(1), 102-108.
6. Hamilton, P. B. *Nature* **1965**, 205(4968), 284-285.

7. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica **2014**, Editorial McGraw Hill, 9ª Edición, México.
8. Klein, D. R. Organic Chemistry **2016**, Editorial John Wiley & Sons, 1ª Edición, Nueva Jersey, Estados Unidos de Norteamérica.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

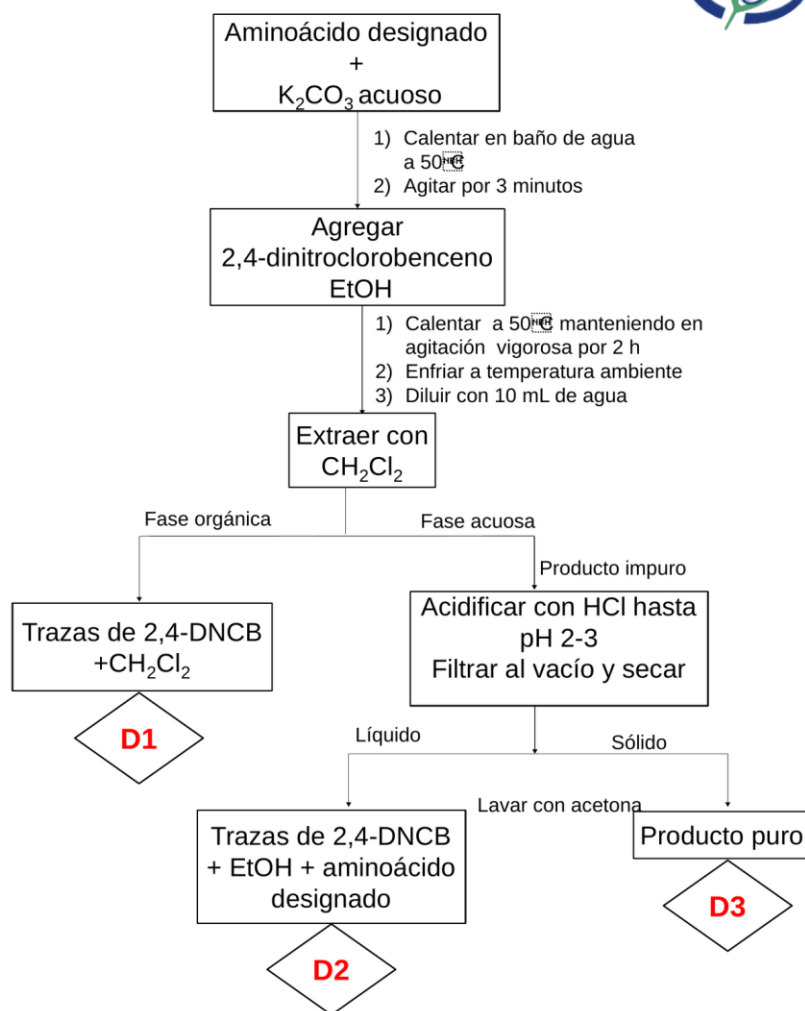
Disolución de aminoácidos al 0.5% (100 mL)

Pesar y colocar 0.5 g del aminoácido correspondiente al interior de un matraz aforado de 100 mL, adicionar 50 mL de agua destilada, agitar suavemente para completar su disolución, posteriormente aforar a 100 mL con agua destilada. Preparar estas disoluciones máximo 1 semana antes ya que son caldos nutritivos para microorganismos.

Disolución de Ninhidrina al 0.2% (100 mL)

Pesar y depositar 0.2 gramos de Ninhidrina dentro de un matraz aforado de 100 mL y agregue 60 mL de Etanol, enseguida adicione 0.5 mL de ácido acético y 4.5 mL de agua destilada, aforar a 100 mL. Agite y almacene en envase ámbar. *Nota:* use bata y guantes para la preparación de esta solución, la ninhidrina mancha la piel al contacto.

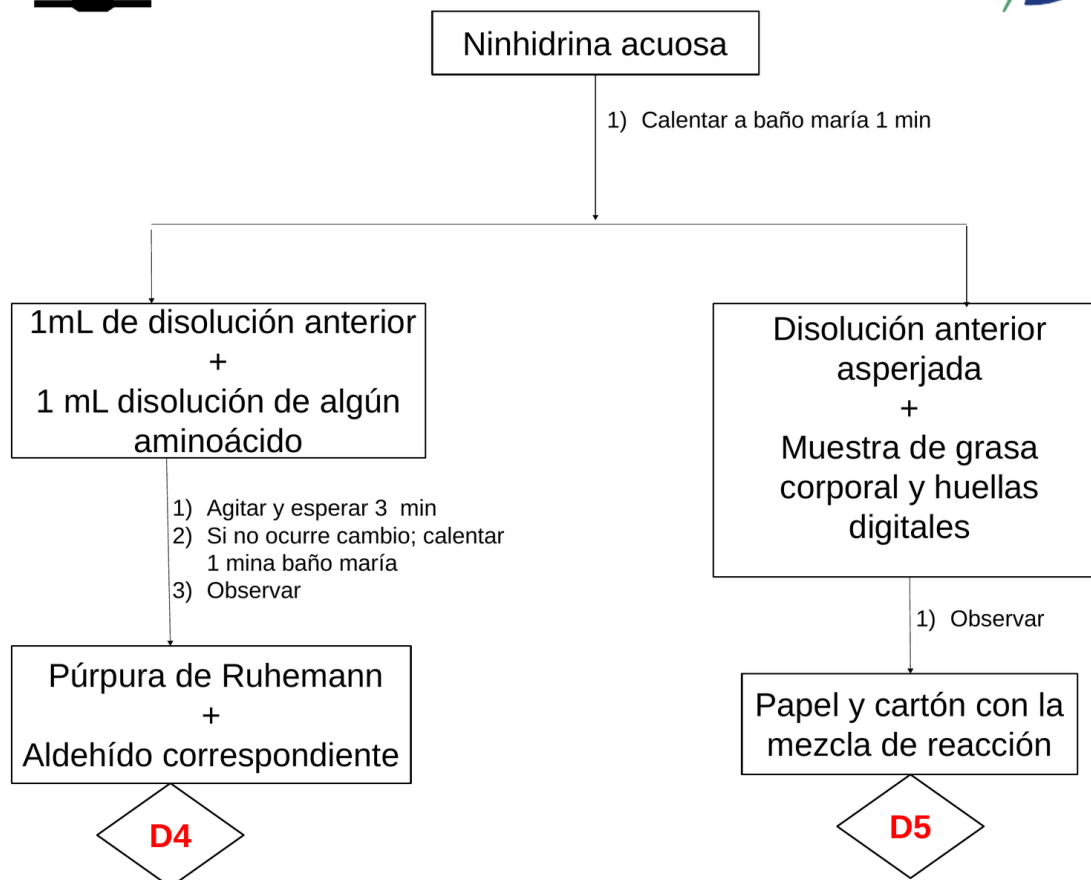
XI. Manejo de Residuos.



D1, D3 y D4: Enviar a incineración.

D2: Si el contenido de EtOH es menor a 10% adsorber sobre carbón activado, enviar el sólido a incineración y desechar neutro. Si el contenido es mayor a 10% destilar el EtOH para recuperarlo y efectuar lo antes descrito.

Esquema 12. Diagrama de flujo de la síntesis del derivado 2,4-dinitrofenil-aminoácido y su manejo de residuos.



D5: Adsorber con carbón activado y enviar a incineración, la disolución se neutraliza y se desecha.

D6: Desechar en la charola de papel filtro correspondiente para su posterior incineración.

Esquema 13. Diagrama de flujo de la identificación de aminoácidos con ninhidrina, el revelado de huellas dactilares y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 10



CARBOHIDRATOS I

ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS

I. Objetivos.

- Identificar mediante pruebas químicas sencillas diferentes tipos de carbohidratos.
- Diferenciar una pentosa de una hexosa, una aldosa de una cetosa y un disacárido de un monosacárido, empleando reacciones características.
- Analizar las diferentes reactividades de mono y disacáridos frente a las reacciones típicas de identificación, incluyendo el reconocimiento de falsos positivos.

II. Introducción.

Los carbohidratos son moléculas orgánicas constituidas por carbono, hidrógeno y oxígeno, generalmente en una proporción hidrógeno:oxígeno de 2:1, igual que en el agua; en otras palabras, presentan una fórmula empírica $C_x(H_2O)_y$. Estructuralmente se consideran polihidroxialdehídos y polihidroxicetonas.

Otro término más empleado es el de sacáridos, que se dividen en cuatro grupos principales: monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. La palabra sacárido proviene del griego *sacaron* (dulce). Los nombres de mono y disacáridos generalmente terminan con el sufijo **-osa**: el azúcar de uva es el monosacárido más distribuido en la naturaleza, la glucosa; el azúcar de caña es el disacárido sacarosa; y el azúcar de la leche de los mamíferos es el disacárido lactosa.

Los carbohidratos juegan un sinnúmero de roles en los organismos vivos: los polisacáridos sirven de almacén de energía (almidón y glucógeno) y como componentes estructurales (celulosa en vegetales y quitina en artrópodos). Los sacáridos y sus derivados participan además en el sistema inmune, la fertilización, la prevención de patógenos, el desarrollo humano y los factores de grupo sanguíneo.

Las cuatro pruebas de esta práctica explotan diferencias finas de reactividad. Barfoed y Benedict se basan en la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ , pero difieren en el pH del medio y, con ello, en su selectividad. Seliwanoff y Bial se basan en deshidrataciones catalizadas por ácido que generan furfural, los cuales condensan con un fenol para dar un producto coloreado. En todos los casos el tiempo y la temperatura son variables críticas: un calentamiento prolongado produce falsos positivos.

III. Investigación previa.

- Define qué es un azúcar reductor e identifica el carbono anomérico. Con esa definición, predice cuáles carbohidratos de esta práctica darán positiva la prueba de Benedict.

2. Barfoed y Benedict se basan en la misma reducción de Cu^{2+} a Cu^+ , pero solo una es selectiva para monosacáridos. Compara la composición y el pH de ambos reactivos y explica esa diferencia de selectividad.
3. Propón el mecanismo de la transposición de Lobry de Bruyn-van Ekenstein en medio alcalino y explica cómo permite que una cetosa dé positiva una prueba diseñada para aldosas.
4. Explica el fundamento de las pruebas de Seliwanoff y de Bial —qué intermediario se forma y con qué fenol condensa—, predice el color de cada resultado positivo y explica por qué el calentamiento prolongado genera falsos positivos.
5. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de los reactivos empleados, con atención a los que contienen HCl concentrado.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Disolución de arabinosa al 5%	2 mL	Disolución de ribosa al 5%	2 mL
Disolución de fructosa al 5%	2 mL	Disolución de sacarosa al 5%	2 mL
Disolución de galactosa al 5%	2 mL	Solución de Barfoed	15 mL
Disolución de glucosa al 5%	2 mL	Solución de Benedict	10 mL
Disolución de lactosa al 5%	2 mL	Solución de Bial	15 mL
Disolución de maltosa al 5%	2 mL	Solución de Seliwanoff	15 mL
Disolución de manosa al 5%	2 mL		

V. Material.

Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Gradilla	1	Tubos de ensaye	30
Pinzas para tubo de ensaye	2	Vaso de precipitados de 400 mL	1

VI. Registro de resultados.

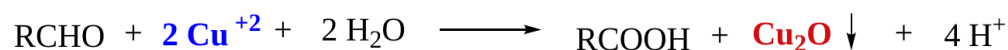
Concentra en esta tabla los resultados de las cuatro pruebas. Para cada casilla anota el resultado (positivo, negativo o falso positivo) y el tiempo en que apareció el cambio.

Carbohidrato	Barfoed	Benedict	Seliwanoff	Bial
Arabinosa				
Ribosa				
Fructosa				
Glucosa				
Galactosa				
Manosa				
Lactosa				
Maltosa				
Sacarosa				

VII. Procedimiento.

Reactivos de Bial y de Seliwanoff: Contienen ácido clorhídrico concentrado y son corrosivos. Manéjalos con guantes y lentes de seguridad. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO₃ 10%.

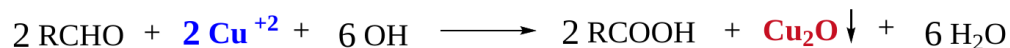
a) Prueba de Barfoed — identificación de monosacáridos



En un tubo de ensaye adiciona 0.5 mL de la disolución del azúcar correspondiente y 1.5 mL de reactivo de Barfoed, y calienta en un baño de agua en ebullición hasta que la reacción ocurra.

Observa y cuantifica el tiempo requerido para la aparición de un precipitado rojizo o de un cambio de coloración en cada tubo. Los monosacáridos reaccionan en menos de 15 minutos; los disacáridos requieren más de 15 minutos. Registra el tiempo de reacción de cada carbohidrato en la tabla de la sección VI.

b) Prueba de Benedict — azúcares reductores

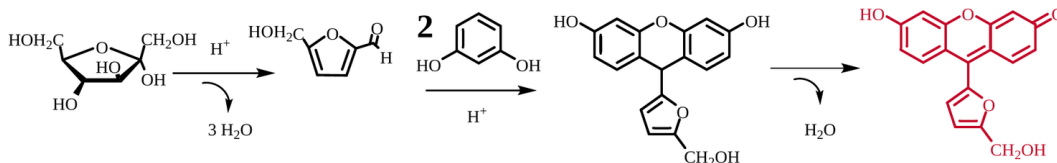


Coloca en un tubo de ensaye 1 mL de reactivo de Benedict y 3 gotas de la disolución del carbohidrato a analizar. Calienta a ebullición y deja enfriar a temperatura ambiente. Un resultado positivo se manifiesta por la aparición de un precipitado rojizo-anaranjado.

Realiza esta prueba únicamente con cinco carbohidratos: fructosa, glucosa, galactosa, lactosa y sacarosa. Cuantifica el tiempo en que reacciona cada uno.

El fundamento químico es el mismo que el de Barfoed —la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ —, pero esta prueba **no es selectiva** para monosacáridos. Anota tus resultados y prepárate para justificar esa falta de selectividad en el cuestionario.

c) Prueba de Seliwanoff — identificación de cetosas

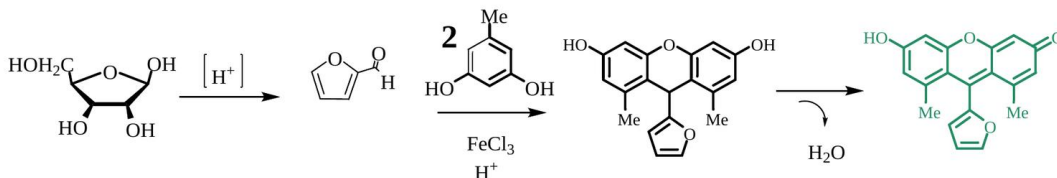


En un tubo de ensaye adiciona 0.5 mL de la disolución del azúcar correspondiente y 1.5 mL de reactivo de Seliwanoff, y calienta en un baño de agua en ebullición por un lapso máximo de 1-3 minutos. Observa.

Las cetosas reaccionan rápidamente deshidratándose para dar 5-hidroximetilfurfural, que se condensa con resorcinol para dar un compuesto aromático altamente conjugado de color rojo cereza. Un calentamiento prolongado favorece la hidrólisis y las transposiciones, y hace que otros carbohidratos den falsos positivos.

Estructura tus datos indicando en una columna los resultados positivos y en otra los falsos positivos y negativos, con los tiempos de reacción correspondientes.

d) Prueba de Bial — identificación de pentosas



En un tubo de ensaye coloca 0.1 mL (5 gotas con pipeta Pasteur) de la disolución del azúcar correspondiente, adiciona 1.5 mL del reactivo de Bial y coloca el tubo en un baño de agua en ebullición por un lapso de 2-3 minutos. Observa.

Las pentosas dan una coloración azul-verde o verde olivo. Si se sobrecalientan, el resto de los carbohidratos en presencia del reactivo de Bial forman compuestos coloridos que constituyen falsos positivos.

VIII. Cuestionario.

1. Con tu tabla de resultados, clasifica los nueve carbohidratos en monosacáridos y disacáridos usando únicamente los tiempos que tú mediste en la prueba de Barfoed. Señala si algún resultado no coincidió con lo esperado y propón por qué.
2. Reporta qué carbohidratos dieron positiva la prueba de Benedict en tu sesión y explica, con base en tus propios resultados, por qué esta prueba **no** es selectiva para monosacáridos.
3. La sacarosa dio negativas las pruebas de Barfoed y Benedict. Explicalo a partir de su estructura, señalando qué carbono está comprometido.
4. Indica qué carbohidratos te dieron falsos positivos en Seliwanoff o en Bial y en qué tiempo aparecieron. Con esos datos, propón un tiempo de calentamiento óptimo para cada prueba.
5. Investiga en qué consiste el test de Molisch y para qué carbohidratos se emplea. Compáralo con las cuatro pruebas que realizaste en cuanto a selectividad.

IX. Bibliografía.

1. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.
2. Herdman, C.; Diop, L.; Dickman, M. *J. Chem. Educ.* **2013**, 90, 115-117.
3. Rajan, Katuch. Analytical Techniques in Biochemistry and Molecular Biology **2011**, 1ª Edición, Springer.
4. Sánchez-Viesca, F.; Gómez, R. *Modern Chemistry* **2018**, 6(1), 1-5.
5. Taylor, M. E.; Drickamer, K. Introduction to Glycobiology **2006**, 2ª Edición, Oxford University Press, Londres.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Disolución de carbohidratos al 5% (1 L)

Pesar 50 g del carbohidrato en cuestión y disolverlos en 800 mL de agua destilada, dentro de un matraz aforado, aforar a 1000 mL con agua destilada. Agitar suavemente para completar su disolución. Estas disoluciones se preparan máximo 1 semana antes de utilizar y mantenerlas en refrigeración para evitar crecimiento microbiano.

Disolución de Barfoed (1 L)

Pesar 65 g de Acetato cúprico ($\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), adicionarlo a 500 mL de Agua destilada al interior de un matraz aforado de 1 L, agitar suavemente, posteriormente medir 9 mL de Ácido acético glacial y verterlo a la disolución anteriormente preparada, finalmente aforar a

1 L la solución con agua destilada. Se puede almacenar en envase ámbar sin problema hasta 12 meses.

Disolución de Bial (1 L)

Medir 450 mL de agua destilada y colocarlos en un vaso de precipitado de 1 L el cual debe estar dentro de un baño de hielo, una vez que esté ya fría el agua, pesar 3.0 gramos de Orcinol y diluirlos en ésta, adicione también 3.0 mL de disolución de FeCl_3 al 10%, enseguida verter con SUMO CUIDADO 500 mL de Ácido Clorhídrico concentrado (HCl) y con agitación suave. TODO ESTO DENTRO DE UN BAÑO DE HIELO. La solución desprende mucho calor. Una vez terminada la adición del HCl concentrado y haberse enfriado la disolución verter sobre un matraz aforado de 1 L y aforar la disolución con agua destilada a 1000 mL. Almacenar en envase ámbar por no más de 2 meses. Emplee bata, guantes y lentes de seguridad.

Disolución de Seliwanoff (1 L)

Medir 600 mL de agua destilada y colocarlos en un vaso de precipitados de 1 L que debe estar dentro de un baño de hielo, una vez que esté ya fría el agua, pesar 1.0 gramos de Resorcinol y agregarla al agua fría, enseguida verter con SUMO CUIDADO 330 mL de Ácido Clorhídrico concentrado (HCl) con agitación suave. TODO ESTO DENTRO DE UN BAÑO DE HIELO. La solución desprende mucho calor. Una vez terminada la adición del HCl concentrado y haberse enfriado la disolución verter sobre un matraz aforado de 1 L y aforar la disolución con agua destilada a 1000 mL. Almacenar en envase ámbar por no más de 2 meses. Use bata, guantes y lentes de seguridad.

Disolución de FeCl_3 al 10% (100 mL)

Pesar 10 g de FeCl_3 y diluir en 80 mL de agua destilada al interior de un matraz aforado de 100 mL, una vez disuelto el FeCl_3 , aforar con agua destilada a 100 mL, agite suavemente hasta completar su disolución. Almacenar en un frasco ámbar sin problema de vida media.

Disolución de Benedict (1 L)

Pesar 173 g de citrato de sodio y 100 g de carbonato de sodio anhidro. Disolver ambos sólidos en 700 mL de agua destilada y agite gentilmente hasta obtener la máxima disolución posible, si es necesario caliente ligeramente la disolución para favorecer la solubilización de los sólidos. Si existen partículas sin disolver filtre la disolución. Aparte pesar 17.3 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y disolverlo en 100 mL de agua destilada. Mezcle ambas disoluciones agitando constantemente y adicione agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 1000 mL.

XI. Manejo de Residuos.



Prueba de Barfoed

Solución al 5% de
carbohidrato problema +
Reactivo de Barfoed

Calentar en baño
maría a ebullición

Sacarosa: en caso de
prueba negativa
agregar HCl

Mezcla de
reacción +
ác. aldólicos +
 Cu_2O

D1

Prueba de Benedict

3 gotas de solución de
carbohidrato problema +
Reactivo de Benedict

Calentar a
ebullición y
dejar enfriar

Mezcla de
reacción + Cu_2O

D1

Prueba de Seliwanoff

Solución al 5% de
carbohidrato problema +
Reactivo de Seliwanoff

Calentar en baño
maría hasta ebullición
durante 3 minutos

Mezcla de
reacción + ác.
clorhídrico

D2

Prueba de Bial

5 gotas de solución de
carbohidrato problema al
5% +
Reactivo de Bial

Calentar en baño
maría hasta ebullición
durante 3 minutos

Mezcla de
reacción + ác.
clorhídrico

D2

Esquema 14. Diagrama de flujo de las reacciones de identificación de carbohidratos y su manejo de residuos.

PRÁCTICA 11



CARBOHIDRATOS II

HIDRÓLISIS QUÍMICA DEL ALMIDÓN

I. Objetivos.

- Reconocer la estructura química del almidón como biopolímero de carbohidratos.
- Realizar la hidrólisis química del almidón y seguir su avance en el tiempo mediante pruebas de identificación.
- Identificar los factores que favorecen la hidrólisis y comprobar si el producto obtenido es un azúcar reductor.

II. Introducción.

El almidón es un polímero de glucosa producido por los vegetales como su principal polisacárido de reserva. A diferencia de la celulosa, otro polisacárido presente en la fibra dietaria, el almidón es fácilmente digerido por los humanos y representa una de las principales fuentes energéticas de nuestra especie: el pan, las papas, el arroz y la pasta son ejemplos de ello.

El almidón es de hecho una mezcla de dos polisacáridos distintos: amilosa y amilopectina. Ambos son homopolímeros de D-glucopiranososa, pero la amilosa es un polímero lineal unido mediante enlaces α -(1,4') glucosídicos, mientras que la amilopectina es un polímero ramificado que incluye además enlaces α -(1,6'). A consecuencia de su linealidad, la amilosa se dispersa fácilmente en agua fría y se solubiliza en agua caliente. La proporción amilosa:amilopectina varía según la fuente botánica, pero los almidones típicos contienen alrededor de 25% de amilosa.

Los polisacáridos son por mucho los biopolímeros más abundantes de la Tierra, y el almidón domina entre ellos. Es uno de los materiales con mayor potencial en tecnología de polímeros: puede convertirse con facilidad en productos de alto valor agregado como etanol, acetona y ácidos orgánicos.

La hidrólisis ácida del almidón hasta glucosa mediante ácidos inorgánicos debe finalizarse con una neutralización. Las altas temperaturas y el pH bajo aceleran la velocidad de hidrólisis y, al mismo tiempo, proveen condiciones de esterilidad que evitan el crecimiento de microorganismos fermentadores. El seguimiento de esta reacción se hace con dos pruebas complementarias: la de Lugol, que detecta la presencia de cadenas largas de amilosa, y la de Benedict, que detecta la aparición de extremos reductores.

III. Investigación previa.

1. Dibuja los enlaces α -(1,4') y α -(1,6'), indica cuál distingue a la amilosa de la amilopectina y predice cuál se hidroliza con mayor facilidad en medio ácido.
2. Explica el fundamento de la prueba de Lugol: qué interacción produce el color, por qué desaparece conforme avanza la hidrólisis y por qué la disolución debe estar fría. Predice el color en t_0 y en t_{50} .
3. Explica por qué el almidón intacto da negativa la prueba de Benedict y por qué las alícuotas para Benedict deben neutralizarse antes de agregar el reactivo, mientras que las de Lugol no.
4. Investiga qué son las dextrinas, cómo se nombran según su longitud de cadena y en qué punto de la hidrólisis aparecen.
5. Revisa las propiedades físicas, químicas y toxicológicas (CRETIB) de los reactivos empleados en esta práctica.

IV. Reactivos.

Reactivos	Cantidad	Reactivos	Cantidad
Almidón soluble	0.6 g	Ácido clorhídrico concentrado	1 mL
Solución de Benedict	15 mL	Solución Iodo-KI (Lugol)	2 mL
Disolución de NaOH 5%	10 mL	Disolución de fenolftaleína	1 mL
Agua destilada	80 mL		

V. Material.

Además del kit, solicita por papeleta el siguiente material.

Material	Cant.	Material	Cant.
Matraz Erlenmeyer de 125 mL	1	Gradilla	1
Tubos de ensaye	16	Pinzas para tubo de ensaye	1
Pipeta graduada de 1 mL	2	Probeta graduada de 25 mL	1
Vaso de precipitados de 250 mL	1		

VI. Registro de resultados.

Registra en esta tabla el color observado en cada tubo. Toma fotografías de la serie completa para adjuntarlas a tu informe.

Tiempo	Lugol	Benedict
t_0		
t_{10}		
t_{20}		
t_{30}		
t_{40}		
t_{50}		

VII. Procedimiento.

HCl concentrado: Es corrosivo, manéjalo con cuidado. En caso de contacto, lava con abundante agua durante 3-5 minutos y enjuaga con disolución de NaHCO_3 10%.

Coloca en el matraz Erlenmeyer de 125 mL, con barra de agitación magnética, 0.6 g de almidón soluble y adiciona 60 mL de agua a temperatura ambiente. Calienta la disolución hasta ebullición con agitación: el almidón debe quedar completamente disuelto, formando una disolución opalescente.

Identifica 12 tubos de ensaye para las dos pruebas, rotulados t_0 , t_{10} , t_{20} , t_{30} , t_{40} y t_{50} minutos.

Una vez solubilizado el almidón, toma dos muestras de 1 mL con la pipeta graduada y colócalas en los tubos rotulados t_0 , uno para cada prueba. Estos tubos corresponden al tiempo cero de la hidrólisis.

Retira el resto de la disolución del calentamiento, deja enfriar 1 minuto y agrega lenta y cuidadosamente 1 mL de HCl concentrado. Coloca el matraz nuevamente a ebullición durante 50 minutos y observa qué ocurre casi de inmediato. Toma muestras de 1.0 mL cada 10 minutos para cada una de las pruebas y colócalas en los tubos t_{10} a t_{50} correspondientes.

Toma una tercera muestra de 1 mL en el tiempo t_{10} , que servirá como **blanco de neutralización**: agrégale 1 gota de disolución de fenolftaleína y cuantifica cuántas gotas de NaOH al 5% se requieren para neutralizar 1 mL de la disolución. Ese número de gotas es el que deberás añadir a cada tubo de Benedict a partir de t_{10} .

Neutraliza con NaOH al 5% todos los tubos de la prueba de Benedict de t_{10} a t_{50} antes de añadir el reactivo. Coloca agua en el vaso de precipitados de 250 mL y llévala a ebullición. Una vez neutralizados, añade 1 mL de disolución de Benedict a cada tubo (t_0 a t_{50}), colócalos en el baño de agua en ebullición durante 3-5 minutos y observa.

Coloca todos los tubos de la prueba de Lugol (t_0 a t_{50}) en un baño de hielo. Cuando todos estén fríos, agrega 2 gotas de solución de Lugol a cada uno y observa.

Nota 1: la prueba de Lugol requiere que la disolución de almidón esté fría, ya que el complejo almidón-yodo es soluble en caliente. Prepara además un control positivo: en un tubo de ensaye añade 2 mL de agua destilada y 2 gotas de Lugol.

Cuando tengas todos los tubos listos, adiciona 1 mL de agua destilada extra a cada uno para diluirlos; así las tonalidades serán más fáciles de observar. Analiza, fotografía y reporta tus observaciones en la tabla de la sección VI.

VIII. Cuestionario.

1. Describe cómo evolucionó el color de tus tubos de Lugol de t_0 a t_{50} e indica en qué tiempo dejaste de observar el color característico. Explica qué le ocurrió a la cadena de amilosa en ese punto.
2. Indica a partir de qué tiempo tu prueba de Benedict resultó positiva. Compara ese tiempo con el que registraste en la pregunta anterior y explica por qué ambas pruebas cambian en momentos distintos.
3. Reporta cuántas gotas de NaOH al 5% necesitó tu blanco de neutralización. Explica qué habría ocurrido con la prueba de Benedict si no hubieras neutralizado los tubos.
4. Explica por qué se realizan las pruebas de Lugol y de Benedict antes de iniciar la hidrólisis y qué información aporta ese tiempo cero.
5. Con tus resultados, estima si 50 minutos fueron suficientes para hidrolizar completamente el almidón y justifica tu respuesta. Propón una modificación concreta al procedimiento si consideras que no lo fueron. Explica también por qué fue necesario mantener la mezcla en ebullición durante toda la hidrólisis.
6. Investiga cómo se llama química y correctamente la enzima que lleva a cabo la hidrólisis enzimática del almidón y en qué se diferencia su acción de la hidrólisis ácida que realizaste.

IX. Bibliografía.

1. Ebnesajjad, S. *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics* **2013**, 1ª Edición, Elsevier, 129-133.
2. Craver, C. D.; Carraher, C. E. *Applied Polymer Science: 21st Century* **2000**, 1ª Edición, Elsevier, 303-305.
3. Ávila, G.; García, C. *et al.* Química Orgánica. Experimentos con un Enfoque Ecológico **2009**, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, 2ª Edición, México.

X. Apéndice: Preparación de reactivos

Disolución de Fenolftaleína/Indicador (100 mL)

Pesar 0.1 gramos de fenolftaleína y disuélvalo en una mezcla de 50 mL Etanol y 50 mL agua destilada, agite vigorosamente para completar su disolución. Almacene dentro de envase ámbar.

Disolución de Iodo-Ioduro (Lugol) (1 L)

Pesar 200 g de yoduro de potasio (KI) y disolverlos en 500 mL de agua destilada, a esta disolución agregar 100 g de Iodo (I_2) y agitar suavemente, agregar agua destilada hasta completar 1 L de volumen final. Nota: si no solubiliza totalmente calentar gentilmente la disolución hasta su disolución total. Una vez preparada la disolución, se debe **diluir 1:10**. Almacenar dentro de envase ámbar.

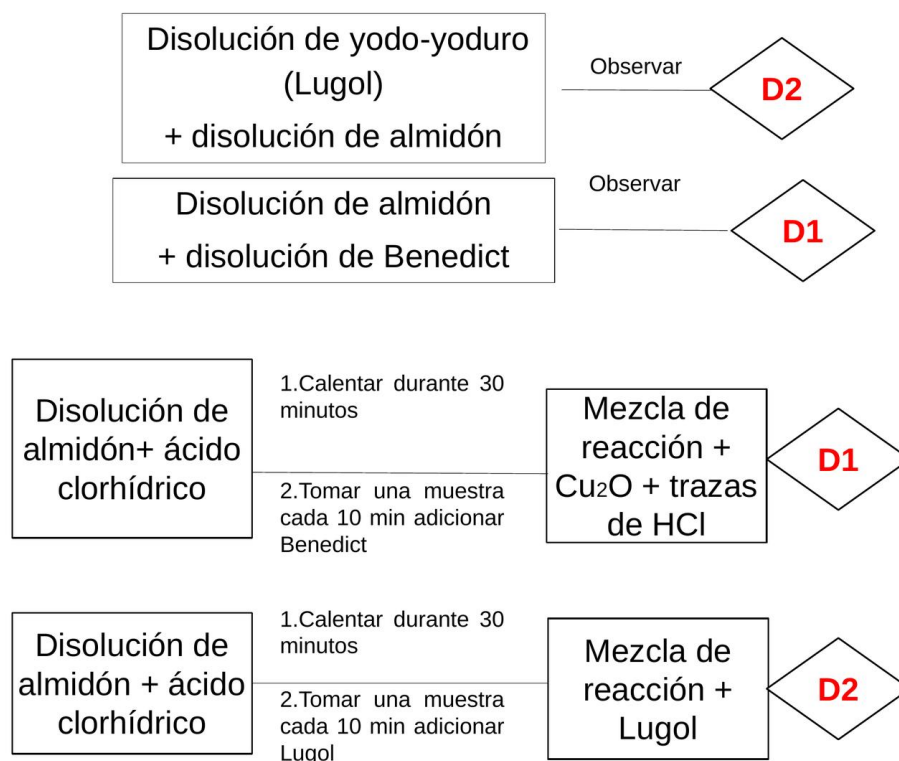
Disolución de Hidróxido de sodio al 5% (1 L)

Pesar 50 g de hidróxido de sodio (NaOH) y verter dentro de un vaso de precipitados que contenga 500 mL de agua destilada y se encuentre dentro de un baño de hielo, agite suavemente la disolución, lleve la disolución hasta un volumen final de 1000 mL (1 L). La disolución desprende calor.

Disolución de Benedict (1 L)

Pesar 173 g de citrato de sodio y 100 g de carbonato de sodio anhidro. Disolver ambos sólidos en 700 mL de agua destilada y agite gentilmente hasta obtener la máxima disolución posible, si es necesario caliente ligeramente la disolución para favorecer la solubilización de los sólidos. Si existen partículas sin disolver filtre la disolución. Aparte pesar 17.3 g de sulfato cúprico ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) y disolverlo en 100 mL de agua destilada. Mezcle ambas disoluciones agitando constantemente y adicione agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 1000 mL.

XI. Manejo de Residuos.



D1: Llevar la disolución a pH= 10 y filtrar el complejo de cobre para enviar a confinamiento. La disolución restante desechar neutra.

D2: Reducir con disolución de bisulfito de sodio (NaHSO₃) hasta la desaparición del color. Confirmar el pH neutro y desechar al drenaje.

Esquema 15. Diagrama de flujo de la hidrólisis química del almidón y su manejo de residuos.