

Serie Didáctica Nro. 18

E-Book ISBN 978-987-1676-31-6.

Fecha de catalogación: 19/12/2014.

# Facultad de Ciencias Forestales

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO



CÁTEDRA DE  
QUIMICA ORGANICA Y BIOLOGICA

## GUÍA DE TRABAJOS PRACTICOS



**Adriana G. CORZO**

Agosto de 2005

**Diseño de tapa Fabián Zubrinic**

**Diseño y Diagramación:  
Luciana Barchini  
Alejandra Cavallotti**

**Autora:  
Ing. Adriana G. Corzo  
Jefe de trabajos prácticos de química orgánica y biológica  
Facultad de Ciencias Forestales  
Universidad Nacional de Santiago del Estero  
Av. Belgrano Sur 1.912  
4200 Santiago del Estero  
Argentina  
e-mail: [acorzo@unse.edu.ar](mailto:acorzo@unse.edu.ar)**

**Cátedra de Química Orgánica y Biológica**

# **Guías de Trabajos Prácticos**

## **INTEGRANTES DE LA CÁTEDRA**

Ing. Rodolfo Ledesma

Ing. Luis Manfredi

Ing. Adriana Corzo

Alumna Graciela Hoyos

Ahora debemos ver el misterio de la existencia  
con nuevos ojos, pues como hijos orgullosos  
de la ciencia y la razón, hemos quedado  
huérfanos de sabiduría.

**Deepak Chopra**

Con frecuencia los estudiantes de Química Orgánica se muestran abrumados por el número de compuestos, nombres, reactivos y mecanismos que confrontan, y se preguntan si podrán ser capaces de aprender todo ello en un solo semestre.

La mayor parte de la química orgánica consiste en unos cuantos principios fundamentales y un gran número de extensiones y aplicaciones en esos principios. El estudiante requerirá, por lo tanto, de poca memorización si se interioriza de cada concepto principal y desarrolla flexibilidad para aplicarlo.

Al ser la Química una ciencia experimental, considero de fundamental importancia para el alumno que pueda trasladar al laboratorio, los conceptos teóricos impartidos en el aula, donde podrá "visualizar" los mismos a través de las diversas prácticas presentadas por el docente. En las mencionadas clases prácticas se incentivará al estudiante a aplicar y desarrollar su capacidad de observación, de relacionar lo que está haciendo con la teoría y con asignaturas correlativas, de elaborar conclusiones y de establecer postulados en base a los resultados obtenidos.

En el presente libro se presentan algunas pautas sobre normas de seguridad y las precauciones que se deben tener en un laboratorio de química. Se incluye también el significado de los símbolos presentes en los rótulos y etiquetas de los frascos de los reactivos, para su manejo correcto y seguro.

A continuación se presentan las "Guías de Trabajos Prácticos de Laboratorio" de la asignatura. Cada una de las cuales cuenta con una introducción teórica que presenta al estudiante los contenidos teóricos que va a necesitar para encarar el trabajo de laboratorio, la parte experimental propiamente dicha y finalmente una serie de actividades o cuestionarios que deberá responder a fin de evaluar si logró comprender, de manera completa y profunda, las experiencias realizadas.

Las técnicas experimentales consisten en métodos de obtención de algunos compuestos orgánicos y en la determinación de las propiedades físicas y/o químicas de los mismos, induciendo al alumno a relacionar dichas propiedades entre las distintas familias de compuestos.

En cuanto a las prácticas de la parte biológica de la asignatura, se introduce al alumno en el manejo de la cromatografía, una de las técnicas más utilizadas en el análisis de compuestos, tanto orgánicos como biológicos. También se apunta a verificar la influencia de diversos factores, tanto físicos como químicos, sobre la estructura y, por lo tanto, sobre la actividad de dos de los compuestos biológicos de mayor importancia para la célula viva como son las proteínas y enzimas.

Incluidos en la parte biológica, se presentan además, dos prácticos que permiten al estudiante verificar el efecto que producen las variaciones de las condiciones ambientales en que se llevan a cabo dos procesos metabólicos fundamentales para la vida de la célula vegetal. La fotosíntesis y la respiración.

Finalmente se incluyen tres teórico – prácticos con el objeto de incentivar en el alumno el espíritu de investigación bibliográfica y selección de contenidos, habilidades que considero de suma importancia para su formación.

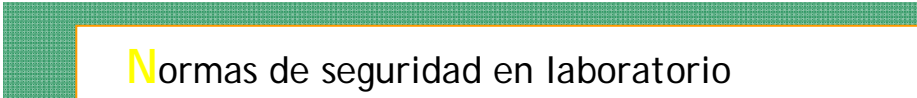


PARTE EXPERIMENTAL	36
ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO	37
<b>Trabajo de Laboratorio N° 6: Extracción y caracterización de hidratos de Carbono en "mistol"</b>	<b>38</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	38
PARTE EXPERIMENTAL	38
<b>Teórico Práctico N° 1: Cromatografía</b>	<b>39</b>
<b>Práctico de Laboratorio N° 7: Cromatografía de aminoácidos en papel</b>	<b>40</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	40
Definición	40
Interacciones	40
Clasificación	40
Cromatografía de reparto	41
Cromatografía en papel	41
PARTE EXPERIMENTAL	41
Preparación del cromatograma	42
<b>Práctico de Laboratorio N° 8: Proteínas</b>	<b>43</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	43
PARTE EXPERIMENTAL	45
ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO	46
GRÁFICOS	46
<b>Práctico de Laboratorio N° 9: Enzimas</b>	<b>48</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	48
Definición	48
Estructura	48
Características	48
Mecanismo de acción enzimático	49
Gráficos de la ecuación de Michaelis- Menten	49
Factores que afectan la actividad catalítica de las enzimas	49
PARTE EXPERIMENTAL	
50	
Catalasa	50
Deshidrogenada	51
Polifenol-oxidasa	51
ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO	52
<b>Teórico Práctico N° 2: Integración de conceptos teóricos sobre Compuestos Biológicos</b>	<b>53</b>
Aminoácidos	53
Proteínas	54
Enzimas	55
Ácidos nucleicos	55

<b>Práctico de laboratorio N° 10: Fotosíntesis</b>	<b>57</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	57
PARTE EXPERIMENTAL	57
Efecto de la intensidad luminosa	58
Efecto de la concertación de CO <sub>2</sub>	58
Efecto de la temperatura	58
ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO	58
<b>Práctico de Laboratorio N° 11: Respiración</b>	<b>59</b>
OBJETIVOS	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
59	
PARTE EXPERIMENTAL	60
ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO	60
<b>Práctico de Laboratorio N° 12: Propiedades químicas del almidón</b>	<b>61</b>
OBJETIVOS	61
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	61
PARTE EXPERIMENTAL	61
<b>Teórico Práctico N° 3: Integración de conceptos teóricos sobre aspectos metabólicos</b>	<b>62</b>
ATP y bioenergética celular	62
Respiración	62
Fotosíntesis	62
Metabolismo de lípidos	63
Metabolismo de proteínas y ciclo del n2	63
<b>Bibliografía</b>	<b>64</b>



<b>Figura 1:</b> Equipo para la obtención de etileno	<b>19</b>
<b>Figura 2:</b> Equipo para la obtención de acetileno	<b>20</b>
<b>Figura 3:</b> Equipo para la obtención de etanal	<b>26</b>
<b>Figura 4</b> Equipo para la obtención de ácido benzoico	<b>31</b>
<b>Figura 5:</b> Esquema del Trabajo Práctico	<b>42</b>
<b>Figura 6:</b> Estructura terciaria de lámina plegada de una proteína fibrosa. (Proteína de la seda)	<b>46</b>
<b>Figura 7:</b> Estructura cuaternaria de proteína tetramérica (hemoglobina)	<b>46</b>
<b>Figura 8:</b> Estructura terciaria de $\alpha$ -hélice de proteína fibrosa	<b>47</b>
a) modelo espacial con todos los enlaces	
b) esqueleto de la $\alpha$ -hélice	
<b>Figura 9:</b> Estructura terciaria de una proteína globular	<b>47</b>
a) Representación en forma esquemática de las fuerzas estabilizadoras.	
b) Representación espacial de una proteína globular (enzima de la levadura).	
<b>Figura 10:</b> Efecto de la [E] y de [S] sobre la actividad enzimática	<b>49</b>
<b>Figura 11:</b> Variación de la actividad enzimática en función de la temperatura	<b>50</b>
<b>Figura 12:</b> Dispositivo para actividad de catalasa	<b>51</b>
<b>Figura 13:</b> Dispositivo para observar efecto de factores ambientales sobre la fotosíntesis	<b>57</b>
<b>Figura 14:</b> Dispositivo para observar la actividad respiratoria de semillas en germinación	<b>60</b>



## Normas de seguridad en laboratorio

## Normas de seguridad

El trabajo en el laboratorio implica el peligro potencial de accidentes, debido a la naturaleza de las sustancias y elementos que se utilizan. Además, existe la posibilidad de errores humanos al realizar la experimentación. Entre los accidentes más comunes podemos mencionar: incendios, explosiones, cortes, quemaduras, intoxicaciones, etc.

Existen ciertas reglas que deben tenerse en cuenta al realizar trabajos en el laboratorio; su cumplimiento disminuye los riesgos, y muchas veces, logran evitar accidentes.

La primera regla que todo aquel que trabaja en el laboratorio debe cumplir es la siguiente: **el lugar de trabajo debe estar en perfecto orden**. Recuerde que el orden es fundamental para evitar accidentes. Mantenga el área de trabajo ordenada, sin libros, abrigos, bolsas y cosas innecesarias o inútiles. Mantenga las mesas y vitrinas extractoras siempre limpias. Se tienen que limpiar inmediatamente todos los productos químicos derramados. Limpie siempre perfectamente el material y equipos después de su uso.

Otras normas básicas son las siguientes:

- Siga todas las indicaciones que el instructor o responsable del laboratorio le indique.
- Esté siempre equipado con delantal y anteojos de protección. No utilice lentes de contacto, ya que estos no pueden quitarse con la rapidez necesaria si ocurrieran proyecciones de líquidos a los ojos. Por otro lado, las lentes blandas pueden absorber los vapores orgánicos.
- Nunca debe comer, fumar o beber en el laboratorio; tampoco apoye comida sobre la mesada.
- **Estudie cada experiencia antes de cada práctico** y, si es posible, diseñe un esquema de la técnica que utilizará. De esta manera ahorrará tiempo, podrá consultar específicamente lo que dude, y así evitará errores y accidentes innecesarios.
- En caso de accidente, por pequeño que parezca, comuníquelo inmediatamente al instructor o ayudante de laboratorio.
- Trabaje con la mayor ventilación posible.
- Si tiene el pelo largo, debe recogerse.
- En el armado de equipos, asegúrese de usar soportes que tengan un buen apoyo, y controle el funcionamiento de los mismos.
- Nunca caliente un sistema cerrado.
- Si calienta un tubo de ensayo, no mire hacia el interior del mismo; tampoco apunte la boca del tubo hacia un compañero.
- Manipule las sustancias corrosivas con máximo cuidado.
- No fuerce los tapones o uniones de látex en los tubos de vidrio o cualquier material quebradizo. Utilice detergente o glicerina que facilitan la tarea de quitarlos.
- No use nunca equipo de vidrio agrietado o roto. Deposite el material de vidrio roto en un contenedor para vidrio, no en una papelera.
- En el laboratorio nunca debe trabajar solo, para poder recibir ayuda en caso de accidentes.

- Trabaje sin prisas, pensando cada momento en lo que está haciendo. Nunca corra en el laboratorio.

Dada la gran toxicidad de muchas sustancias con las que trabajará en el laboratorio debe tener en cuenta las siguientes precauciones.

**Evite ingerir, inhalar o tocar compuestos orgánicos** (muchos de estos son rápidamente absorbidos por la piel y resultan tan tóxicos como si fueran inhalados). Por esto se recomienda:

- No arroje residuos sólidos insolubles en la pileta.
- No mezcle sustancias orgánicas que puedan generar compuestos tóxicos.
- No mueva los reactivos del área designada para su manejo y medida. Debe transportar las botellas o frascos de reactivos tomándolos por el fondo, nunca de la tapa
- No pruebe ninguna sustancia (sólida o en solución) a menos que sea específicamente indicado por el instructor.
- Si debe oler una sustancia, hágalo a una distancia de 12 a 20 cm. De la nariz, mueva lentamente la mano hacia la nariz y aspire con precaución. Si no detecta ningún olor. Mueva un poco el recipiente que lo contiene, y huela más fuertemente. Nunca inhale.
- Evite derramar productos químicos sobre la mesada. Si sucediera esto, avise al instructor o ayudante de laboratorio; pero sobre todo, trabaje con precaución para evitar ese accidente.

**Evite contaminar el aire:**

- Coloque las tapas en los frascos inmediatamente después de usarlos. No sólo reducirá la evaporación, sino que también evitara la contaminación de los reactivos.
- No traslade las sustancias químicas del área designada para su manejo y medida.
- Use baño de hielo cuando destile líquidos con punto de ebullición inferiores a 40° C.
- Evite una condensación incompleta. Lo conseguirá asegurándose que el agua fluya por el refrigerante cuando destile o caliente a reflujo.

**Precauciones para el uso de ácidos y bases fuertes:**

- Use las cantidades especificadas en la técnica correspondiente.
- Para preparar mezclas de ácido con agua y alcohol, agregue el ácido al agua o alcohol lentamente, agitando y enfriando. Si se trata de una mezcla de dos ácidos, añada en porciones, y con sumo cuidado, el más concentrado sobre el menos concentrado, agitando y enfriando. Recuerde: "No hay que darle de beber al ácido".
- Proteja los ojos cuando trabaje con sustancias corrosivas.
- Lave con grandes cantidades de agua la piel si la misma hubiera tomado contacto con sustancias corrosivas. Luego, siga el tratamiento correspondiente para cada caso.

### **Peligros del fuego:**

- No acerque nunca recipientes que contengan líquidos volátiles a una llama.
- No encienda ninguna llama en el laboratorio si detecta olor a gas.
- No vuelque sodio en las piletas. La reacción es violenta y puede provocar un incendio.
- Si arden pequeñas cantidades de disolvente, cubra con arena. Para grandes cantidades, use extinguidores.

### **Primeros auxilios**

#### **Quemaduras**

Trate las quemaduras como se indica a continuación y luego llame por atención especializada.

- Con álcalis:  
En la piel: después de lavar la zona afectada con agua, trate con solución de ácido acético al 5%.  
En los ojos: después de lavar repetidas veces con agua, trate con solución de ácido bórico al 1%.
- Con ácido:  
En la piel: después de lavar con agua, trate con solución de bicarbonato de sodio al 5%.  
En los ojos: después de lavar con agua, trate con solución de bórax al 5%.
- Con bromo:  
Trate inmediatamente con glicerina.
- Con fuego, agua hervida o superficies metálicas calientes.  
Trate inmediatamente con hielo durante 30 minutos.

#### **Envenenamiento por ingestión:**

- Ácidos: suministre 100 a 200 g de magnesia diluida en leche o huevo batido con agua (vomitivos).
- Álcalis: trate con limonada, vinagre en leche (vomitivos).
- Cianuros: inmediatamente suministre 1 g de tiosulfato de sodio por vía venosa. Inhale oxígeno (antídoto)

#### **Etiquetas de solventes y reactivos**

No debe utilizar un reactivo sin haber leído previamente toda la información contenida en su etiqueta; preste especial atención a los símbolos de peligrosidad y a las recomendaciones para su correcto manejo. Se detalla a continuación la clasificación de las sustancias químicas según la ONU (Organización de las Naciones Unidas).

## Clasificación de sustancias químicas según la ONU



**Explosivos:** Son sustancias sólidas o líquidas, o mezclas de ellas, que por sí mismas son capaces de reaccionar químicamente produciendo gases a tales temperaturas, presiones y velocidades que pueden ocasionar graves daños en los alrededores.

**Gases Inflamables:** Son sustancias que pueden incendiarse fácilmente en el aire cuando se mezclan en proporciones inferiores o iguales al 13% en volumen. Ej.: propano, aerosoles.

**Gases no Inflamables:** Son sustancias no tóxicas; pueden ser asfixiantes u oxidantes. Ej.: nitrógeno.

**Líquidos inflamables:** Son líquidos o mezclas de ellos, que pueden contener sólidos en suspensión o solución, y que liberan vapores inflamables por debajo de 35° C (punto de inflamación). Por lo general son sustancias que se transportan a temperaturas superiores a su punto de inflamación, o que siendo explosivas se estabilizan diluyéndolas o suspendiéndolas en agua o en otro líquido. Ej.: gasolina, benceno y nitroglicerina en alcohol.

**Sólidos inflamables:** Son aquellos que bajo condiciones de transporte son combustibles o pueden contribuir al fuego por fricción. Ej.: fósforos.

**Sólidos espontáneamente combustibles:** Son aquellos que se calientan espontáneamente al contacto con el aire bajo condiciones normales. Ej.: Bisulfito de sodio.

**Sólidos que emiten gases inflamables al contacto con el agua:** Son aquellos que reaccionan violentamente con el agua o que emiten gases que se pueden inflamar en cantidades peligrosas cuando entran en contacto con ellas. Ej.: metales alcalinos como sodio, potasio.

**Sustancias oxidantes:** Generalmente contiene oxígeno y causan la combustión o contribuyen a ella. Ej: agua oxigenada (peróxido de hidrógeno), nitrato de potasio.



**Peróxidos orgánicos:** Sustancia de naturaleza orgánica que contienen estructuras bivalentes  $-O-O-$ , que generalmente son inestables y pueden favorecer una descomposición explosiva, quemarse rápidamente, ser sensibles al impacto o la fricción, o ser altamente reactivas con otras sustancias. Ej.: peróxido de benzoílo, peróxido de metiletilcetona.

**Sustancias tóxicas:** Son líquidos o sólidos que pueden ocasionar daños graves a la salud o la muerte al ser ingeridos, inhalados, o al entrar en contacto con la piel. Ej.: cianuros, sales de metales pesados.

**Materiales infecciosos:** Son aquellos microorganismos que se reconocen como patógenos (bacterias, Hongos, parásitos, virus e incluso híbridos o mutantes) que pueden ocasionar a los animales o a las personas una enfermedad por infección. Ej.: ántrax, HIV, E. Coli.

**Sustancias Corrosivas:** Corresponde a cualquier sustancia que por reacción química puede causar daños severos o destrucción a toda superficie con la que entra en contacto incluyendo la piel, los tejidos, metales, textiles, etc. Causa quemaduras graves, y se aplica tanto a líquidos o sólidos que tocan las superficies, como a gases y vapores que en cantidad suficiente provocan fuertes irritaciones en las mucosas. Ej.: ácidos y cáusticos.

**Sustancias nocivas:** Son aquellas que por inhalación, ingestión o absorción cutánea pueden provocar daños agudos o crónicos a la salud. Posibles sensibilizantes por inhalación. Ej.: eugenol, estireno, xileno, tolueno.

**Sustancias irritantes:** Sin ser corrosivas pueden producir inflamaciones en la piel o las mucosas, por contacto breve, prolongado o repetido. Peligro de sensibilización por contacto. Ej.: etilhexilacrilato, carbonato de sodio, ácido clorhídrico 0,1N.



## Trabajos prácticos de laboratorio



**Práctico de Laboratorio N° 1**Tema: **Hidrocarburos no saturados****OBJETIVOS**

- Interpretar las propiedades físicas y químicas de los alquenos y alquinos en base a su estructura molecular y electrónica.
- Diferenciar los hidrocarburos saturados de los no saturados.
- Obtener etileno a partir de etanol, acetileno a partir de  $C_2$  y preparar con este último, acetiluros de Ag y de Cu.

**FUNDAMENTOS TEORICOS****A ALQUENOS**

Se caracterizan por la presencia de una doble ligadura, y su nomenclatura se indica con la terminación "eno". Su formula general es  $C_n H_{2n}$  y el primer termino de la serie es el "etileno" (nombre común), cuya formula es  $CH_2 = CH_2$ .

En sus **reacciones químicas** los alquenos se comportan como **bases de Lewis** (dadores de  $e^-$ ), debido a la presencia de **par de  $e^- \pi$** , los cuales originan el segundo enlace característico de esta familia de compuestos. Este par de  $e^-$  restringe también la rotación alrededor del doble enlace, esto a su vez, permite que los alquenos existan en dos formas isómeras (cis-trans) denominados "isómeros geométricos" y le confiere **mayor reactividad** a estos hidrocarburos.

**Propiedades Físicas**

Con respecto a los **estados físicos** de los alquenos, el etileno es un gas incoloro con un sabor ligeramente dulce, poco soluble en agua, pero mas soluble en alcohol y éter. EL propileno y los tres butilenos son igualmente gases en condiciones normales y las olefinas de cinco ó mas átomos de carbono son liquidas.

**Los puntos de ebullición** de los alcanos y alquenos del mismo número de carbonos difieren muy poco y se eleva con el aumento de átomos de carbono en la cadena.

Los alquenos son isómeros de conformación de los cicloalcanos, pero difieren en sus propiedades químicas, pues el cambio de una cadena abierta a una cerrada modifica las propiedades de los compuestos.

**Propiedades Químicas**

Los alquenos presentan dos importantes tipos de reacciones: de oxidación y de adición.

**- Reacciones de oxidación**

- 1- Combustión: los alquenos queman en el aire con una llama mas luminosa que la de los alcanos debido al mayor porcentaje de carbono de su molécula ( a causa de la no saturación)



- 2- Reacción de Baeyer para la no saturación: Una solución diluida de  $KMnO_4$  oxida a las olefinas, primero a glicoles, los que pueden continuar su oxidación. Esta reacción no la dan los alcanos, por lo tanto constituye un ensayo útil para *diferenciar ambos tipos de hidrocarburos*.
- 3- Ozonólisis: Las olefinas se combinan con el ozono para dar, luego de una hidrólisis, y reducción intermedias, moléculas de aldehídos y cetonas. Esta reacción permite *localizar el doble enlace*.
- 4- Epoxidación: los alquenos reaccionan con ácidos peroxicarboxílicos para dar 1,2 epóxidos.

**- Reacciones de adición**

1- Adición de Hidrógeno: adicionan H<sub>2</sub> en presencia de Níquel ó Pt para dar *parafinas*.

2- Adición de Halógenos (X<sub>2</sub>): de esta reacción se obtienen alcanos dihalogenados.

También adicionan ácido sulfúrico y ácido hipocloroso. Lo interesante de estas reacciones es que siguen la regla de Markownikoff que dice: el grupo negativo de un ácido se une al átomo de carbono que tiene el menor número de átomos de hidrógeno; cabe destacar que en la adición de HBr a una olefina en presencia de luz ultravioleta, oxígeno ó peróxido, esta regla se invierte por el *efecto peróxido*.

**B ALQUINOS**

El acetileno, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> que da su nombre a la familia de hidrocarburos caracterizados por una triple ligadura, fue descubierto por Edmundo Davy, al agregar agua a una masa negra obtenida calentando fuertemente una mezcla de cremor tártaro y carbón de leña. Esta masa probablemente contenía carburo de potasio el cual liberaba acetileno al reaccionar con el agua. Ciertos carburos metálicos producen acetileno por hidrólisis y actualmente se usa el carburo de calcio en gran escala con éste propósito.

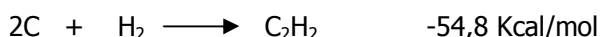
Los hidrocarburos de la serie acetilénica tiene como carácter distintivo un triple enlace covalente entre dos átomos de carbono. De ahí que su fórmula gral. Sea C<sub>n</sub> H<sub>2n-2</sub>

**Propiedades físicas:**

Los miembros inferiores de la serie del acetileno son gases a temperatura ambiente, y a medida que aumenten el número de carbonos se tornan líquidos y elevan su punto de ebullición.

Con respecto al acetileno, es un gas incoloro, más liviano que el aire. Al estado puro no tiene olor y si lo tuviera es etéreo. Sin embargo, al ser preparado en el laboratorio presenta impurezas que le confieren un olor desagradable, aliáceo. Las mencionadas impurezas son compuestos sulfurados y fosforados, tales como SH<sub>2</sub> y fosfamina.

El **etino** es soluble en agua, alcohol y benceno, y es muy soluble en acetona. Licua con facilidad a 48 atm. Y 1°C (ó a 25 atm. Y a 25°C). Al estado líquido es móvil, incoloro y **muy inestable**, razón por la cual es altamente explosivo (pero puede almacenarse sin peligro disuelto en acetona, a 12 atm de presión en tubos de acero con tierras de infusorios). La razón de este comportamiento es el **alto contenido de energía** de la molécula de acetileno, como lo demuestra el alto valor negativo de su calor de formación (el acetileno es una combinación endotérmica).



Al estado gaseoso forma mezclas detonantes con aire y el oxígeno. Arde en el aire con llama fuliginosa (acompañada con humos negros) reacción que se produce con desprendimiento de calor.

Con el oxígeno produce la llama oxiacetilénica, que alcanza una temperatura de 2700 a 3000°C. Razón por la cual se lo utiliza para fundir hierro y ó acero en el soplete oxiacetilénico (soldadura autógena).

**Propiedades Químicas**

Los alquinos dan dos tipos principales de reacciones químicas:

Reacciones de adición

Estos hidrocarburos son muy similares a los alquenos en cuanto a su comportamiento químico, por lo cual adicionan la mayoría de los reactivos químicos que se adicionaban a aquellos, la diferencia radica en que un mol de alquino reacciona con el doble de reactivo que un mol de alqueno.

Formación de acetiluros

Los hidrógenos del acetileno tiene propiedades ligeramente ácidas, sin llegar a enrojecer al tornasol. Esto significa que pueden llegar a producir *sales*, denominadas acetiluros, con metales alcalinos, alcalino-térreos y pesados. Los acetiluros de metales alcalinos y alcalino-terreos son estables al calor, pero se descomponen con agua con desprendimiento de acetileno. Los de cobre y plata son altamente explosivos al estado seco, detonando violentamente por choque (por ello se lo usa en industria de los explosivos).

Esta propiedad de producir acetiluros se emplea para el reconocimiento de alquinos con triple enlace terminal ya que no la darán los otros alquinos y alquenos (ni mucho menos los alcanos).

## PARTE EXPERIMENTAL

### A | Obtención de etileno: Deshidratación de Alcoholes

#### Ecuación de la Reacción



#### Reactivos necesarios:

- Alcohol etílico de 96°.
- Ácido sulfúrico conc.
- Soluc. Diluida de  $\text{KMnO}_4$ .
- Soluc. De  $\text{NaOH}$ .

#### Materiales de laboratorio:

- Balón de 250 cc.
- Ampolla de decantación.
- Tela de amianto, mechero.
- Soporte y pinzas de sostén.
- Tubos de ensayo y gradilla.

#### Técnica:

Armar un aparato como el indicado en la figura N°1.

Colocar 20 ml de ácido sulfúrico en la ampolla de decantación y 10 ml de alcohol en el balón.

Dejar caer lentamente el ácido y evitar el aumento de la temperatura, enfriando.

Se deja enfriar y se añade un poco de arena para evitar la formación de espuma. A continuación, calentar con cuidado y paulatinamente el balón. Este último debe tener además adosado un termómetro para el control de la temperatura, la cual debe permanecer alrededor de  $180^\circ\text{C}$ .

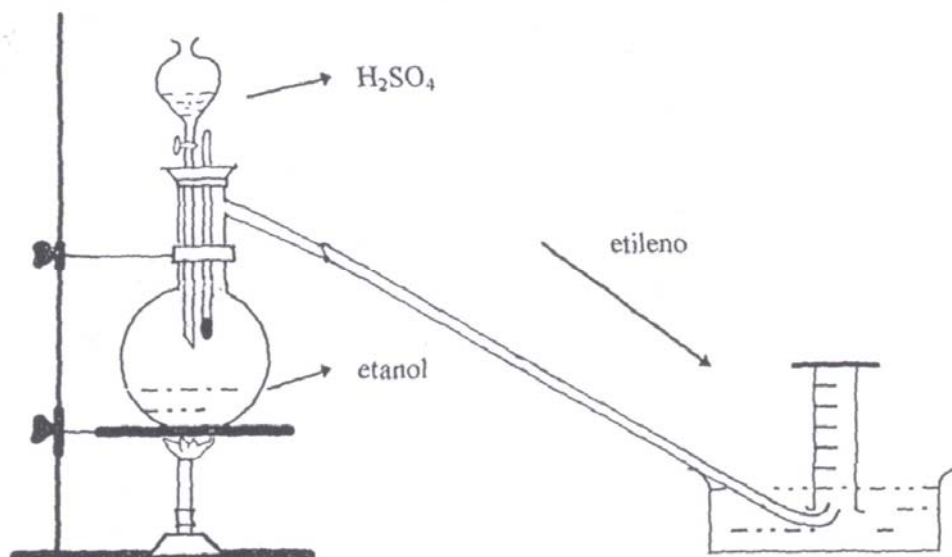


Figura 1: Equipo para la obtención de etileno

- a. Reacción de Baeyer: preparar tres tubos de ensayo conteniendo, c/u de ellos una solución, muy diluida de  $\text{KMnO}_4$ .  
 Tubo N°1: alcalinizar con unas gotas de solución de  $\text{NaOH}$ .  
 Tubo N°2: acidular con unas gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  
 Tubo N°3: dejarlo neutro para control.  
 Cuando comience a producirse etileno, hacerlo burbujear en los tres tubos y observar lo que sucede en cada uno de ellos.

- b. Inflamabilidad: aproximar una llama a la boca de un tubo que contenga etileno. Se puede mantener la llama sobre la boca del tubo añadiéndole continuamente agua mientras arde.

Observar si la llama es luminosa ó no.

## B Obtención de acetileno

### Reactivos necesarios:

- Carburo de Calcio.
- Agua destilada.
- Agua acidulada con HCl ó  $H_2SO_4$ .

### Materiales de laboratorio

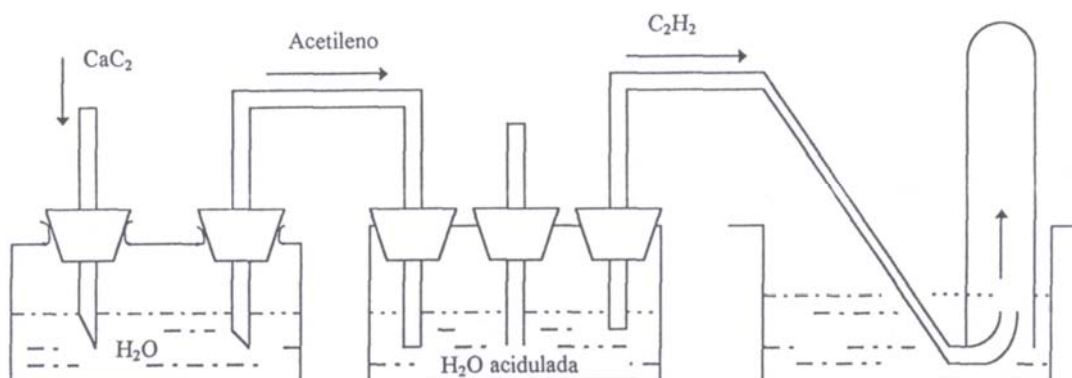
- Frasco de dos bocas de 500 ml.
- Frasco lavador.
- Tubo de seguridad: 2
- Tubos acodados: 2
- Cámara hidroneumática.

### Técnica:

En un frasco de dos bocas de 500 ml de capacidad se colocan unos 250ml de agua destilada. La boca del frasco lleva un tapón atravesado por un tubo de vidrio lo mas ancho posible, el cual debe llegar hasta cerca del fondo del frasco. La otra boca comunica con un frasco lavador que contiene agua acidulada con HCl ó  $H_2SO_4$ . Este frasco posee, además, un tubo de seguridad y un tubo lateral que conduce el gas a la cuba hidroneumática.

Por el tubo de vidrio conectado a 1 primer frasco, se agrega periódicamente pedacitos muy pequeños de carburo de calcio, los cuales reaccionarán vivamente con el agua del frasco desprendiendo el acetileno y con desarrollo de calor. A causa de esto debe operarse con precaución.

El esquema del aparato descrito es el siguiente:



### Acidez del $C_2H_2$

- a. Reacción con  $CuSO_4$  amoniacal: se hace burbujear el acetileno obtenido en dos ml de solución de sulfato de cobre amoniacal, contenido en un tubo de ensayo. Se observa la formación de ppdo.rojo de acetiluro curposo. Filtrar y calentar, "con mucho cuidado", este precipitado.
- b. Reacción con  $AgNO_3$  amoniacal: hacer burbujear el acetileno obtenido en 3 ml de solución de nitrato de plata amoniacal, hasta observar la formación de un precipitado blanco de acetiluro de plata. Separar este precipitado por filtración y calentarlo cuidadosamente, en el papel de filtro, sobre una tela de amianto.

## ACTIVIDADES INDIVIDUALES PARA EL ALUMNO

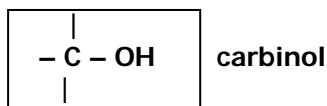
Elabore un cuadro comparativo que ponga de manifiesto las similitudes y las diferencias en las propiedades químicas de los alcanos, de los alquenos y de los alquinos.

**Práctico de Laboratorio N°2**Tema: **Alcoholes y fenoles****OBJETIVOS**

- Verificar el comportamiento físico y químico de los alcoholes y fenoles, justificándolo en base a la estructura molecular de los mismos.
- Identificar y diferenciar los alcoholes 1º, 2º y 3º.
- Identificar y diferenciar los alcoholes alifáticos y aromáticos de los fenoles.

**FUNDAMENTOS TEORICOS****A ALCOHOLES**

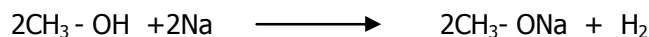
Estos pueden ser representados por la formula gral.  $C_nH_{2n+2}O$  ó, simbólicamente, como R-OH. El grupo funcional de los mismos es:



Tienen **carácter tanto ácido como básico**, lo cual explica en parte su tendencia a asociarse a través de **puentes de hidrógeno**, razón por la cual los alcoholes hierven a temperaturas superiores a la de los alcanos equivalentes.

Las moléculas de alcoholes se asocian también con moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno. Esto permite que los términos inferiores sean completamente miscibles con ella.

Carácter ácido de los alcoholes: Reaccionan con los **metales activos**, como el Na, con desprendimiento de H<sub>2</sub>. En este tipo de reacciones, en las que solamente se elimina el H<sub>2</sub> del OH dejando al O el par de e<sup>-</sup> a través del cual estaban unidos originalmente, la velocidad de la reacción varía de la siguiente manera: **R-OH 1º > 2º > 3º** (los alcoholes 1º reaccionan mas rápido que los secundarios y estos mas que los alcoholes terciarios).



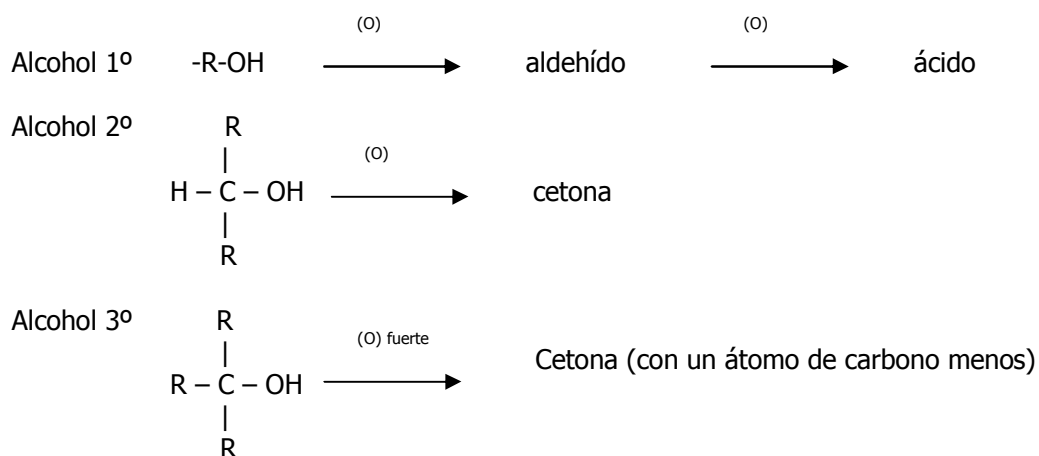
Carácter básico de los alcoholes: los R-OH aceptan un protón de los ácidos minerales más fuertes para formar iones de alquil-oxonio, similares al H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (ion hidronio). Según las condiciones de la reacción, especialmente la temperatura, la proteólisis puede ir seguida de alguna de las siguientes reacciones:

- a. Deshidratación total, produciendo un alqueno.
- b. Deshidratación parcial, produciendo un éter
- c. Desplazamiento de la molécula de agua del ion alquil-oxonio por un anión, para dar, por ejemplo, un haluro de alquilo, un nitrato de alquilo, un sulfato de ácido, etc.

En este tipo de reacciones la velocidad de las mismas varía de la siguiente forma:

**R-OH 3º > 2º > 1º.**

Oxidación de los alcoholes: los 1º y 2º son reductores moderados y son oxidados por los oxidantes habituales. La estructura de los alcoholes 3º hace muy difícil su oxidación, para lo cual se deben dar condiciones muy enérgicas.



## B FENOLES

Estos pueden clasificarse en mono, di y polifenoles, de acuerdo al número de grupos OH unidos al anillo aromático. El término que posee un solo OH es el más típico, es un sólido incoloro que funde a los 41°C y hierve a los 82°C. Es poco soluble en agua a temperatura ambiente, pero su solubilidad aumenta con la temperatura hasta serlo en todas proporciones a 63,5°C. El fenol es ligeramente ácido y se disocia en ion fenóxido e hidrógeno.

DIFERENCIAS	
ALCOHOLES	FENOLES
Son neutros	Son ácidos y disuelven álcalis
Oxidán a aldehídos y cetonas	Oxidán produciendo complejos coloreados
Reaccionan con halogenuros de ácido (HX) dando halogenuros de alquilo	No reaccionan con (HX)
Con FeCl <sub>3</sub> no dan reacciones coloreadas	Con cloruro férrico dan reacciones coloreadas

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reactivos necesarios:

- Alcohol n-butílico
- Alcohol ter-butílico
- Alcohol sec-butílico
- Fenol
- Resorcina
- Ácido salicílico
- Solución de NaOH al 5%
- Na Metálico
- Reactivo de Lucas
- Solución de KMnO<sub>4</sub> al 3%
- Mezcla sulfocrómica
- Solución de FeCl<sub>3</sub> al 1%
- Reactivo de Tollens

### Materiales de laboratorio

- Gradilla con 4 tubos de ensayo
- Pipeta de 5 y 10 ml.
- Vaso de precipitado para baño maría
- Mechero, trípode y tela de amianto
- Pinza de madera y espátula metálica

### Técnica:

- a- Solubilidad en agua y en soluciones alcalinas.

Colocar separadamente en 3 tubos de ensayo alrededor de 10 gotas de c/u de las siguientes sustancias: alcohol n-butílico, alcohol ter-butílico y fenol. (*Evite el contacto del fenol con la piel, pues produce quemaduras muy molestas!*)

Agregar 5 ml. de agua a cada tubo mezcle y observe la solubilidad en frío. A continuación coloque todos los tubos en un baño maría y caliente hasta 65°C. Ensaye con una gota de c/u de las muestras sobre papel tornasol.

Repetir la experiencia usando, en vez de agua, una solución de NaOH al 5%.

b- Los alcoholes como ácidos: reacción con Na metálico.

Colocar en 3 tubos de ensayo diferentes, 3 ml. de los siguientes alcoholes: butílico, sec-butílico y ter-butílico. A cada tubo agregar un trozo pequeño de Na metálico y observar la reacción hasta que todo el Na se halla disuelto. Si es necesario agregue más alcohol para destruir el exceso de Na. (*¡nunca coloque Na metálico directamente en agua!*).

c- Los alcoholes como base: reacción con el reactivo de Lucas.

En cada uno de 3 tubos de ensayo coloque 1 ml de reactivo de Lucas. Agregue 4-5 gotas de los alcoholes a ser ensayados, mezcle bien y controle el tiempo necesario para que la reacción dé comienzo. Luego de 5 minutos caliente aquellos tubos en los que no se observó ninguna reacción.

d- Oxidación de los R-OH

1- con  $\text{KMnO}_4$  a diferentes pH: se coloca en un tubo de ensayo 5 ml. de una mezcla formada por 5 ml. de alcohol metílico y 15 ml. de agua y se la alcaliniza con una gota de una solución al 10% de NaOH. Se coloca igual cantidad de la mezcla alcohol-agua en otros 2 tubos de ensayo acidulando 1 de ellos con una gota de solución al 10% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dejando neutro el 3º. A cada tubo se le añade 2 gotas de una solución de  $\text{KMnO}_4$  al 3% y se deja en reposo durante 2 minutos. Entonces, si es necesario, se calienta para que la reacción se produzca. Repetir todo con un R-OH 2º y uno 3º.

2- con  $\text{K}_2\text{CrO}_7/\text{H}_2\text{SO}_4$ : en un tubo de ensayo se colocan 10 ml. de la solución oxidante (dicromato de potasio en agua y en ácido sulfúrico) y se le adicionan 2 ml. de R-OH n-butílico. El tubo se agita y se observa si se produce alguna elevación de la temperatura ó cambio de color. El ensayo se repite en otros tubos con 2 ml. de alcoholes sec y ter-butílico respectivamente.

e- Reacciones del fenol y otros compuestos fenólicos

1- ensayo del cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ): preparar unos ml. de soluciones de fenol, resorcina y ácido salicílico, disolviendo unos cristales de cada uno de ellos en 5 ml. de agua. Agregar a cada tubo unas gotas de solución de  $\text{FeCl}_3$  al 1%. Ensaye la misma reacción con alcohol butílico y ter-butílico. Anote e interprete los resultados.

2- Poder reductor del fenol: disolver 0,2 gr. De fenol en 10 ml. de agua y ensayar su poder reductor con el reactivo de Tollens.

### ACTIVIDADES INDIVIDUALES PARA EL ALUMNO

- 1- ¿A qué se deben las diferentes solubilidades observadas con los reactivos empleados y las condiciones en que se realizó la experiencia?
- 2- Escriba la ecuación química que representa la reacción de los alcoholes con el Na metálico y explique las diferentes velocidades observadas para la misma, en función de la estructura molecular y electrónica de cada uno de ellos.
- 3- Escriba las ecuaciones para la reacción de cada tipo de alcohol con el reactivo de Lucas y explique las diferencias de velocidades que se manifiestan.
- 4- Plantee las ecuaciones químicas para la oxidación de cada tipo de alcohol.
- 5- ¿A qué se debe las coloraciones producidas por los fenoles en el cloruro férrico?
- 6- Elabore un cuadro comparativo con los resultados obtenidos en todas las reacciones efectuadas.

**Trabajo Práctico N° 3**

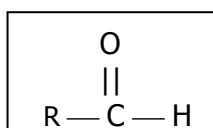
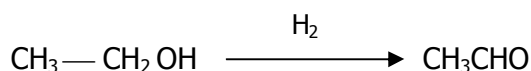
Tema: Aldehídos y Cetonas.  
Preparación de etanal a partir de etanol

**OBJETIVOS**

- Obtener etanal a partir de etanol, interpretando la reacción involucrada en la transformación.
- Realizar e interpretar algunas reacciones de diferenciación de aldehídos y cetonas.

**FUNDAMENTOS TEÓRICOS****ALDEHÍDOS**

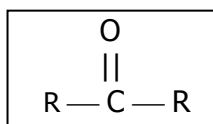
Son compuestos que resultan de la deshidrogenación u oxidación suave de los alcoholes primarios. El término *aldehído* proviene de *alcohol dehidrogenatus*, o sea que proviene de un alcohol primario que ha perdido una molécula de H<sub>2</sub>.



Fórmula gral. de aldehídos

**CETONAS**

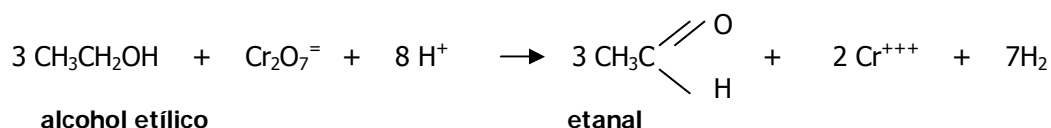
Son compuestos que se forman por la oxidación de un alcohol secundario, dicha reacción se realiza con oxidantes fuertes a diferencia de la de los aldehídos.



Fórmula gral. de cetonas

**A Métodos de preparación: Oxidación de alcoholes.**

Uno de los métodos más directos de obtención de un aldehído es la oxidación de un alcohol primario. Los alcoholes terciarios son resistentes a la acción de soluciones diluidas de de agentes oxidantes. El agente mas usado en el laboratorio es una solución de dicromato de sodio y ácido sulfúrico. Es necesario evitar un exceso de agente oxidante, dado que el aldehído se sigue oxidando con facilidad hasta ácido. Afortunadamente los aldehídos de bajo peso molecular tienen también bajo punto de ebullición y se pueden eliminar tan rápidamente como se van formando. Sin embargo la producción de ácido no puede ser evitada totalmente. La ecuación que representa esta reacción es:





## B Propiedades químicas

Los **aldehídos** y **cetonas** son compuestos de una **gran reactividad química**, la cual está determinada por la presencia en ambos del siguiente grupo funcional:



Presentan tres tipos de reacciones:

- Adición: con y sin pérdida de una molécula de agua.
- Sustitución: del H de los aldehídos por un átomo de Cl.
- Condensación: polimerización, aldolización y crotonización.

Entre ellas, y a los fines del práctico, fijaremos nuestra atención en algunas reacciones de adición de oxígeno ó **reacciones de oxidación**, de una suma importancia para la diferenciación de los aldehídos y las cetonas, las cuales se basan en el uso de ciertos reactivos muy específicos. Ellas son las reacciones de **Fehling, Tollens y Benedict** (\*).

La acción de estos reactivos se basa en la facilidad de oxidación del grupo carbonilo de los aldehídos, por encontrarse estructuralmente más expuestos a la acción de estos **oxidantes suaves**, los que **se reducen** una vez concretada la reacción. Por esta razón se dice que, a través de estos reactivos, se verifica el **poder reductor de los aldehídos**. Las **cetonas**, como es de esperarse, no dan estas reacciones, pues al encontrarse su grupo carbonilo rodeado de dos radicales alquilo, su oxidación necesita condiciones enérgicas.

Además realizaremos otro tipo de reacción de adición, la de Shiff.

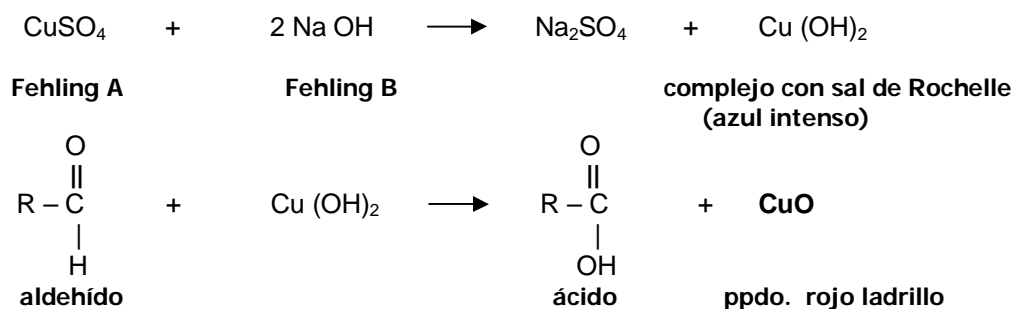
(\*)

Reactivo de Fehling: está compuesto por dos soluciones

- Fehling A: solución de sulfato cúprico en agua,
- Fehling B: solución de NaOH y tartrato doble de sodio y potasio (sal de Rochelle)

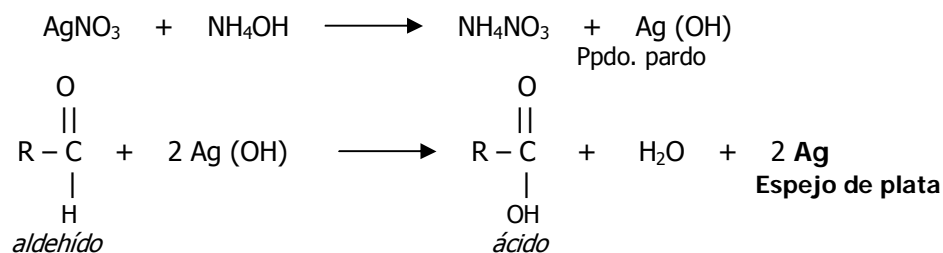
Cuando se mezclan cantidades iguales de estas dos soluciones se forma un complejo soluble de intenso *color azul* de tartrato de cobre, que es considerado frecuentemente como una solución de óxido de cobre II.

Al poner en contacto esta mezcla con un aldehído y sometiéndolos al calor por unos minutos, el reactivo se reduce produciendo un ppdo. rojo ladrillo de óxido cuproso, y el *aldehído se oxida a ácido*. Estas reacciones se pueden visualizar en las siguientes ecuaciones:



Reactivo de Tollens: Este reactivo consiste en una solución de Ag NO<sub>3</sub> a la cual se le ha agregado NH<sub>3</sub> hasta la desaparición del ppdo. pardo formado. Solución *incolora*.

Cuando se agregan unas gotas de este reactivo a cualquier aldehído y se calienta la mezcla hasta ebullición, la solución se ennegrece y la plata se deposita en las paredes del tubo formando un espejo de plata. Las ecuaciones correspondientes a esta reacción son:



**Reactivo de Benedict:** Es semejante al de Fehling pero contiene *citrato de sodio*, en lugar de sal de Rochelle, y carbonato de sodio en lugar de hidróxido de sodio.

**Reactivo de Schiff:** Es una solución de *fucsina básica* (colorante rojo violeta) que ha sido *decolorada* por una corriente de  $\text{SO}_2$  (dióxido de azufre). Cuando se la pone en contacto con un aldehído la fucsina recobra su color original, debido a la capacidad de aquellos de adicionar  $\text{HSO}_2$ . Esta reacción no es exclusiva de los aldehídos. Algunas cetonas la dan con menor intensidad.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales de laboratorio:

- Balón de destilación de 1 lt.
- Ampolla de decantación
- Refrigerante a bolas
- Matraz y recipiente adecuado para baño de agua

### Reactivos:

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. .... 12 ml.
- Etanol..... 50 ml.
- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ..... 15 gr.
- Agua destilada..... 70 ml.

\* Preparación de la mezcla sulfocrómica:

Disolver 15 gr. de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en 70 ml. de agua, poco a poco, con agitación. Una vez disuelto todo el dicromato y con la solución enfriada, añadir con cuidado 12 ml. de ácido sulfúrico concentrado enfriando en baño de agua si es necesario.

### Técnica:

- *Obtención de etanal:*

Se prepara un dispositivo como el de la figura siguiente:

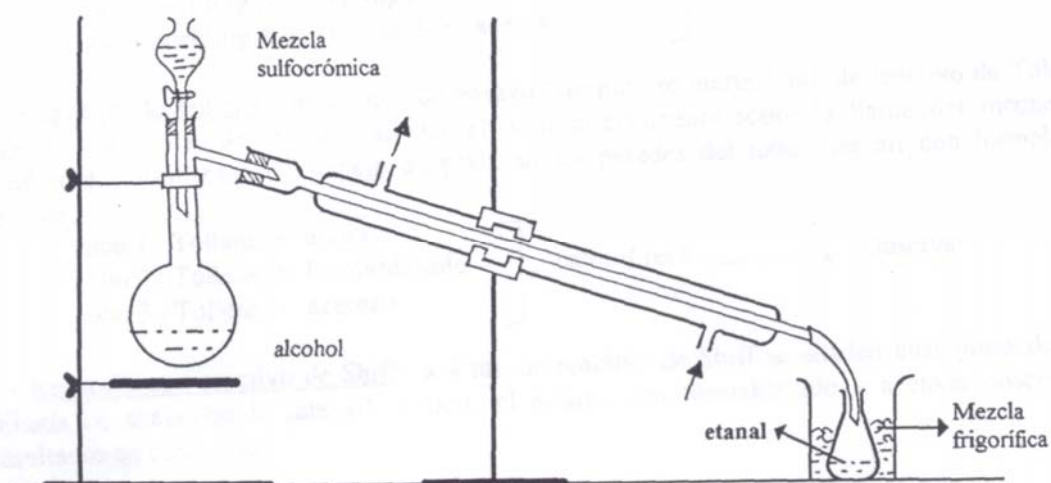


Figura 3: Equipo para la obtención de etanal

El balón se tapa con un buen corcho que debe dar paso a la ampolla de decantación y su tubo de desprendimiento se comunica con el refrigerante. Este conduce a un tubo biselado (que contiene en su parte central una bolita para evitar las reabsorciones) que desemboca en un matraz que se encuentra sumergido en una mezcla frigorífica (hielo, sal y agua).

Se colocan 50 ml. de alcohol en el balón, se lo tapa y se le adosa la ampolla de decantación conteniendo 50 ml. de mezcla sulfocrómica. Se dispone el refrigerante en marcha tranquila, y se rodea el matraz que recibirá el etanal con el baño de hielo.

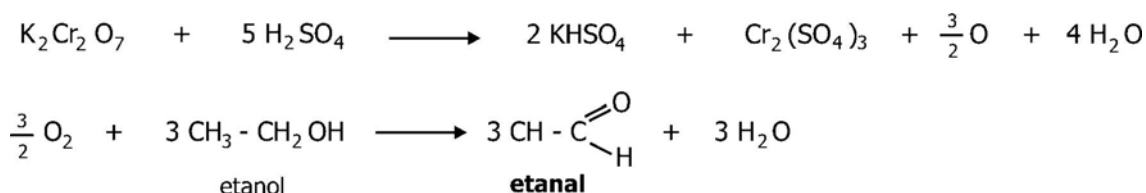
El balón debe estar sumergido en un baño de agua a temperatura ambiente.

Se deja caer gota a gota la mezcla sulfocrómica en el balón. La reacción es espontánea y exotérmica. Al cabo de unos minutos, se observa el cambio de color rojo naranja del dicromato, al verde por formación de sulfato crómico. Si luego de agregada toda la mezcla sulfocrómica se debilita la reacción, se puede calentar con precaución el baño de agua del balón.

Conviene recordar que el refrigerante debe tener una marcha tranquila y que la temperatura del mismo debe ser inferior a 25 ó 30°C, porque estando a reflujo debe garantizar la condensación de vapores del etanal.

El destilado es una mezcla de etanal, etanol y ácido etanoico, en la cual el aldehído está en mayor proporción.

Ecuaciones:



#### - Reacciones de diferenciación:

a) Reacción de Fehling: a 3 ml. de solución de Fehling A se le añaden lentamente 3 ml. de Fehling B, hasta que el precipitado azul de hidróxido de cobre (primeramente formado) se haya disuelto y se forme, al agitar, el complejo azul oscuro de ion tartrato. Se añaden 3 gotas del etanal obtenido y la mezcla se hierve a baño maría durante 2 minutos aproximadamente. Se repite el ensayo con formaldehído y acetona. Observar y anotar los resultados.

Tubo 1: Fehling A + Fehling B + <b>etanal</b> Tubo 2: Fehling A + Fehling B + <b>formaldehído</b> Tubo 3: Fehling A + Fehling B + <b>acetona</b>	}	→ baño maría → Observar
--	---	-------------------------

b) Reacción de Tollens: en un tubo de ensayo "limpio" se vierte 5 ml. de reactivo de Tollens y se añaden unas gotas de etanal. Calentar el tubo directamente sobre la llama del mechero hasta ebullición y formación del espejo de plata en las paredes del tubo. Repetir con formaldehído y acetona. Observar y anotar los resultados.

Tubo 1: Tollens + <b>etanal</b> Tubo 2: Tollens + <b>formaldeh</b> Tubo 3: Tollens + <b>acetona</b>	}	→ calor directo → Observar
---	---	----------------------------

c) Reacción con reactivo de Schiff: a 4 ml. de reactivo de Schiff se añaden unas gotas de solución diluida de acetaldehído (etanal). Repetir el ensayo con formaldehído y acetona observando los resultados en cada caso.

#### ACTIVIDADES INDIVIDUALES PARA EL ALUMNO

- Sintetice en un cuadro de doble entrada los resultados del práctico.

## Práctico de Laboratorio N° 4

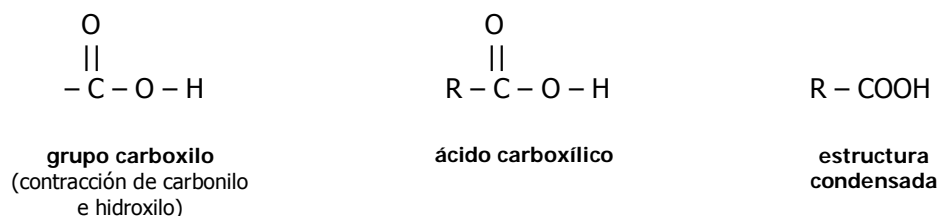
Tema: **Ácidos carboxílicos.**  
Obtención de ácido benzoico

## OBJETIVOS

- Obtener ácido benzoico por oxidación de un alquil-benceno, interpretando cada etapa de la reacción.
- Verificar una de las propiedades químicas de los ácidos carboxílicos: "Sustitución nucleofílica de Ácido"
- Visualizar la diferencia de la solubilidad entre un ácido y sus sales.

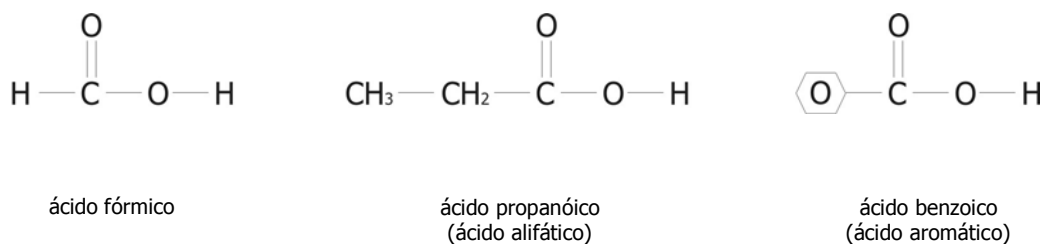
## FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Los compuestos que contienen al *grupo carboxilo* son ácidos y se llaman *ácidos carboxílicos*.



El ácido acético,  $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$  es uno de los miembros más importantes de esta serie de compuestos y ha sido conocido desde la antigüedad en forma de vinagre. Muchos de los homólogos del ácido acético de fórmula general  $\text{C}_n \text{H}_{2n+1} \text{COOH}$  pueden obtenerse por hidrólisis de las grasas y, en consecuencia, son conocidos como "ácidos grasos". El acético no se produce a partir de las grasas sin embargo se clasifica como un ácido graso debido a que tiene la fórmula general  $\text{R}-\text{COOH}$ , típica de tales ácidos.

Se clasifican de acuerdo con el sustituyente unido al grupo carboxilo. Un *ácido alifático* tiene un grupo alquilo unido al grupo carboxilo, mientras que un *ácido aromático* tiene un grupo arilo. El que tiene un protón unido al carboxilo se llama ácido fórmico.



Un ácido carboxílico cede protones, por ruptura heterolítica del enlace O-H, dando un protón y un *ión carboxilato*.



Aunque los ácidos los ácidos carboxílicos no son (ni) ión carboxilato tan fuertes como los ácidos minerales (ni) siquiera como el



Los ácidos carboxílicos y sus sales tiene propiedades muy diferentes y, como se interconvierten con facilidad, estas sales son derivados útiles de los ácidos. Se puede usar la formación de sales para identificar y purificar los ácidos.

Las sales de ácidos carboxílicos son sólidos inoloros que, por lo general, funden a altas temperaturas, y con frecuencia se descomponen antes de alcanzar sus puntos de fusión. Las sales de metales alcalinos ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) y de amonio son bastante solubles en agua, pero insolubles en solventes orgánicos no polares. El jabón es un ejemplo común de una sal de ácido carboxílico, que consiste en sales de sodio, relativamente solubles, de los ácidos grasos de cadena larga. Las sales carboxílicas de la mayor parte de los demás iones metálicos son insolubles en agua.

### MÉTODOS DE OBTENCIÓN

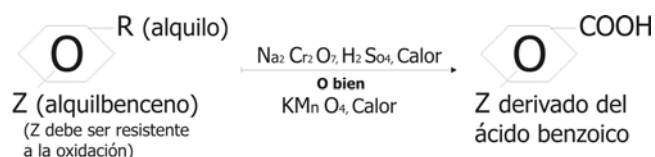
Además de las fuentes naturales, se han visto tres métodos sintéticos de preparación de ácidos carboxílicos:

- 1) oxidación de alcoholes y aldeídos
- 2) ruptura oxidativa de alquenos
- 3) oxidación de la cadena lateral de un alquilbenceno.

Se hará hincapié en el tercero, que es el que se empleará en el presente práctico

### OXIDACIÓN DE LA CADENA LATERAL DE UN ALQUILBENCENO

Un anillo aromático imparte estabilidad al átomo de carbono más cercano de sus cadenas laterales. El anillo aromático y un átomo de carbono de una cadena lateral pueden sobrevivir a una oxidación vigorosa con permanganato o con ácido crómico caliente, para formar una sal del ácido benzoico. Como esta oxidación necesita de condiciones muy fuertes de reacción, solo sirve para obtener derivados del ácido benzoico sin sustituyentes oxidables en el anillo aromático.



### PARTE EXPERIMENTAL

#### Materiales de Laboratorio

- Balón de boca ancha de 250 cc.
- Refrigerante
- Soporte Bunsen
- Trípode y tela de amianto
- Mechero
- Papel de filtro y embudo de vidrio
- Embudo Büchner
- Kitasato
- Pipeta de 5 ml.
- Papel de tornasol

#### Reactivos

- Tolueno
- $\text{K Mn O}_4$
- Agua destilada
- Piedra pómez o arena
- Sol. De  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluida 1:1

#### Técnica:

##### Obtención de ácido benzoico

En un balón de boca ancha de 250 cc. de capacidad, se disuelven 2 g. de permanganato de potasio en 40 ml. de agua, se alcaliniza con 2 ml. de  $\text{NaOH}$  al 10 % y se añaden 2,5 ml de tolueno (1). Se adapta un refrigerante a reflujo, cuidando que el corcho cierre muy bien el balón, agregar 1 ó 2 pedacitos de piedra pómez (del tamaño de una cabeza de alfiler) y se calienta durante 2 hs. (2).

A medida que progresa la reacción, la solución se va decolorando (3), si lo hace antes del tiempo indicado, se deja de calentar, se espera que cese el reflujo, se destapa y rápidamente se añade 0,5 gramos más de permanganato de potasio y se sigue calentando.

Es conveniente durante el calentamiento, mantener una suave agitación de la mezcla, para evitar proyecciones violentas (4).

Cumplido el tiempo, se suspende el calentamiento, se deja enfriar un poco y aún caliente se filtra por Büchner (5).

El líquido filtrado se deja enfriar y se acidifica con 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dil. 1:1 (6) cerciorándose que el medio quede ácido con tornasol; el precipitado de ácido benzoico se separa por filtración y si es necesario se recristaliza en agua caliente.

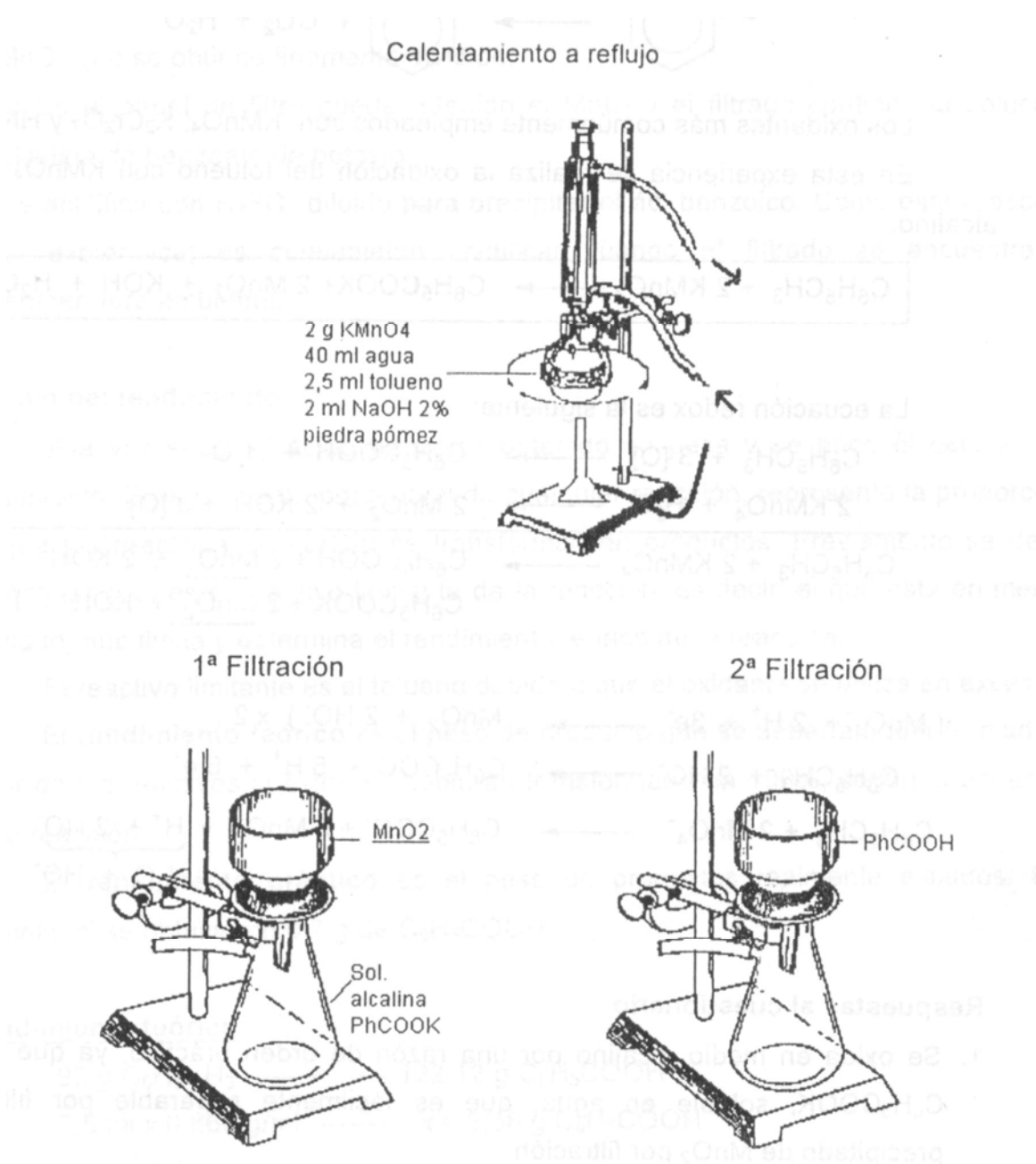
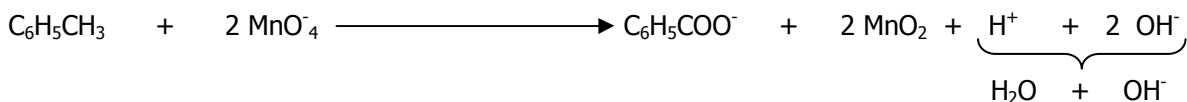
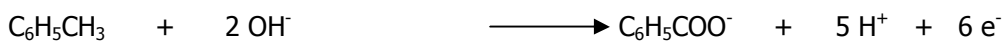
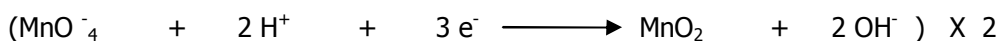
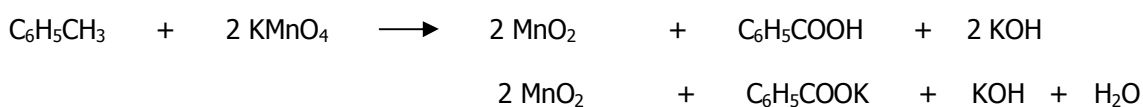
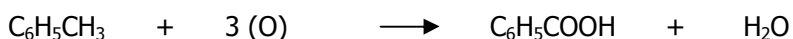
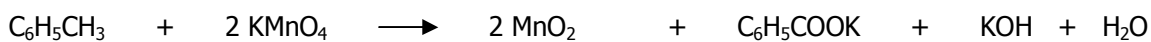
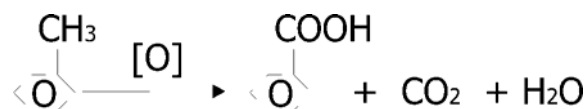


Figura 4 Equipo para la obtención de ácido benzoico

### ECUACIÓN FUNDAMENTAL



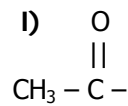
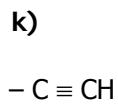
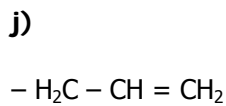
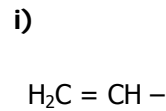
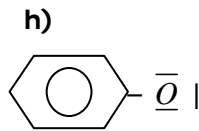
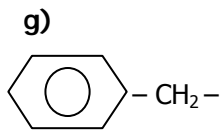
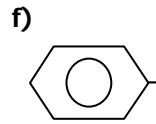
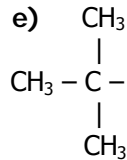
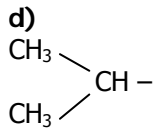
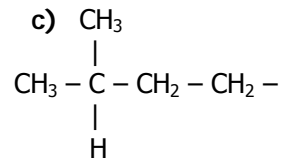
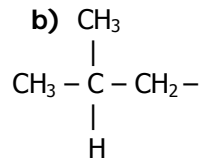
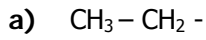
### CUESTIONARIO PARA EL ALUMNO

- 1) ¿Por qué la oxidación se hace en medio alcalino?
- 2) ¿Por qué se calienta a reflujo?
- 3) ¿Para qué se calienta?
- 4) ¿Por qué se agita?
- 5) a) ¿Por qué es conveniente filtrar aún en caliente?  
b) ¿Qué productos quedan retenidos en el filtro y cuáles pasan con el líquido?
- 6) ¿Por qué acidifica en frío y con ácido diluido?
- 7) Calcular el rendimiento obtenido de ácido benzoico teniendo en cuenta que la densidad del tolueno es 0,866 grs/ml.

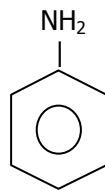
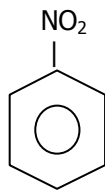
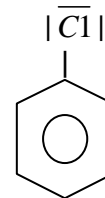
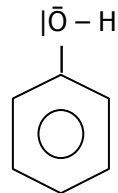
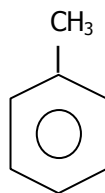
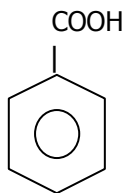


## EJERCICIOS

1) Escriba los nombres de los siguientes grupos químicos:



2) Efectos orientadores de los sustituyentes en el anillo bencénico para la sustitución electrofílica. Clasifique los grupos sustituyentes.



3) Escriba la estructura correcta de los siguientes compuestos:

a) ác. 3- clorobutanoico

b) ác. hexanoico

c) ác.  $\gamma$  - metoxivalérico

d) ác. ciclopentano carboxílico

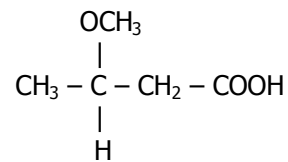
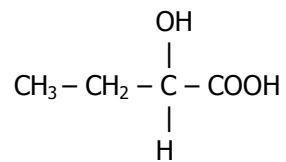
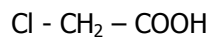
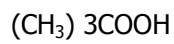
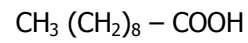
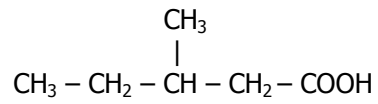
e) ác. 3- fenil propanoico

f) ác. Cis- 2 pentenoico

g) ác.  $\alpha$  - cloro-  $\beta$  -Bromo propiónico

h) ác. 3 bencil butanoico

4) Dé los nombres de IUPAC y comunes de los siguientes compuestos:



5) Escribir las fórmulas estructurales de todos los ácidos pentanoicos (valeriánicos) isómeros. Nombrar por IUPAC.

## Práctico de Laboratorio N° 5

Tema: Hidratos de carbono

### OBJETIVOS

- Identificar glúcidos en general.
- Diferenciar los distintos tipos de monosacáridos entre sí: pentosas de hexosas; y aldosas de cetosas.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Los hidratos de carbono, sacáridos o glúcidos se definen sencillamente como **polihidroxialdehídos** ó **polihidroxicetonas** y las sustancias que los den por hidrólisis. Muchos poseen la fórmula empírica  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  que daba a entender, en un comienzo, que se trataba de "hidratos de carbono". Aunque existían otros compuestos que sin serlo, también respondían a la misma fórmula.

Los hidratos de carbono (carbohidratos), pueden clasificarse en:

**Monosacáridos:** también llamados azúcares sencillos, están constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxicetona, en el primer caso se llaman *aldosas* y en el segundo, *cetosas*. El monosacárido mas abundante en la naturaleza es la *D- glucosa*, que tiene 6 átomos de carbono; de este se originan muchos otros carbohidratos. La *D- glucosa* es el combustible principal para la mayor parte de los organismos y es también la unidad estructural básica de los polisacáridos más abundantes, tales como el almidón y la celulosa.

**Oligosacáridos:** (del griego *pocos*), contienen de 2 a 10 unidades de monosacáridos unidas mediante *enlaces glicosídicos*.

**Polisacáridos:** contienen muchas unidades de monosacáridos enlazados, formando cadenas lineales o ramificadas.

Estos desempeñan *dos funciones biológicas* principales:

- almacenadores de combustible (almidón)
- elementos estructurales (celulosa)

En la biosfera hay, probablemente más cantidad de glúcidos que de toda la demás materia orgánica junta, y esto se debe en gran parte, a la abundancia de *dos polímeros de la D- glucosa*: el almidón y la celulosa. El almidón es la principal forma de almacenamiento de combustible en la mayor parte de los vegetales, mientras que la celulosa es el componente extracelular fundamental de las paredes celulares rígidas y de los tejidos fibrosos y leñosos de los mismos.

El glucógeno, que se parece al almidón en su estructura, es el principal glúcido de reserva en los animales. Otros polisacáridos son los componentes principales de las paredes celulares de las bacterias.

\*Enlace glicosídico: es la unión entre dos o mas monosas (unidades de monosacáridos) por medio de un oxígeno. De acuerdo a la posición en que se produzcan los enlaces, las sustancias serán:

- **reductoras:** si el enlace deja *libre un grupo carbonilo* potencial. Ej.: maltosa, glucosa, etc.
- **no reductoras:** si los *grupos carbonilo* han sido empleados en enlace glicosídico; por lo tanto *no quedan libres*. Ej.: sacarosa, rafinosa, etc.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales de Laboratorio:

- 5 tubos de ensayo por grupo
- gradilla
- pipeta para cada reactivo
- vaso de precipitado (baño maría)
- mechero Bunsen
- Tela de amianto

### Reactivos necesarios:

- solución alcohólica de  $\alpha$  - naftol al 15%
- solución alcohólica de timol al 15%
- HCl concentrado
- reactivo de Bial: HCl, orcina, sol. de  $\text{FeCl}_3$
- react. de Seliwanoff: sol. de HCl 12%, resorcina
- reactivo de Fehling
- reactivo de Tollens
- soluciones de: glucosa, arabinosa, fructosa, sacarosa, ribosa, maltosa.

### Técnica:

**A** Reacciones generales de los glúcidos: estas permiten su **identificación**. Entre ellas aplicaremos las siguientes:

- *Reacción de Molisch*: a una solución de un glúcido cualquiera se le adicionan unas gotas de soluc. alcohólica de  $\alpha$  - naftol y agitar el tubo. Luego, inclinándolo, hacer resbalar por las paredes 10 o 20 gotas de ácido sulfúrico conc., evitando la agitación, de manera que se formen dos capas de líquido. En el punto de contacto entre ambas aparecerá un color violáceo. Si se usa timol, la coloración será roja.

La reacción se debe a que el ácido sulfúrico forma por deshidratación del glúcido, un compuesto furfúrico que al condensarse con los compuestos fenólicos ( $\alpha$  - naftol o timol), produce una coloración variable según la naturaleza de los mismos.

Esta reacción sirve incluso, para identificar glúcidos combinados con otras sustancias.

**B** Reacciones de diferenciación de glúcidos: estas permiten individualizar los distintos tipos de glúcidos. Entre ellas:

- *Reacción de Fehling*: diferenciación de glúcidos reductores y no reductores: en un tubo de ensayo se unen las soluciones de Fehling A y B (coloración azul intenso), luego se agregan unas gotas de solución de un glúcido. Repetir para otros glúcidos y calentar a baño maría si es necesario.

- *Reacción de Tollens*: también para *diferenciación de glúcidos reductores y no reductores*: se produce igual que en el caso de aldehídos y cetonas. (Trabajo práctico N°.3.)

- *Reacción de Bial: caracterización de pentosas*. El reactivo de Bial es una solución clorhídrica de orcina, en presencia de algunas gotas de solución de cloruro férrico.

Calentando una solución de pentosa con este reactivo, durante 5 minutos en baño maría a 40 ó 50° C, produce una coloración verde brillante. Es específica de las pentosas, pues estas forman, por acción del ácido clorhídrico, furfural que condensa con la orcina. El producto formado, en presencia de sal férrica toma color verde. La sensibilidad de la reacción disminuye mucho si se encuentra presente simultáneamente una hexosa.

- *Reacción de Seliwanoff: diferenciación entre aldosas y cetosas*. El reactivo de Seliwanoff consiste en una solución de resorcina en ácido clorhídrico concentrado. Al calentar una solución de cetosa con este reactivo, se produce una coloración roja. El derivado furfúrico formado se condensa con resorcina, determinando la reacción.

Los oligosacáridos y polisacáridos que contienen fructosa dan una reacción positiva. Las aldosas no dan la reacción porque producen derivados furfúricos con muy pequeño rendimiento y en condiciones más severas que las cetosas.

Se toman tres tubos de ensayo. En uno se coloca solución de glucosa, en otro de fructosa y en el tercero una solución de glúcido a analizar. Agregar a cada tubo 1 ml. de reactivo de Seliwanoff y llevar los tres tubos a baño maría hirviendo durante 20 a 30 segundos. Observar lo que sucede y determinar si el tercer tubo contenía una aldosa o una cetosa.

**ACTIVIDADES INDIVIDUALES PARA EL ALUMNO**

Completar el siguiente cuadro marcando con una cruz la característica que corresponda a cada tipo de glúcido

Glúcido	Tipo de Hidrato de Carbono			Reductor	No Reductor	Reacciones características
	Monosac.	Oligosac.	Polisac.			
sacarosa						
almidón						
arabinosa						
xilosa						
celulosa						
glucosa						
maltosa						
rafinosa						
ribosa						
lactosa						
fructosa						
xilano						

## Trabajo de Laboratorio N° 6

Tema: Extracción y caracterización de Hidratos de carbono en Mistol

### OBJETIVOS

- Aplicar las reacciones químicas de identificación y diferenciación de los hidratos de carbono en un producto de origen natural.
- Caracterizar los hidratos de carbono presentes en los frutos de la especie *Zizyphus mistol*.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El mistol es un árbol muy ramificado y espinoso perteneciente a la familia de las Ramnáceas, que se encuentra distribuido en el centro y norte de la Argentina. Su madera tiene diversos usos y sus frutos (drupáceos) comestibles son útiles en la elaboración de dulces y bebidas.

La importancia de esta especie radica en que no sólo produce madera, sino que también sirve para alimentación humana, cuyos beneficios nutricionales están en estudio.

El uso integral del mistol concuerda con lo que indica el Programa Forestal de la FAO, el que manifiesta que se deben utilizar árboles, bosque y recursos que produzcan, para mejorar las condiciones económicas de la población, garantizando al mismo tiempo, la supervivencia del recurso para poder hacer frente a las necesidades de las futuras generaciones.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Materiales (por grupo):

- 1 vaso de ppdo. de 150 a 200 ml.
- 1 erlenmeyer
- 1 embudo y papel de filtro
- trípode, tela de amianto y mechero
- 1 gradilla con 5 tubos de ensayo
- 1 pipeta y 1 varilla de vidrio
- 4 pipetas de 10 ml. c/u (en común para los grupos), una para cada reactivo

#### Reactivos necesarios:

- acetona
- reactivo de Fehling
- reactivo de Seliwanoff
- reactivo de Bial

#### Técnica:

- 1 - Desmenuzar el fruto y colocarlo en un vaso de ppdo. con H<sub>2</sub>O.
- 2 - Calentar, agitando continuamente, durante por lo menos media hora.
- 3 - Filtrar la mezcla caliente.
- 4 - Colocar 5 ml. de filtrado en un tubo de ensayo y agregarle 1 ml. de acetona.
- 5 - En otro tubo de ensayo preparar el reactivo de Fehling con 1 ml. de cada uno de los reactivos y añadirle 1 ml. de muestra y observar la reacción. ¿La muestra contiene sustancias reductoras o no reductoras?
- 6 - En un tercer tubo de ensayos hacer Seliwanoff y observando la reacción analizar si hay presencia de aldosas o cetosas.
- 7 - Por último, experimentar la reacción de Bial y comprobar si en la muestra se encuentran pentosas o hexosas.

## Teórico Práctico N° 1

Tema: **C**romatografía

Responda, luego de investigar en la bibliografía sugerida.

- 1- ¿Cómo podría definir a la técnica analítica denominada "cromatografía"?
- 2- Enuncie el principio o fundamento general que rige el desarrollo de las técnicas cromatográficas.
- 3- ¿Cómo puede clasificar las distintas técnicas cromatográficas de acuerdo al tipo de elementos o material en el que se llevan a cabo?
- 4- Según su estado físico, ¿cómo puede ser la fase móvil? ¿Y la fase estacionaria?
- 5- Diga como puede clasificar las distintas técnicas cromatográficas, en base a los diferentes mecanismos de separación por el cual se desarrollan. Explique cada una de ellas.
- 6- Defina el coeficiente  $R_f$ , diga en que tipo de cromatografía se aplica y para qué sirve.
- 7- ¿Cuál es el mecanismo de separación que rige la cromatografía en papel?

*Para responder el temario precedente, puede consultar la siguiente Bibliografía, disponible en la Cátedra y en la Biblioteca Central de la UNSE:*

Bioquímica: "Bohinski". Quinta Edición. Edit. Addison – Wesley – Iberoamericana. 1991

Bioquímica: "L. Stryer". Tercera Edición. Edit. Reserte S.A.

Bioquímica General: Torres Carminatti, Cardini. Edit. El Ateneo. 1983

Bioquímica: "Metzler". Edit. Omega S.A. 1981

Bioquímica: "Lehninger". Segunda Edición. Edit. Omega S.A.

Bioquímica Molecular de la célula: Alberts, Bray y otros. Segunda Edición. Ediciones Omega S.A. 1992

**Práctico de Laboratorio N° 7**

Tema: **C**romatografía de aminoácidos en papel

**OBJETIVOS**

- Conocer las distintas técnicas cromatográficas y diferenciar los distintos fenómenos a través de los cuales se efectúan las separaciones en dichas técnicas.
- Realizar la separación cromatográfica de una mezcla de aminoácidos desconocidos.

**FUNDAMENTOS TEÓRICOS****A DEFINICIÓN**

La *cromatografía* puede definirse como la técnica de separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla de solutos, basándose esta separación en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los *solutos* a través de un medio poroso (*soporte inerte*), arrastrado por un disolvente en movimiento (*fase móvil*).

*Soporte inerte*: sustancia sólida que no interactúa con ninguna fase, ni con los solutos. Su función es la de sostener la fase estacionaria.

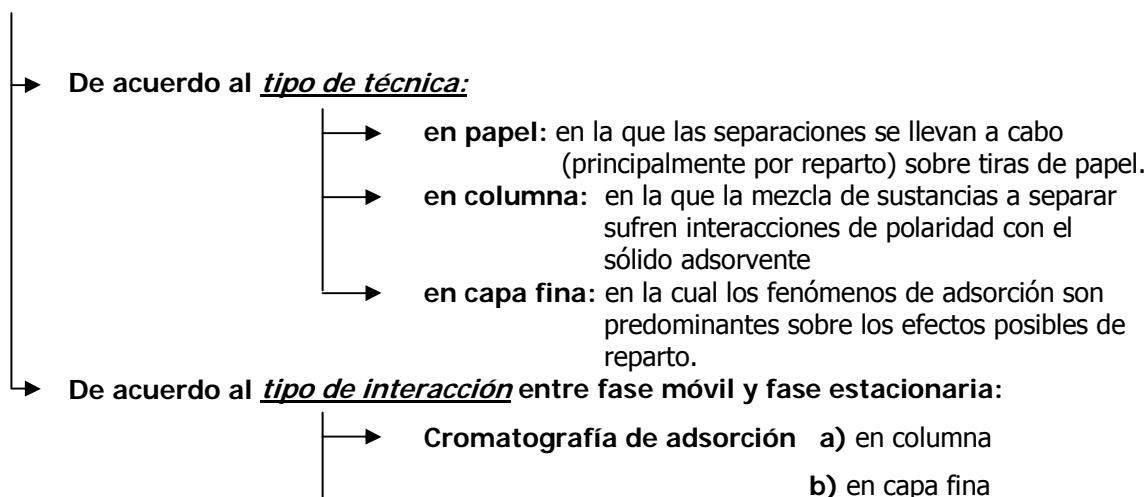
*Fase estacionaria*: sustancia líquida o sólida con la cual interactúan los distintos solutos, de acuerdo a una serie de fenómenos físicos y químicos que permiten la separación de estos solutos.

*Fase móvil*: es un disolvente (inmiscible en la fase estacionaria), que contiene la mezcla que se va a separar.

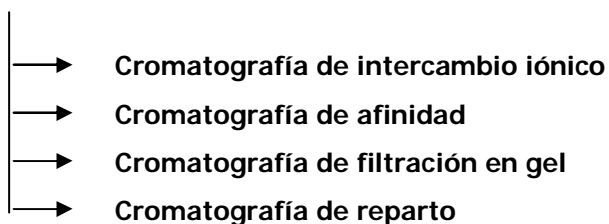
**B INTERACCIONES**

Las interacciones principales que ocurren entre la muestra, la fase estacionaria y la fase móvil son:

- *Adsorción*: por existencia de efectos superficiales de polaridad de la fase estacionaria respecto a los solutos.
- *Intercambio iónico*, con interacciones de tipo ácido-base.
- *Solubilización* o partición en los disolventes estacionario o móvil.
- *Reactividad*, entre grupos químicos funcionales específicos.
- *Tamizado y exclusión* debido a los tamaños y formas moleculares.

**C CLASIFICACIÓN**





#### D CROMATOGRAFÍA DE REPARTO

Como su nombre lo indica, está basada en la separación de una mezcla de sustancias mediante el reparto existente entre la fase móvil y la fase estacionaria soportada sobre un sólido adecuado. El disolvente puede ser líquido (cromatografía líquido – líquido) o un gas (cromatografía gas – líquido).

En la auténtica cromatografía de reparto, el único factor que influye en el movimiento de un compuesto a lo largo del papel es la solubilidad relativa de este en la fase móvil y estacionaria.

Las sustancias que son solubles sólo en el disolvente emigran a la misma velocidad que la parte frontal de éste, mientras que las que son solamente solubles en agua permanecerán en el origen de la cromatografía.

Uno de los mas importantes aspectos de la cromatografía es que, en un sistema cromatográfico dado, el movimiento de relativo de las sustancias respecto al disolvente es constante y característico de cada uno.

#### E CROMATOGRAFÍA EN PAPEL

Es una de las técnicas cromatográficas más simples y de las más antiguas. Las muestra se aplican sobre papel cromatográfico (Whatman N° 1) en forma de solución. Para esto, los sólidos se disuelven en una pequeña cantidad de disolvente adecuado.

- **DESARROLLO:** una vez secas las manchas sobre el papel, se procede a efectuar el *desarrollo*, nombre que se da al proceso en el que un disolvente fluye a través del papel, produciendo la separación. El desarrollo se puede llevar a cabo permitiendo que el disolvente suba por el papel (técnica ascendente) o que descienda por él (técnica descendente)
- **TÉCNICAS:**
  - a) *Técnica descendente:* el disolvente que ha de fluir se pone en un depósito que está colocado en la cubeta cromatográfica. En el fondo de la cubeta se pone también disolvente para asegurar que la atmósfera interior esté saturada de vapor. El papel se suspende en el disolvente y se tapa herméticamente la cubeta.
  - b) *Técnica ascendente:* el disolvente se coloca en el fondo de la cubeta y el papel se suspende en la parte superior.
- **SECADO DE PAPEL:** cuando el disolvente ha recorrido la distancia requerida, se saca el papel y se seca.
- **REVELADO:** cuando se realiza la separación, interesa, naturalmente, localizar la posición de la sustancia en el papel. Si las sustancias son coloreadas no presenta dificultad, pero muchos compuestos son incoloros y en este caso se puede hacer unos de varios métodos. Los métodos físicos, como fluorescencia y radiactividad tienen aplicación muy limitada. El método mas generalmente usado es el de hacer reaccionar a las sustancias a revelar con algún agente químico con el que forman algún compuesto coloreado.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Materiales:

- matraces aforados
- tubos de ensayo (3 por grupo)
- pipetas de 5ml.
- 2 cubas cromatográficas de vidrio con tapa
- micropipetas
- papel Whatman N° 1 ó N° 4

#### Reactivos:

- muestra: solución de aminoácidos al 0,1%
- solvente: n-butanol, ácido Acético glacial, H<sub>2</sub>O (6:1:2)
- revelador: solución ninhidrina

### Preparación del cromatograma:

Para el cromatograma se usa papel de filtro, al que se maneja por los bordes. Con un lápiz se traza una línea recta a 1,5 cm. del borde. Esta línea representa la línea de base o punto de partida del cromatograma. Dibuje puntos de siembra en la línea de base y en cada uno de ellos con una micropipeta coloque una gotita de la solución de cada aminoácido. Se deja secar y se repite dos o tres veces la misma operación. Se puede ayudar usando secador de cabello.

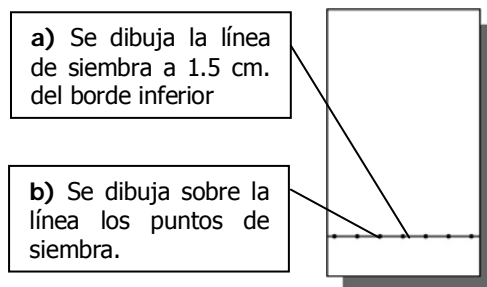
La tira se suspende verticalmente en la cámara cromatográfica que es un recipiente que contiene el solvente y está vestida con un papel de filtro humedecido con el solvente y saturado de vapores.

Se tapa y se deja correr hasta que el frente del solvente alcance una altura distante a 2 cm. del borde superior del papel. Luego se saca el papel de la cámara y se lo deja secar a temperatura ambiente. Cuando el papel está seco, se rocía el cromatograma con el reactivo de ninhidrina que se usa para revelar las manchas. Se deja secar de nuevo y se pone el cromatograma en la estufa a 80° C durante 5 min.

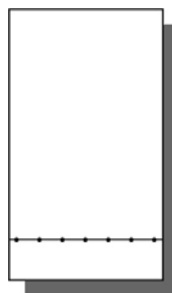
Se produce una reacción de descarboxilación oxidativa por calentamiento, entre el aminoácido y la ninhidrina, seguida por una condensación de la hidrindamina formada con una segunda molécula de ninhidrina. El aminoácido es oxidado a un aldehído que contiene un átomo de carbono menos. En los lugares a donde haya aminoácidos, el papel tomará color púrpura.

**Figura 5: Esquema del Trabajo Práctico**

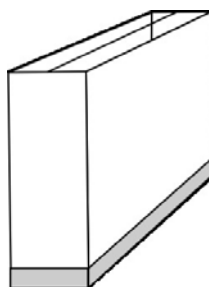
#### 1. Preparación del papel de filtro



#### 2. Siembra de los aminoácidos



#### 3. Preparación de la cuba cromatográfica



## Práctico de Laboratorio N° 8

Tema: Proteínas

## OBJETIVOS

- Conocer la composición química de una proteína.
- Identificar y diferenciar los distintos niveles de la estructura proteica.
- Realizar e interpretar algunas reacciones de coloración que ponen en evidencia la presencia de enlaces peptídicos y de ciertos grupos atómicos que permiten estimar la composición aminoacídica de la proteína en cuestión.
- Efectuar reacciones de precipitación y coagulación y, explicar estos fenómenos desde la óptica de la conformación espacial proteica.

## FUNDAMENTOS TEORICOS

## DEFINICIÓN

Todas las **proteínas** son polímeros compuestos de aminoácidos, monómeros que se unen sucesivamente entre sí a través de *enlaces peptídicos*. Una sustancia compuesta de aminoácidos así unidos se conoce como *polipéptido*, o simplemente *péptido*. Cuando un polipéptido está compuesto por 50 o más unidades de aminoácidos se coloca en la categoría de *proteína*.

Por lo tanto, básicamente las proteínas están constituidas elementalmente por C, H, O y N lo que les valió la denominación de sustancias cuaternarias. La proporción cuantitativa en que se encuentran estos elementos es:

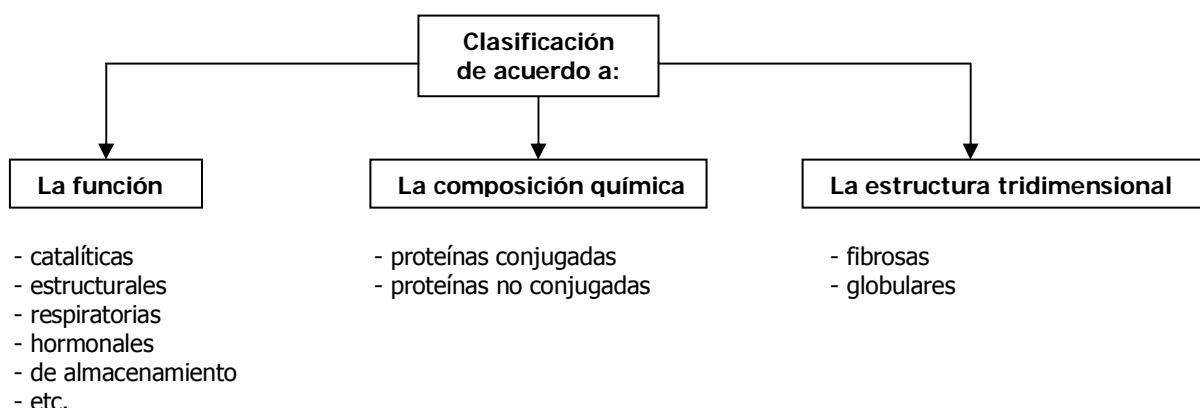
Carbono.....55%

Oxígeno.....20 – 24%

Nitrógeno.....16 – 20%

Hidrogeno.....7%

Algunas contienen también otros elementos como S, P, I, Fe.



**1- Funcional:** Según este criterio se clasifican en: *catalíticas* (enzimas), *estructurales* (colágeno), *respiratorias* (citocromos), *hormonales* (regulan las actividades celulares), *de almacenamiento* (utilizadas como energía nutricional y de almacenamiento de aminoácidos, especialmente en las semillas vegetales, etc.)

**2- Composición química:** de acuerdo a ella existen dos categorías generales:

a) proteínas conjugadas: son las que constan de un grupo no peptídico orgánico o inorgánico llamado *grupo prostético*, en asociación con el material polipeptídico.

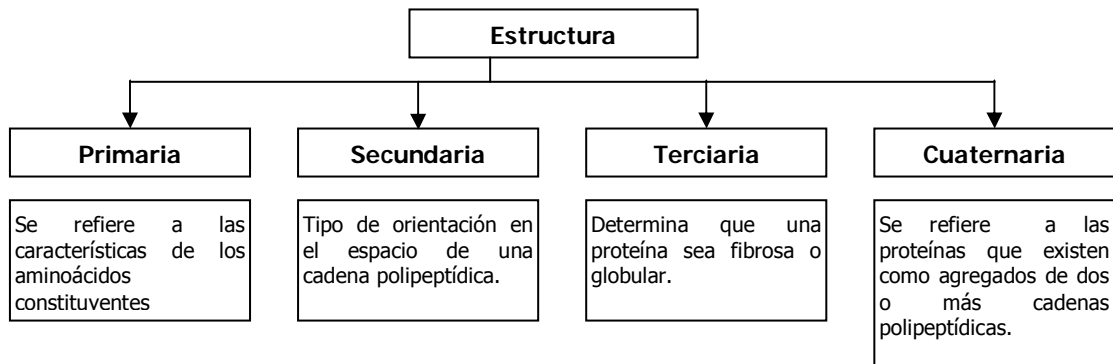
De acuerdo a la naturaleza del grupo prostético se identifican las siguientes subclases:

- glicoproteínas (carbohidratos)
  - metaloproteínas (un ion metálico)
  - fosfoproteínas (un fosfato)
  - lipoproteínas (un lípido)
- b) proteínas no conjugadas: son aquellas que carecen de grupo prostético.

**3- Estructura tridimensional total:** según la conformación de la o las cadenas polipeptídicas las proteínas pueden ser:

a) fibrosas: sus moléculas tienen una *forma muy alargada*, semejante a un hilo. Tienen a menudo pesos moleculares muy elevados y muchas están compuestas de dos o más cadenas polipeptídicas, siendo por lo general insolubles en agua.

b) globulares: tienen una *estructura mucho más compacta* debido a una serie de pliegues y torsiones muy ordenados a lo largo de la cadena polipeptídica. Su forma varía desde una esfera casi perfecta, hasta una elipse. Algunas pueden contar con una o varias cadenas diferentes. Son mucho más solubles en agua que las fibrosas. Todas las **enzimas** son **proteínas globulares**.



En la mayoría de las proteínas es posible identificar cuatro tipos o niveles de estructura.

**1- Estructura primaria:** se refiere a la *identidad de los aminoácidos* que la constituyen, la *cantidad relativa* de cada uno de ellos y la *secuencia* de los mismos en la/s cadena/s polipeptídica/s. La identidad y cantidad de cualquier grupo prostético, si es que lo hay, se incluye en este nivel estructural.

**2- Estructura secundaria:** el tipo particular de *orientación* adquirida en el espacio por la *cadena polipeptídica* es el resultado de la posibilidad de rotación libre alrededor de los enlaces simples de la cadena que comprenden a los átomos de carbono  $\alpha$ , implicados en el enlace peptídico. Como consecuencia de ello es posible encontrar tres tipos principales de orientación de las cadenas polipeptídicas de existencia natural: a) helicoidal b) laminar c) al azar.

**3- Estructura terciaria:** es la que determina que una proteína sea fibrosa o globular.

En las proteínas fibrosas las cadenas polipeptídicas se encuentran enteramente en una conformación laminar o helicoidal, originando una estructura superenrollada, la cual es estabilizada por gran cantidad de enlaces hidrógeno intercadenas, además de algún enlace cruzado covalente. Así la estructura es *rígida e inflexible*.

En las proteínas globulares, el mantenimiento de los masivos pliegues, giros y torsiones depende de diversos tipos de fuerzas estabilizadoras encontrándose, por lo general, los siguientes tipos de interacciones no covalentes:

- a) fuerzas de atracción ion – ion
- b) enlaces de H entre uniones no peptídicas
- c) enlaces de H entre enlaces peptídicos
- d) interacciones hidrofóbicas
- e) interacción con el grupo prostético.

- 4- Estructura cuaternaria:** este nivel de estructura se refiere a las proteínas que existen como *agregados* de dos o más *cadena polipeptídicas* unidas entre sí sólo por fuerzas de atracción no covalente. Las proteínas de este tipo se conocen como oligómeros, siendo los más comunes dímeros, trímeros y tetrameros. Si las cadenas son idénticas se denominan *oligómeros homogéneos*, y si son diferentes, *oligómeros heterogéneos*. Los tipos de interacciones estabilizadoras de estos agregados son enlaces electrostáticos y enlaces de hidrógeno entre cadenas laterales ( R ), localizadas cerca de la superficie de cada monómero.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reactivos necesarios:

- Alc. Etílico de 96°
- HCl ó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Sol. Saturada de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Sol. de ác. Tricloroacético (10 ó 20%)
- Sol. de dicloruro de mercurio ó acetato de plomo
- HNO<sub>3</sub> conc.; sol. de NaOH
- NaOH al 4% y CuSO<sub>4</sub> al 1%
- Reactivo de Molisch
- Reactivo de Millon
- Sol. De albúmina de huevo

### Materiales de laboratorio:

- Gradilla con 3 o 4 tubos de ensayo
- 5 pipetas de 5 o 10 ml.
- 1 vaso de precipitado de 200 ml.
- Mechero, trípode y tela de amianto
- Papel de filtro y embudo

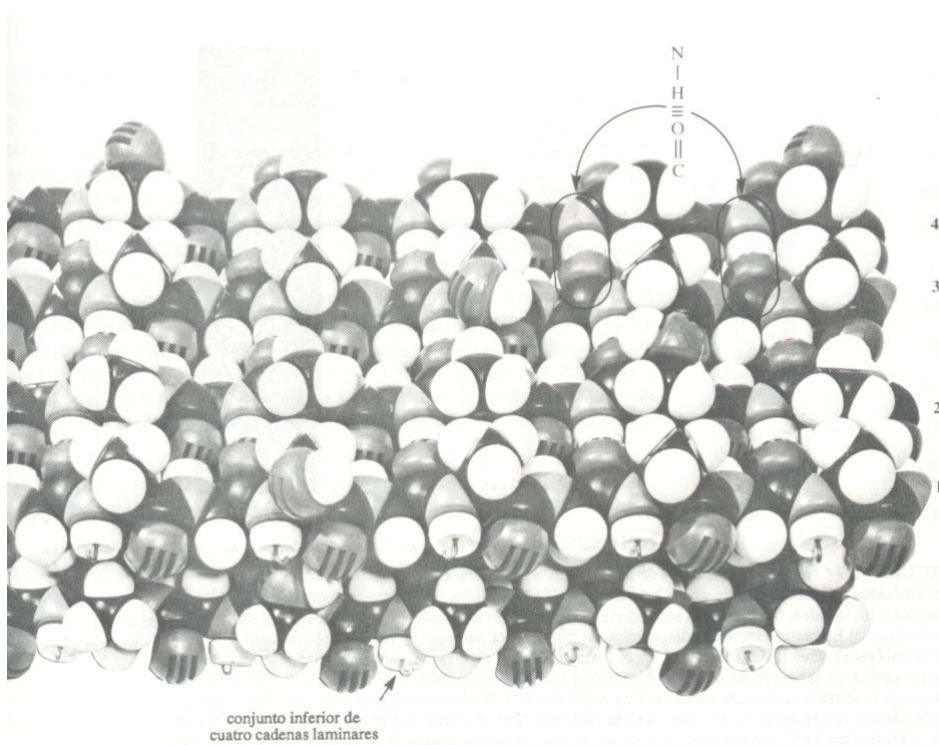
### Técnica:

- 1) **Acción del calor:** diluir una parte de suero de clara de huevo en 10 partes de agua y hervir durante unos minutos. Luego de ello, dejar enfriar y tratar de redissolver el coágulo formado con exceso de agua.
- 2) **Acción del alcohol:** colocar en un tubo de ensayo 10 ml. de alcohol etílico de 96°, añadir una gota de HCl y luego un poco de la sol. de la proteína. Observar los resultados.
- 3) **Precipitación por sales neutras:** a 3 ml. De suero añadir el mismo volumen de sol. saturada de sulfato de amonio. Filtrar el precipitado obtenido para utilizarlo luego en alguna de las reacciones de coloración.
- 4) **Precipitación por los ácidos:** adicionar a unos 3 ml. de la solución proteica algunas gotas de solución reciente de ác. Tricloroacético al 20%. Al precipitado obtenido tratar de redissolverlo en agua.
- 5) **Acción de las sales de metales pesados:** agregar gota a gota, solución de acetato de plomo o Cl<sub>2</sub>Hg a 3 ml. Del suero proteico. Tratar de redissolver el precipitado obtenido.
- 6) **Reacciones de coloración:**
  - Xantoproteica: en un tubo de ensayo, colocar 3 ml. de suero proteico y verter 1 ml. de HNO<sub>3</sub> conc. Al precipitado blanco formado hervirlo durante 1 minuto y observar lo que sucede. Finalmente alcalinizar con NH<sub>3</sub> o sol. de NaOH.
  - de Biuret: a 3 ml de la solución proteica añadir 1 cc de solución de NaOH al 40% y después incorporar una gota de CuSO<sub>4</sub> al 1%.
  - de Molisch: poner en un tubo de ensayo 5 ml de solución diluida de proteína y adicionar 3 a 4 gotas de solución alcohólica de α -naftol (reactivo de Molisch). Agitar y luego verter por las paredes, tratando que no se mezclen, 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. Observar lo que sucede en la interfase.
  - de Million: calentar la proteína con el reactivo de Million (solución de nitrato y nitrito de mercurio en una mezcla de HNO<sub>3</sub> y HNO<sub>2</sub>). Observar la reacción.

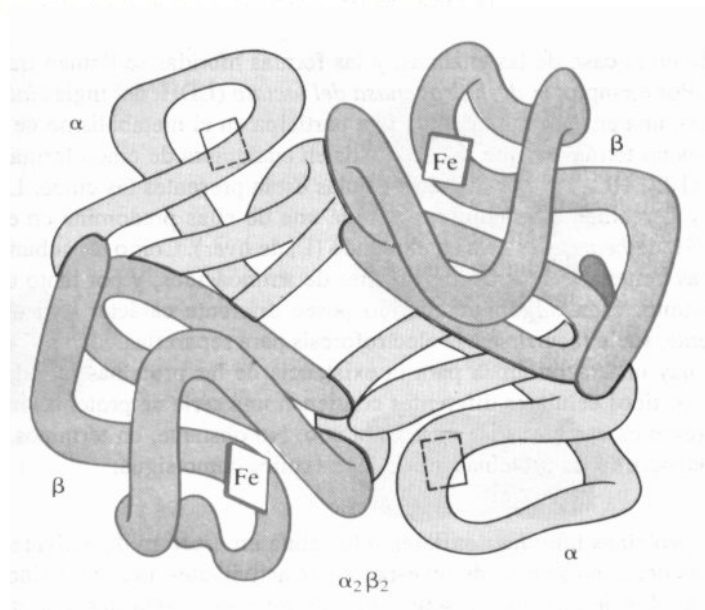
### ACTIVIDADES INDIVIDUALES PARA EL ALUMNO

- 1) Explique claramente la diferencia entre los fenómenos de precipitación y coagulación de las proteínas, en base a la estructura molecular de ellas. ¿Cuál de los dos es reversible?
- 2) Dé los fundamentos de la acción de los distintos reactivos ensayados sobre el estado físico de las sustancias proteicas.
- 3) Indique el motivo de la aparición de los distintos colores observados con los reactivos utilizados para tal fin.
- 4) Realice representaciones gráficas sencillas de cada uno de los cuatro niveles estructurales.

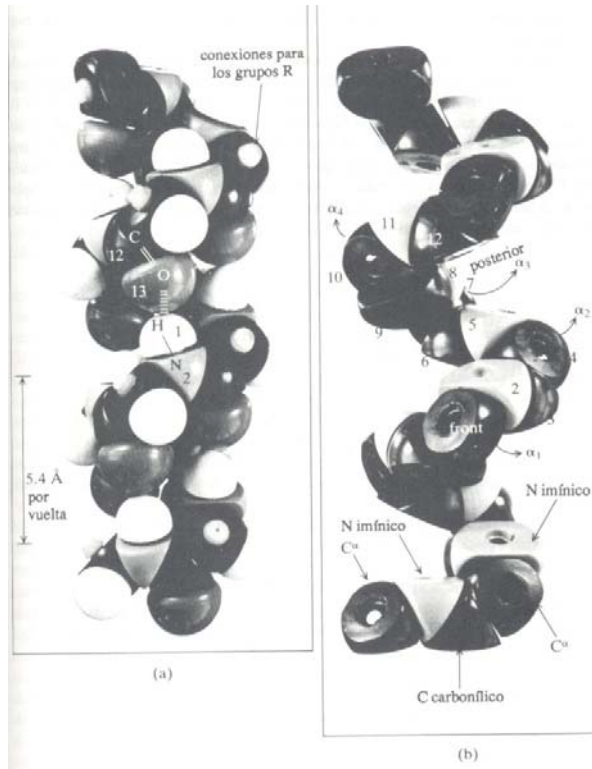
### GRÁFICOS



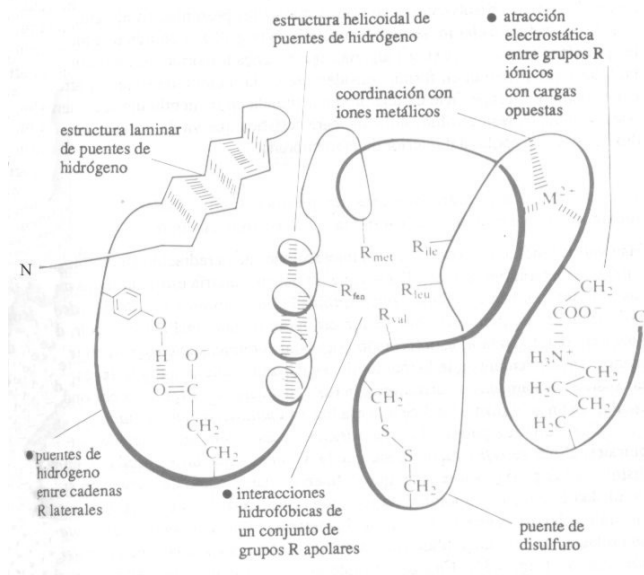
**Figura 6:** Estructura terciaria de lámina plegada de una proteína fibrosa. (Proteína de la seda)



**Figura 7:** Estructura cuaternaria de proteína tetramérica (hemoglobina)

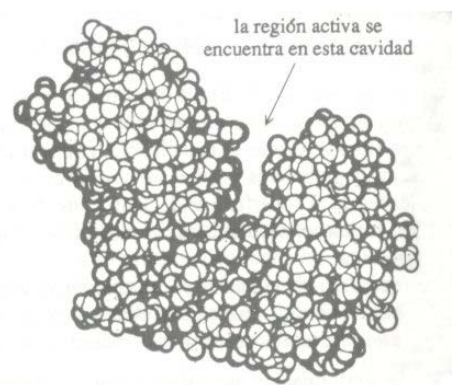


**Figura 8:** Estructura terciaria de  $\alpha$ -hélice de proteína fibrosa. a) modelo espacial con todos los enlaces. b) esqueleto de la  $\alpha$ -hélice



**Figura 9:** Estructura terciaria de una proteína globular.

a) Representación en forma esquemática de las fuerzas estabilizadoras.  
 b) Representación espacial de una proteína globular (enzima de la levadura).





**Práctico de Laboratorio N° 9**Tema: **Enzimas****OBJETIVOS**

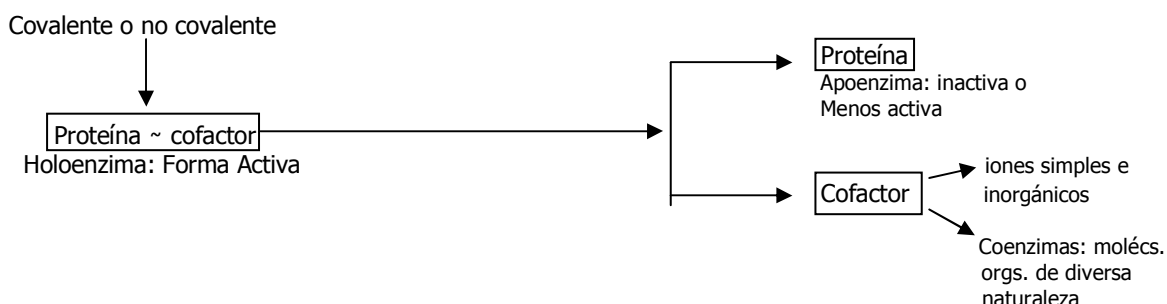
- Visualizar y explicar la acción de diversas enzimas: catalasa y deshidrogenasa en papa, y polifenol-oxidasa en manzanas y pepinos.
- Verificar el efecto de la temperatura sobre la actividad de las enzimas mencionadas.

**FUNDAMENTOS TEÓRICOS****A DEFINICIÓN**

Las enzimas son “catalizadores biológicos” de naturaleza proteica. Por lo tanto su función es aumentar la velocidad de la reacción disminuyendo la energía de activación de la misma.

**B ESTRUCTURA**

Todas las enzimas son proteínas globulares, cada una con una función específica debida a su estructura característica. Sin embargo la actividad óptima de muchas enzimas (no de todas) depende de la presencia en su molécula de sustancias no proteicas llamadas *cofactores*.



Hay un *lugar particular* en la topografía molecular de la enzima que es donde se lleva a cabo, efectivamente la reacción entre la enzima y la sustancia sobre la cual esta actúa (sustrato “S”). Este lugar se denomina *sitio activo*, que es un conjunto de unos pocos grupos R (y posiblemente un cofactor) de aminoácidos, ordenados espacialmente de una manera muy específica. Este sitio activo es el que le confiere a la molécula de enzima la capacidad de unir y orientar las moléculas de sustrato en un mismo lugar del espacio, de manera de maximizar la probabilidad de una reacción positiva.

**C CARACTERÍSTICAS**

Las enzimas tienen tres propiedades bien definidas e inigualables que las hacen mucho más efectivas que los catalizadores no biológicos:

- 1) **Eficiencia**: en cantidades micromoleculares aceleran la velocidad de la reacción en millones de veces. Esta característica está representada por la actividad molecular (o número de recambio) de la enzima, que se define como los moles de sustrato transformados por mol de enzima y por unidad de tiempo (min. ó seg.). Además por los términos *unidad enzimática* (U.I): nº de moles, milimoles o micromoles de S transformados por min., y la *actividad específica* que es el nº de unidades enzimáticas por mg. de proteína (mide el grado de pureza de una enzima).
- 2) **Especificidad**: puesto que son capaces de distinguir entre sustratos estrechamente relacionados. Puede ser absoluta cuando actúa sobre un determinado S (sustrato) para dar un solo producto. Además algunas poseen *estereoespecificidad*.
- 3) **Regulación**: son capaces de cambiar de un estado de baja actividad a otro de alta actividad.



## D MECANISMO DE ACCIÓN ENZIMÁTICO

Aun cuando el mecanismo de acción es único para cada enzima, todas operan en general de la misma manera. La primera clave en cuanto al comportamiento enzimático lo aportaron V. Henri (1903) y posteriormente L. Michaelis y Menten propusieron básicamente el mismo modelo, pero los últimos basaron el suyo en datos recogidos a partir de experimentos cuidadosamente diseñados. El modelo de Henri- Michaelis- Menten sobre la acción enzimática es aun el fundamento de la *cinética enzimática*.

Ellos propusieron que la enzima **E** podía combinarse reversiblemente con el sustrato **S** para formar en "*complejo intermediario*", **ES**, entre la enzima y el sustrato, que luego puede descomponerse dando productos (**s**) **P** y la enzima libre en su forma original.



La validez de este modelo se estableció mediante la derivación de una ecuación matemática compatible con los datos experimentales, que se conoce *como ecuación cinética de Michaelis-Menten*:

$$V_o = V_{\max} [S] / (K_m + [S])$$

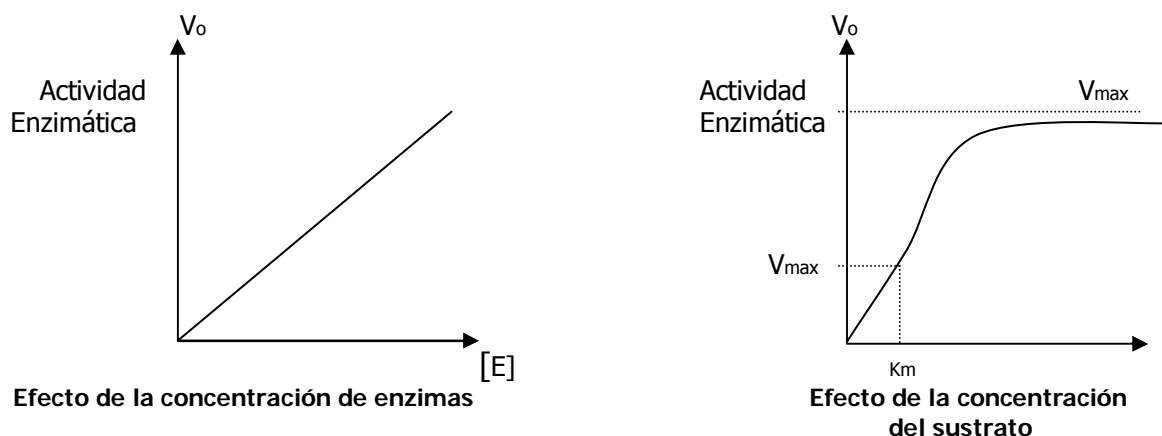
$V_o$ : velocidad inicial de la reacción medida inmediatamente después que la reacción comienza.

$V_{\max}$ : velocidad máxima es una expresión de la eficiencia del funcionamiento enzimático, y dicha eficiencia es representada por el número de recambio, la unidad enzimática y la actividad específica de la enzima.

$K_m$ : representa la cantidad de **S** requerido para unirse con la mitad de la enzima disponible, produciendo la mitad de la velocidad máxima. Tiene unidades de concentración y se conoce como constante de Michaelis- Menten (de ahí la *m*)

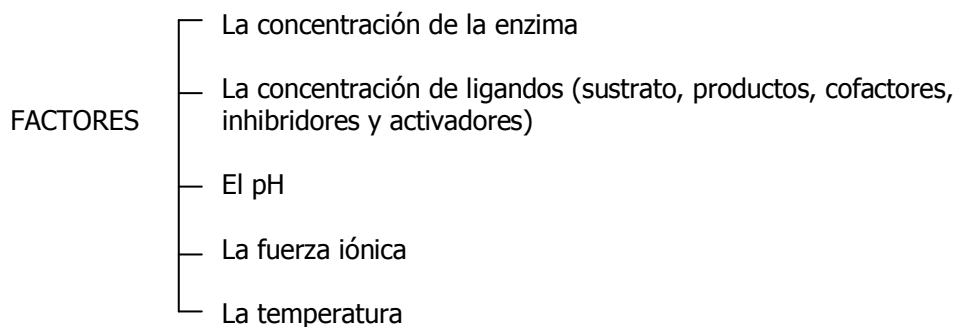
## E GRÁFICOS DE LA ECUACIÓN DE MICHAELIS- MENTEN

Figura 10: Efecto de la [E] y de [S] sobre la actividad enzimática



## F FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE LAS ENZIMAS

El estudio de los factores que afectan la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas corresponde a la cinética enzimática.

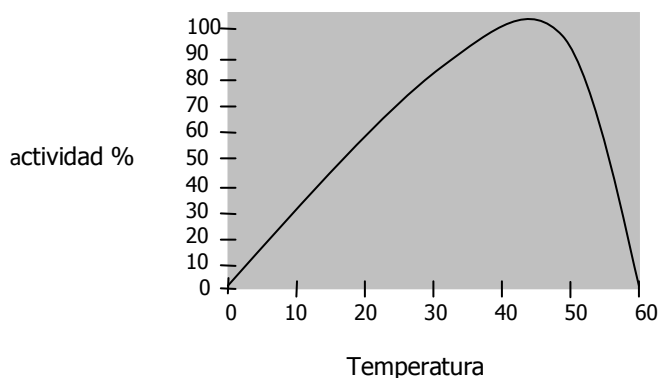


A los fines del presente práctico, concentraremos nuestra atención en el último de los factores mencionados.

**Efecto de la temperatura:** la mayoría de las reacciones químicas proceden a mayor velocidad a medida que aumenta, a temperatura. Un incremento de la temperatura imparte mayor energía cinética a las moléculas reaccionantes, dando lugar a un mayor número de colisiones productivas por unidad de tiempo. Las reacciones catalizadas por enzimas se comportan de forma similar hasta cierto punto. La actividad catalítica de una enzima depende de su estructura terciaria altamente organizada y compleja, la cual es mantenida por un gran número de uniones no covalentes débiles (por Ej. puente de hidrógeno).

Si la molécula absorbe demasiada energía, por ejemplo en forma de calor, la estructura terciaria puede romperse y la enzima se desnatura perdiendo su actividad. Por esto, a medida que la temperatura aumenta, el esperado incremento de velocidad que resultaría de un mayor número de colisiones por unidad de tiempo, es frenado por la desnaturación de la enzima. Si se grafica la velocidad en función de la temperatura se observa un pico que se toma como *temperatura óptima para la actividad de la enzima*.

**Figura N° 11:** Variación de la actividad enzimática en función de la temperatura



## PARTE EXPERIMENTAL

### 1- CATALASA

#### Materiales requeridos (por grupos):

- 2 tubos de ensayo
- probeta de 50 ml.
- 2 vasos de ppdo. de 100 ml.
- mechero con trípode y tela de amianto
- manguera y tapón perforado con tubo en ángulo recto
- 1 papa

#### Reactivos:

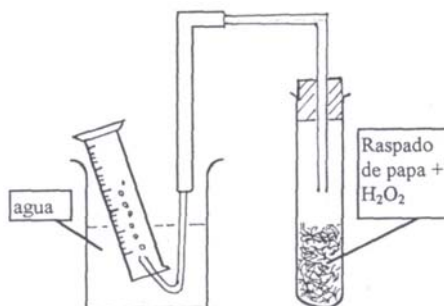
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 20 vol.

**Procedimiento**

Hacer un rallado de papa cruda, después de pelarla y colocarla en un tubo de ensayo en el cual se agregan unas gotas de  $H_2O_2$  de 20 vol. y observar.

Hervir un trozo de papa durante 5 minutos, dejarlo enfriar. Se obtiene un raspado que se coloca en un segundo tubo. Agregar el  $H_2O_2$  en igual cantidad que en el anterior y observar.

Además de visualizar la producción de burbujas, que indican la gran actividad de la catalasa, coleccionar el gas desprendido por desplazamiento de agua en una probeta graduada invertida, como se muestra en la Fig 12.



**Figura 12:** Dispositivo para actividad de catalasa

**2- DESHIDROGENASA****Materiales requeridos (por grupo)**

- 2 tubos de ensayo chicos
- vaso de ppdo. de 100 ml.
- mechero con trípode y tela de amianto
- cuchillo, pinzas y papel aluminio
- 1 papa
- lápiz de cera o etiquetas

**Reactivos:**

- Sol. de azul de metileno al 0,025 %

**Procedimiento**

Pelar una papa y cortar varios palitos finos iguales; colocar la mitad de ellos en un tubo de ensayo y cubrir con sol. De cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazoilo al 5%. Envolver con papel aluminio para darle oscuridad, dejarlo unos 15 min. Al cabo de los cuales observar el desarrollo de color rojo al reducirse el compuesto.

Hervir durante 5 min. Los restantes trozos de papa en un vaso con agua, después de los cual proceder a tratarlos igual que a los otros.

Una alternativa es usar sol. De azul de metileno al 0,025% como indicador; en este caso el tubo debe quedar totalmente lleno (sin aire) y tapado por 24 hs. Al cabo de las cuáles se los saca y se los deja al aire para observar cambio de color.

**3- POLIFENOL-OXIDASA****Materiales por grupo:**

- Gradilla con 4 tubos de ensayo
- Cápsula de Petri
- Vaso de precipitado de 100ml.
- Manzana var. deliciosa (o papa)
- Pepino (o rábano)
- 2 pipetas de 10 ml
- Mechero, trípode y tela
- Lápiz de cera o etiquetas

**Reactivos:**

- sol. de guayacol al 3%
- sol de bisulfito de Na al 1%

**Procedimientos**

Cortar tiras delgadas de manzana y papa que sean de igual tamaño (raspar un poco los bordes para destruir más células) y distribuirlas de la siguiente manera:

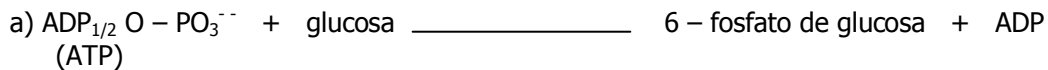
Colocar una tira de cada tejido al aire en una cápsula abierta, sumerja otra pareja de tejidos en sol. de bisulfito sódico contenido en un tubo de ensayos y un tercer par en otro tubo al que se le agrega sol. de guayacol al 3% hasta cubrirlos.

Repetir los 3 tratamientos usando esta vez tiras de los mismos vegetales, pero previamente hervidas en agua 5 min.

Esperar 15 min. Y observar la posible manifestación de un color café- parduzco en el tejido o en la solución de los diversos tratamientos.

**ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO**

- 1) Explique cuál es la función de la catalasa en la célula y escriba la ecuación química que representa su acción.
- 2) Explique cual es la función de la deshidrogenasa en la célula y escriba una ecuación química sencilla que la represente.
- 3) Ídem para la polifenol – oxidasa
- 4) Sumner aisló de la soja una sustancia cristalina que denominó "ureasa". si tuviera una muestra de esta sustancia, ¿Cómo determinaría si está compuesta enteramente por proteína? ¿ Qué características de las enzimas aprovecharía para saber si esta sustancia es una de ellas (enzima)? esta es una cuestión abierta que puede tener varias respuestas correctas.
- 5) En la tabla 9 -3 del Lehninger se muestra la clasificación internacional de las enzimas, que se basa en el tipo de reacciones que catalizan. Determinar el tipo de reacción y de enzima que catalizan las siguientes transformaciones:



## Teórico Práctico N° 2

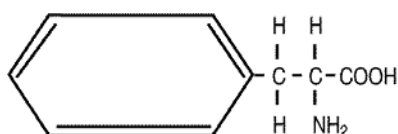
Tema: Integración de conceptos teóricos sobre compuestos biológicos

## OBJETIVOS

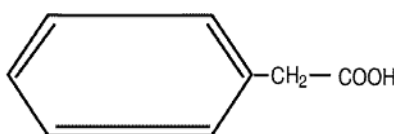
- Que el alumno afiance su conocimiento de la estructura de los compuestos con actividad biológica que integran la célula viva.
- Que interprete la reacción existente entre la estructura y la función de los mismos.
- Que la presente guía sirva al alumno de base para el estudio de los temas incluidos en el primer parcial de la asignatura.

## AMINOÁCIDOS

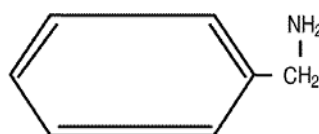
- 1) Una disolución de 0,283 gr/ml de un aminoácido desconocido gira el plano de la luz polarizada  $-2,12^\circ$  en un tubo de 1 dm de largo. ¿Qué valor tiene la rotación específica? ¿De qué aminoácido podría tratarse? (Tabla 5-2 del Lehninger).
- 2) Las cuatro familias de grupos de R de los aminoácidos pueden clasificarse en hidrófilas e hidrófobas. ¿Qué propiedad de los grupos R determinan esta clasificación? Clasifique cada familia como hidrófila o hidrófoba.
- 3) La fenilalanina tiene dos grupos funcionales: uno amino y uno carboxilo. Cuando se intenta fundir la fenilalanina cristalina, esta se descompone a  $283^\circ\text{C}$ , antes de alcanzar el punto de fusión. Sin embargo otros compuestos estructuralmente relacionados, que contienen solo un grupo amino "o" un grupo carboxilo (por ejemplo la bencilamina y el ácido fenilacético), tienen puntos de fusión mucho menores. ¿Qué explicación puede elaborar para este hecho?



Fenilalanina  
(se descompone a  $283^\circ$ )

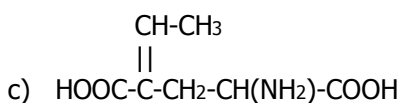
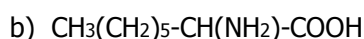
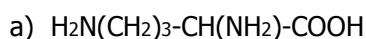


Ácido Fenilacético  
(P.F. =  $155^\circ\text{C}$ )

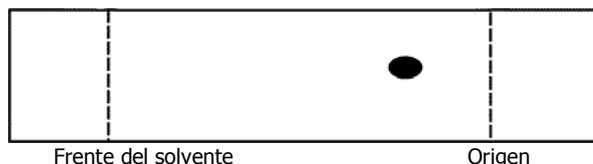


Bencilamina  
(liq. a Temp. amb.)

- 4) La fenilalanina es diprótica. Escriba los equilibrios químicos correspondientes a las dos reacciones de ionización.
- 5) Clasifique a cada uno de los siguientes aminoácidos como polar o apolar:



6) Una pequeña muestra de cierta sustancia pura fue sometida a una cromatografía en papel. El aspecto del cromatograma, después del revelado, es el mostrado en la figura. ¿Cuál es el valor del  $R_f$  de esta sustancia?



## PROTEÍNAS

- 1) El peso molecular promedio de los aminoácidos estándar es 128. ¿Cuál es el peso molecular de una proteína compuesta por 100 de estos aminoácidos?
- 2) Defina los siguientes términos: grupo prostético, proteasa, enlace peptídico, proteína oligomérica, desnaturalización, conformación nativa, exopeptidasa.
- 3) Utilizando las características de las proteínas fibrosas y globulares y, teniendo en cuenta la clasificación de las mismas según sus principales funciones biológicas, diga cuales serán predominantemente fibrosas y cuales globulares, justificando su elección.
- 4) En base a los datos dados, señalar cuales de los siguientes pares de proteínas podrían separarse mejor por medio de una cromatografía por filtración en gel:

a) hemoglobina humana y seroalbúmina humana

b) ribonucleasa de páncreas bovino y deshidrogenasa del glutamato de hígado bovino

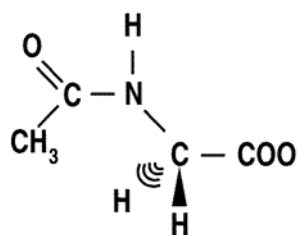
Datos: - PM de la hemoglobina: 64.500

- PM de la deshidrogenasa: 1.000.000

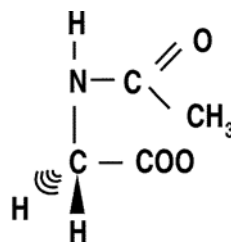
- PM de la seroalbúmina: 68.500

- PM de la ribonucleasa: 12.640

- 5) La toxina botulínica, uno de los tóxicos más poderosos que se conocen, se produce ocasionalmente debido al crecimiento de la bacteria *Clostridium botulinum* en alimentos conservados incorrectamente. La ingesta de la toxina puede ser fatal, pero los alimentos contaminados pueden ser desintoxicados llevándolos a ebullición durante 15 a 20 minutos. ¿Debido a qué sucede esto?
- 6) El análisis de dos muestras de proteínas, una procedente de hígado de pollo y la otra de hígado de pavo, demostró que tenían la misma "composición" en aminoácidos. ¿Es este un dato suficiente para afirmar que ambas proteínas son idénticas? Justifique su respuesta.
- 7) Un estudiante pretende haber aislado los dos derivados de la N-acetil-glicina, cuyas estructuras se muestran abajo. ¿Es razonable esta afirmación? Explique su respuesta.



(A)



(B)

- 8) Diga si las siguientes afirmaciones son ciertas o falsas:
  - a) Los isómeros de configuración pueden Inter. Convertirse mediante rotación alrededor de un enlace simple.
  - b) La rotación alrededor de los enlaces peptídico está restringida y estos son rígidos y planos

c) La conformación en hélice  $\alpha$  y la lámina  $\beta$  son resultado directo de la composición y secuencia de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas.

e) La hélice  $\alpha$  y la lámina  $\beta$  se mantienen gracias a la existencia de enlaces de hidrógeno Inter. E intracatenarios respectivamente.

## ENZIMAS

1) Sumner aisló de la soja una sustancia cristalina que denominó ureasa. Si tuviera una muestra de esta sustancia, ¿Cómo determinaría si está compuesta enteramente por proteína? ¿Qué característica de las enzimas aprovecharía para saber si se trata de uno de esos compuestos biológicos? Esta es una cuestión abierta que puede tener varias respuestas correctas.

2) La hexoquinasa es una enzima que cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde el ATP hacia la glucosa:



El tratamiento de la hexoquinasa con urea 6 M destruye su actividad catalítica, la mayor parte de la cual puede recuperarse dializando cuidadosamente la muestra de proteína. Explique esta observación.

3) Escriba la ecuación de Michaelis – Menten y deduzca la forma matemática que adquirirá en las siguientes condiciones:

a) cuando  $[S] = K_M$

b) cuando  $[S]$  es mucho mayor que  $K_M$

c) cuando  $[S]$  es mucho menor que  $K_M$

Con los resultados obtenidos, proponga la forma que tendrá el gráfico de velocidad vs.  $[S]$ .

4) Determinar si las siguientes afirmaciones son ciertas o falsas:

a) - Las enzimas tienen, en general, un tamaño comparable al de los sustratos que transforman.

b) - Las enzimas se clasifican de acuerdo al tipo de reacción que catalizan.

c) - Las enzimas afectan el equilibrio de las reacciones que catalizan.

d) - En presencia de la enzima apropiada la energía de activación de una reacción química determinada disminuye.

e) - Cuando la  $[S]$  es baja, la velocidad inicial de una reacción aumenta linealmente con el aumento de la  $[S]$ .

f) Cuando una cantidad dada de enzima esta saturada, el aumento de la S aumenta la velocidad inicial de la reacción.

## ÁCIDOS NUCLÉICOS

19)- las hebras de ADN y de ARN tienen una polaridad específica y se escriben, por convenio, con el extremo 5' a la izquierda y el extremo 3' a la derecha. ¿Qué grupo funcional hay en cada extremo?

20)- Una muestra de ADN determinada contiene aproximadamente un 28,9% de adenina. ¿Cuáles son los porcentajes aproximados, en moles, de timina, guanina y citosina?

21)- Escribir la hebra antiparalela complementaria de la siguiente secuencia de nucleótidos:

pATCGCAGTTCGCTAC

22)- ¿Cuál de las moléculas helicoidales de dos hebras de ADN siguientes tiene un punto de fusión mas alto? ¿Por qué?

a) T-T-C-T-C-T-G-A-A-A-G  
A-A-G-A-G-A-C-T-T-T-G

b) C-T-C-A-G-G-G-G-A-C-C-T  
G-A-G-T-C-C-C-C-T-G-G-A

23) – El ADN está estrechamente asociado, en la cromatina, con proteínas denominadas histónas. ¿Qué fuerzas son responsables de esta asociación?

24)- ¿Cuál es el peso molecular promedio, aproximado, del ADN de dos hebras necesario para codificar la deshidrogenasa del fosfato de gliceraldehído? PM= 40.000.

Dato: el PM promedio de cada par de nucleótidos es de, aproximadamente: 650. (Respuesta: 708.000).

25)- Una muestra de ADN, obtenido a partir de hojas de tabaco, contiene un 20,0% en moles de citosina. Suponiendo que solo se encuentran las cuatro bases principales, calcular el porcentaje aproximado de residuos de purinas de este ADN.



**Práctico de laboratorio N° 10**Tema: **F**otosíntesis**OBJETIVOS**

- Observar el efecto de la intensidad luminosa sobre el proceso fotosintético.
- Verificar la influencia de la variación de la concentración del CO<sub>2</sub> disponible en el proceso fotosintético.
- Observar y analizar el comportamiento del proceso fotosintético ante la variación de la temperatura a la cual se desarrolla.

**FUNDAMENTOS TEÓRICOS****Fotosíntesis:**

La energía que posibilita la vida de la gran mayoría de los seres vivos en la tierra procede directa o indirectamente del sol a través *del proceso fotosintético*; en líneas generales este consiste en la reducción del CO<sub>2</sub> atmosférico por medio del H<sup>+</sup> del agua obtenido con la energía proveniente de las radiaciones electromagnéticas como energía potencial química en los componentes orgánicos.

La sustancia que absorbe la energía radiante que incide en la planta es la clorofila, molécula pigmento incluida en la unidad estructural del tilacoide. Existen diferentes tipos de clorofilas los cuales están basados en la estructura química de las mismas, así tenemos clorofilas a, b, c y d. Además de la clorofila a y b, en el cloroplasto de plantas superiores hay otro grupo de pigmentos, los carotenoides con las carotinas y xantofilas. En algas, junto a la clorofila a, se encuentran otras como la c ó la d y pigmentos accesorios: fucoxantinas y ficoeritrinas.

En las células de los vegetales superiores pueden encontrarse otros pigmentos denominados antocianicos que determinan en especial el color de las flores y algunos matices en hojas y otras estructuras.

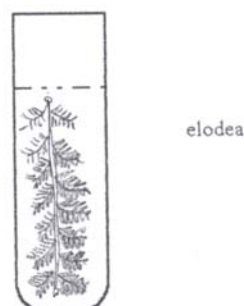
El *cloroplasto*, órgano celular donde se localiza el proceso, posee además un sistema enzimático que cataliza la reducción del dióxido de carbono atmosférico utilizando la energía capturada. Así el proceso fotosintético, como cualquier otro proceso fisiológico, es afectado por las condiciones del medio ambiente en el cual ocurre. Algunos factores ambientales como intensidad y calidad de la luz, cantidad de dióxido de carbono presente y temperatura tiene importancia fundamental en la intensidad del proceso. Donde mejor se pueden controlar estos factores es en invernáculos, viveros y en el laboratorio.

En general resulta difícil la cuantificación del proceso fotosintético por su coexistencia con el respiratorio, de función antagónica en cuanto a intercambio gaseoso. Por lo tanto los valores medidos corresponden a fotosíntesis aparente y deben corregirse por medio de los valores de respiración, para tener la fotosíntesis verdadera.

**PARTE EXPERIMENTAL**

El efecto de los factores propuestos en el proceso fotosintético puede medirse utilizando el *método de los micromoles de CO<sub>2</sub> consumidos*, o el *método de burbujeo*.

Para este último método, introduzca una ramita de elodea con el borde recién cortado hacia arriba (como indica la figura) en varios tubos de ensayo con agua.



**Figura 11:** Dispositivo para observar efecto de factores ambientales sobre la fotosíntesis

### **1- Efecto de la intensidad luminosa**

Cuente el número de burbujas por minuto que salen del tallo al iluminar las plantas con una lámpara especial y compare lo que sucede con el tubo colocado en condiciones inferiores de luminosidad y con el que está en la oscuridad. Para el conteo de las burbujas deje que se regularice el burbujeo durante 5 minutos aproximadamente.

### **2- Efecto de la concentración de CO<sub>2</sub>**

Coloque ramitas de elodea en un tubo conteniendo agua, en otro conteniendo NaHCO<sub>3</sub> 1M y en otro con NaHCO<sub>3</sub> 0, 1M y compare el burbujeo de la misma manera que en el caso anterior.

### **3- Efecto de la temperatura**

Para comprobar el efecto de la temperatura, se colocan los tubos en hielo, en agua a temperatura ambiente, y a baño maría a 50 °C y se realiza conteo de la misma manera que en el caso anterior.

## **ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO**

1. Explique brevemente en que consiste el proceso de fotosíntesis
2. ¿En que parte de la planta o de la hoja se realiza el proceso?
3. Enumere los factores y explique como influyen en la intensidad fotosintética

## Práctico de Laboratorio N° 11

Tema: **R**espiración

### OBJETIVOS

- Observar el proceso de la respiración aeróbica en semillas de poroto germinado
- Visualizar la producción de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O generados durante este proceso

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El mantenimiento de la vida requiere un continuo gasto de energía. En el caso de las plantas, la mayor parte de la energía está almacenada en los enlaces químicos de las moléculas orgánicas generadas por fotosíntesis. Para su utilización todas las células vivientes de los diversos organismos han desarrollado mecanismos que permiten oxidar estos compuestos o sus derivados, rompiendo los enlaces, para dejar libre dicha energía.

Esta *oxidación biológica* de los compuestos orgánicos que se desarrollan en las células de los organismos vegetales se denomina comúnmente, respiración. Se define como la *oxidación de una fuente energética con ayuda de un aceptor de electrones*. El tipo más general involucra al oxígeno molecular determinado con una oxidación aeróbica, pero en general se sabe que requiere la activación del H<sub>2</sub> y del O<sub>2</sub>.

Al igual que la fotosíntesis, la respiración es un proceso con múltiples pasos catalizados por numerosas enzimas. Un hecho importante en la respiración es que la energía liberada en los enlaces químicos del azúcar u otro sustrato, se incorpora en enlaces químicos rápidamente utilizables como ATP (adenosin trifosfato) que es el aceptor-protón universal de energía:



El ATP, gracias a sus enlaces de alta energía, proporciona la energía que se utilizan en una enorme variedad de trabajos metabólicos: síntesis de grasas y proteínas, reducción de nitratos y sulfatos, acumulación de iones, transporte de sustancias, etc.

En los organismos aeróbicos se utiliza O<sub>2</sub> y se produce CO<sub>2</sub> en la respiración, en los tejidos fotosintéticos, sin embargo, este intercambio es obvio solo en ausencia de luz, puesto que generalmente la fotosíntesis se desarrolla más intensamente que la respiración, consumiendo todo el CO<sub>2</sub> producido. Aun más se ha detectado que con luz intensa ocurre una respiración adicional a través de un mecanismo diferente conocido como *fotorrespiración* y que ocurre en un organelo celular especial: el peroxisoma.

La *respiración aeróbica* típica está formada por tres secuencias de reacciones bien definidas:

- 1- Glicólisis: ocurre en el citoplasma y se inicia con una fosforilación que da por resultado final la conversión en dos moléculas de ácido pirúvico (a partir de una glucosa), más H que se une a NAD<sup>+</sup>. Esta etapa es común a los procesos de respiración aeróbica y fermentación.
- 2- Oxidación: se realiza a través del ciclo de Krebs o del ácido cítrico. El ácido pirúvico ingresa convertido en acetil- CoA, descomponiéndose en CO<sub>2</sub> y H<sup>+</sup>. En este último se transfiere a aceptores de H como NAD<sup>+</sup> (nicotinamin-adenina dinucleótido), NADP<sup>+</sup> (nicotinamin-adenina dinucleótido fosfato oxidado), FAD (flavinadenina dinucleótido).
- 3- Fosforilación oxidativa final: a través de un sistema de transporte constituido por los citocromos y ocasionalmente por otras oxidasas. Aquí los electrones de los aceptores de hidrógeno reducidos o protones son transferidos a otros aceptores, de nivel energético cada vez más bajos. La energía que por esto queda libre permite sintetizar ATP; esta es una forma de energía rápidamente disponible que si se utiliza es hidrolizada a ADP.

En algunos organismos inferiores, como bacterias y hongos, se realiza respiración anaeróbica ya que las oxidaciones ocurren sin el uso de O<sub>2</sub>. Los vegetales superiores también pueden presentarla ocasionalmente y por tiempos variables, cuando carecen de O<sub>2</sub> (ejemplos: raíces en suelos anegados, frutos de cubierta impermeable, etc.)

La *intensidad de la respiración* en las plantas varía enormemente según las especies, tipo y edad del tejido y condiciones ambientales, entre estas últimas se destaca la temperatura que, por la naturaleza bioquímica del proceso es decisiva y generalmente limitante; la presencia de  $O_2$  que llega a ser determinante del cambio metabólico por su participación directa en el proceso; el agua, que provee las condiciones de hidratación adecuada a la acción enzimática y muchos otros de menor importancia. Al igual que con las mediciones de fotosíntesis, la respiración se basa fundamentalmente en cuantificar el intercambio gaseoso por los métodos tradicionales. También se puede medir la producción de calor o la pérdida de peso seco en estructuras definidas como, por ejemplo, semillas.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales

- vasos de precipitados
- 3 tubos de ensayo de igual tamaño
- 3 varilla de agitación
- 5 a 10 semillas de poroto germinado
- pipeta graduada
- algodón

### Reactivos:

- solución de NaOH al 20 %
- agua destilada

### Procedimientos:

En 2 de los tubos de ensayo coloque 5 semillas de poroto completamente embebidas e inserte una mota de algodón, húmedo, no compacto. Al tercer tubo póngale solamente el algodón húmedo. A dos de los vasos de precipitados agrégueles igual cantidad (aproximadamente 20 ml.) de NaOH al 20% y al otro solo agua en igual cantidad. Luego invierta uno de los tubos con semillas en un vaso que contenga NaOH y el otro dentro del vaso con agua; el tubo sin semillas colóquelo en uno con NaOH.

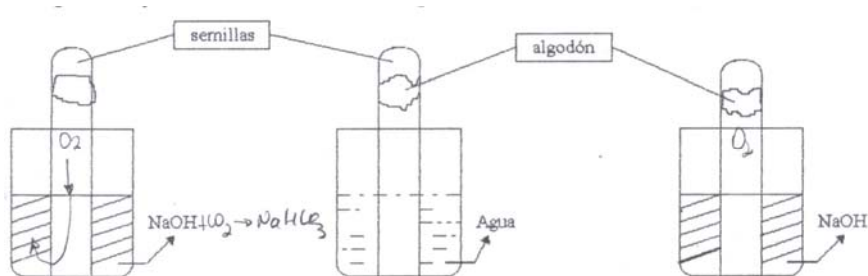


Figura 12: Dispositivo para observar la actividad respiratoria de semillas en germinación

## ACTIVIDADES PARA EL ALUMNO

1. ¿A qué se denomina "respiración" en las plantas?
2. ¿Cuáles son las etapas que constituyen la respiración aeróbica?
3. ¿En qué consiste la fotorespiración?

## Práctico de Laboratorio N° 12

Tema: **P**ropiedades químicas del algodón

### OBJETIVOS

- Verificar e interpretar la reacción del almidón con iodo.
- Realizar y comprobar la hidrólisis química y enzimática del almidón.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El almidón es la principal fuente de carbohidratos de reserva en las plantas. Es un polímero de glucosa, formado por dos tipos de estructuras macromoleculares diferentes: amilosa y amilopectina. La amilosa es el componente minoritario, representa el 20% del total del almidón y es un polímero lineal formado por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-4). La amilosa es soluble en agua caliente y da lugar a la formación de una estructura secundaria característica de forma helicoidal. Esta estructura permite que el ion  $I_3^-$  se ubique en el interior de la hélice dando a la disolución un color violeta intenso. Este color desaparece cuando la disolución se calienta, debido a la pérdida de la estructura helicoidal. El color se recupera por enfriamiento lento de la disolución.

La amilopectina constituye el 80% del almidón y es un polímero no lineal de glucosa que está formado principalmente por unidades de glucosa unidas por enlace  $\alpha$  (1-4), y en las posiciones de ramificación, por enlaces  $\alpha$  (1-6). Es insoluble en agua caliente y da un color rojizo con yodo.

Ambas presentan propiedades no reductoras, ya que cada macromolécula solo contiene una unidad glucosa reductora.

El almidón puede ser hidrolizado en medio ácido, o bien por la acción de enzimas específicas como la amilasa, que rompe los enlaces  $\alpha$  (1-4) formando glucosa, maltosa y dextrinas.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Materiales y reactivos necesarios:

- Baño a 100° C.
- CIH concentrado
- Reactivo de Fehling
- Disolución de almidón al 1%: *disolver un gr de almidon en un poco de agua fría y añadir lentamente y con agitación a 100 ml de agua hirviendo.*
- Disolución de  $I_3^-$ : *mezcla de iodo con IK en agua, aproximadamente 1mM, iodo en KI /30 g/l); ha de tener color rojizo.*

#### Técnica

- Reacción del almidón con iodo: tomar 3 ml de la disolución de almidón en un tubo de ensayos y agregar 1 ml de la disolución de iodo. Observar la coloración.

Calentar el tubo y, a continuación, dejar enfriar lentamente. Comentar los resultados.

- Hidrólisis química y enzimática: a 50 ml. De una disolución de almidon añadir 5 ml de CIH concentrado y calentar en baño de agua a 100° C. A intervalos de 5 min., durante media hora, tomar dos alícuotas de 2 ml cada una y, una vez frías, ensayar la coloración con iodo y la presencia de azúcares reductores por el método de Fehling.

A un tubo de 10 ml de almidon añadir unas gotas de saliva, agitar y tomar una alícuota de 2 ml a la que rápidamente se le adiciona 1ml de la disolución de iodo. Esperar 5 min y tomar una nueva alícuota de 2 ml a la que se le realiza el ensayo con el iodo. Anotar los resultados.

**Teórico Práctico N° 3****Integración de conceptos teóricos sobre aspectos metabólicos****ATP Y BIOENERGÉTICA CELULAR**

**Problema N° 1:** A pesar de que los mamíferos producen una cantidad sustancial de calor, este calor no constituye una fuente de energía utilizable para las células vivas. Explica por qué.

**Problema N° 2:** ¿Qué clase de energía utiliza la célula, si no utiliza la energía térmica? ¿Por qué necesitan esa clase de energía?

**RESPIRACIÓN**

**Problema N° 3:** En la glucólisis hay dos reacciones que precisan una molécula de ATP, y otras dos que producen una molécula de ATP. Siendo esto así ¿Cómo puede la glucólisis ofrecer, en la degradación de la glucosa a lactato, una producción neta de dos moléculas de ATP por cada una de glucosa?

**Problema N° 4:** ¿De dónde proviene la energía necesaria para producir fosfoenolpiruvato de súper energía elevada?

**Problema N° 5:** La cantidad celular total de NAD (suma del NAD<sup>+</sup> y del NADH) es prácticamente constante, y mucho menos que la de glucosa que pasa por minuto por la glucólisis. En consecuencia el NAD<sup>+</sup> utilizado en la reacción de la deshidrogenasa del gliceraldehído – 3- fosfato ha de ser reciclado. Cuando se aporta oxígeno abundante de la célula, el NADH<sub>2</sub> se recicla por medio de una oxidación dependiente del O<sub>2</sub>. ¿Cómo se recicla cuando no hay oxígeno?

**Problema N° 6:** Aunque el oxígeno molecular no participa directamente en el Ciclo del Ácido Cítrico, este solamente funciona cuando el oxígeno está presente. ¿Por qué?

**FOTOSÍNTESIS**

**Problema N° 7:** Theodore de Saussure observó, en 1804, que la suma del peso de oxígeno y de materia orgánica seca producidos por las plantas es mayor que el CO<sub>2</sub> consumido durante la fotosíntesis. ¿De donde proviene la diferencia?

**Problema N° 8:** Los fragmentos de cloroplastos que se iluminan en presencia de agua y CO<sub>2</sub> producen O<sub>2</sub> molecular. Dos experimentos realizados con H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub> marcados con <sup>18</sup>O dieron los siguientes resultados:

MOLECULA MARCADA	PM DEL O <sub>2</sub> PRODUCIDO
CO <sub>2</sub> marcado con <sup>18</sup> O - H <sub>2</sub> O no marcada	32,00
CO <sub>2</sub> no marcado – H <sub>2</sub> O marcada con <sup>18</sup> O	36,00

¿Que indican estos resultados acerca de la fuente del oxígeno molecular que se produce durante la fotosíntesis?

**Problema N° 9:** ¿Producen O<sub>2</sub> las células de las hojas de las plantas verdes tanto durante el día como durante la noche?

**Problema N° 10:** ¿Qué característica estructural de la molécula de clorofila es la responsable de su capacidad de absorber la luz visible eficientemente?

Problema N° 11: La clorofila no es soluble en el agua pero se disuelve fácilmente en los disolventes orgánicos. ¿Qué significado tiene esta propiedad para la función de la clorofila?

Problema N° 12: Los fotosistemas 1 y 2 están ligados por medio de una serie de transportadores. ¿Qué función cumplen dichos transportadores?

### METABLISMO DE LOS LÍPIDOS

Problema N° 13: ¿Pueden los ácidos grasos ser metabolizados directamente, o necesitan alguna modificación estructural previa? Explíquela.

Problema N° 14: Esquematice el proceso de la biosíntesis de los ácidos grasos saturados en los vegetales.

Problema N° 15: Explique el mecanismo aerobio de la biosíntesis de los ácidos grasos monosaturados.

Problema N° 16: ¿Qué mecanismos oxidativos de degradación de los ácidos grasos ocurren en las plantas?

Problema N° 17: ¿Cómo se lleva a cabo la degradación de los lípidos en los vegetales?

### METABLISMO DE PROTEÍNAS Y CICLO DEL N<sub>2</sub>

Problema N° 18: ¿Por qué se puede considerar que el metabolismo del N<sub>2</sub> confiere a los vegetales un papel especial en la economía de la naturaleza?

Problema N° 19: Esquematice de manera sencilla el Ciclo del N<sub>2</sub> en la naturaleza y explique de cuantas maneras pueden fijar este elemento los vegetales a través del mismo.

Problema N° 20: Menciona y explica las reacciones más importantes involucradas en la degradación metabólica de los aminoácidos.

Problema N° 21: Escribe la estructura de los productos que se obtienen por transferencia del grupo amino del Aspartato y de la Alanina hacia el  $\alpha$  - cetoglutarato.

Problema N° 22: ¿Qué destinos pueden tener los esqueletos carbonados de los aminoácidos, luego de la eliminación del grupo amino?

## Bibliografía

- L.G. WADE, JR.: "QUÍMICA ORGÁNICA". 2da edición. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana (1.993)
- MORRISON Y BOYD: "QUÍMICA ORGÁNICA". 5ta Edición. Editorial Addison Wesley Longman de México S.A. de C.V. (1.998)
- MC. MURRY: "QUÍMICA ORGÁNICA". 3ra Edición. Grupo Editorial Iberoamericana (1.994)
- BREWSTER R.-MC EWEN W.: "QUÍMICA ORGÁNICA". 2da Edición en español Editorial Médico Quirúrgica, Buenos Aires (1.963)
- BREWSTER, R.Q.; VANDERWERF, C.A. y Mc. EWEN, W.E.: "CURSO PRÁCTICO DE QUÍMICA ORGÁNICA" 2da Edición. Editorial Alambra S.A. Madrid (1.999)
- ALCÁÑIZ, E. de J.: "LA SEGURIDAD EN LOS LABORATORIOS DE PRÁCTICAS". Comisión de seguridad y salud laboral, Universidad de Alcalá, España (1.995)
- GUZMÁN, B.; IBARRA, M.A.; y otros: "PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN QUÍMICA ORGÁNICA". Primera Edición, Cátedra de Química Orgánica I, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. U.N.T. (2.004)
- BLANCO, A.: "QUÍMICA BIOLÓGICA". 6ta Edición. Editorial El Ateneo (1.993)
- LEHNINGER, A.: "PRINCIPIOS DE BIOQUÍMICA". 2da Edición. Omega Ediciones S.A.. Barcelona (1.993)
- ALBERTS, B., BRAY, D.: "BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS CELULAS" 2da Edición. Ediciones Omega S.A. Barcelona (1.992)
- CURSTIS, H.; BARNES, S.: "BIOLOGÍA" Editorial Médica Panamericana (1.993)
- SIVORI, E.; MONTALDI, E.; CASO, O.: "FISIOLOGÍA VEGETAL" 1ra Edición. Editorial Hemisferio Sur S.A. (1.980)
- ABBOTT, D.: "INTRODUCCIÓN A LA CROMATOGRAFÍA"
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L., BONATO, P.S.: "INTRODUCCIÓN A METODOS CROMATOGRÁFICOS". Apuntes de cátedra sobre Curso de Postgrado realizado en 1.997