

GUIA DE PRÁCTICAS

BIQUÍMICA

PROFESOR: EDUARDO PASTRANA BONILLA

FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
NEIVA, 2009

Valoración Ácido-Base

Objetivos el Alumno:

- 1.- Conocerá y aplicará el método volumétrico para realizar una titulación ácido-base.
- 2.- Determinará el punto de equivalencia de una reacción ácido-base, mediante el uso de una disolución indicadora.
- 3.- Justificará mediante los resultados obtenidos la validez de la reacción química que se establece entre un ácido fuerte y una base fuerte.

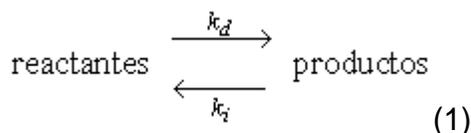
Introducción

Desde los albores de la química experimental, los científicos se dieron cuenta de que algunas sustancias, llamadas ácidos, tienen un sabor agrio y pueden disolver los metales activos como el hierro y el zinc. Los ácidos también ocasionan que ciertos tintes vegetales como el tornasol cambien de color.

En forma semejante, las bases tienen propiedades características, como su sabor amargo y su sensación resbalosa al tacto. Las bases presentan, como los ácidos, la característica de que cambian la coloración de ciertas sustancias vegetales.

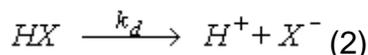
La técnica de titulación ácido-base consiste en emplear un ácido de concentración conocida para valorar una base de concentración desconocida o viceversa. Para determinar el punto final (o de equivalencia) de la reacción se pueden utilizar indicadores colorimétricos o potenciómetros.

Todo **equilibrio químico** es un proceso que, desde un punto de vista mecanístico, incluye la interconversión de varias especies. Algunas de ellas serán **reactantes** y otras **productos** y, en la situación de equilibrio, todas ellas se encuentran presentes en el sistema. Si planteamos una ecuación de tipo cinético, existirá una reacción directa (caracterizada por una constante de velocidad directa k_d) que provocará la generación de productos, mientras que la reacción inversa (caracterizada por una constante de velocidad inversa k_i), provocará la regeneración de los reactantes:

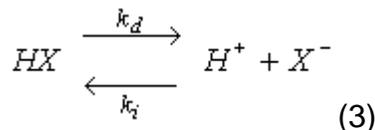


Las soluciones acuosas de ácidos y bases son un ejemplo de sistemas en equilibrio químico. Todos los ácidos, HX , en disoluciones acuosas, se ionizan y forman iones H^+ (o, equivalentemente, iones hidronio, H_3O^+). Así, dependiendo de cuan importante es la ionización, se hablará de:

Ácido fuerte: aquél en que la ionización es completa y, por lo tanto, no existe, en la solución, ácido en forma molecular. En otras palabras, la reacción anterior tendrá un k_d grande o muy grande y un k_i pequeño o nulo:



Ácido débil: aquél en que la ionización es parcial, y los iones pueden regenerar al ácido molecular dentro de la solución:



Por cierto, en este caso, los valores de k_d y k_i no difieren en forma tan marcada como en el ácido fuerte. El equilibrio se caracteriza por una igualación de las velocidades de reacción directa, $r_d = k_d[HX]$, e inversa, $r_i = k_i[H^+][X^-]$, es decir:

$$\frac{r_i}{r_d} = 1 = \frac{k_i[H^+]_{eq}[X^-]_{eq}}{k_d[HX]_{eq}} \Rightarrow K_a = \frac{k_d}{k_i} = \frac{[H^+]_{eq}[X^-]_{eq}}{[HX]_{eq}} \quad (4)$$

donde K_a se conoce como **constante de equilibrio para el ácido débil**.

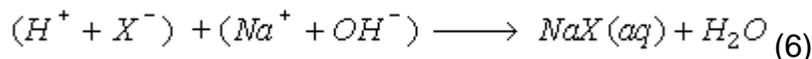
pH de una disolución.

Una forma de medir el grado de ionización de una disolución ácida, es conociendo su concentración de iones H^+ . Una convención muy utilizada es la de expresarla en términos de una escala, llamada de *pH*. Por definición:

$$pH = -\log[H^+] \quad (5)$$

Para disoluciones acuosas no muy concentradas, la escala de *pH* varía entre:
 $1 \leq pH \leq 14$

Si a una disolución ácida, se agrega una disolución de una base, se produce una nueva reacción en que el ácido es neutralizado, formando una sal y H_2O . Un ejemplo conocido de base, es el hidróxido de sodio, $NaOH$. En tal caso, la reacción de neutralización será:



Aquí, hemos colocado los iones provenientes de la ionización del ácido y la base entre corchetes separados y NaX es la sal resultante.

En esta práctica se utilizará una disolución de fenolftaleína como indicador del fin de la reacción, y se trabajará con un ácido y una base fuertes.

Material y equipo

- 1.- Un soporte con varilla.
- 2.- Una pinza doble para bureta.
- 3.- Una bureta de vidrio de 50 ml.
- 4.- Un matraz o erlenmeyer de 250 ml.
- 5.- Una varilla de agitación.
6. Un embudo de filtración,
- 7.- Dos pipetas volumétricas: una de 20 ml., y otra de 10 ml.
- 8.- Una perilla de hule.
- 9.- Papel indicador.
- 10.- Un vaso de precipitados de 100 ml.

Reactivos

- 1.- Agua destilada.
- 2.- Disolución de fenolftaleína.
- 3.- Hidróxido de sodio, 0. 1 M. (preparada por el grupo)
- 4.- Ácido clorhídrico, 0.1 M. (preparada por el grupo)

Nota, los cálculos para la preparación de las soluciones deben ser consignados en el informe.

Desarrollo

- a) Verifique que la llave de la bureta esté cerrada. Vierta en ella disolución de hidróxido de sodio (precaución: el hidróxido de sodio es cáustica, Sí le cae en las manos, lávese con agua en abundancia), empleando el embudo de filtración. Cuando haya adicionado 20 ó 30 ml., coloque un vaso de precipitados limpio debajo de la punta de la bureta y abra la llave completamente hasta que se hayan desalojado, aproximadamente, 10 ml. de la solución de hidróxido de sodio. Cierre la llave de la bureta. La operación anterior es con el objeto de eliminar las burbujas de aire que hayan quedado ocluidas en la misma, durante su llenado. A continuación llene la bureta con más disolución de NaOH hasta la marca de 0 ml.
- b) Coloque la bureta en la pinza doble, la cual ya estará previamente fija en la varilla del soporte.
- c) Vierta 30 ml de la solución de ácido clorhídrico (tenga precaución durante su manejo, es tóxico e irritante), utilizando las pipetas, en un matraz erlenmeyer. Inclíne el Matraz ligeramente y deje resbalar la barrita de agitación por las paredes.
- d) Coloque el matraz o erlenmeyer sobre la parrilla de agitación, colocando entre ésta y aquél una hoja blanca. La hoja se coloca con el objeto de observar mejor el cambio de color del indicador,
- e) Coloque la bureta de tal manera que la punta de ésta quede en el interior del matraz y a 1 cm abajo, aproximadamente, de la boca del mismo.
- f) Añada de dos a tres gotas de la disolución de fenolftaleína al ácido clorhídrico

contenido en el matraz o erlenmeyer.

g). Agite la solución con la varilla de agitación

h) Abra la llave de la bureta para adicionar la solución, de hidróxido de sodio. Se recomienda no abrirla totalmente, ya que de esta manera se tiene un mejor control sobre el volumen de sosa adicionado.

i) Un buen indicio de que el punto de equivalencia está cercano, consiste en que cuando la solución de hidróxido de sodio se pone en contacto con la del ácido clorhídrico, la coloración rosa no desaparece tan rápidamente como al principio de la titulación. Es aconsejable en este momento disminuir la rapidez de goteo, para que en el momento en que la disolución del matraz adquiera un color rosa muy tenue, pero persistente, se cierre la llave de la bureta.

j) Anote el volumen de hidróxido de sodio que se utilizó en la valoración.

k) Introduzca un pedazo de papel pH en la disolución del matraz erlenmeyer, y anote el valor que tiene, mediante la escala de pH. Asimismo, tome los valores de pH, tanto para la solución del hidróxido de sodio como para la del ácido clorhídrico.

Cuestionario

1.- Defina el concepto de un ácido y de una base según las teorías de-

a) Arrhenius.

b) Bronsted-Lowry.

2.- Describa brevemente cómo prepararía-

a) 250 ml de disolución de hidróxido de sodio, 0.1 M, a partir de sosa cáustica en lentejas.

b) 250 ml de disolución de ácido clorhídrico, 0.1 M, a partir de ácido clorhídrico comercial (37.8 % en masa, densidad = 1.19 g/ml).

3.- Escriba la ecuación química de la reacción que se establece entre el hidróxido de sodio y el ácido clorhídrico.

4.- Con base en la ecuación química anterior y el volumen de hidróxido de sodio que se utilizó en la valoración, determine el volumen de ácido clorhídrico necesario para la neutralización de la sosa cáustica.

5.- Llene la tabla siguiente.

Disolución	PH experimental	PH teórico
NaOH, 0.1 M		
HCl, 0.1 M		
NaOH, 0.1 M + HCl, 0.1 M		

6.- Investigue qué es la fenolftaleína, y a que se debe que en medio ácido posea cierta coloración, mientras que en medio básico posea otra.

Bibliografía

1.- Mortimer, E.C. Química. Grupo Editorial Iberoamérica, 1983.

2.- Chang, R. Química. McGraw-Hill, México, 1994.

3.- Brown, T.L., LeMay, H.E. y Bursten, B.E. Química. La Ciencia Central. Prentice & Hall, México, 1991.

Reconocimiento de Proteínas

* * * *

Coagulación de proteínas

Las proteínas, debido al gran tamaño de sus moléculas, forman con el agua soluciones coloidales. Estas soluciones pueden precipitar con formación de coágulos al ser calentadas a temperaturas superiores a los 70 °C o al ser tratadas con soluciones salinas, ácidos, alcohol, etc.

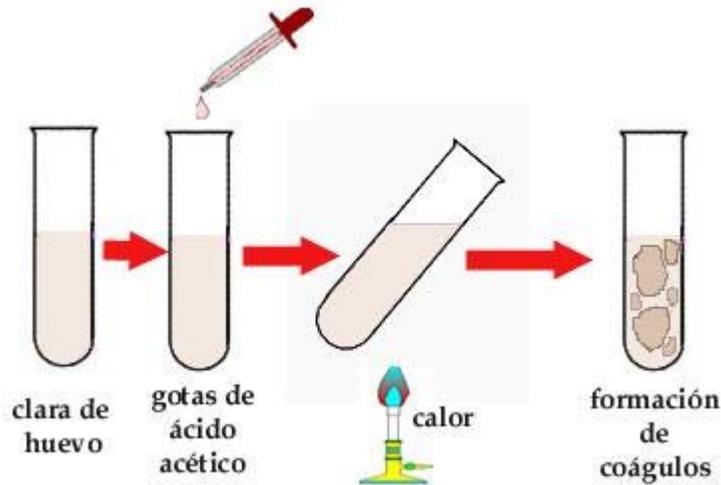
La coagulación de las proteínas es un proceso irreversible y se debe a su desnaturalización por los agentes indicados, que al actuar sobre la proteína la desordenan por la destrucción de su estructura terciaria y cuaternaria.



Técnica

Para ver la coagulación de las proteínas se puede utilizar clara de huevo, para conseguir más volumen puede prepararse para toda la clase una dilución de clara de huevo en agua, de forma que quede una mezcla aún espesa.

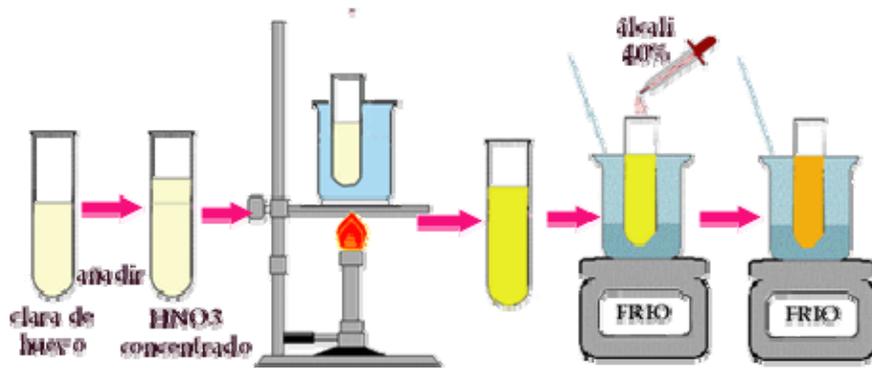
1. Colocar en un tubo de ensayo una pequeña cantidad de clara de huevo.
2. Añadir 5 gotas de ácido acético y calentar el tubo a la llama del mechero.



Reacciones coloreadas

1. *Reacción xantoproteica*

Es debida a la formación de un compuesto aromático nitrado de color amarillo, cuando las proteínas son tratadas con ácido nítrico concentrado. La prueba da resultado positivo en aquellas proteínas con aminoácidos portadores de grupos bencénicos, especialmente en presencia de tirosina. Si una vez realizada la prueba se neutraliza con un álcali vira a un color anaranjado oscuro.



Técnica

1. Poner en el tubo de ensayo de 2 a 3 cc. de solución problema (clara de huevo).
2. Añadir 1 cc. de HNO_3 concentrado.
3. Calentar al baño maría a $100\text{ }^\circ\text{C}$.
4. Enfriar en agua fría
5. Añadir gota a gota una disolución de hidróxido de sodio al 40%.

2. Reacción del biuret

La producen los péptidos y las proteínas, pero no los aminoácidos, ya que se debe a la presencia del enlace peptídico (- CO- NH -) que se destruye al liberarse los aminoácidos.

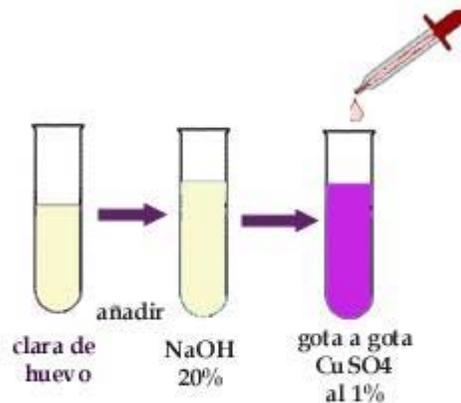
Cuando una proteína se pone en contacto con un álcali concentrado, se forma una sustancia compleja denominada *biuret*, de fórmula:



que en contacto con una solución de sulfato cúprico diluida, da una coloración violeta característica.

Técnica

1. Tomar un tubo de ensayo y poner unos 3 cc. de albúmina de huevo.
2. Añadir 2cc. de solución de hidróxido sódico al 20%.
3. A continuación 4 ó 5 gotas de solución de sulfato cúprico diluida al 1%.
4. Debe aparecer una coloración violeta-rosácea característica.



3. Reacción de los aminoácidos azufrados

Se pone de manifiesto por la formación de un precipitado negruzco de sulfuro de plomo. Se basa esta reacción en la separación mediante un álcali, del azufre de los aminoácidos, el cual al reaccionar con una solución de acetato de plomo, forma el sulfuro de plomo.

Técnica

1. Poner en el tubo de ensayo de 2 a 3 cc. de albúmina de huevo (clara de huevo).
2. Añadir 2 cc. de solución de hidróxido sódico al 20%.
3. Añadir 10 gotas de solución de acetato de plomo al 5%.
4. Calentar el tubo hasta ebullición.
5. Si se forma un precipitado de color negrozco nos indica que se ha formado sulfuro de plomo, utilizándose el azufre de los aminoácidos, lo que nos sirve para identificar proteínas que tienen en su composición aminoácidos con azufre.



Enzimas

Objetivos

1. Poner de manifiesto la presencia de la enzima catalasa en tejidos animales y vegetales.
2. Comprobar la acción de la temperatura sobre la actividad de las enzimas.
3. Comprobar la acción hidrolítica de la amilasa .

Material:

- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Mechero
- Pipetas
- Agua oxigenada
- Solución de lugol
- Soluciones de Fehling
- Baño María
- Agua oxigenada
- Trocitos de hígado
- Trocitos de tomate
- Almidón

1º. Reconocimiento de la catalasa

La catalasa es una enzima que se encuentra en las células de los tejidos animales y vegetales.

La función de esta enzima en los tejidos es necesaria porque durante el metabolismo celular, se forma una molécula tóxica que es el **peróxido de hidrógeno**, H_2O_2 (agua oxigenada).

Esta enzima, la catalasa, lo descompone en agua y oxígeno, por lo que se soluciona el problema.

La reacción de la catalasa sobre el H_2O_2 , es la siguiente:



Reacción A

La existencia de catalasa en los tejidos animales, se aprovecha para utilizar el agua oxigenada como desinfectante cuando se echa sobre una herida. Como muchas de las bacterias patógenas son anaerobias (no pueden vivir con oxígeno), mueren con el desprendimiento de oxígeno que se produce cuando la catalasa

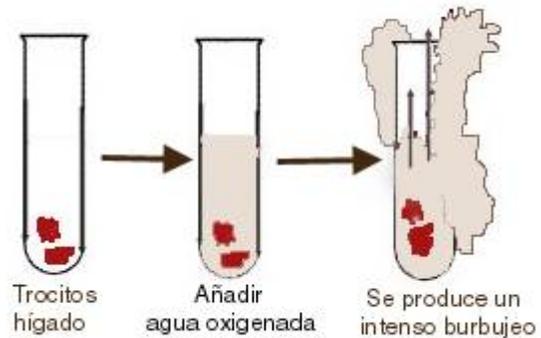
de los tejidos actúa sobre el agua oxigenada.

En esta primera experiencia vamos a demostrar su existencia.

1. Colocar en un tubo de ensayo unos trocitos de hígado.
2. Añadir 5 mililitros de agua oxigenada.
3. Se observará un intenso burbujeo debido al desprendimiento de oxígeno.

Figura 1

(Observa la **reacción A**)



Lourdes Luengo

Figura 1

En esta fotografía puede verse el resultado de la reacción.

Se debe repetir esta experiencia con muestras de distintos tejidos animales y vegetales. Puede ser interesante ir observando la mayor o menor actividad, según el tejido con el que se realice la experiencia.



2º. Desnaturalización de la catalasa

Mediante esta experiencia, vamos a ver una propiedad fundamental de proteínas, que es la desnaturalización.

Ya que la catalasa químicamente es una proteína, podemos desnaturalizarla al someterla a altas temperaturas. Puedes recordarlo en la [práctica de proteínas](#).

Al perder la estructura terciaria, perderá también la función y como consecuencia su función catalítica, por lo que no podrá descomponer el agua oxigenada y no se observará ningún tipo de reacción cuando hagamos la experiencia anterior con muestras de tejidos hervidos.

1. Colocar en un tubo de ensayo varios trocitos de hígado.
2. Añadir agua para hervir la muestra. Hervir durante unos minutos.
3. Después de este tiempo, retirar el agua sobrante.
4. Añadir el agua oxigenada.
5. Observar el resultado.

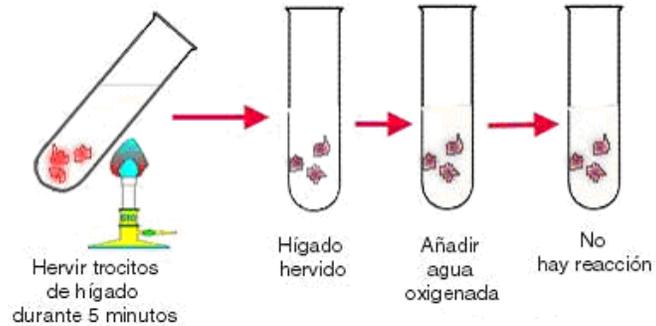


Figura 2

3°. Hidrólisis del almidón

Mediante esta experiencia, vamos a ver la actividad de otra enzima, la **amilasa** o ptialina, presente en la saliva.

Esta enzima actúa sobre el polisacárido **almidón**, hidrolizando el enlace O-glicosídico, por lo que el almidón se terminará por transformar en unidades de glucosa.

Es importante que recuerdes las reacciones características de glúcidos para comprender esta experiencia.

Puedes repasar aquí, las reacciones que nos sirven para identificar polisacáridos (almidón) y las que nos permiten identificar monosacáridos (glucosa).

1. **PROCEDIMIENTO:** Poner en una gradilla cuatro tubos de ensayo, numerados del 1 al 4.
2. Añadir en cada tubo 5 mililitros de una solución diluida de almidón.
3. A los tubos 3 y 4 añadir una pequeña cantidad de saliva.

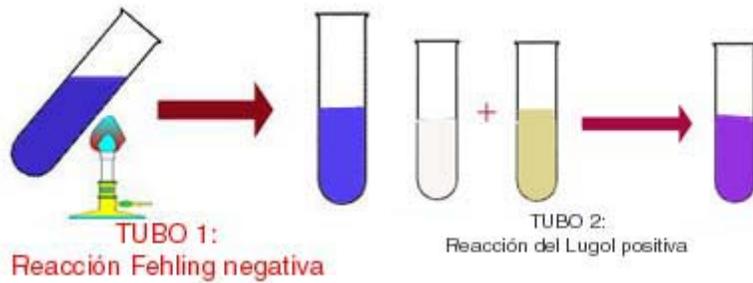
Figura 3

Para ayudarte y formar más saliva, piensa en un limón o en algo que te apetezca mucho comer... Así favoreces que formes más saliva.



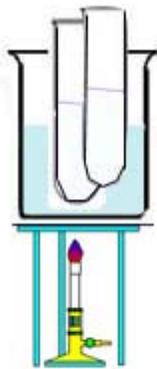
Figura 3

- En el tubo 1, haz la Reacción de Fehling. [Figura 4](#)
- En el tubo 2, realiza la Reacción de Lugol. [Figura 5](#)
- Los resultados son los esperados para un polisacárido como el almidón.



[Figura 4](#)

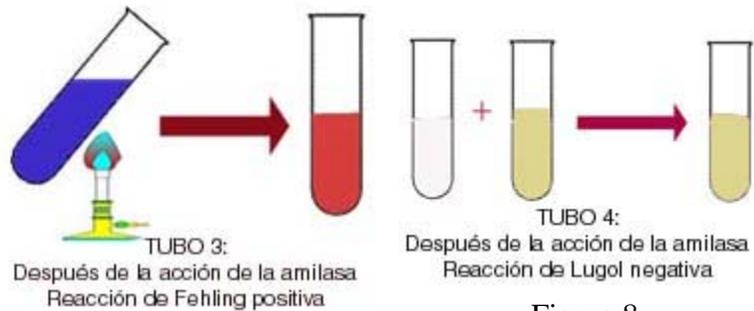
[Figura 5](#)



TUBOS 3 y 4:
Ponerlos al baño María

[Figura 6](#)

Los tubos 3 y 4 que contienen el almidón, al que le hemos echado la saliva, ponerlos en un vaso de precipitados al baño María, controlando la temperatura del agua para que no hierva, ya que lo que intentamos, es que la enzima de la saliva trabaje a unos 37: C. Dejarlo unos 15 minutos [Figura 6](#)



[Figura 7](#)

[Figura 8](#)

- A continuación realizar las siguientes reacciones:
En el tubo número 3, realizar la Reacción de Fehling. [Figura 7](#).
En el tubo número 4, realizar la Prueba del Lugol. [Figura 8](#)
- El resultado positivo obtenido en el tubo de ensayo 3, nos dice que no hay ya almidón, porque la amilasa de la saliva ha hidrolizado el almidón transformándolo en glucosa, por eso la reacción de Fehling es ahora positiva.
- De una manera similar, podemos interpretar el resultado del tubo de ensayo 4, ahora nos da la reacción de polisacáridos negativa, ya que el almidón (polisacárido) se ha hidrolizado.



Fotografía 1



Fotografía 2

En la fotografía número 1, vemos a una estudiante echando la saliva en el tubo que contenía la muestra de almidón. Y bastante trabajo le costó... por el ataque de risa que pasó... En la fotografía número 2, vemos el tubo después de hacerle la Prueba de Fehling, y como puedes ver, no hay duda de que la saliva de la estudiante tiene bastante amilasa, a juzgar por los resultados.

Reconocimiento de Glúcidos

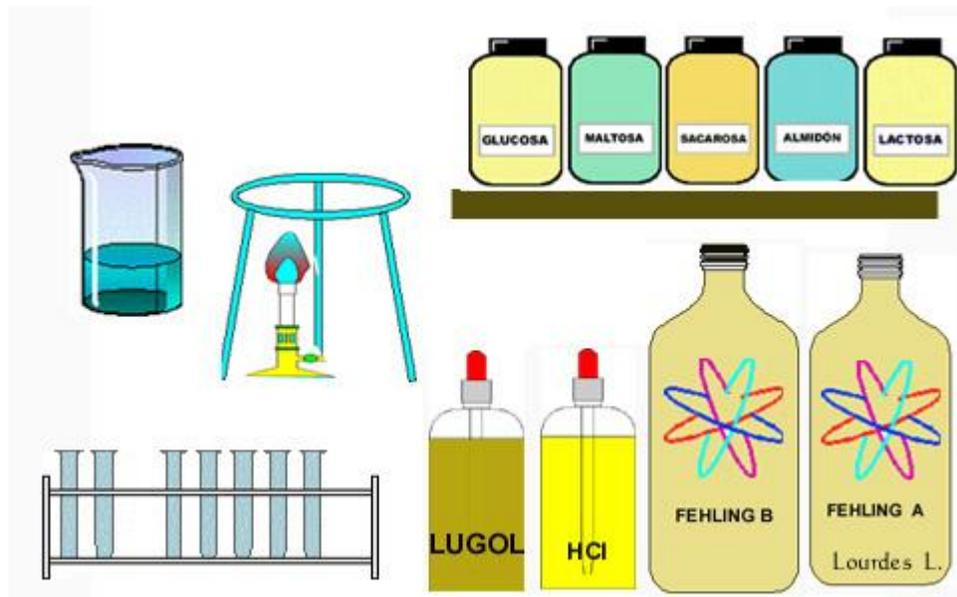
* * * *



Objetivos:

1. Identificación de glúcidos.
2. Hidrólisis del enlace de un disacárido

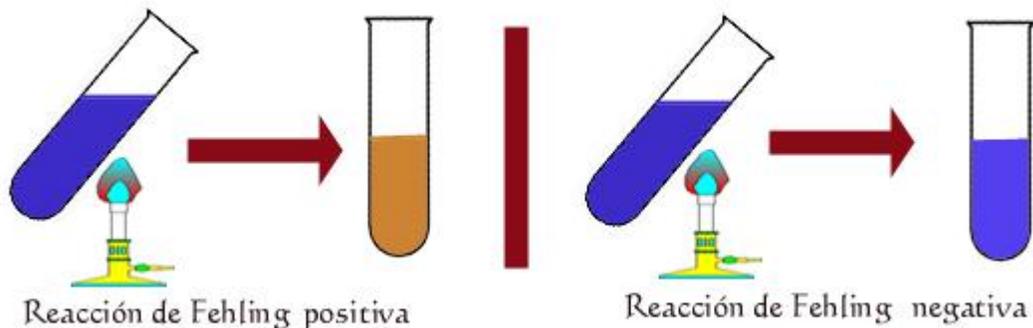
Materiales:



- Muestras de glúcidos:
 - glucosa
 - maltosa
 - lactosa
 - sacarosa
 - almidón.
- Tubos de ensayo, gradilla, vaso para calentar, mechero.
- Reactivo de Fehling A y Fehling B
- Lugol
- HCl diluido y bicarbonato.

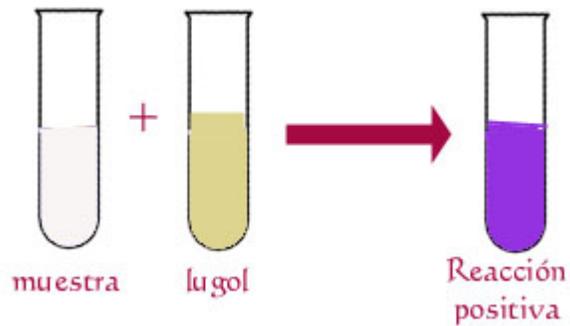
1. Reacción de Fehling:

- Tomar la muestra que se quiera analizar (normalmente una cantidad de 3 cc.)
- Añadir 1 cc. de Fehling A y 1 cc. de Fehling B. El líquido del tubo de ensayo adquirirá un fuerte color azul.
- Calentar el tubo al baño María o directamente en un mechero de Laboratorio.
- La reacción será **positiva** si la muestra se vuelve de **color rojo-ladrillo**.
- La reacción será **negativa** si la muestra queda **azul**, o cambia a un tono azul-verdoso.



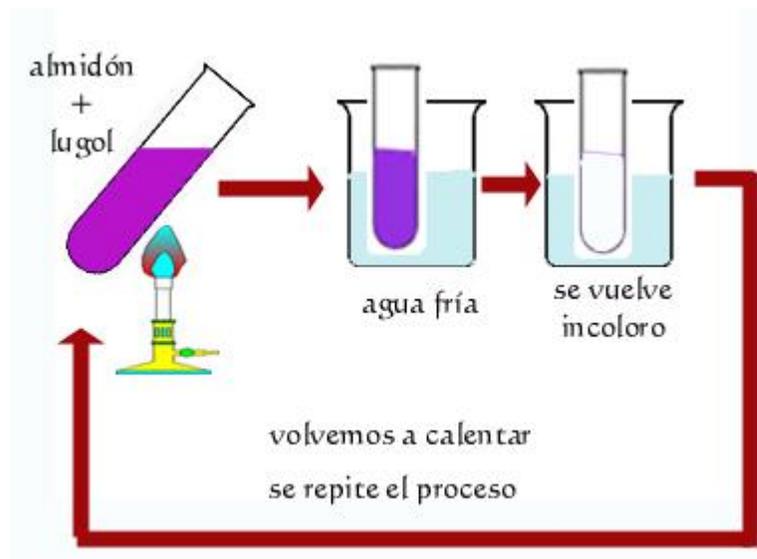
Fundamento: Se basa en el carácter reductor de los monosacáridos y de la mayoría de los disacáridos (excepto la sacarosa). Si el glúcido que se investiga es reductor, se oxidará dando lugar a la reducción del sulfato de cobre (II), de color azul, a óxido de cobre (I), de color rojo-anaranjado.

- ## 2. Reacción del Lugol:
- Este método se usa para identificar polisacáridos. El almidón en contacto con unas gotas de Reactivo de Lugol (disolución de yodo y yoduro potásico) toma un color azul-violeta característico.
- Poner en un tubo de ensayo unos 3 cc. del glúcido a investigar.
 - Añadir unas gotas de lugol.
 - Si la disolución del tubo de ensayo se torna de color azul-violeta, la reacción es positiva.



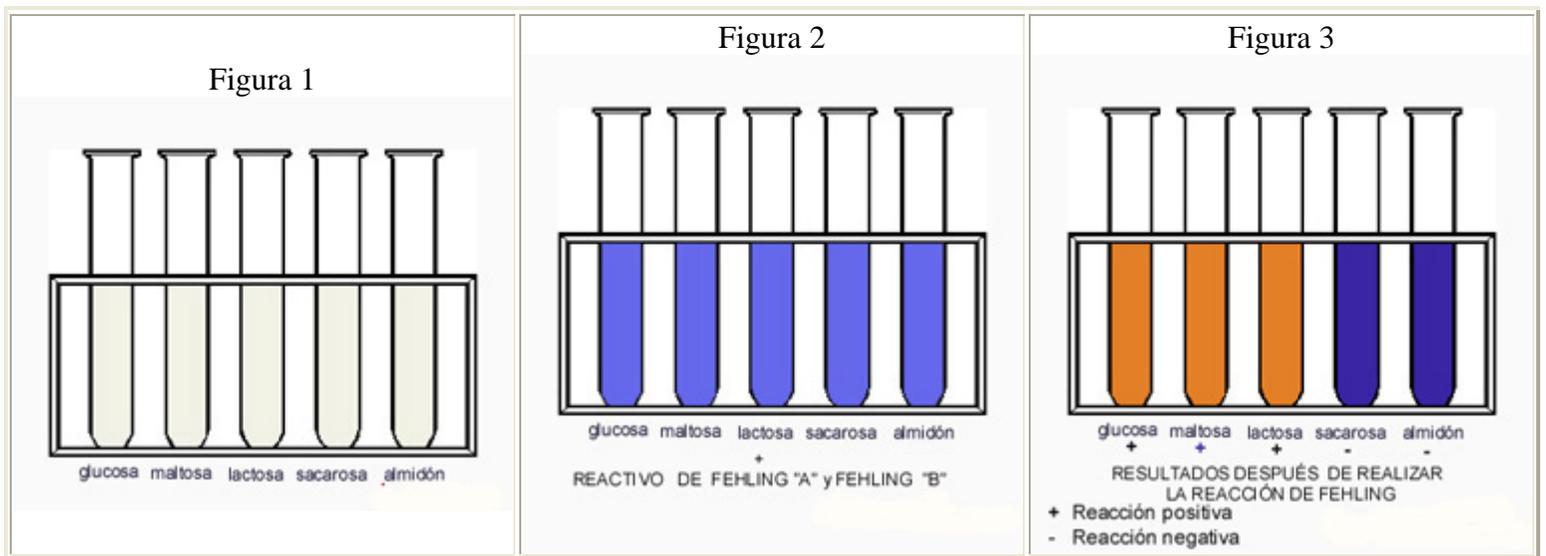
Fundamento: La coloración producida por el Lugol se debe a que el yodo se introduce entre las espiras de la molécula de almidón. No es por tanto, una verdadera reacción química, sino que se forma un **compuesto de inclusión** que modifica las propiedades físicas de esta molécula, apareciendo la coloración azul violeta. Basándote en esta característica te voy a proponer un pequeño juego de magia que te va a sorprender:

- Una vez que tengas el tubo de ensayo con el almidón y el lugol, que te habrá dado una coloración violeta, calienta el tubo a la llama y déjalo enfriar. ¡Sorprendido!.
- Vuelve a calentar y enfriar cuantas veces quieras.... ¿Dónde está el color?.



1º: Investigación de azúcares reductores

- Poner las muestras de glúcidos en los tubos de ensayo. Pueden prepararse soluciones al 1% aproximadamente. Figura 1.
- Realizar la Prueba de Fehling como se indica al principio de página. Figura 2.
- Después de calentar observar los resultados. Figura 3.
- Estos resultados nos indican que los azúcares: glucosa, maltosa y lactosa tienen **carácter reductor**.

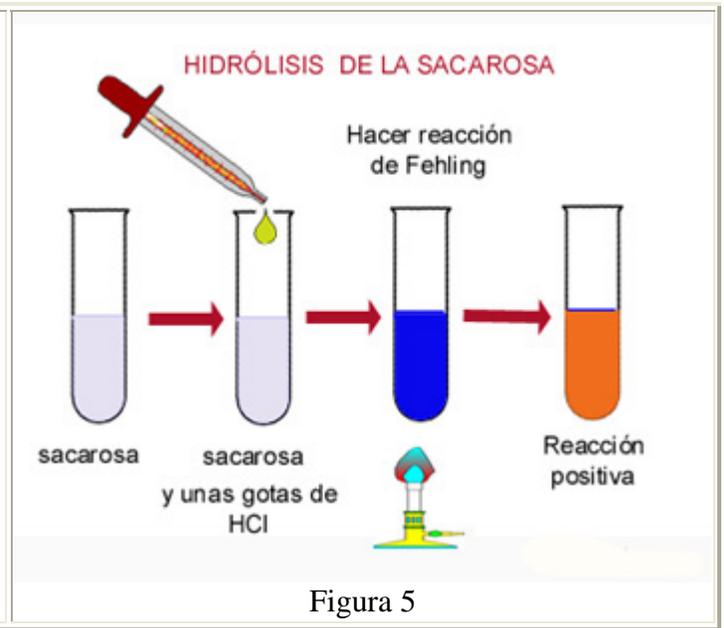
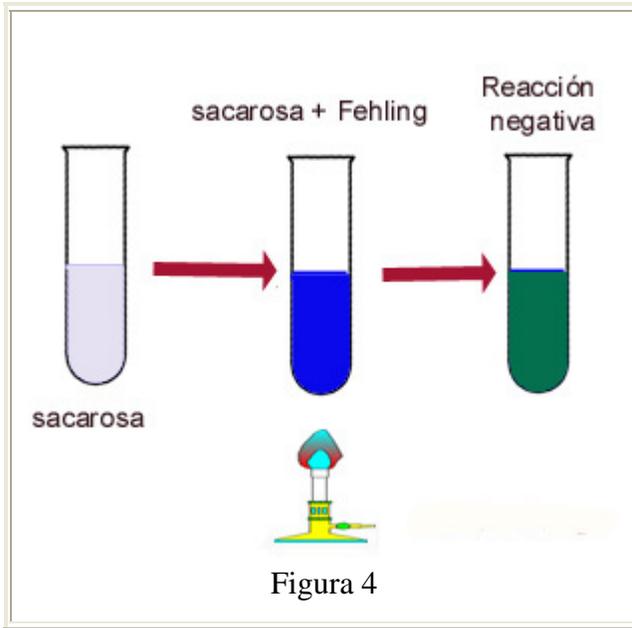


2º: Investigación de azúcares no reductores

Como se veía en la experiencia 1 la sacarosa daba la reacción de Fehling negativa, (Figura 4) por no presentar grupos hemiacetálicos libres.

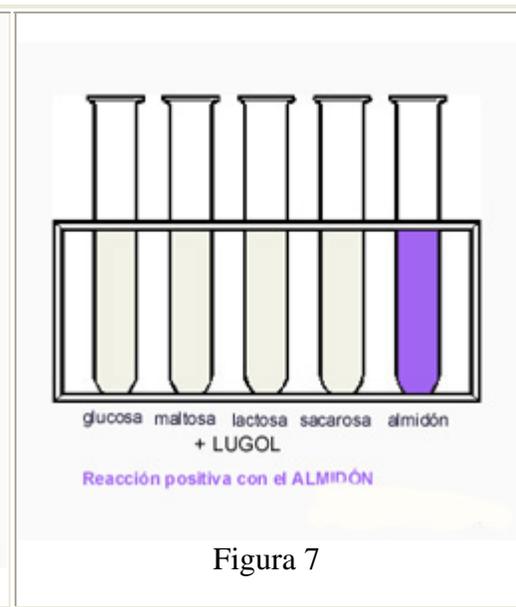
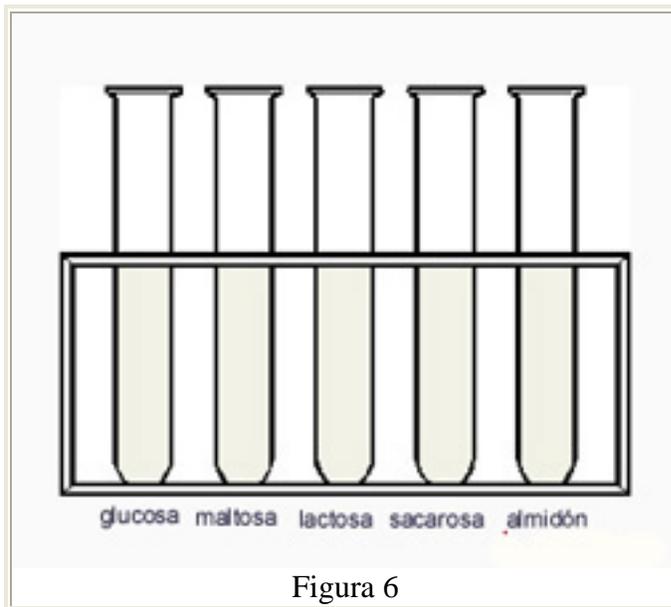
Ahora bien, en presencia del ácido clorhídrico (HCl) y en caliente, la sacarosa se hidroliza descomponiéndose en los dos monosacáridos que la forman (glucosa y fructosa).

Técnica: Tomar una muestra de sacarosa y añadir unas 10 gotas de ácido clorhídrico al 10%. Calentar a la llama del mechero durante un par de minutos. Dejar enfriar y realizar la Prueba de Fehling. Observa el resultado (Figura 5). La reacción positiva nos dice que hemos conseguido romper el enlace O-glucosídico de la sacarosa. (Se recomienda antes de aplicar la reacción de Fehling, neutralizar con bicarbonato, Fehling sale mejor en un medio que no sea ácido.)



3º: Investigación de polisacáridos (almidón)

El polisacárido almidón se colorea de azul-violeta en presencia de yodo, debido no a una reacción química, sino a la fijación del yodo en la superficie de la molécula del almidón, fijación que sólo tiene lugar en frío.



Técnica:

- Colocar en una gradilla muestras de distintos glúcidos. Figura 6
- Añadir 5 gotas de Lugol en cada uno de los tubos de ensayo.
- Observar los resultados. Figura 7.
- Con este método puede identificarse el almidón.

IV) Polarimetría

La actividad óptica de los azúcares proporciona un método para medir su concentración en solución. La precisión del método depende de que no haya otras especies ópticamente activas.

La magnitud de la rotación angular del plano de luz polarizada producida por soluciones de sustancias ópticamente activas depende de:

- La longitud de onda de la luz empleada, siendo mayor cuanto más corta es la longitud de onda
- El camino óptico de la luz que atraviesa la solución, siendo directamente proporcional a dicho camino óptico (l)
- La naturaleza de la sustancia ópticamente activa y su concentración. No hay una ley general de comportamiento. Generalmente se trabaja con concentraciones del orden del 10-15% de sustancia ópticamente activa
- La temperatura. Los coeficientes de temperatura pueden ser positivos o negativos. Las determinaciones se suelen hacer a 20°C. La glucosa prácticamente mantiene su poder rotatorio en +52,5 entre 0 y 100°C, en cambio la fructosa varía significativamente su poder rotatorio con la temperatura (pasa de ser $[\alpha]^{20}_D = -92,5$ (20°C) a $[\alpha]^{87}_D = -52,5$ (87°C), valor igual pero de signo contrario al de la glucosa, o sea que a 87°C se anula el poder rotatorio del azúcar invertido)
- La naturaleza del solvente. Para algunas sustancias ópticamente activas, varía con el solvente usado. Cuando no se especifica el solvente se supone que la sustancia está disuelta en agua
- Mutarrotación: muchos azúcares presentan el fenómeno de mutarrotación, debido a la existencia de 2 estereoisómeros que difieren en su rotación

específica. Cuando se cristaliza de una solución se separa sólo una de las formas, pero cuando el estereoisómero separado por cristalización se disuelve, es parcialmente convertido en el otro estereoisómero hasta llegar a un equilibrio con la mezcla de los dos. Ese equilibrio estará determinado por la concentración, la temperatura y el solvente, y requiere un cierto tiempo para alcanzarse. Por eso las soluciones recientemente preparadas de azúcares van variando lentamente su poder rotatorio.

Ej.: α -glucosa $[\alpha]^{20}_D = +109,6$

β -glucosa $[\alpha]^{20}_D = +19,8$

equilibrio de ambas formas glucosa $[\alpha]^{20}_D = +52,6$

El equilibrio entre las formas se puede alcanzar rápidamente por calentamiento de la solución a ebullición (lo cual no es muy recomendable al trabajar con azúcares por su termolabilidad y por eventuales reacciones que pueden ocurrir en la muestra) o por el agregado de una pequeña cantidad (gota o gotas según el volumen de solución) de amoníaco concentrado.

- Presencia de ácidos, álcalis y sales neutras: la rotación del azúcar invertido es afectada por muchas sustancias disueltas (HCl, sales inorgánicas). El HCl es el agente de inversión más comúnmente usado y su efecto es aumentar a un valor mayor la rotación negativa. La influencia parece aumentar a mayor concentración de ácido, por lo que la concentración de HCl debe controlarse con cuidado. Un efecto similar lo producen las sales neutras (NaCl, NH_4Cl , CaCl_2 , $\text{C}_2\text{O}_4\text{K}_2$, etc.). El efecto tanto del HCl como de las sales parece deberse a la capacidad de solvatación de las mismas, lo que produciría un efecto similar a un aumento de la concentración del azúcar en la solución.

La rotación de la sacarosa también es afectada por sales.

El acetato básico de plomo (un precipitante de proteínas comúnmente usado) produce una disminución de la levorrotación de la fructosa o levulosa y del azúcar invertido. Se formaría un levulosato de plomo soluble, dextrógiro respecto de la fructosa. No se descarta que dicho compuesto precipite también, en parte. Es por eso que debe eliminarse el exceso de plomo usado como defecante. Acidificando ligeramente (por ejemplo con un ligero exceso de ácido acético después de la neutralización siguiente a la inversión clorhídrica) se anula prácticamente el efecto del plomo sobre la levulosa.

En general los hidróxidos de metales alcalinos y alcalino térreos y todas las sales de reacción alcalina causan una disminución en la rotación específica, resultante del efecto del OH^- sobre los azúcares.

Fórmulas: $\alpha = k.c.l$ a una longitud de onda determinada y a temperatura constante

siendo α ángulo de rotación
k rotación específica o poder rotatorio específico
l camino óptico [dm]
c concentración [g/ml]

k representa en este caso el ángulo que se observaría con un camino óptico de 1 dm si la solución contuviese 1 g de sustancia activa por ml. Ese valor se suele representar como $[\alpha]$, y cuando está referido a la línea D de la luz de sodio y a la temperatura de 20°C, se representa $[\alpha]^{20}_D$.

Cuando la concentración de la sustancia activa se da en g/100 ml, el poder rotatorio específico estará representado por:

$$[\alpha]^{20}_D = 100 \alpha / l \text{ g}$$

siendo g sustancia ópticamente activa [g/100 ml]
 α desviación angular $[\alpha]$

Un valor que se usa corrientemente es ρ , que representa la rotación producida por 1 gr de sustancia ópticamente activa disuelta en 100 ml de solución, cuando es atravesada por luz polarizada, para un camino óptico de 2 dm, a 20°C y para la línea D del sodio.

Si $g = 1$ y $l = 2$, $[\alpha]^{20}_D = 50 \alpha$ y $\alpha = [\alpha]/50 = \rho$

Medida: Se utilizará un polarímetro de media sombra ECYT.

La luz penetra en el sistema y atraviesa dos discos polaroid que cumplen el rol de polarizador y analizador, respectivamente. La escala, que es de 180 mm de diámetro, está dividida en grados y posee un vernier que permite medir hasta 0,05 α . Dos soportes en V permiten localizar los tubos sobre el eje óptico. Observando a través del ocular y haciendo rotar el analizador se encuentra que existen dos posiciones de extinción (una para cada hemicampo) y una posición intermedia en la que ambos hemicampos aparecen igualmente en penumbra. Esta posición del analizador es la que se toma para las lecturas. Si se coloca una sustancia ópticamente activa (como una solución de azúcar) entre el polarizador y el analizador, el plano de vibración de la luz polarizada girará en alrededor de la dirección de propagación y en lugar de penumbra se

observará uno o ambos hemicampos iluminados. Para lograr nuevamente la igualdad de penumbra de los campos debe girarse el analizador un ángulo α igual y opuesto al ángulo de rotación del haz polarizado.

Puesta en servicio del equipo:

- Coloque el equipo razonablemente nivelado sobre la mesa de trabajo.
- Limpie la lupa de observación de la escala.
- Ubique la fuente de luz detrás del polarizador.
- Limpie cuidadosamente las ventanas de vidrio de uno de los tubos del equipo. Llénelo con agua destilada, cuidando que no quede ninguna burbuja de aire atrapada en el interior del mismo. Esta operación debe realizarse con suma atención.
- Observe a través del tubo a fin de controlar el tamaño de las burbujas ocultas. Si éste resulta superior al tamaño máximo admitido por la cámara e interfiere la visión a través del tubo, repita la operación.
- Coloque el tubo y la cubeta en posición en el polarímetro.
- Busque una imagen del campo uniformemente en penumbra.
- Verifique el cero del instrumento. En caso de detectar un error de cero lea el valor α_0 y téngalo en cuenta en las lecturas posteriores. (Puede ajustarse el cero girando el analizador desde el anillo ocular, sin girar el disco graduado).

Determinación de la concentración de azúcar en una muestra:

- Verifique el cero del instrumento como se indicó anteriormente.
- Lave cuidadosamente el tubo. Coloque la solución incógnita cuidando que no queden burbujas de aire ocluidas. Si observa suciedad, vacíe, limpie y llene nuevamente el tubo. Si observa burbujas proceda tal como se indicó anteriormente.
- Introduzca el tubo en el instrumento. Rote el círculo graduado hasta tener el campo uniformemente en penumbra. Anote el valor del ángulo.
- Mida la longitud del tubo con un calibre.
- Calcule la concentración con la fórmula correspondiente o utilizando una curva de calibración.

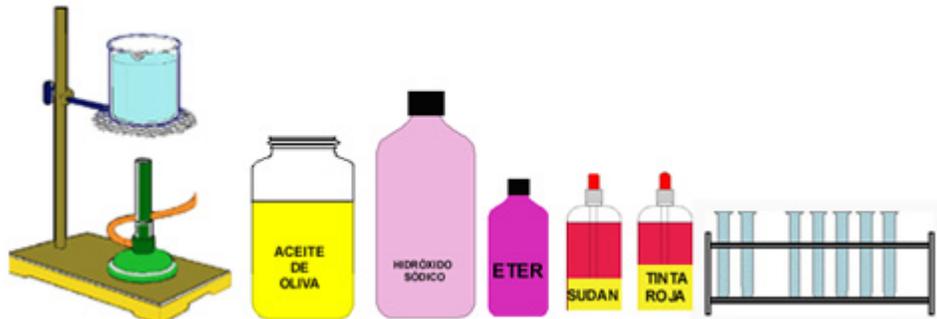
Reconocimiento de lípidos

Objetivos:

- Poner de manifiesto ciertas propiedades de los lípidos, algunas de las cuales pueden servirnos para su identificación.

Materiales:

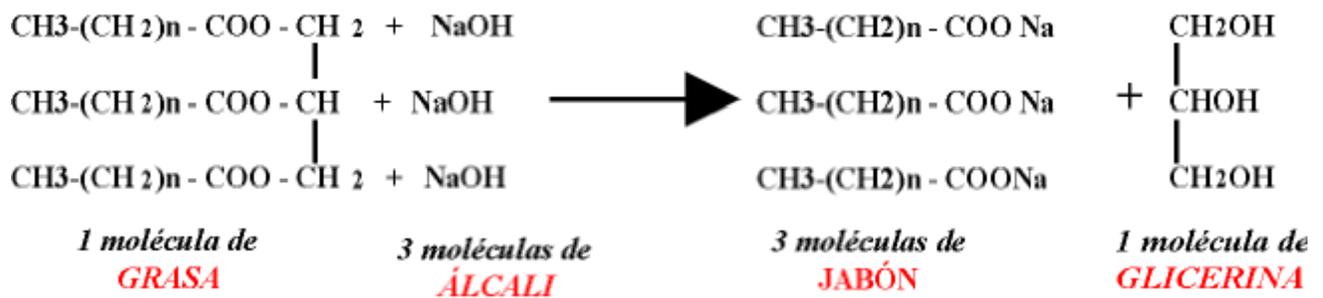
- Baño María.
- Mechero.
- Gradillas con tubos de ensayo
- Vaso de precipitado con agua
- Aceite vegetal
- Solución de Sudán III en frasco cuentagotas
- Tinta roja en frasco cuentagotas
- Solución de Hidróxido sódico al 20%.
- Éter o cloroformo.



Saponificación

Las grasas reaccionan en caliente con el hidróxido sódico o potásico descomponiéndose en los dos elementos que la forman: *glicerina* y los *ácidos grasos*. Estos se combinan con los iones sodio o potasio del hidróxido para dar *jabones*, que son en definitiva las *sales sódicas o potásicas de los ácidos grasos*.

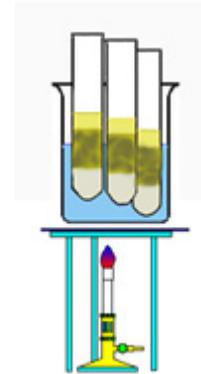
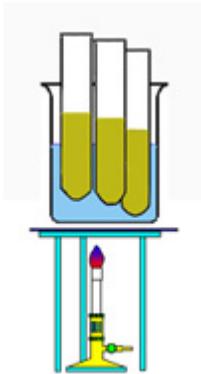
La reacción es la siguiente:



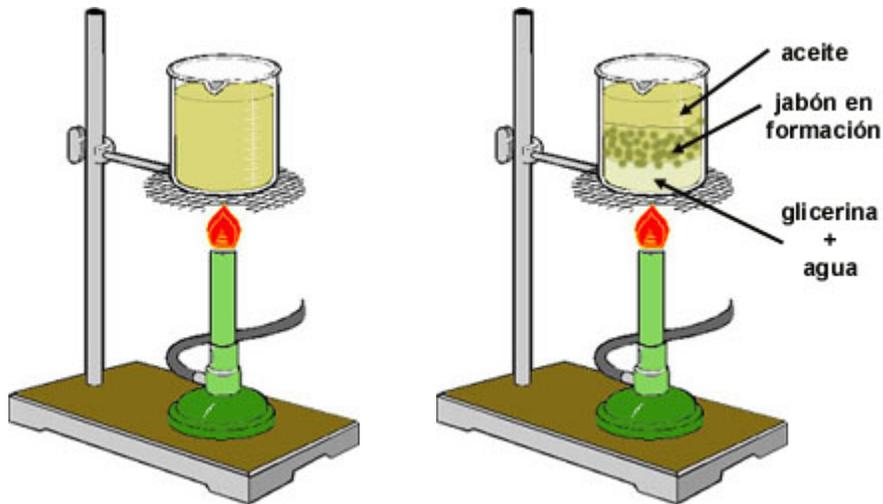
Técnica:

Proceder de la siguiente forma:

1. Colocar en un tubo de ensayo 2cc de aceite vegetal y 2cc de una solución de hidróxido sódico al 20%.
2. Agitar enérgicamente y colocar el tubo al baño María de 20 a 30 minutos.
3. Transcurrido este tiempo, se puede observar en el tubo tres capas: la *inferior* clara, que contiene la solución de sosa sobrante junto con la glicerina formada; la *superior* amarilla de aceite no utilizado, y la *intermedia*, de aspecto grumoso, que es el jabón formado.



Nota: Cuando ya se ha visto como se forma el jabón, se puede ir echando en un vaso de precipitado el contenido de los tubos de ensayo, se remueve bien y se deja calentar hasta que se haga un buen trozo de jabón.



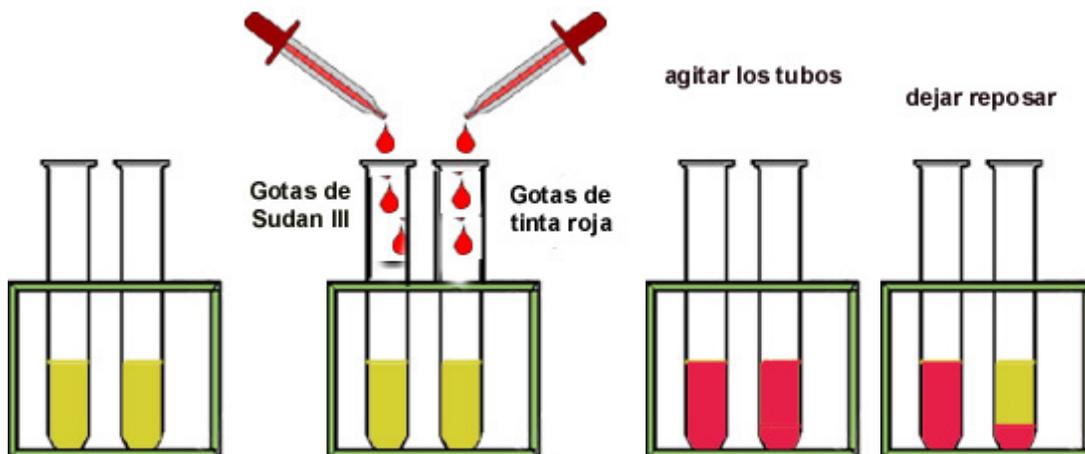
Tinción

Las grasas se colorean en rojo anaranjado por el colorante denominado Sudan III.

Técnica:

Proceder así:

1. Disponer en una gradilla dos tubos de ensayo, colocando en ambos 2cc de aceite.
2. Añadir a uno, 4 o 5 gotas de solución alcohólica de Sudán III. Al otro tubo añadir 4-5 gotas de tinta roja. Agitar ambos tubos y dejar reposar.
3. Se observará en el tubo al que se le añadió Sudán, que todo el aceite aparece teñido. En cambio en el frasco al que se añadió tinta roja, la tinta se habrá ido al fondo y el aceite aparecerá sin teñir.



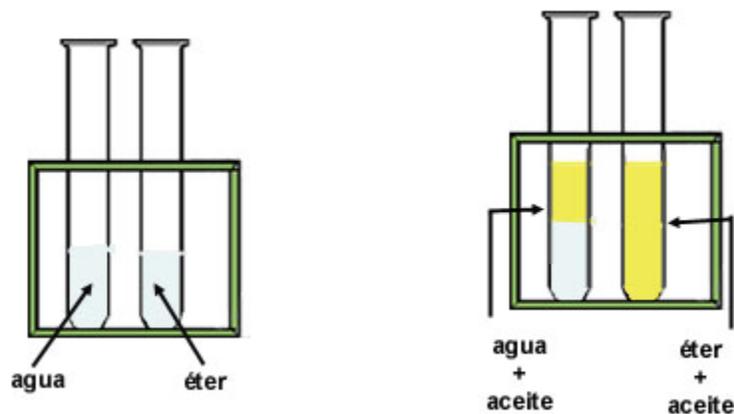
Solubilidad

Las grasas son insolubles en agua. Cuando se agitan fuertemente en ella se dividen en pequeñísimas gotitas formando una "emulsión" de aspecto lechoso, que es transitoria, pues desaparece en reposo, por reagrupación de las gotitas de grasa en una capa que por su menor densidad se sitúa sobre la de agua. Por el contrario, las grasas son solubles en los llamados disolventes orgánicos como el éter, benceno, xilol, cloroformo, etc.

Técnica:

Proceder de la siguiente manera:

1. Tomar dos tubos de ensayo y poner en cada uno de ellos 2-3 cc de agua y en el otro 2-3cc de éter u otro disolvente orgánico.
2. Añadir a cada tubo 1cc de aceite y agitar fuertemente. Observar la formación de gotitas o micelas y dejar en reposo. Se verá como el aceite se ha disuelto en el éter y en cambio no lo hace en el agua, y el aceite subirá debido a su menor densidad.



Reconocimiento de Sales minerales

Objetivos:

- Demostrar que en la composición de la materia viva entran a formar parte las sales minerales.
- Conocer el proceso de la coagulación de la leche, como técnica para poder obtener el suero de la leche (fracción líquida) en el que quedan fundamentalmente las sales que pretendemos identificar.

Material:

- Vaso de precipitado
- Matraz o probeta
- Embudos con papel de filtro
- Gradilla con tubos de ensayo
- Pinzas para calentar tubos
- Mechero
- Leche
- Ácido acético
- Ácido nítrico
- Solución molibdato amónico al 1%
- Solución de nitrato de plata al 1%.
- Solución de oxalato amónico al 1%.

Técnica:

1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.
 - Para determinar la presencia de sales es interesante utilizar el *suero de leche*.
Para conseguirlo, podemos realizar esta sencilla receta:
 - Colocar en un vaso de precipitado unos 250 cc. de leche.
 - Añadir unas gotas de ácido acético y esperar unos minutos. **FIGURA 1**
 - Al producirse el "cuajado" filtrar por papel, para obtener el suero. **FIGURA 2**
 - Recoger el filtrado en un matraz o probeta. **FIGURA 3**



FIGURA 1



FIGURA 2



FIGURA 3

2.

3. REALIZACIÓN DE LAS REACCIONES.

- Preparar una gradilla con tres tubos de ensayo.
- En cada tubo de ensayo poner unos 3cc. de suero de leche. FIGURA 4
- Numerar los tubos con 1, 2 y 3. FIGURA 5



FIGURA 5



FIGURA 6

-
- Al tubo de ensayo número 1, añadir 1cc. de solución de nitrato de plata.
- Al tubo de ensayo número 2, añadir 2cc. de solución de molibdato amónico al 1%, tratado con ácido nítrico concentrado en cantidad suficiente para que el ácido molíbdico que se forma se redisuelva. Calentar el tubo al baño María.

- Al tubo de ensayo número 3 unas 10 gotas de solución de oxalato amónico al 1%.

4. RESULTADOS OBTENIDOS.

- La reacción en el tubo de ensayo número 1 nos sirve para identificar los **cloruros**. La explicación es la siguiente:
 - Los cloruros en contacto con una solución de nitrato de plata forman cloruro de plata, que da lugar a un precipitado blanco de aspecto lechoso.
- La reacción en el tubo de ensayo número 2 nos va a permitir identificar la presencia de **fosfatos**. La explicación es la siguiente:
 - Los fosfatos en presencia de molibdato amónico, forman un precipitado amarillo de fosfomolibdato amónico.
- La reacción en el tubo de ensayo número 3 nos sirve para identificar el **calcio**. Esto es debido a:
 - El calcio al reaccionar con el oxalato amónico forma un precipitado blanco cristalino de oxalato amónico.

En la **FIGURA 6** podemos ver el resultado en los tres tubos de ensayo.

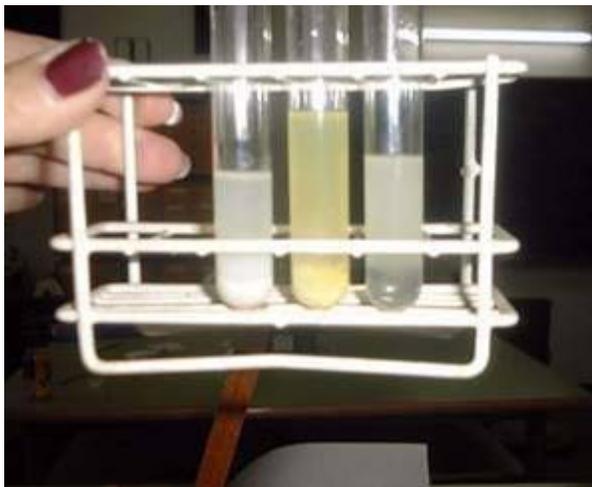


FIGURA 6

Extracción de ADN

Objetivos:

1. El objetivo fundamental de esta práctica es utilizar unas sencillas técnicas para poder extraer el ADN de un tejido animal y por el aspecto que presenta, confirmar su estructura fibrilar.
2. A partir de la longitud enorme de las fibras también se confirma que en el núcleo el ADN se encuentra replegado.

Materiales:

- Hígado de pollo
- Varilla de vidrio
- Mortero
- Vasos de precipitado
- Pipeta
- Probeta
- Alcohol de 96:
- Cloruro sódico 2M
- SDS
- Arena
- Trocito de tela para filtrar



Técnica:

1. Triturar medio hígado de pollo en un mortero. Añadir arena para que al triturar se puedan romper las membranas de y queden los núcleos sueltos. [FIGURA 1](#)
2. Añadir al triturado, 50 centímetros cúbicos de agua. Remover hasta hacer una especie de papilla o puré. [FIGURA 2](#)



[FIGURA 1](#)



[FIGURA 2](#)

3. Filtrar varias veces sobre una tela para separar los restos de tejidos que hayan quedado por romper. [FIGURA 3](#)
4. Medir el volumen del filtrado con una probeta. [FIGURA 4](#)



[FIGURA 3](#)

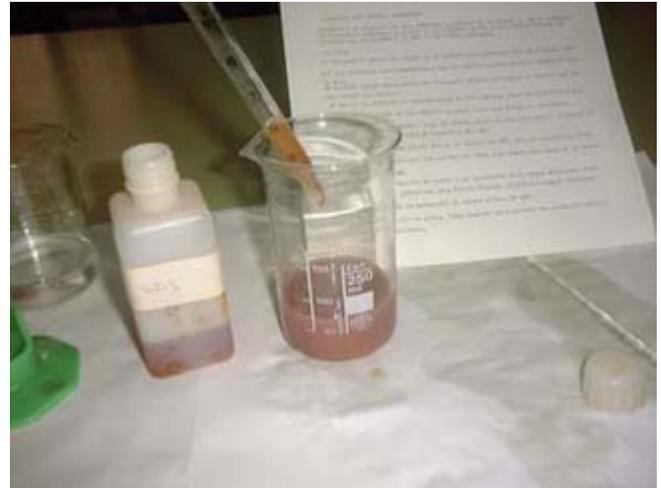


[FIGURA 4](#)

5. Añadir al filtrado un volumen igual de cloruro sódico 2M. Con esto conseguimos producir el estallido de los núcleos para que queden libres las *fibras de cromatina*. [FIGURA 5](#)
6. A continuación se añade 1 centímetro cúbico de SDS. (Nota: Si no se dispone de este producto puede sustituirse por un detergente de vajillas, tipo axion o similar.). La acción de este detergente es formar un complejo con las proteínas y separarlas del ADN. Así nos quedará el ADN libre de las proteínas que tiene asociadas. [FIGURA 6](#)



[FIGURA 5](#)



[FIGURA 6](#)

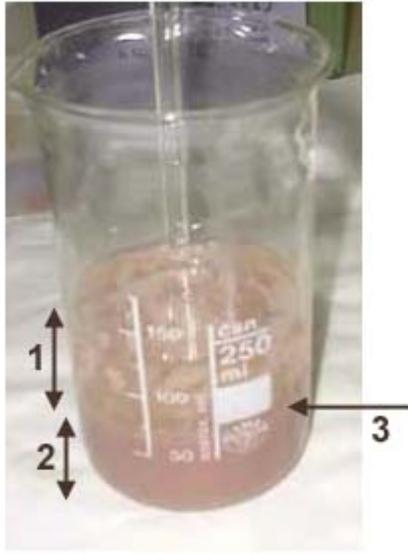
7. Añadir mediante una pipeta 50 centímetros cúbicos de alcohol de 96:.
Hay que hacerlo de forma que el alcohol resbale por las paredes del vaso y se formen dos capas. En la interfase, precipita el ADN. [FIGURA 7](#)
8. Introducir una varilla de vidrio e ir removiendo en la misma dirección. En la fotografía número 9 se indica con mayor precisión las capas. Sobre la varilla se van adhiriendo unas fibras blancas, visibles a simple vista, que son el resultado de la agrupación de muchas fibras de ADN. [FIGURA 8](#)



[FIGURA 7](#)



[FIGURA 8](#)



1. capa de alcohol
2. capa del filtrado
3. Interfase con ADN

[FIGURA 9](#)

Esta práctica puede completarse con una tinción específica de ADN.

Tenemos que tomar una muestra de las fibras que se van depositando sobre la varilla de vidrio y depositarlas sobre un porta.

Teñir durante unos minutos con un colorante básico.

Observar al microscopio.

PRÁCTICAS DE ENOLOGÍA

- 1.- Introducción.
- 2.- Determinación de la acidez total de un vino.
- 3.- Determinación de la presencia de ácido málico, tartárico, Succínico y Láctico por cromatografía sobre papel.
- 4.- Fórmulas de los principales ácidos del vino.

1.- Introducción.

En la realización de experiencias de laboratorio, la mayoría de las veces, el alumno demuestra cierto desencanto por no encontrar el reflejo de dicha práctica en la realidad que le circunda. Este hecho conduce al desinterés y la desmotivación que captamos los profesores cuando empezamos a enseñar las bases teóricas de la Química.

El objetivo del presente artículo es acercar a los alumnos algunos fundamentos del análisis químico aplicado al análisis de vinos, aprovechando que el vino es uno de los productos más abundantes e importantes en nuestra región de Castilla-La Mancha. Basta recordad que esta región es una de las de mayor extensión y producción de vino a escala mundial.

En base a los fundamentos teóricos aprendidos en clase sobre valoraciones y cromatografía sobre papel, describimos dos de las prácticas que se realizan más habitualmente en nuestras bodegas.

2.- Determinación de la acidez total de un vino.

Introducción:

El vino es en realidad una disolución ácida diluida. Sin los ácidos tendría un sabor muy insípido y su estabilidad sería mínima, llegando incluso a ser atacado por muchos microorganismos que producirían fermentaciones no deseables. Incluso el color sería muy pobre.

En la bodega se debe conocer en todo momento la acidez del vino a fin de determinar la cantidad adecuada de dióxido de azufre que se ha de añadir.

La acidez total se define como la suma de los ácidos en estado libre que existen en el vino y que sean valorables, cuando se realiza la neutralización hasta $\text{pH}=7,0$, por adición de una disolución alcalina. Generalmente es del orden de 5 g/l expresada en ácido tartárico, o 3,25 g/l expresada en ácido sulfúrico.

Los ácidos que se valoran son de naturaleza orgánica, siendo los principales:

- Ácido tartárico.
- Ácido málico.
- Ácido láctico.
- Ácido cítrico.
- Ácido succínico.

La determinación de la acidez total se realiza en la práctica en base a una valoración ácido-base, utilizando como reactivo valorante una base fuerte como es el hidróxido sódico (NaOH), y tomando como punto de equivalencia $\text{pH}= 7,0$. Para detectar dicho punto utilizaremos el indicador "azul de bromotimol", cuyo intervalo de viraje se encuentra comprendido entre los valores de pH (6,0-7,5) y la variación es de color amarillo a azul-verdoso.

Material utilizado:

- Bureta graduada y soporte.
- Matraz erlenmeyer de 200 ml.

Reactivos:

- Disolución de NaOH 0,1 N exenta de carbonatos.
- Azul de bromotimol.

Técnica:

En un erlenmeyer de 200 ml. se introducen 10 ml. de vino blanco exactamente medidos y se diluyen con 50 ml de agua destilada libre de anhídrido carbónico.

Se añaden unas gotas del indicador "azul de bromotimol", con lo que la muestra adquiere un color amarillo-verdoso (en caso de muestras con gran intensidad de color es muy probable que no se distinga por confundirse con el color del vino).

Con la bureta ya enrasada de disolución de NaOH 0,1 N se empieza la valoración añadiendo gota a gota el reactivo valorante al matraz que contiene la muestra, tratando de agitar para conseguir una mezcla lo más íntima entre el reactivo valorante y el vino. Seguiremos repitiendo el proceso hasta que el color de la muestra vire a verde-azulado, punto en el cual consideramos que se ha alcanzado el punto de equivalencia. En este momento se leerán el volumen gastado de NaOH.

Cálculos:

$$V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}} = V_{\text{muestra}} \cdot N_{\text{muestra}}$$

$$N_{\text{muestra}} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}}}{V_{\text{muestra}}}$$

$$\text{Ácido tartárico (g/l)} = 150,07 \cdot N_{\text{muestra}}$$

$$M_m(\text{Ácido tartárico}) = 150,07 \text{ g/mol}$$

Notas:

Se pueden usar otros indicadores que tengan un intervalo de viraje próximo a pH=7,0, tales como el "rojo cresol" (pk=7,7). No obstante, el mejor seguimiento de la valoración se puede hacer utilizando un pH-metro de precisión tomando medidas del valor del pH en cada momento con el fin de representar la curva de valoración.

En el vino, también existen otros ácidos tales como el ácido sulfuroso, -añadido en la vendimia y el ácido carbónico originado en la fermentación-. Mientras que el primero no influye apreciablemente en los resultados, el segundo sí, llegando incluso a aumentarlos significativamente. Para evitar esta interferencia, se suele agitar el vino a temperatura ambiente, sometiéndole a

vacío parcial hasta que cese el desprendimiento de anhídrico carbónico. También se puede hervir el vino durante un minuto para conseguir el mismo resultado.

3.- Determinación de la presencia de ácido málico, tartárico, succínico y láctico por cromatografía sobre papel.

Introducción:

Los ácidos málico y tartárico son ácidos específicos de la uva y del vino y disminuyen durante la fermentación. Ambos pueden ser atacados por las bacterias lácticas.

En el caso del ácido tartárico, el vino se vuelve insípido adquiriendo al mismo tiempo un color apagado, fenómeno que se conoce con el nombre de "enfermedad de la vuelta".

En el caso del ácido málico, el ataque por bacterias lácticas da lugar a lo que se conoce por "fermentación maloláctica", produciéndose como productos ácido láctico y dióxido de carbono. El vino entonces adquiere más suavidad al paladar y menor acidez.

El ácido succínico acompaña siempre a la fermentación del azúcar del vino, y la cantidad producida no evoluciona a lo largo del proceso de conservación del vino.

El ácido láctico también tiene su origen en la fermentación alcohólica, aunque también se produce en la fermentación láctica de los azúcares, del glicerol y de otros componentes.

En las bodegas, esta práctica se utiliza para realizar un seguimiento del nivel de ácido málico durante la fermentación maloláctica posterior a la fermentación alcohólica.

Material:

- Papel Whatman nº1 cortado en tiras.
- Recipiente cromatográfico.

Reactivos:

- Solvente: Butanol o mezcla de 200 ml. de propanol, 200 ml de agua y 21,7 ml de ácido fórmico al 90%.

- Solución reveladora: Disolución acuosa de verde de bromotimol al 15%.

Técnica:

Se coloca una gota del vino blanco que vamos a analizar a 1 cm. del borde inferior del papel, de forma que la mancha producida no sobrepase los 0,5 cm. de diámetro.

Se introduce la tira de papel en el recipiente cromatográfico previamente saturado de solvente, de manera que el borde inferior del papel apenas lo toque.

Se deja que el solvente ascienda por el papel (aproximadamente dos horas), hasta que el frente alcance una altura de 15 cm. Se saca la tira de papel y se deja secar en un lugar aireado y que tenga una total ausencia de vapores ácidos. Una vez seca, se pulveriza sobre el papel la solución reveladora, apareciendo entonces unas manchas amarillas sobre un fondo verde-azulado. Aparecerán tres manchas: la inferior correspondiente al ácido tartárico; en medio el ácido málico y en la parte superior del papel una mancha debida a los ácidos láctico y succínico.

Notas:

También se pueden identificar dichos ácidos a través de sus valores de R_f , que para cada ácido son:

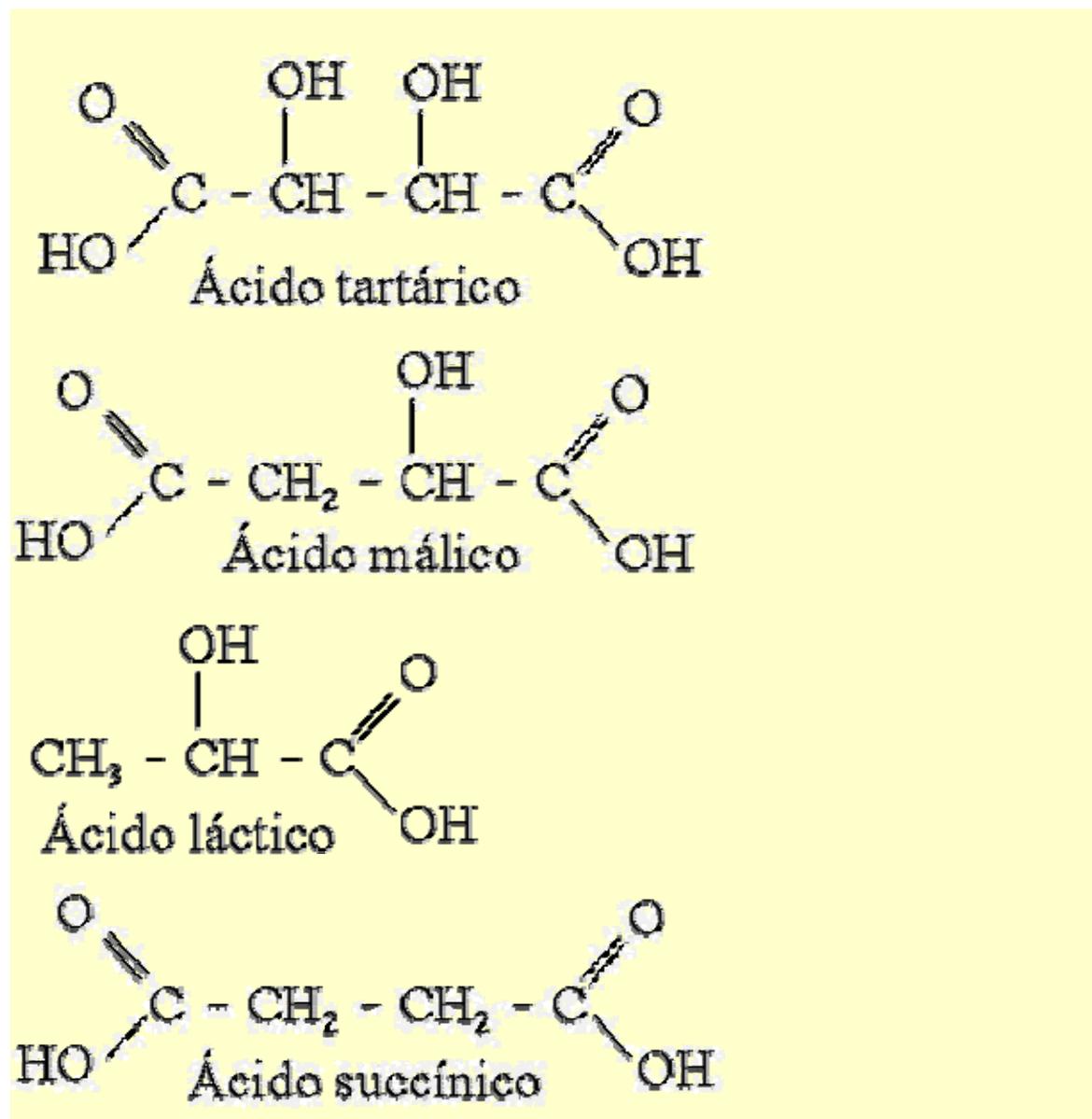
- Ácido tartárico: 0,26-0,30
- Ácido málico: 0,52-0,56
- Ácidos láctico y succínico: 0,69-0,76

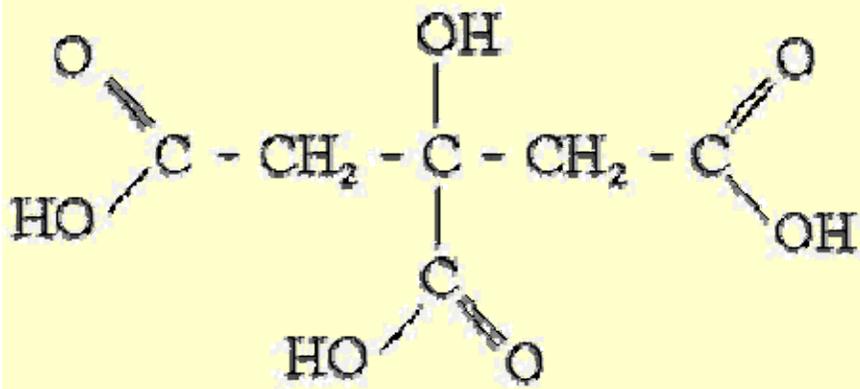
El método se puede considerar semi-cuantitativo, ya que la intensidad y el tamaño de cada mancha son aproximadamente proporcionales al contenido de cada ácido en el vino.

En el caso de vinos que contengan muy pequeña cantidad de ácido málico, es conveniente (con fines pedagógicos), añadir 1 g/l de este ácido para detectar su presencia.

Una actividad más interesante basada en esta práctica podría ser la realización de cromatografías con distintas muestras de toda la región castellano-manchega para después realizar un estudio comparativo.

4.- Fórmulas de los principales ácidos del vino.





Ácido cítrico