

GRADO EN BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOMÉDICAS

LABORATORIO DE QUÍMICA DE BIOMOLÉCULAS

Curso 2016-2017

PARA ENTRAR EN EL LABORATORIO EL ESTUDIANTE DEBE IR PROVISTO DE:

- **CUADERNILLO DE PRÁCTICAS**
- **CUADERNO DE LABORATORIO**
- **GAFAS DE SEGURIDAD**
- **BATA DE LABORATORIO**
- **GUANTES DE GOMA**
- **MARCADOR PERMANENTE**
- **LAPIZ**

OBJETIVOS GENERALES:

Se pretende que el estudiante que realice las prácticas de laboratorio de Química de Biomoléculas adquiera las siguientes competencias:

- 1.- Saber relacionar la estructura de los compuestos orgánicos sencillos con sus propiedades físicas.
- 2.- Ser capaz de manejar modelos moleculares para la representación tridimensional de biomoléculas sencillas.
- 3.- Ser capaz de buscar y encontrar conocimientos relacionados con el área, siempre aplicando la capacidad crítica y autocrítica.
- 4.- Ser capaz de interpretar, valorar y comunicar datos relevantes haciendo uso del lenguaje propio de la química orgánica.
- 5.- Conocer las técnicas básicas empleadas en la manipulación, aislamiento, purificación y análisis de compuestos orgánicos y los riesgos asociados a su uso.

Para alcanzar los objetivos anteriores, los estudiantes realizarán cinco sesiones de tres horas de duración:

1	ESTEREOQUÍMICA DE LOS COMPUESTOS. MODELOS MOLECULARES	2,5 h
2	FUERZAS INTERMOLECULARES Y PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS	3 h
3	PROPIEDADES BIOMOLÉCULAS	3 h
4	EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE UN PRODUCTO NATURAL: CROMATOGRAFÍA	3 h
5	AISLAMIENTO DE UN PRODUCTO NATURAL: TRIMIRISTINA	3 h

GRUPOS:

L1 Salvador Gil

L2 Alvaro Sanz

L3 Laura Francés

L4 Laura Francés

L5 Raquel Galian

L6 Alvaro Sanz

EVALUACIÓN:

La calificación obtenida en las prácticas de laboratorio supondrá el 15% de la calificación global de la asignatura. Para aprobar la asignatura es necesaria la asistencia a las cinco sesiones y obtener al menos 4 puntos sobre 10.

La evaluación del aprendizaje se llevará a cabo de forma continua por parte del profesor dado el estrecho contacto que se mantendrá a lo largo del curso. Los apartados que se evaluarán son los siguientes:

- a) **TRABAJO DE LABORATORIO Y RESULTADOS: (40%).** Se tendrá en cuenta la observación de las normas de seguridad, la actitud, la preparación, el trabajo en el laboratorio y los resultados obtenidos así como su análisis.

La duración de cada sesión experimental será de 3 horas y las sesiones no se recuperan, por lo que las faltas de asistencia y puntualidad deberán ser debidamente justificadas. La no-realización de más de dos sesiones de prácticas supondrá la pérdida de la calificación correspondiente al Trabajo de Laboratorio y Resultados.

Es condición indispensable para comenzar una sesión que el alumno este en posesión del cuaderno de laboratorio debidamente cumplimentado. Los cuadernos podrán ser revisados por el profesor en cualquier momento.

Tanto al comienzo de la sesión de prácticas como al finalizar se deberán llevar a cabo las tareas generales asignadas para el buen funcionamiento del laboratorio y se efectuará un recuento del material por puesto de trabajo.

- b) **EXÁMEN (60%):** Al final de las prácticas se realizará un examen escrito de cuestiones relacionadas con las prácticas realizadas.

Es necesario obtener un mínimo de 4 puntos sobre 10, en este apartado, para poder sumar el porcentaje anterior.

En la evaluación de la segunda convocatoria, se mantendrá la calificación obtenida en el apartado A y se procederá a evaluar de nuevo la parte correspondiente al examen.

NORMAS DE SEGURIDAD PARA LA ESTANCIA EN EL LABORATORIO

Cuando un estudiante entre por primera vez en el laboratorio debe localizar: salida de emergencia, duchas de emergencia, lavajos, extintores y manta ignífuga.

Durante su estancia en el laboratorio, el alumno deberá ir provisto **obligatoriamente** de los siguientes elementos:

- Bata
- Gafas de seguridad
- Guantes de goma

Las siguientes normas son de **obligado y estricto cumplimiento**:

- 1) Queda terminante **prohibido fumar o consumir alimentos** en el laboratorio
- 2) La bata y las gafas de seguridad **deberán usarse en todo momento** durante la estancia en el laboratorio. **No se permitirá el acceso al laboratorio de alumnos que no dispongan o no hagan uso de los objetos descritos.** Los guantes deberán usarse siempre durante la manipulación de los productos.
- 3) Las lentes de contacto pueden resultar muy peligrosas en caso de salpicaduras accidentales a los ojos. En tales casos, se recomienda el uso de gafas graduadas o de gafas de seguridad especiales.
- 4) Deben utilizarse embudos de vidrio para el trasvase de líquidos. Si han de usarse pipetas, utilícense las peras de goma apropiadas. **No pipetear jamás líquidos con la boca.**
- 5) **Ciérrense los frascos de reactivos y disolventes inmediatamente después de su uso.** Evítese la inhalación de vapores tanto de sólidos como de líquidos. Si algún producto desprende vapores tóxicos, deberá manejarse en vitrina.
- 6) **No deberán manipularse jamás productos o disolventes inflamables en la proximidad de mantas y placas calefactoras. Si algún líquido o sólido se derrama en cualquier lugar del laboratorio, se deberá limpiar inmediatamente de la forma adecuada.** En caso de rotura de termómetros, avisad inmediatamente al profesor, para eliminar el mercurio.
- 7) **Los disolventes orgánicos no deben calentarse nunca directamente sino por medio de baños de agua alejados de la fuente de calor y siempre en matraces Erlenmeyers o tubos de ensayo, nunca en vasos de precipitados.**
- 8) **No deben verterse residuos en las pilas,** deberán tratarse adecuadamente o almacenarlos en los lugares adecuados. **No debe tirarse material de vidrio roto en las papeleras.** Se entregará al profesor, para reponerlo en el puesto de trabajo.
- 9) Dado que se usa material eléctrico (mantas, reguladores, etc.) es necesario **mantener perfectamente limpio y seco el puesto de trabajo y el material asignado.** La manipulación de cualquier elemento de dicho material deberá hacerse con el aparato en cuestión a temperatura ambiente y desconectado de la red.
- 10) **No tener jamás en marcha mantas o placas calefactoras en vacío,** es decir, sin un recipiente (vaso, matraz, etc.) al que calentar. No utilizad los reguladores eléctricos a más de media potencia.
- 11) **En los montajes de reflujo y destilaciones deberá añadirse el germen de ebullición ("plato poroso") en frío. Antes de comenzar la calefacción, deberá verificarse que el montaje, particularmente que las juntas esmeriladas, estén bien ajustadas.**
- 12) **¡¡ No se debe abandonar jamás el puesto de trabajo mientras se esté llevando a cabo alguna reacción o destilación!!**

¡EL INCUMPLIMIENTO DE CUALQUIERA DE ESTAS NORMAS PODRÁ IMPLICAR DESDE UNA SERIA AMONESTACIÓN HASTA LA EXPULSIÓN DEL ALUMNO DEL LABORATORIO!

TELÉFONOS DE URGENCIA: 112

SEGURO ESCOLAR (SERVICIO PREVENCIÓN RIESGOS LABORALES) (96) 398.33.01
INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA (SERVICIO PERMANENTE) (91) 562.04.20

RECUERDA, EN EL LABORATORIO.....

FAMILIARÍZATE CON LOS ELEMENTOS DE SEGURIDAD

PROTEGE TUS OJOS CON LAS GAFAS DE SEGURIDAD

LLEVA BATA y LÁVATE LAS MANOS CON FRECUENCIA

LEE ATENTAMENTE LAS INSTRUCCIONES ANTES DE REALIZAR UN EXPERIMENTO

**ASEGÚRATE DE QUE EL MATERIAL ESTÁ EN PERFECTAS CONDICIONES ASEGÚRATE
DE QUE LOS MONTAJES SON CORRECTOS**

MANIPULA TODOS LOS PRODUCTOS QUÍMICOS CON MUCHA PRECAUCIÓN

**UTILIZA LAS VITRINAS_EXTRACTORAS PARA MANIPULAR PRODUCTOS QUE
PRODUZCAN VAPORES TÓXICOS O CORROSIVOS**

CONSERVA TU ZONA DE TRABAJO LIMPIA Y ASEADA

DEJA SIEMPRE EL MATERIAL LIMPIO Y ORDENADO

SI SE VIERTE UN PRODUCTO RECÓGELO INMEDIATAMENTE

NO COMAS, NI BEBAS, NI FUMES

NO HUELAS, INHALES O PRUEBES PRODUCTOS QUÍMICOS

NUNCA CORRAS NI JUEGUES

NO TRABAJES SOLO

JAMÁS LLEVES A TÉRMINO EXPERIMENTOS NO AUTORIZADOS

SIEMPRE QUE TENGAS UNA DUDA PREGUNTA AL PROFESOR.

SESIÓN 1 (2,5 horas)

ESTEREOQUÍMICA DE LOS COMPUESTOS. USO DE MODELOS MOLECULARES

1.- Introducción

La ciencia de la química orgánica se basa en la relación entre estructura molecular y propiedades. Aquella parte de la ciencia que se ocupa de la estructura en tres dimensiones se denomina estereoquímica (del griego stereos, "sólido"). Los modelos moleculares son una herramienta vital para el estudio de la estereoquímica.

Los modelos tienen la finalidad de inspirar la imaginación, estimular el pensamiento y asistir en el proceso de visualización. Presentan al usuario una forma sólida de un objeto abstracto que de otra forma sólo se formularía en la mente, habla o texto escrito de un químico. Los libros de texto de química contienen lenguaje gráfico para describir las moléculas y las reacciones, sin embargo, los modelos moleculares incrementan la comprensión a través de una asociación más vívida.

Los átomos individuales de elementos no tienen color; sólo como sólidos a granel (y algunos líquidos) presentan color. Se seleccionó el rojo para las piezas que representan el oxígeno debido a un acuerdo internacional que seleccionó ciertos colores para representar átomos comunes. El oxígeno líquido, de hecho es de color azul. A continuación se presenta una lista de estos códigos de color:

<u>blanco</u>	Hidrógeno	<u>verde</u>	Bromo	<u>negro</u>	Carbono
<u>verde oscuro</u>	Yodo	<u>azul</u>	Nitrógeno	<u>negro</u>	Silicio
<u>rojo</u>	Oxígeno	<u>púrpura</u>	Fósforo	<u>verde amarillo</u>	Fluor
<u>amarillo</u>	Azufre	<u>verde claro</u>	Cloro	<u>rosa fuerte</u>	otros átomos

2. Objetivos

Con el objetivo de resaltar la importancia y relevancia de **la estereoquímica** en la relación estructura-propiedades de las moléculas, se pretende que el estudiante aprenda a representar y proyectar las estructuras espaciales de las moléculas con el uso de los modelos y sus piezas, teniendo en cuenta la hibridación de los átomos y geometría resultante de la molécula. Tener una visión espacial de las moléculas, ensayando con modelos moleculares que ayudan en el análisis conformacional ya que es posible visualizar todas las interacciones competentes.

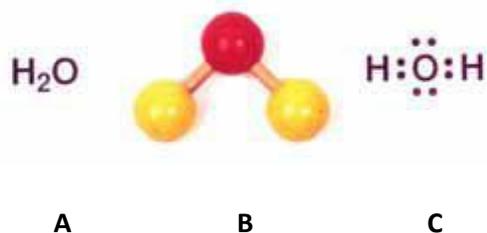
3. Materiales y reactivos usados

- Caja de modelos moleculares

4. Relación de los Modelos con los Dibujos Bidimensionales

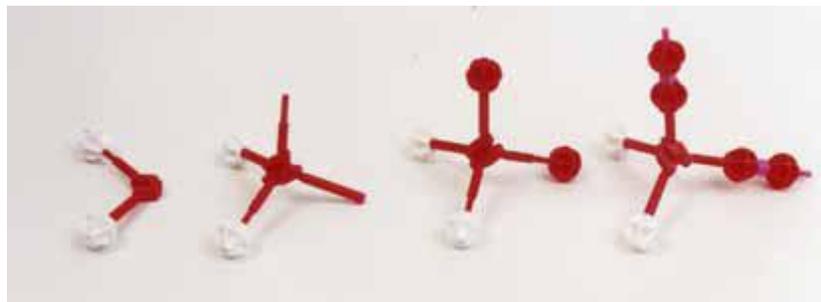
AGUA

La mayoría de los libros de texto y muchas notas de instructores contienen dibujos hechos con símbolos de letras y líneas para representar los átomos y los enlaces en las moléculas. En algunos libros, la molécula de agua (H_2O) se representa de alguna de las siguientes formas:



A todas las representaciones de la Figura les falta alguna característica importante de la molécula de agua. En la representación **A**, no se ilustra ninguno de los pares de electrones solitarios ni los ángulos de enlace; en la **B** faltan los pares de electrones solitarios; y en la **C**, el ángulo de los enlaces mostrado es incorrecto.

Puede hacerse un modelo de la molécula del agua que muestre mejor la forma de la molécula.



A B C D

La representación **A** corresponde al átomo de oxígeno divalente con enlaces a dos hidrógenos (bola blanca), no hay pares de electrones. La representación **B**, átomo de oxígeno con enlaces tetraédrico, dos enlaces están unidos a los átomos de hidrógeno y dos enlaces representando cada uno un par de electrones sobre el oxígeno; representación **C**, igual que la **B** pero cada par de electrones del oxígeno está representado por una pelotita roja; la representación **D**, igual que la **B** pero cada par de electrones sobre el oxígeno está representado por dos bolitas rojas.

Ejemplos:

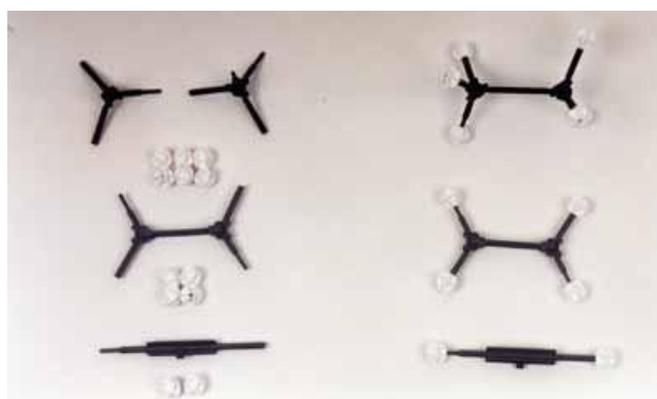


A, ion hidronio B, amoníaco C, carbanión

ETANO, ETENO (ETILENO), ETINO (ACETILENO)

El éxito de un modelo depende de la selección de los centros de los átomos con el número correcto de enlaces sigma que satisfagan todos los enlaces para cada átomo.

Todos los electrones deben tomarse en cuenta, y contarse como pares de electrones enlazantes o solitarios. Los átomos de hidrógeno pueden formar únicamente un enlace sigma, por lo tanto, los dos átomos de carbono en estos ejemplos deben unirse (enlazarse) para que la estructura permanezca unida. Las opciones en estos ejemplos, respectivamente, son dos carbonos unidos por un enlace único, dos carbonos unidos por un doble enlace y dos carbonos unidos por un triple enlace. La siguiente Figura muestra cómo pueden modelarse estas moléculas.



A, etano, C₂H₆ B, eteno, C₂H₄ C, etino, C₂H₂

METANOL (ALCOHOL METÁLICO), ETANOL (ALCOHOL ETÍLICO), Y ÉTER DIMETÍLICO

El modelo molecular fácilmente ilustrará que la fórmula molecular CH_3OH representa sólo un compuesto, pero la fórmula molecular $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ representa dos compuestos como se ilustra en la Figura:



CH_3O (metanol) y $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (etanol y éter dimetílico)

IONES CARBOXILATO Y NITRATO

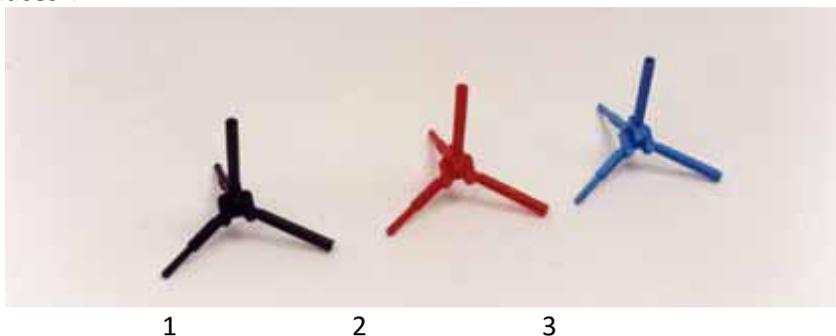
Los aniones R-CO_2^- y NO_3^- se refieren como iones de resonancia estabilizada: podemos obtener más de una estructura. El carboxilato tiene dos formas válidas y el nitrato tres formas. Las estructuras adicionales en la parte distante de la derecha son representaciones de modelos de las formas resonantes.



5. Montaje y Desmontaje de Átomos “con Enlaces”

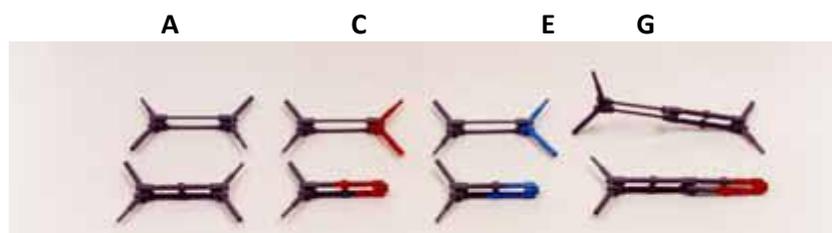
ÁTOMO TETRAÉDRICO DE CARBONO, OXÍGENO Y NITRÓGENO

La Figura siguiente ilustra el uso de piezas sp^3 para formar los centros de los átomos del carbono, oxígeno y nitrógeno “con enlaces”.



- 1) **El carbono tetraédrico** “con enlaces”. Las piezas negras sp^3 siempre se utilizan en pares unidos para representar los cuatro enlaces de un átomo tetraédrico de carbono con hibridación sp^3 .
- 2) **El átomo de oxígeno** “con enlaces”. Las piezas sp^3 rojas pueden usarse solas para representar los dos enlaces de oxígeno, o unidades para formar los dos enlaces de oxígeno y sus dos pares de electrones solitarios.
- 3) **El átomo de nitrógeno** “con enlaces”. Las piezas sp^3 azules siempre se utilizan en pares unidos para representar los tres enlaces y un único par de electrones solitarios sobre el nitrógeno.

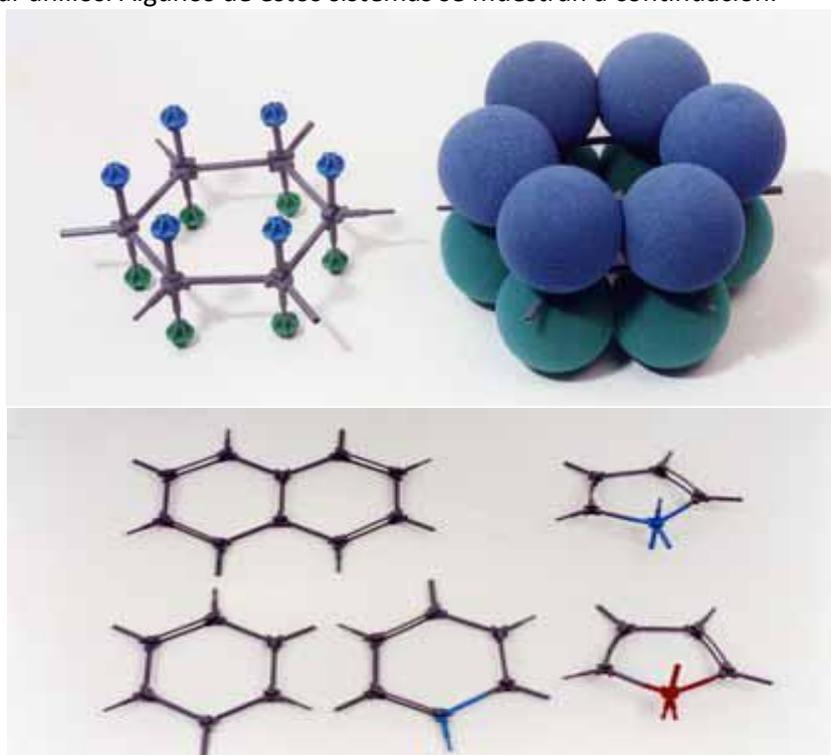
ÁTOMOS UNIDOS POR UN SISTEMA PI (DOBLE ENLACE Y TRIPLE ENLACE)



A, B Doble enlace carbono-carbono (alqueno) $C=C$.
C, D Doble enlace carbono-oxígeno (carbonilo) $C=O$.
E, F Doble enlace carbono-nitrógeno (imino o imonio) $C=N$.
G, H Cumulenos (alénicos y ceténicos) $C=C=C$ y $C=C=O$.

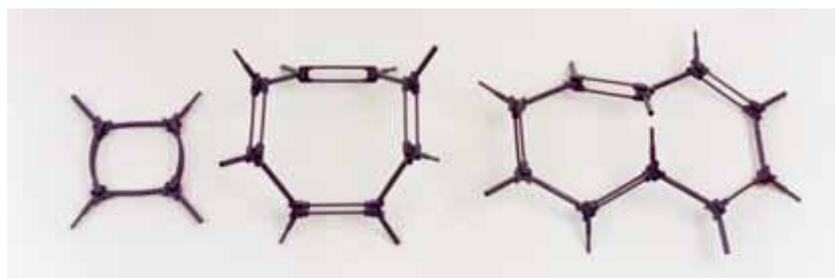
Sistemas aromáticos y no aromáticos

Los sistemas de doble enlace simples pueden unirse para representar otros interesantes sistemas de doble enlaces múltiples. Los sistemas aromáticos y no aromáticos pi pueden representarse combinando dobles enlaces para formar anillos. Algunos de estos sistemas se muestran a continuación.



Representaciones de modelos de (frente, de izquierda a derecha) benceno, piridina, furano (atrás, de izquierda a derecha) naftaleno y pirrol.

Representaciones de modelos del (izquierda a derecha) ciclobutadieno, ciclooctatetraeno y ciclodecapentaeno.



Átomos con triple enlace

Los átomos con triple enlace se representan con una pieza que representa el enlace sigma y los dos enlaces π entre los dos átomos. Más allá de los átomos se extienden los dos enlaces sigma a los cuales otros átomos se unen. El grupo puede representar también el triple enlace carbono-nitrógeno de un nitrilo ($C\equiv N$) o el triple enlace de un carbono-oxígeno ($C\equiv O$).

6. Usando el Modelo del Átomo “Con Enlaces” para Crear Moléculas

SISTEMAS DE ANILLOS CON TRES ÁTOMOS Y OTROS SISTEMAS TENSIONADOS

Los modelos de compuestos lineales (acíclicos) y compuestos cíclicos con anillos de cinco o más átomos no están tensionados. Los compuestos en anillo con cuatro átomos (y modelos) están ligeramente tensionados, los ángulos son de aproximadamente 103° ya que el anillo está plegado y no está plano. Un anillo de tres átomos debe ser plano: tres puntos definen un plano; los ángulos de 60° del anillo son constantes.



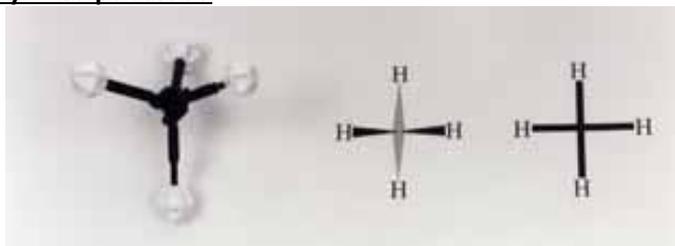
izquierda a derecha: ciclopropano, un epóxido y una aziridina.

7. Proyecciones: Moléculas Acíclicas y Cíclicas

Las moléculas reales y los modelos son tridimensionales; por lo tanto los modelos de moléculas reales son también tridimensionales; el papel, las páginas de un libro y las pizarras no lo son. En los dibujos entonces, es necesario adoptar convenciones que representan las moléculas reales en dos dimensiones.

Estas convenciones se han incorporado en varios tipos de “proyecciones”, por ejemplo, de línea punteada y cuña, Fisher, Newman y en caballete.

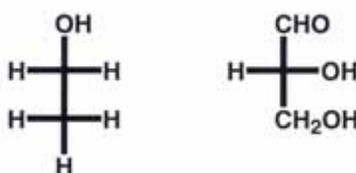
A. Proyecciones de Cuña y línea punteada



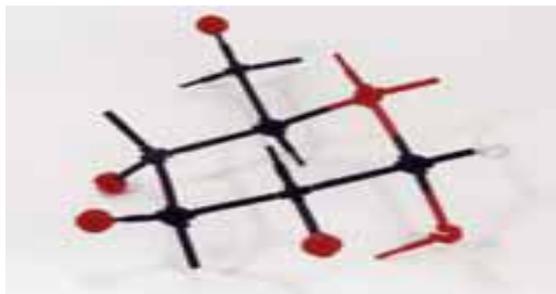
A los dibujos de las moléculas se les puede dar una perspectiva tridimensional usando “cuñas” () y líneas punteadas (----- o) para representar los enlaces que están fuera del plano. El átomo unido al pico del enlace en cuña está en el plano; el átomo unido a la parte ancha de la cuña está fuera del plano hacia el observador. Las líneas punteadas o de rayas representan los enlaces a átomos fuera del plano lejos del observador. Esta convención se muestra con un modelo del metano en la anterior figura.

B. Proyecciones de Fisher

En las proyecciones de Fisher un átomo de carbono tetraédrico se representa simplemente con líneas verticales y horizontales (que en realidad son los enlaces desde ese átomo). Por convención, las líneas horizontales representan los enlaces que se acercan al observador y las líneas verticales representan aquellos que se alejan del observador, como se muestra para el metano en la Figura. En las proyecciones de moléculas con cadenas de carbono, los carbonos del tronco están dispuestos verticalmente con los carbonos más oxidados en la parte superior.

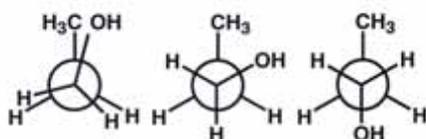


Las proyecciones de Fisher se usan comúnmente ya que simplifican las estructuras, pero debe tenerse cuidado ya que la proyección de Fisher no da una imagen de la forma verdadera de la molécula. Por ejemplo, la proyección de la glucosa no ilustra la cercana proximidad del carbono del carbonilo (átomo 1) con el oxígeno del hidroxilo en el átomo 5. Las proyecciones de Fisher de “modelo molecular”, muestran como la cadena gira hacia atrás en sí misma para llevar estos dos átomos a su posición para formar el hemiacetal de piranosa.



C. Proyecciones de Newman

Una proyección de Newman representa la “imagen” del observador de una molécula mirando directamente hacia el fondo del enlace que conecta los dos átomos. Las proyecciones de Newman son muy útiles para examinar las conformaciones moleculares. Las proyecciones de Newman de las conformaciones del 1-propanol se muestran en la siguiente figura:



A **B** **C**

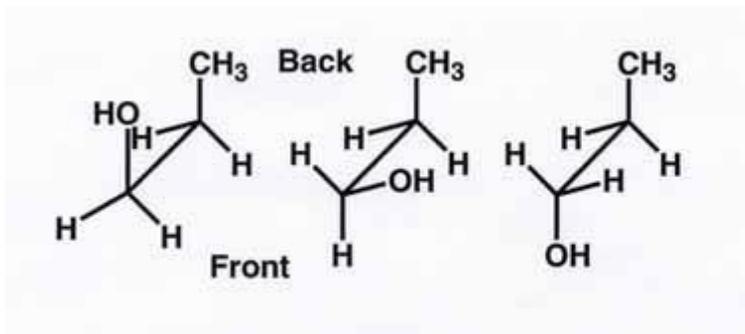
Proyecciones de Newman de las conformaciones del 1-propanol mirando hacia el fondo del enlace C1-C2: (A) eclipsada, (B) alternada “gauche” y (C) alternada “anti”

La misma vista de estas conformaciones representadas con los modelos moleculares se muestra a continuación.

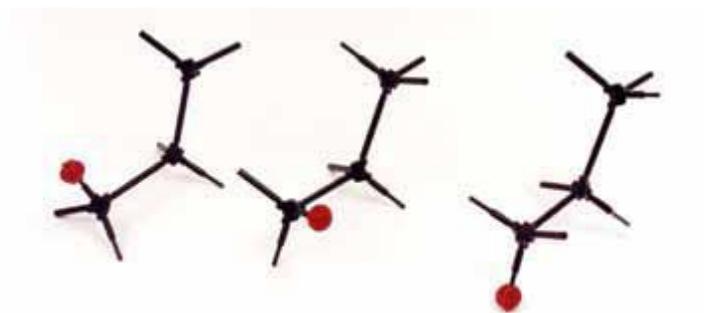


D. Proyecciones de caballete

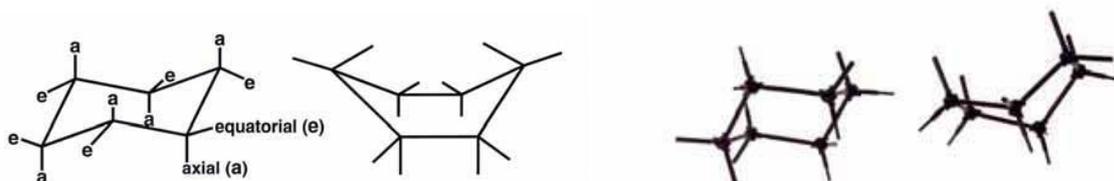
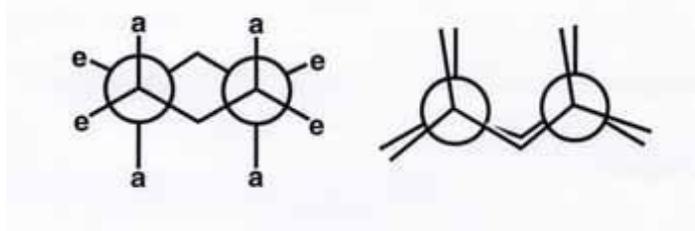
La proyección de caballete es una vista oblicua del enlace en la proyección de Newman. En las proyecciones de caballete, la convención establece que el enlace entre los átomos unidos debe dibujarse diagonalmente (en lugar de verticalmente como en las proyecciones de Fisher). El átomo unido a la derecha en la línea está detrás del átomo de la izquierda. Los enlaces a la derecha se dirigen hacia el observador y los enlaces a la izquierda se alejan del observador. La figura siguiente muestra las mismas conformaciones del 1-propanol una vez más en proyecciones de caballete.



Las representaciones del modelo molecular de estas proyecciones de caballete del 1-propanol se muestran a continuación.



Todas las convenciones anteriores se aplican a las estructuras cíclicas y acíclicas. El ciclohexano, cicloalcano de seis carbonos, ha sido tema de mucha investigación. Debido a la flexibilidad de este anillo, el ciclohexano asume conformaciones diferentes, siendo las dos que prevalecen la de bote y la de silla. Estas conformaciones pueden dibujarse en las proyecciones de Newman, o en las proyecciones de caballete.



La conformación de silla, la cual es preferida termodinámicamente (energéticamente) en general, tiene dos juegos de seis enlaces C-H. Un juego se llama "axial" y el otro "ecuatorial". En las Figuras éstos se denominan respectivamente "a" y "e". En general, los sustituyentes (a excepción del átomo de hidrógeno) prefieren una posición ecuatorial que se logra al girar alrededor de los enlaces C-C en el anillo hasta que se alcanza la conformación de silla en la cual el sustituyente esté en posición ecuatorial.

8. Estereoisómeros

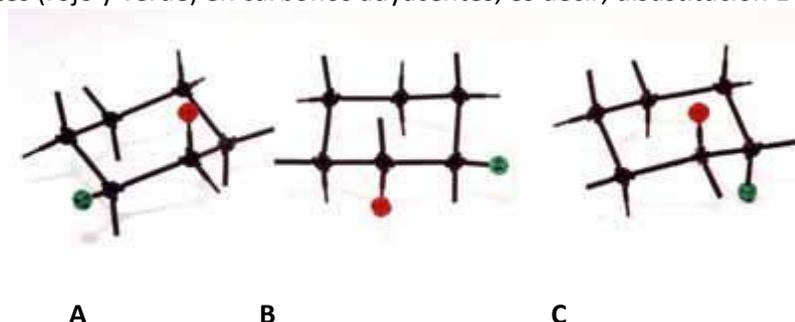
Además de usar los modelos para examinar las conexiones ("enlaces") entre los átomos y las conformaciones de las moléculas, son especialmente útiles para examinar la disposición absoluta de los átomos que componen la molécula en el espacio, es decir, su estereoquímica. Una vez más, existen convenciones que se usan para dibujar o describir la estereoquímica absoluta de las moléculas.

Los compuestos que difieren uno del otro solamente en la disposición espacial de sus átomos, se llaman estereoisómeros. Los estereoisómeros que no pueden interconvertirse fácilmente por rotación alrededor de un enlace se llaman isómeros configuracionales; aquellos que fácilmente se interconvierten por rotación alrededor de un enlace se llaman isómeros conformacionales. Ciertos isómeros configuracionales en el pasado (y algunos todavía hoy) se denominaron isómeros geométricos.

ISÓMEROS GEOMÉTRICOS CONFIGURACIONALES

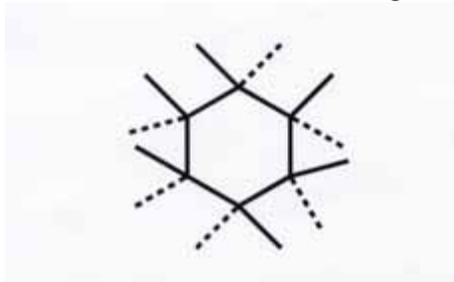
A. Compuestos cíclicos

Ya que la rotación alrededor de los enlaces en compuestos cíclicos está restringida, dos o más sustituyentes pueden estar del mismo lado o en lados diferentes del anillo, lo que lleva a los isómeros geométricos configuracionales. Los cicloalcanos son buenos ejemplos. La siguiente figura muestra ejemplos de dos sustituyentes (rojo y verde) en carbonos adyacentes, es decir, disustitución 1-2.

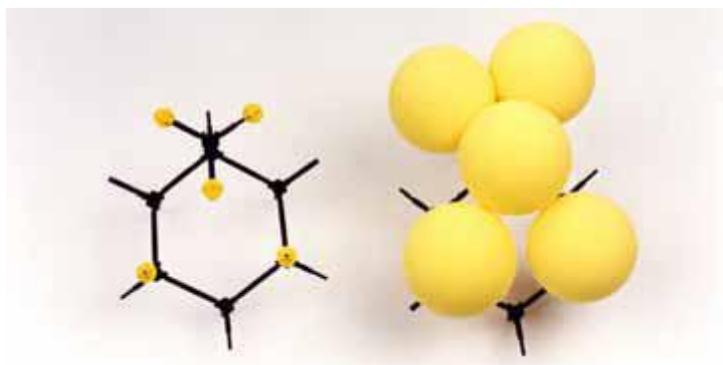


Los dos sustituyentes en la figura (A) están del mismo lado del anillo; son cis uno respecto al otro, uno está conectado al anillo por un enlace ecuatorial y el otro por uno axial. Los sustituyentes en la figura (B) están en lados opuestos del anillo; son trans uno respecto al otro, ambos están conectados al anillo por enlaces ecuatoriales. Los dos sustituyentes en la figura (C) también son trans uno respecto al otro, pero en una conformación diferente. Estos sustituyentes ahora ambos son axiales, siendo mucho más fácil ver su relación trans. Una comparación de la figura (B) con la figura (C) ilustra la importancia de examinar todas las conformaciones posibles de una molécula para determinar la más estable, es decir, aquella con la menor energía. Debe señalarse que mientras que la estructura cis es un isómero verdadero de las dos estructuras trans, las dos últimas no son isómeros entre sí pero difieren solamente en su conformación, lo cual es dependiente de las consideraciones energéticas.

Los modelos moleculares deben usarse para explorar las relaciones 1,3 y 1,4 de dos sustituyentes en un anillo de ciclohexano. Un dibujo útil para ilustrar los isómeros geométricos de ciclohexanos sustituidos usa la notación de la línea punteada-continua como se muestra en la figura.

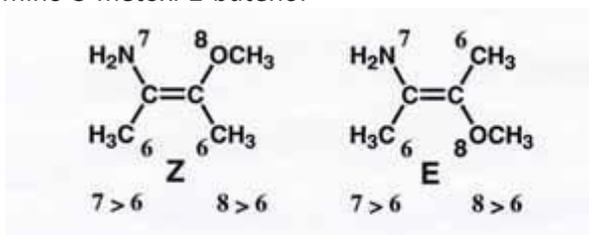


El anillo está en el plano del papel. Las líneas punteadas representan los enlaces que van detrás del plano (con frecuencia se llaman alfa) y las líneas continuas representan enlaces que van arriba del plano (llamados beta). Es fácil ver las relaciones *cis* y *trans* en este dibujo pero las relaciones espaciales como la silla, axial, etc., no se muestran y tendrían que definirse para usar este dibujo en un análisis conformacional. Hemos dicho que los sustituyentes *cis* que son axiales incrementan la energía (reducen la estabilidad) del ciclohexano más que si fueran ecuatoriales. Este hecho es fácilmente comprensible si al modelo se incorporan los radios de Van der Waals del hidrógeno. Las bolas amarillas que representan dos hidrógenos axiales hacen contacto con los hidrógenos del grupo metilo.



B. Compuestos carbono-carbono con doble enlace

El enlace pi (del “doble enlace”) también restringe la rotación alrededor de los enlaces carbono-carbono y como se describió para los ciclohexanos anteriormente, de igual forma da lugar a dos isómeros configuracionales (geométricos). Estos isómeros se designan como E (en alemán entgegen: opuestos) y Z (en alemán zusammen: juntos) nombre que se asigna en base a la “prioridad” que se da a los átomos directamente unidos a los dos átomos de carbono con doble enlace. El sistema prioritario está basado en el número atómico del átomo: a mayor número atómico, mayor es su prioridad (con los isótopos, a mayor masa atómica, más alta es la prioridad). Por ejemplo: los números atómicos del C, O y N son respectivamente 6, 8, 7; por lo tanto, el orden de prioridades de mayor a menor es O>N>C, y 2H>1H. Esta notación se ilustra con el 2-amino-3-metoxi-2-buteno.



Si estos átomos prioritarios se encuentran del mismo lado (“Z”), y en lados opuestos (“E”). No hay isómeros geométricos cuando los dos sustituyentes en cualquiera de los carbonos del doble enlace son los mismos.

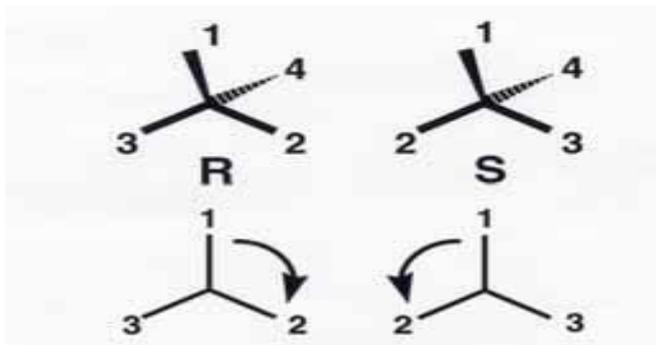
ISÓMEROS QUIRALES: ENANTIÓMEROS. ISOMERÍA ÓPTICA

Otra forma de estereoquímica que involucra isómeros configuracionales se origina de la asimetría molecular. Cuando una estructura está exenta de simetría, su estructura y la de su imagen al espejo no se superponen (es decir, no son idénticas en todos los aspectos). Se dice que la estructura es quiral y su estructura y la de su imagen al espejo se llaman enantiómeros. Ambos isómeros enantiómeros son quirales y son idénticos en todos los aspectos químicos y físicos excepto en la “dirección” que rotan el plano de la luz polarizada.

A. Compuestos alifáticos simples

Un alcano, por ejemplo, está compuesto únicamente de carbonos sp^3 y enlaces únicos alrededor de los cuales la rotación generalmente es libre. Si uno de estos átomos de carbono está unido a *cuatro* grupos diferentes, la molécula es asimétrica, es decir, quiral, y su estructura y la de su imagen al espejo no

se superponen; son enantiómeros. La disposición absoluta de los cuatro grupos unidos a este átomo de carbono de un enantiómero se conoce como *configuración absoluta* y se designa como R (rectus-derecha) o S (sinister-izquierda). Estas designaciones están basadas en la "prioridad" de los átomos unidos al carbono quiral, las prioridades una vez más reflejan el número atómico. Ya que existen cuatro átomos por asignar, las prioridades son 1 para el átomo con el mayor número atómico, bajando hasta la prioridad 4 para el átomo con el menor número atómico.



Un átomo de carbono sp^3 con dos sustituyentes idénticos es simétrico, es decir, aquiral; sus dos estructuras especulares son superponibles (idénticas) y no es posible el isomerismo de este tipo.

B. Moléculas quirales sin ÁTOMOS quirales sp^3

Existen varias clases de moléculas quirales cuya quiralidad se origina de la asimetría a excepción de la asociada con un átomo quiral sp^3 . La cadena helicoidal de proteína ("alfa-hélice", en la figura) que se asemeja a una escalera en espiral, es por sí misma quiral...una quiralidad en adición a la que se origina de sus átomos asimétricos. Ya que dichas hélices pueden enrollarse en espiral en dirección de las manecillas del reloj o en dirección opuesta, estas dos formas son por sí mismas imágenes al espejo asimétricas (no superponibles).

Las dos formas exhiben la misma actividad óptica pero con un signo de rotación opuesto.

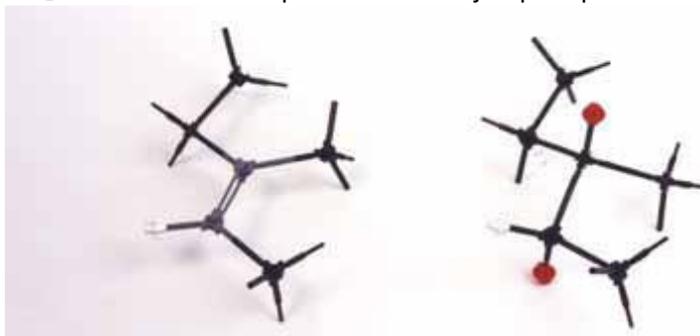


Un ejemplo de otra clase de compuesto quiral es el trans-cicloocteno, el cual existe como dos isómeros ópticos no superponibles.



9. Modelos para investigar reacciones

Lo que se ha omitido generalmente de las sugerencias para el uso de modelos, es la investigación de las reacciones. El objetivo de esta investigación es ayudar a explicar todos los átomos en los materiales de partida. Se motiva hacer modelos para todos los materiales de partida y productos de reacción asegurándose de que los productos contengan todos los átomos de los materiales de partida. La reacción del bromo molecular Br_2 con el *E*-3-metil-2-penteno es un ejemplo típico a modelizar.



Práctica con los modelos

1. Dentro del grupo de isómeros conformacionales por rotación simple de enlaces C-C sencillos, realizar el montaje de las siguientes estructuras:

Etano, propano, 2-metil butano

Representadlas en el plano del papel.

2. Como isómeros conformacionales en sistemas cíclicos:

- Ciclohexano:**
- Comprobar la interconversión entre las formas de silla y bote.
 - Señalar los sustituyentes ecuatoriales y axiales en la molécula
 - Realizar la interconversión de los sustituyentes ecuatoriales y axiales.

Representadlas en el plano del papel

3. Isomería *cis/trans*. Efectuar el montaje de:

Trans-2-buteno, *cis*-2-buteno, *trans*-2-hidroxi-2-buteno

Representadlas en el plano del papel.

4. Como isómeros estructurales en los alquenos cíclicos, comprobar que en sistemas cíclicos pequeños solo es posible la forma *cis*.

5. Para el estudio de la estereoisomería, realizar el montaje de las siguientes moléculas:

2-bromobutano.

- Indicar el carbono quiral. (Configuraciones R/S)
- Ver la imagen especular (relación estereoisomérica en moléculas con un carbono quiral).

2-bromo-3-clorobutano.

- Distinguir los enantiómeros entre ellos.
- Ver la relación entre los diastereómeros.

2,3-dibromobutano.

- Dibujar las formas meso.

6.- Realizad el montaje de la D- glucosa y representadla en el papel: la forma abierta en representación de Fischer y la forma hemiacetálica en forma de silla.

SESIÓN 2 (3 horas)

FUERZAS INTERMOLECULARES Y PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS

1. Objetivo

Demostrar que la comprensión de los distintos tipos de fuerzas intermoleculares puede ayudar a predecir las propiedades físicas de los compuestos.

2. Introducción

La electronegatividad (χ) es una propiedad atómica que representa la capacidad de un átomo en una molécula para atraer los electrones hacia sí. A continuación se dan algunos valores de electronegatividad, según la escala de Pauling, necesarios para la comprensión de la práctica.

<u>H</u> 2.20																	<u>He</u>
<u>Li</u> 0.98	<u>Be</u> 1.57										<u>B</u> 2.04	<u>C</u> 2.55	<u>N</u> 3.04	<u>O</u> 3.44	<u>F</u> 3.98		<u>Ne</u>
<u>Na</u> 0.93	<u>Mg</u> 1.31										<u>Al</u> 1.61	<u>Si</u> 1.90	<u>P</u> 2.19	<u>S</u> 2.58	<u>Cl</u> 3.16		<u>Ar</u>
<u>K</u> 0.82	<u>Ca</u> 1.00	<u>Sc</u> 1.36	<u>Ti</u> 1.54	<u>V</u> 1.63	<u>Cr</u> 1.66	<u>Mn</u> 1.55	<u>Fe</u> 1.83	<u>Co</u> 1.88	<u>Ni</u> 1.91	<u>Cu</u> 1.90	<u>Zn</u> 1.65	<u>Ga</u> 1.81	<u>Ge</u> 2.01	<u>As</u> 2.18	<u>Se</u> 2.55	<u>Br</u> 2.96	<u>Kr</u> 3.00

El porcentaje de carácter iónico de un enlace viene determinado por la diferencia de electronegatividad de los dos átomos que forman el mismo según la ecuación:

$$\% \text{ carácter iónico} = 1 - e^{-1/4(\chi_A - \chi_B)^2}$$

La polaridad de un enlace depende del carácter iónico del mismo y la de una molécula de la distribución de los enlaces polares y del peso relativo enlaces polares/enlaces apolares. Según la polaridad de sus enlaces los compuestos pueden considerarse iónicos ($\Delta\chi > 1.7$), polares ($0.5 > \Delta\chi > 1.7$) ó apolares ($0 > \Delta\chi > 0.5$).

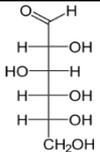
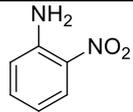
El análisis de la naturaleza y distribución de los enlaces de una molécula nos permite predecir qué tipos de fuerzas intermoleculares se podrían establecer y la naturaleza de dichas fuerzas de cohesión intermolecular influye en las propiedades físicas de los compuestos.

Teniendo en cuenta las consideraciones expuestas, indique en la tabla de la página siguiente cuáles serían sus predicciones en cuanto a los valores esperados, dentro del rango indicado, para cada compuesto y propiedad física.

3. Material y productos

Varilla - 9 Tubos de ensayo o viales con tapón - Pipeta Pasteur - Vidrio de reloj - Espátula - Vaso de precipitados de 50mL - Rotulador permanente - Ácido esteárico - Glucosa -Cloruro de calcio - Hexano - Agua - Un equipo para determinar puntos de fusión.

Tabla de resultados

Compuesto	Ácido esteárico	Glucosa	o-Nitroanilina	CaCl ₂	Hexano	Agua
Estructura	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO ₂ H			[Ca] ²⁺ [Cl] ₂ ⁻	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃	
Δχ del enlace más polar en cada caso						
% carácter iónico del enlace más polar en cada caso						
Polaridad de la molécula (iónica, polar, apolar)						
Predicciones						
Punto de fusión (bajo, intermedio, alto)						
¿Soluble en agua? si /no						
¿Soluble en hexano? si/no						
Datos experimentales						
Punto de fusión (bajo, intermedio, alto)						
¿Es soluble en agua? (si /no)						
¿Es soluble en hexano? (si/no)						
Datos descritos en la literatura						
Punto de fusión (bajo, intermedio, alto)						
¿Es soluble en agua? (si /no)						
¿Es soluble en hexano? (si/no)						

4. Procedimiento experimental

- a) Determinar si el punto de fusión de cada producto es menor que 100°C, entre 100-200°C, o mayor que 200°C y anotar en la sección ‘datos experimentales’ de la tabla de resultados.
- b) Etiquetar los 9 viales con números del 1-9 utilizando marcadores permanentes. A los viales etiquetados del 1-5 añadir 3 ml, aproximadamente, de agua desionizada y a los viales con etiquetas del 6-9 añadir la misma cantidad de hexano, utilizando la pipeta Pasteur.
- Añadir el soluto correspondiente a cada tubo según se indica a continuación. Tapar y agitar anotando la correspondiente observación en la sección ‘datos experimentales’ de la tabla de resultados.

Tubo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
disolvente	agua	agua	agua	agua	agua	hexano	hexano	hexano	hexano
soluto	Ác. esteárico	glucosa	o-nitroanilina	CaCl ₂	hexano	Ác. esteárico	glucosa	o-nitroanilina	CaCl ₂

- c) Buscar los valores descritos en la literatura para las propiedades en estudio de cada compuesto y anotarlos en la sección correspondiente de la tabla de resultados. Comparar los datos predichos, los observados y los descritos en la literatura.
- d) Añadir 2 ó 3 gotas de disolución acuosa de NaOH (2M) al **tubo 1** y 2 ó 3 gotas de disolución acuosa de HCl (2M) al **tubo 3**. Anota si hay algún cambio.

5.- Cuestiones posteriores al trabajo experimental

- En el apartado 4. d) ¿A qué pueden ser debidos los posibles cambios al añadir base o ácido?
- Justifica las diferencias en puntos de fusión entre los compuesto evaluados

1. Objetivos

PARTE A: Oxidación de azúcares reductores

- Ensayos de oxidación con el reactivo de Barfoed.
- Ensayos de oxidación con ferricianuro.
- Oxidación de glucosa con O₂-azul de metileno.

PARTE B: Fermentación

- Encapsulado de levadura con alginato.
- Fermentación de glucosa.

2. Introducción

A1. Tests para azúcares reductores.

Se conocen como azúcares reductores a aquellos que poseen un carbono anomérico libre, ya que es la forma abierta la que puede sufrir la oxidación. Esta capacidad permite la clasificación de los azúcares en algunos tests clínicos.

Entre los distintos reactivos que tienen la capacidad de detectar estos azúcares reductores, tres de ellos se caracterizan por utilizar la capacidad oxidante del Cu(II): los reactivos de Fehling, Benedict y Barfoed. Todos ellos son disoluciones acuosas de sales de Cu(II), siendo la diferencia fundamental entre ellos la forma en que se prepara la disolución oxidante:

- **Reactivo de Fehling:** es un complejo de Cu(II)-tartrato que se prepara inmediatamente antes de usarlo mezclando disoluciones de CuSO₄ (Fehling A) y tartrato de Na y K (Fehling B).
- **Reactivo de Benedict:** está compuesto por CuSO₄, citrato de sodio, Na₂CO₃ y NaOH. Tiene la ventaja de que la disolución citrato-Cu(II) es más estable.
- **Reactivo de Barfoed:** compuesto por Cu(OAc)₂ y AcOH. Es el único que actúa en medio ácido (pH 4.6). Por otra parte, el reactivo de Barfoed es más suave que los otros dos y permite distinguir entre los mono- y disacáridos reductores ya que los monosacáridos reaccionan rápidamente mientras que los disacáridos reaccionan lentamente.

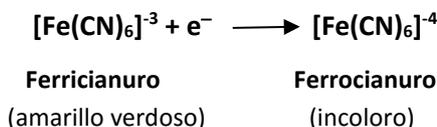
En todos los casos, al calentar el azúcar con alguno de estos reactivos la formación de un precipitado rojo anaranjado de óxido de cobre (I) indica una reacción positiva. El compuesto se oxida fácilmente mientras el ión metálico se reduce. El Cu(II) se reduce por reacción con α -hidroxialdehídos y α -hidroxicetonas. Esto permite clasificar los azúcares entre reductores, que poseen una de estas agrupaciones, y no reductores, los que no la poseen.



Así, la sacarosa que no contiene grupos C=O libres, no reducirá el reactivo de Fehling. Sin embargo, en medio ácido se hidroliza dando glucosa y fructosa, que sí pueden dar la reacción.

Por otra parte, como tanto la glucosa como la fructosa son compuestos α -hidroxicarbonílicos, los reactivos anteriores no permiten distinguir entre ellos. Un test útil para diferenciarlos es la reacción con **ferricianuro potásico** en medio básico. El ferricianuro se reduce abstrayendo un electrón y pasando del color amarillo verdoso del ferricianuro a un color amarillo pálido del ferrocianuro que se forma.

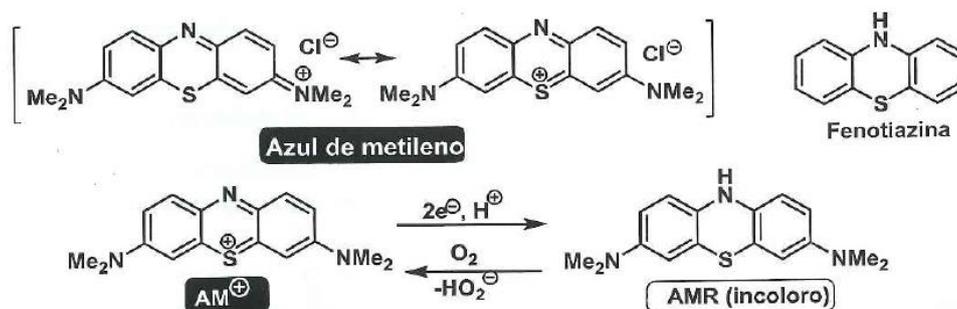
La fructosa reacciona más rápidamente que la glucosa lo que permite diferenciar claramente entre ellas. Si el color no desaparece al cabo de 5 minutos, el azúcar no es fructosa ni glucosa.



A2. Oxidación de glucosa con O₂-azul de metileno.

En los procesos biológicos los oxidantes usuales son O₂, O₃ y compuestos derivados de ellos, por ejemplo H₂O₂; y las reacciones tienen lugar por la acción de coenzimas como NAD o FAD como intermediarios. En ausencia de los enzimas correspondientes, las oxidaciones necesitan reactivos más energéticos o la utilización de catalizadores como activadores.

El **azul de metileno**, un colorante con núcleo de fenotiazina, tiene una utilidad muy variada en química, biología y medicina. Una de sus características es su capacidad de actuar como un catalizador de oxidación similar al coenzima NAD. La adición de dos electrones y un protón a la forma oxidada azul del colorante **AM⁺** da su forma reducida incolora **AMR**. En presencia de oxígeno, **AMR** transfiere los dos electrones y el protón generando de nuevo la especie azul **AM⁺** y un equivalente de HO₂⁻ (base conjugada de H₂O₂). Es decir, el par **AM⁺/AMR** se comporta de forma similar al NAD/NADH.



El ciclo de decoloración y regeneración del color puede ser repetido varias veces aunque al cabo del tiempo a disolución empieza a amarillear y tras varias horas adquiere un color marrón rojizo.

B. Encapsulado de levadura y fermentación.

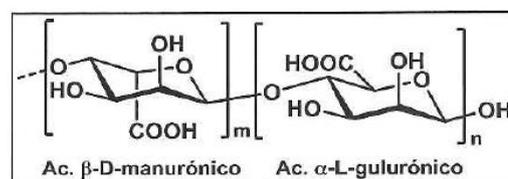
La **fermentación alcohólica** es un proceso biológico anaeróbico resultado de la actividad de algunos microorganismos, fundamentalmente levaduras, que actúan sobre algunos hidratos de carbono, como glucosa, fructosa, sacarosa, para obtener ATP y energía, que los microorganismos utilizan en su propio metabolismo, y etanol y dióxido de carbono como subproductos.



Una de las levaduras más conocidas es la especie *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de cerveza o de panadero) que se emplea en la producción de pan, cerveza, vino, etc.

Por otra parte, la utilización de enzimas y microorganismos en la industria ha hecho aconsejable su inmovilización sobre un material inerte e insoluble que permita separarlas fácilmente de los productos y la reutilización del biocatalizador. Esta inmovilización hace el proceso más eficiente y aumenta también su resistencia a cambios en las condiciones tales como el pH y la temperatura.

Un método simple y adecuado para inmovilizar células en condiciones suaves consiste en su **encapsulación** en un gel con polisacáridos como los alginatos, carragenanos o chitosán. Los ácidos alginicos son polisacáridos que se obtienen de las paredes celulares de las algas pardas donde pueden tener concentraciones de hasta 25% de su peso seco. Estos ácidos son biopolímeros lineales constituidos por bloques de ácidos β-D-manurónico y α-L-gulurónico en forma de piranosa con uniones (1, 4).



Sus sales con metales alcalinos y de amonio son solubles en agua, pero en presencia de cationes polivalentes como Ca²⁺ dan lugar a geles estables debido a la formación de enlaces iónicos cruzados. Así, la suave gelatinización de las disoluciones de alginato en presencia de iones calcio ha permitido el encapsulado de ADN, proteínas y células en matrices entrecruzadas sin pérdida de su actividad biológica. Los alginatos se utilizan también en alimentación, en impresiones dentales, encapsulado de medicamentos, apósitos para heridas, etc.

El tratamiento de una suspensión de levadura de cerveza y alginato sódico con cloruro de calcio da lugar al encapsulado de la levadura y permite su utilización en la fermentación de la glucosa.

3. Material y productos

Material para la sesión

Gradilla + tubos de ensayo – agitador magnético + termómetro de contacto – baño para agua caliente – varilla de vidrio- espátula – cuentagotas de plástico graduados – viales de vidrio + tapones – tapón de polietileno – cuentagotas de vidrio recortado + chupetín.

Reactivos para la parte A

Glucosa – fructosa – sacarosa- reactivo de Barfoed –reactivo de ferricianuro – NaOH (lentejas) – disolución de azul de metileno (EtOH-H₂O).

Reactivos para la parte B

Glucosa – alginato sódico – levadura – CaCl₂ 10%.

4. Procedimiento experimental

A1. Oxidación con reactivo de Barfoed

En tres tubos de ensayo se introduce una punta de espátula de los azúcares glucosa, fructosa y sacarosa (se recomienda etiquetar adecuadamente cada uno de los tubos). En un vial se cogen 10 mL aprox. del reactivo de Barfoed y con el cuentagotas de plástico se añaden 2 mL del reactivo a cada uno de los tubos, agitando suavemente la mezcla para disolver cada azúcar.

Estos tres tubos se introducen a continuación en un baño de agua previamente calentada a 90°C aprox. Tras un minuto en el baño, se sacan los tubos y se observan los posibles cambios. Después, se reintroducen los tubos en el baño a intervalos de 1 minuto hasta observar la aparición clara de un precipitado rojo.

Finalmente, los tubos de ensayo se dejan en la gradilla y al final de la sesión se anotan los posibles cambios adicionales.

A2. Oxidación con ferricianuro

Se preparan de nuevo tres tubos de ensayo con una pequeña cantidad de los tres azúcares: glucosa, fructosa y sacarosa y con el cuentagotas de plástico se añaden 2 mL del reactivo ferricianuro a cada uno de los tubos, agitando suavemente cada mezcla. Se anota la hora, se dejan los tubos en la gradilla y se observan los cambios durante 5 minutos. Al cabo de 15 minutos adicionales, se anotan los cambios que se puedan producir, así como al cabo de 1 hora y al finalizar la sesión.

A3. Oxidación de glucosa con O₂-azul de metileno

Con ayuda de una espátula se introduce en un vial una cucharada de glucosa, 20 mL de agua desionizada y una lenteja de NaOH. Se tapa el vial y se agita hasta disolver la lenteja. A continuación se añade una gota de azul de metileno, se homogeneiza la disolución y se anota la hora. La disolución azul resultante se deja en reposo en el vial tapado tomando nota del tiempo necesario para la decoloración. Sin destapar, se agita la mezcla hasta recuperar el color azul y se vuelve a dejar la disolución en reposo hasta decoloración. Esta operación se puede repetir varias veces a lo largo de la sesión.

B1. Encapsulado de levadura con alginato

En un trozo de papel de aluminio se pesan 100 mg de alginato sódico y 1,5 g de levadura de panadero. Con ayuda de la varilla, se prepara en un vial una suspensión de la levadura con 10 mL de agua desionizada y se añade el alginato, removiendo hasta obtener una mezcla homogénea. Con el cuentagotas de vidrio se dejan caer lentamente gotas de la mezcla alginato + levadura sobre un vial que contiene 10 mL de CaCl₂ 2% hasta consumir toda la mezcla. (La disolución de CaCl₂ 2% se debe preparar previamente a partir de una disolución de CaCl₂ 10%). Tras 5-10 minutos en reposo, se elimina cuidadosamente el líquido sobrenadante con un cuentagotas de plástico y las esferas de levadura-alginato se lavan con agua desionizada añadiendo agua hasta cubrir las, removiendo suavemente y retirando el agua con el cuentagotas.

B2. Fermentación de glucosa

En primer lugar se prepara en un vial una disolución de 1 g de glucosa en 10 mL de agua desionizada. Esta disolución de glucosa se vierte sobre las esferas de levadura-alginato, tapando el vial sin presionar. Este vial se introduce a continuación en un baño de agua a 45-50 °C, observando y anotando los cambios. Cuando se observe desprendimiento gaseoso, levante el tapón y huela la mezcla.

5. Resultados

6. Cuestiones posteriores al trabajo experimental

1. Cuáles de los siguientes monosacáridos esperarías que dieran positivo en el test de Barfoed.
D- glucosa, D-lixosa, D-galactosa, D-manitol
Y cuáles de los siguientes disacáridos deberían de dar positivo en el test de Barfoed.
Lactosa, maltosa, isomaltosa, celobiosa, trehalosa.
2. ¿Se observa reacción de la sacarosa con el reactivo de Barfoed?.
3. Si la oxidación con O_2 -azul de metileno se llevara a cabo con manosa o ribosa, ¿Qué compuestos se obtendrían?

SESIÓN 4.

A. EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE PIGMENTOS VEGETALES PRESENTES EN LAS ESPINACAS

7. Introducción

La fotosíntesis, proceso que permite a los vegetales obtener la materia y la energía que necesitan para desarrollar sus funciones vitales, se lleva a cabo gracias a la presencia en las hojas y en los tallos jóvenes de pigmentos, capaces de captar la energía lumínica.

Entre todos los caracteres más externos de los vegetales, el más notable y característico es probablemente el color. El color no es únicamente un carácter llamativo de la vegetación, sino que, además, algunos de los pigmentos que lo condicionan están estrechamente ligados a las actividades fisiológicas del propio vegetal. Por consiguiente, el estudio de cómo las plantas viven y se desarrollan requiere el previo conocimiento de los pigmentos vegetales.

¿Qué son los pigmentos?

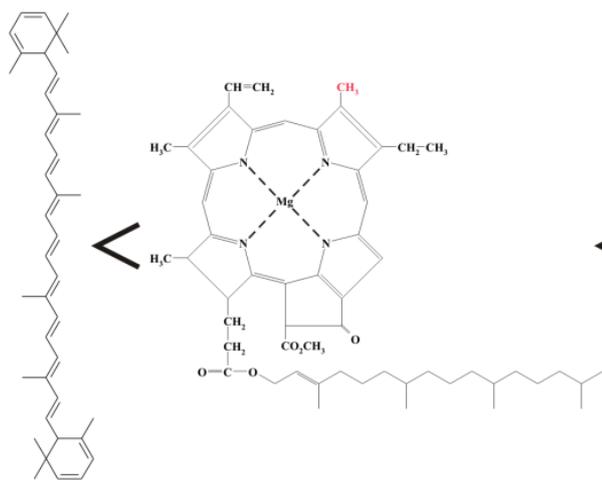
Si es posible encontrar en el reino vegetal todos los matices y combinaciones de colores del espectro, existe un predominio general de los colores primarios: verde, amarillo, rojo, azul. Estos colores son conferidos a los vegetales por determinados *compuestos químicos* definidos, llamados **pigmentos**. El color particular que presenta un determinado órgano vegetal depende generalmente del predominio de uno u otro o la combinación de ellos. Se debe tener claro que cuando un vegetal presenta un color blanco, es debido a la falta de tales pigmentos. La luz solar que incide sobre ellas no es absorbida selectivamente como ocurre en las partes coloreadas, sino que es transmitida o reflejada prácticamente sin sufrir modificación.

Las Clorofilas. El color verde tan uniformemente presente en los vegetales es debido a la presencia de dos pigmentos estrechamente emparentados llamados **clorofila a** y **clorofila b**. Se encuentran prácticamente en todas las plantas con semilla, helechos, musgos y algas. Pueden formarse en las raíces, tallos, hojas y frutos a condición de que estos órganos estén situados por encima del suelo y queden expuestos a la luz. También aunque aparentemente falten en algunas hojas de color rojo o amarillo, cuando se extraen las otras sustancias colorantes de estas, puede comprobarse incluso allí la presencia de las clorofilas, que estaban enmascaradas por los demás pigmentos.

¿Dónde están los pigmentos?

Estos pigmentos se encuentran en el interior de la células vegetales específicamente en un orgánulo llamado **cloroplasto**. Los cloroplastos son simplemente plástidos que contienen pigmentos clorofílicos. Los compuestos clorofílicos están ligados químicamente con las estructuras internas del cloroplasto (membrana tilacoides) y se hallan retenidos en estado coloidal. Asociados con las clorofilas, existen también en los cloroplastos dos clases de pigmentos amarillos y amarillo-anaranjados que son las **xantofilas** y los **carotenides**.

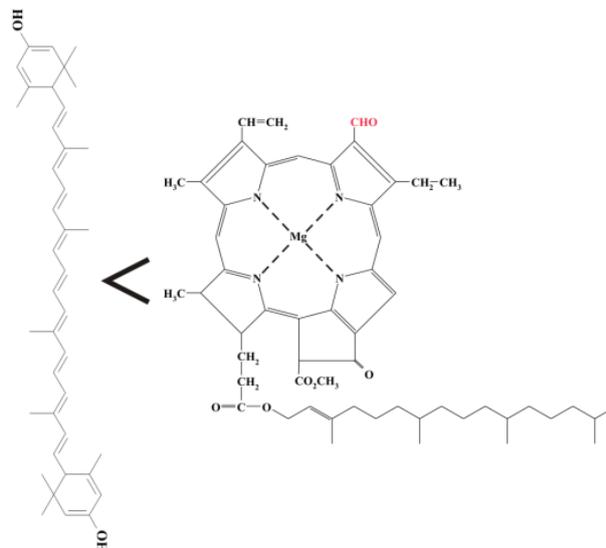
+ APOLAR



Carotenos
(naranja)

Clorofila a
(verde-azul)

-APOLAR



Xantofilas
(amarillo)

Clorofila b
(verde oliva)

¿Cómo se dividen los disolventes?

Los pigmentos clorofílicos son **insolubles** en el disolvente universal llamado **agua**, pero sí son **solubles** (afinidad química) en **disolventes orgánicos** como por ejemplo etanol y acetona. A los disolventes que extraen simultáneamente todos los pigmentos de la hoja se los suele llamar **extractantes**. Existen otros disolventes que presentan afinidad por algunos pigmentos y se los llama **separadores**, como por ejemplo el hexano y el éter de petróleo, entre otros.

En el método de extracción simple, como se desarrolla más adelante se utilizará como extractante la acetona y como separador el hexano. Estos dos disolventes orgánicos responden en forma diferente a los pigmentos clorofílicos, como así también a sus diferencias físicas que hacen que sean dos líquidos no miscibles y con diferente densidad.

En el segundo método por cromatografía se trata de una separación más fina de los pigmentos, y se basa en la adsorción y solubilidad diferenciales de varias sustancias entre las que se incluyen los pigmentos. Un soporte inerte como papel de filtro, silicagel o alúmina y unos granos de carbonato de calcio para deshidratar la muestra, son los componentes necesarios para desarrollar la técnica. Es una técnica que permite la separación de las sustancias de una mezcla que tienen una afinidad diferente por el disolvente en que se encuentran. De tal manera que al introducir una tira de papel en esa mezcla el disolvente arrastra con distinta velocidad a los pigmentos según la solubilidad que tengan y los separa, permitiendo identificarlos perfectamente según su color

PIGMENTO	COLOR
Clorofila A	Verde azulado
Clorofila B	Verde amarillento
Carotenos	Naranja
Xantofilas	Amarillo

2. Objetivo

Extraer los pigmentos fotosintéticos presentes en un producto natural (espinacas) y separarlos. Esta separación se realizará mediante una técnica sencilla como extracción líquido, ya vista anteriormente, o por técnicas de cromatografía simples como es la de papel o capa fina.

3. Material y productos

Mortero - Embudo de gravedad -Kitasato - Papel de filtro - Tubos de ensayo - Acetona - Diclorometano - Tubos de centrifuga - Bomba de vacío – Gradilla - Placas de cromatografía – Capilares - Vasos de precipitado de 50, 100 y 400 mL – Vidrio de reloj - Matracas Erlenmeyer - Pipetas Pasteur - Varilla de vidrio- Espátula – Etanol – Diclorometano - Hexano- Acetato de etilo- Carbonato de calcio - Espinacas.

4. Procedimiento experimental

Métodos de separación de pigmentos:

a) Separación de pigmentos vegetales por separación simple.

Objetivo: Extraer los pigmentos fotosintéticos y separarlos mediante una técnica sencilla de fases.

Material: Mortero - Embudo Buchner -Kitasato - Papel de filtro - Tubos de ensayo - Acetona – Hexano - Hojas de espinaca o Acelga - Bomba de vacío.

Técnica:

1.-Colocar las hojas de espinacas en un mortero, junto con el disolvente extractante acetona. Triturar la mezcla hasta que las hojas se decoloren y el disolvente adquiera un color verde intenso.

2.-Filtrar con un embudo Buchner, papel de filtro y bomba de vacío. (O decantar).

3.-Pasar el filtrado a un tubo de ensayo, agregar hexano y agitar por unos segundos. Se deja reposar en una gradilla por 10 minutos. Los pigmentos se irán separando según su adsorción o afinidad con los dos disolventes.

Al observar el tubo de ensayo donde se encuentran los dos disolventes, se pueden observar dos zonas que corresponden a los distintos pigmentos fotosintéticos presentes en las hojas de espinaca. Según su grado de solubilidad con la acetona y el hexano reconocen estas zonas heterogéneas y no miscibles en este orden:

1. clorofila a + b + hexano
2. xantofilas y carotenoides + acetona

b) Separación de pigmentos vegetales por cromatografía sobre papel y capa fina.

I. Cromatografía sobre papel.

Técnica:

1.- Colocar las hojas de espinacas en un mortero, junto con el disolvente extractante (acetona). Triturar la mezcla hasta que las hojas se decoloren y el disolvente adquiera un color verde intenso.

2.- Filtrar con un embudo Buchner, papel de filtro y bomba de vacío (o decantar). Colocar el filtrado en un tubo de ensayo y se le añaden de 3 a 5 perlas de carbonato de calcio, se deja reposar de 5 a 10 min.

3.- Tomar con un capilar o pipeta el sobrenadante del tubo A reservado de la experiencia anterior. Sobre un rectángulo de papel de filtro de unos 12 centímetros de ancho por 14 centímetros de alto doblado en V (para que se mantenga en pie) se traza con lápiz, una línea de siembra a 3 cm de la base. Sobre la línea se realizan de 5 a 8 pasadas con el capilar cargado de pigmento dejando entre cada pasada que se evapore acetona.

4.- Se coloca el papel ya sembrado en un vaso de precipitado que contendrá el disolvente separador (hexano), dejándolo unos 5 a 10 min. Observar la separación de la clorofila, y volver a desarrollar añadiendo cantidades crecientes de acetato de etilo.

5.- Los pigmentos se irán separando según su adsorción o afinidad con el disolvente. Al observar el papel donde hemos hecho la cromatografía, se verán cuatro bandas o zonas (figura A), que corresponden a los distintos pigmentos fotosintéticos presentes en las hojas de espinaca. Según su grado de solubilidad con el éter de petróleo se reconocen estas bandas y en este orden, de abajo a arriba:

1) clorofila b

2) clorofila a

3) xantofila

4) carotenos

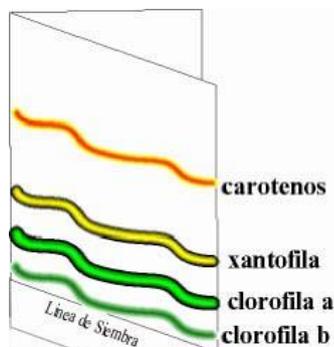
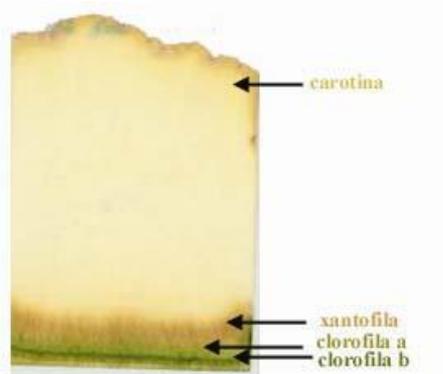


Figura A



Este es el aspecto final de la cromatografía obtenida con las hojas de espinacas

II. Cromatografía en capa fina

1. Preparación del extracto

Pesar 10 g de espinacas en un vaso de precipitados de 50 mL y añadir 12 mL de etanol absoluto, agitar y macerar la mezcla con la espátula. Filtrar la pasta a través de un embudo cuya salida se habrá taponado con un poco de lana de vidrio, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitados de 50 mL. Presionar la pulpa con la espátula para eliminar de este modo la mayor parte del líquido. Recoger el sólido sobre un trozo de papel de filtro y prensarlo. Trasvasar las espinacas deshidratadas a un vaso de precipitados de 50 mL y añadir 10 mL de diclorometano para extraer ahora los pigmentos. Agitar y macerar la mezcla durante dos minutos filtrando de nuevo, como en el caso anterior, pero recogiendo el filtrado en un matraz de fondo redondo. Evaporar el disolvente en un rotavapor.

3.- Separación de los componentes de la muestra

A continuación, disolver el extracto anterior de las espinacas en unas 20 gotas de diclorometano (cloruro de metileno). Para analizar la muestra por cromatografía en capa fina se utilizará un cromatofolio. El origen de la misma se marca con un lápiz mediante una línea recta a un cm aproximadamente del extremo inferior. Sobre esa línea se inocula con un capilar la muestra. Después de que el disolvente se haya evaporado, se introducirá en el interior de la cámara, empleando como eluyente de desarrollo la mezcla hexano: acetato de etilo 7:3. Finalizado el desarrollo, se saca el cromatofolio con unas pinzas, se deja secar y se marca rápidamente con un lápiz cada una de las manchas. En caso de que no se observen a simple vista las manchas, se revela con yodo o se observan con luz UV.

5. Resultados

Sobre el siguiente esquema que representa la placa de cromatografía, dibujar las manchas que se observan en la placa obtenida en la experiencia anterior, teniendo en cuenta el Rf de cada una de ellas.



B COLORANTES Y TINCIÓN

Para que el ojo humano pueda ver un objeto como coloreado, éste tiene que absorber radiación electromagnética de longitud de onda comprendida entre 400 y 750 nm (si absorbe azul se verá naranja y si absorbe naranja se verá azul).

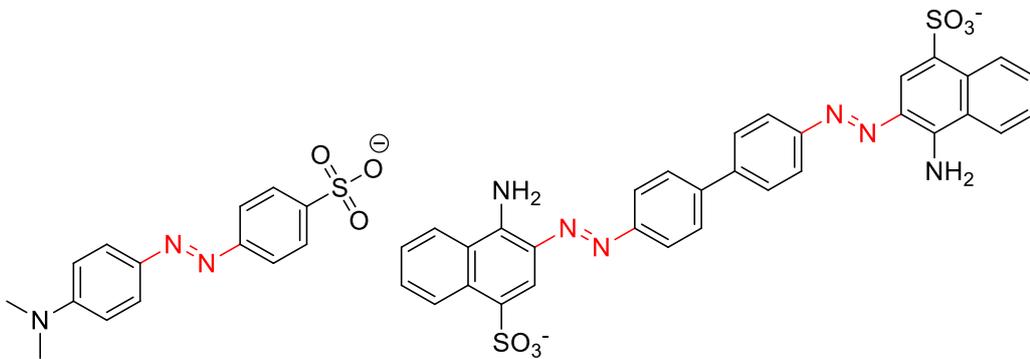
La estructura de las moléculas colorantes puede ser muy diversa aunque en muchos de ellos puede distinguirse una parte responsable de la absorción de luz (cromóforo), generalmente con una amplia extensión de dobles enlaces conjugados y/o anillos aromáticos, y el resto de la molécula que determinan sus propiedades tales como solubilidad en agua, tipo de materiales a los que se absorbe el compuesto y además, en caso de estar conjugados al cromóforo, pueden modular la longitud de onda de absorción y en consecuencia el color observado, especialmente cuando se conjuga un grupo dador con un grupo aceptor de electrones.

Tinción: Para que el colorante tinte la fibra debe haber una interacción entre ambos. Ésta puede ser:

1. **Adsorción.** Se pueden establecer puentes de H, si además pueden actuar fuerzas de Van der Waals el anclaje es más efectivo. Para ello convienen colorantes largos y planos con grupos capaces de formar puentes de H e insolubles en agua. En muchos casos se combinan con sales de metales (**mordientes**) que al tratar con bases forman hidróxidos precipitan en la fibra fijando el colorante y, en algunos casos, modificando su color.
2. **Formación de soluciones sólidas.** Para colorantes poco solubles en agua que se pueden introducir en la fibra si la estructura de ésta se abre (p.ej. calentando) y quedan retenidos al cerrar la estructura (p.ej. enfriando)
3. **Formación de agregados insolubles.** Con colorantes más grandes que los poros de la estructura. Para ello se parte de un derivado soluble que impregna la fibra y luego se le transforma en insoluble.
4. **Enlaces iónicos.** Entre los grupos **aniónicos** del colorante (p.ej. SO_3^-) y los centros catiónicos de las fibras (poliamida, lana, seda) o entre grupos **catiónicos** del colorante y fibras modificadas donde se han generado aniones.
5. **Enlaces covalentes.** Con **colorantes reactivos** que forman enlaces covalentes con grupos como hidroxilo o amino de las fibras.

En la práctica vamos a utilizar 4 colorantes:

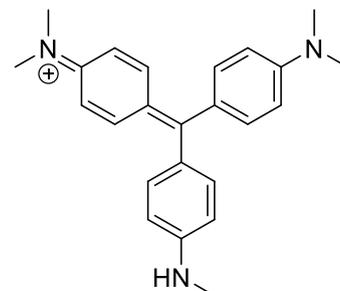
Dos de tipo **Azo**, el Naranja de metilo y el Rojo Congo (éste modifica el color al tocar la prenda con manos sudorosas por lo que se usa más para teñir preparaciones histológicas). Ambos cambian de color en medio ácido, el naranja de metilo pasa a rojo y el Rojo Congo a azul a pH menores de 3.



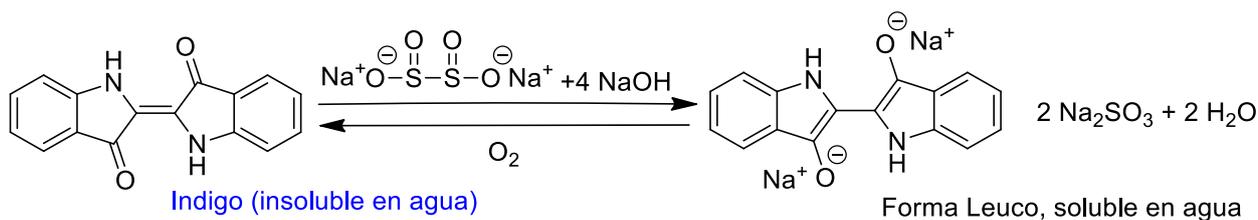
Naranja de Metilo

Rojo Congo

El **Violeta de Metilo**, es del tipo de los **Trifenilmetanos**. A pH ácido vira a amarillo y en medio fuertemente básico se transforma en la forma leuco (incolora).



El **Indigo** pertenece al grupo de colorantes de tinta, compuestos insolubles en agua, que pueden ser transformados en un compuesto soluble que por oxidación suave con el oxígeno del aire regenera la forma insoluble y coloreada.



Procedimiento experimental. Necesitaremos un baño de agua a unos 70°C, 3 viales etiquetados del 1-3, un matraz Erlenmeyer de 100 mL y otro vial con 10 ml de agua desionizada (marcar el nivel) y etiquetado como **H₂O**.

En el vial **1**. Introducir 10 mL aprox. de disolución de naranja de metilo e introduzca la tira de tejido multifibras y remover hasta que el todo tejido se empape bien de colorante. A continuación calentar en el baño durante 2 minutos con suave agitación.

Tras llevar el vial a la pila, saque la tira y enjuáguela abundantemente con agua. Tras escurrirla, deposite la cinta sobre papel y deje que se seque.

El colorante sobrante se reserva para el ensayo acido-base.

Repita el mismo proceso con los viales **2** (rojo Congo) y **3** (violeta de metilo). Recuerde que ha de enjuagar la varilla con agua desionizada al cambiar de colorante.

Para la **tinción con Índigo** hay que preparar primero la forma “leuco”.

40 mg de indigo se introducen en el matraz erlenmeyer y se le añaden 400 mg de ditionito sódico. Tras añadir 30 mL de agua, se introduce una lenteja de NaOH. Remueva el contenido del matraz con una varilla hasta disolver, al menos en parte, la lenteja de NaOH.

Se introduce el matraz en el baño de agua hasta observar el cambio de color (hasta amarillento-verde amarillento) de la disolución.

Manteniendo el matraz en el baño introduzca la tira multifibras removiendo durante 2 a 5 minutos (anote el tiempo).

Igual que con los anteriores, lleve el matraz a la pila, saque la tira, enjuáguela y escúrrala antes de dejarla secar al aire sobre un papel.

Teniendo en cuenta que la tira multifibras presenta franjas de los siguientes tejidos: Lana, Acrílico, Poliéster, Poliamida, Algodón, Diacetato de celulosa:

Indique, en la siguiente tabla, que tejidos **Sí** quedan o **No** teñidos con cada uno de los colorantes.

Tipo de Fibra	Naranja de metilo	Rojo Congo	Violeta de metilo	Índigo
Lana				
Acrílico				
Poliéster				
Poliamida				
Algodón				
Diacetato de celulosa				

Marque, en la siguiente tabla, que interacciones intermoleculares cabe esperar entre los diferentes tipos de fibras y el naranja de metilo.

Tipo de Fibra	Ión-Ión	Ión-Dipolo	Dipolo- Dipolo	Dipolo- Dipolo inducido	Puente de H
Lana					
Acrílico					
Poliéster					
Poliamida					
Algodón					
Diacetato de celulosa					

Las disoluciones con los colorantes se recogerán en los recipientes habilitados al efecto, con cuidado de no mezclarlos.

Propiedades ácido-base de los colorantes.

Etiquete 3 tubos de ensayo (como A, B, C) para cada colorante.

1A, 1B, 1C para el naranja de metilo, **2A, 2B, 2C** para el rojo Congo y **3A, 3B, 3C** para el violeta de metilo.

Introduzca 10 gotas de disolución del colorante correspondiente y añada al tubo **A** una gota de HCl conc.; al tubo **B** una gota de NaHCO₃ al 5%; al tubo **C** una gota de NaOH al 40%. Vaya anotando los resultados hasta completar los nueve tubos.

Justifique si los resultados son coherentes con la estructura de los diferentes colorantes.

SESIÓN 5 (3 horas)

AISLAMIENTO DE PRODUCTOS NATURALES: TRIMIRISTINA DE LA NUEZ MOSCADA

8. Objetivos

- Extracción de los componentes de la nuez moscada solubles en diclorometano.
- Separación de la trimiristina por cambio de disolvente.
- Filtración a vacío.

9. Introducción

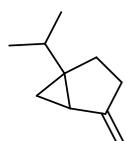
La extracción de compuestos de fuentes naturales ha sido utilizada por el hombre desde tiempo inmemorial con el objetivo de utilizarlos como medicamentos, perfumes, colorantes, etc. Tradicionalmente, la materia prima a extraer (animal o vegetal) se dejaba secar y, posteriormente se trituraba y extraía con un disolvente o una mezcla de disolventes para obtener una disolución enriquecida en sus principios activos para su aplicación directa o fraccionado posterior. Actualmente, se han desarrollado métodos más eficaces de extracción que hacen uso de fluidos supercríticos y en algunos casos se extrae la materia prima sin secado previo para evitar los cambios enzimáticos o químicos que tienen lugar a lo largo del proceso de secado.

En esta sesión se van a extraer los componentes de la nuez moscada solubles en diclorometano y a partir de dicho extracto se va a aislar uno de sus componentes mayoritarios, la **trimiristina**.

La nuez moscada es el endospermo del fruto de *Myristica fragrans*, un árbol que crece en Indonesia y las Indias Occidentales. Del fruto de la nuez moscada se separan dos tipos de especias, la nuez moscada y el macis, una cobertura carnosa de color rojo intenso. En la medicina tradicional, la nuez y su aceite se utilizan para tratar enfermedades relacionadas con los sistemas nervioso y digestivo. Por otra parte, en pequeñas dosis la nuez moscada no produce efectos perceptibles en el organismo, pero en grandes cantidades es peligrosa, produciendo convulsiones y palpitaciones.

De la nuez moscada se extrae:

1. **El aceite de nuez moscada** que se utiliza fundamentalmente como aromatizante para alimentos, en cosmética y perfumería y en medicina tradicional. Está compuesto, entre otros por:
 - Hidrocarburos de tipo terpeno como sabineno y α - y β - pineno.
 - Geraniol y 4-terpineol, compuestos oxigenados.
 - Éteres aromáticos como safrol, miristicina o elemicina, que son los responsables del fuerte olor de la nuez moscada.



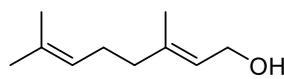
sabineno



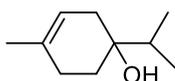
α -pineno



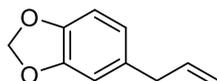
β -pineno



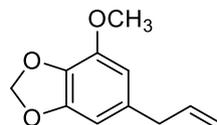
geraniol



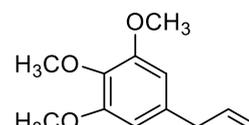
4-terpineol



safrol



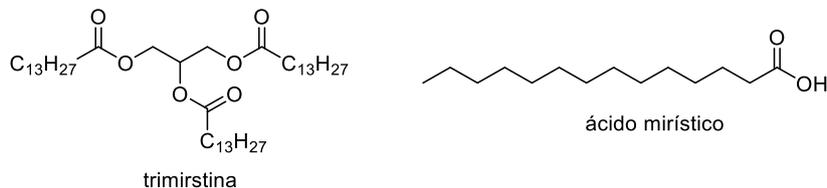
miristicina



elemicina

2. **Manteca de nuez moscada**, semisólida y de color marrón rojizo, con sabor y olor a nuez moscada. Su componente mayoritario es una grasa, la **trimiristina**, que suele estar en cantidades de aproximadamente 20-25% en peso de la nuez. Al cortar la nuez moscada se pueden apreciar a simple vista los depósitos blanquecinos de trimiristina.

Químicamente la trimiristina es el triglicérido del ácido mirístico. Como la mayoría de las grasas, es insoluble en agua pero muy soluble en disolventes orgánicos de baja o media polaridad con éter o diclorometano.



En la extracción de la nuez moscada con diclorometano todos los compuestos solubles en este disolvente pueden ser extraídos simultáneamente, por lo que el extracto tiene una composición compleja. Para separar la mayor parte de esta grasa del resto de componentes haremos uso de sus distintas propiedades de solubilidad. Un cambio de disolvente por adición de etanol facilitará la separación de la trimiristina de los compuestos de la mezcla más solubles en alcohol. De esta forma se puede obtener una fracción muy enriquecida en trimiristina, lo que denominaríamos *trimiristina bruta*. Para obtener una fracción pura de este compuesto serían necesarias purificaciones adicionales.

10. Material y productos

Material para la extracción

Erlenmeyer 100 mL – embudo de sólidos – agitador magnético + barra magnética – pinza montaje + nuez – embudo de vidrio – aro metálico + nuez – matraz de fondo redondo 100 mL – cuentagotas de vidrio + chupetín – algodón.

Material para el aislamiento

Rotavapor – baño de agua-hielo – embudo Büchner – tubo de vacío con salida lateral – bomba o trompa de vacío – vial mediano – cuentagotas de vidrio + chupetín.

Muestra y disolventes

Nuez moscada molida – diclorometano – etanol 96%

11. Procedimiento experimental

Extracción de la nuez moscada.

En primer lugar se pesan sobre papel de aluminio 5 g aprox. de nuez moscada y con ayuda de un embudo de sólidos se introduce en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Se añaden con cuidado una barra magnética y 20 mL de diclorometano, se tapa el Erlenmeyer con papel de aluminio y se sujeta con una pinza al soporte del agitador. Para extraer la nuez moscada se agita la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiente. A continuación se filtra la mezcla a través de un embudo de vidrio en el que habremos colocado un poco de algodón en el inicio del vástago (sin presionar excesivamente, para evitar obstrucciones); el embudo se coloca en un aro metálico y se recoge el filtrado en un matraz de fondo redondo.

Aislamiento de la trimiristina.

El disolvente se elimina por destilación a presión reducida en el rotavapor hasta obtener un aceite que se transfiere a un vial seco con el cuentagotas de vidrio. El matraz se lava con 5 mL de etanol, que se transfieren también al vial, se calienta la mezcla para homogeneizarla (en el baño del rotavapor) y se deja el vial en la vitrina hasta temperatura ambiente sin moverlo hasta que se separe la trimiristina. Si no aparecen cristales se pueden añadir 2 gotas de agua y, sin homogeneizar, dejar en reposo unos minutos o sumergir el vial en un baño de agua-hielo. La trimiristina sólida se separará por filtración a vacío.

La filtración a vacío es un método de filtración que consiste en hacer vacío en el matraz que recibe el filtrado, lo que acelera el proceso y se obtiene un sólido con la mínima cantidad de líquido embebido permitiendo, además el lavado del sólido. La fuente de vacío puede ser algún tipo de bomba de vacío o una trompa de agua conectada a una llave de tres pasos. Este tipo de llave sirve para cerrar y abrir el sistema al aire. Consta de una pieza de vidrio con tres salidas y una pieza central perforada que según su posición permite conectar selectivamente las salidas. Los puntos de conexión perforados de la pieza central vienen indicados por las asas negras y el punto marcado sobre la pieza. Se necesita además:

- Un embudo Büchner y un filtro de papel que debe acoplar con el fondo del embudo.
- Un matraz kitasato o un tubo con oliva lateral con un adaptador de goma para asegurar el cierre.
- Disolvente frío, un cuentagotas de vidrio para lavar el sólido y una espátula.

En cuanto al procedimiento para la filtración, en primer lugar se humedece el papel con un poco de disolvente y, con la fuente de vacío en funcionamiento, se deja que el vacío lo adhiera al fondo. Se remueve la mezcla sólido-líquido que se desea filtrar y se vierte con rapidez sobre el embudo, dejando que succione. Al final, se presiona con la espátula y cuando deja de caer líquido, se abre al aire el sistema girando la llave de tres pasos. Para recoger el sólido que pueda quedar se añaden 5 mL de etanol frío al vial y se vuelve a verter sobre el embudo donde está el sólido. Éste se debe lavar con etanol y, al finalizar, se deja unos minutos a vacío para secarlo en parte. El sólido obtenido se coloca en un papel de filtro pesado y etiquetado, se deja secar al aire y por último se calcula el rendimiento de trimiristina bruta obtenido.

12. Resultados

13. Cuestiones posteriores al trabajo experimental

1. Dibuje la estructura semidesarrollada de la trimiristina y de su nombre sistemático IUPAC así como su nombre empleando la nomenclatura de ácidos grasos
2. ¿Por qué se añade etanol al extracto concentrado de la nuez moscada?
3. ¿Qué puede ocurrir si lavamos el sólido con diclorometano en lugar de con etanol?

BIBLIOGRAFÍA

1. Begoña García, "Laboratorio Química de Biomoléculas, Manual de Prácticas" curso 2014-2015"
2. Martínez Grau, W.A.; Csáky, A.G. *Técnicas Experimentales en Síntesis Orgánica*, Ed. Síntesis: Madrid, **1998**.
3. Harwood, L.M.; Moody, C.J. *Experimental Organic Chemistry: Standard & Microscale*, 2ª Edición. Blackwell Scientific Publications: Oxford, **1998**
4. Hawbecker, B.L.; Kurtz, D.W.; Putnam, T.D.; Ahlers, P.A.; Herber, G.D. *J. Chem. Educ.*, **1978**, 55, 540.
5. Bossert, R.G.; Brode, W.R. *Laboratory Text and Notebook for Organic Chemistry*, John Wiley & Sons: New York, **1968**
6. Pavia, D.L.; Lampman, G.M.; Kriz, G.S., Jr. *Química Orgánica Experimental*, Ed. Eunibar, **1978**
7. Palleros, D. R.; *Experimental Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, **2000**.
8. Eliel, E.L.; *Elementos de Estereoquímica*, Limusa Wiley, México, **1970**
9. Valcárcel Cases, M.; *Técnicas analíticas de separación*, Editorial Reverté, **2003**
10. Freifelder, D.; *Técnicas de bioquímica y biología molecular*, Editorial Reverté, **2008**.
11. R. Ikan "NATURAL PRODUCTS", Ed. Academic Press. 2ª Edición (1991).