PRACTICA RECONOCIMIENTO GRUPOS FUNCIONALES

I. ALDEHÍDOS, CETONAS Y CARBOHIDRATOS

Parte I Pruebas para el análisis de aldehídos y cetonas

Reacciones de oxidación (diferenciación entre aldehídos y cetonas)

Ensayo de Fehling

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar y márquelo con el nombre de la misma 2. Adicione 0,5mL o 0,25 g de la sustancia a analizar
3. Añada a cada tubo 0,5mL de solución de Fehling A y 0,5mL de solución de Fehling B
4. Agite suavemente, coloque los tubos en un baño de agua hirviendo, durante unos tres minutos.
5. Un precipitado amarillo naranja de óxido cuproso es ensayo positivo. Si se ha añadido exceso de reactivo puede aparecer una coloración verde que se toma también como positivo.

PRECAUCIONES Otras sustancias orgánicas como las α–hidroxicetonas dan ensayo positivo. No se debe calentar demasiado tiempo los tubos ya que las cetonas pueden oxidarse en las condiciones del ensayo, falseando los resultados. Los aldehídos aromáticos y los alifá

Ensayo de Benedict

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia 2. Adicione 2mL del reactivo de Benedict
3. Caliente en un baño de agua hirviendo por tres minutos. 4. Observe los resultados y regístrelos.

- **Ensayo de Tollens**

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia 2. Adicione 2mL del reactivo de Tollens, agite y deje reposar por 10 minutos.
3. Si luego de los 10 minutos, no ha ocurrido reacción alguna, puede calentar en baño maría a 35ºC por cinco minutos. No olvide controlar la temperatura para que no reaccionen las cetonas.
4. Registre sus datos
5. Si aparece un precipitado negro o un espejo de plata se considera al ensayo positivo.

NOTA En caso de necesitar preparar el reactivo de Tollens siga el siguiente procedimiento: En un tubo de ensayo limpio y seco mezcle **1mL de hidróxido de sodio al 5% con 5mL de nitrato de plata al 5%, agite cuidadosamente y añada gota a gota solución de hidróxido de amonio 2N** hasta disolver todo el precipitado.

Parte II Carbohidratos

Reacción de Molisch

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia 2. Agregue cuatro gotas de reactivo de Molisch.
3. En otro tubo, coloque 0,5mL de ácido sulfúrico concentrado, incline un poco el tubo de ensayo, adicionando cuidadosamente la solución del carbohidrato preparada anteriormente buscando que quede encima del ácido sulfúrico.
4. El desarrollo de un color púrpura – violeta en la interfase se toma como positivo. (Utilizamos ácido sulfúrico concentrado para descomponer el carbohidrato a furfural o su derivado y reconocerlo con α – naftol en metanol ya que forma un anillo de color púrpura – violeta)

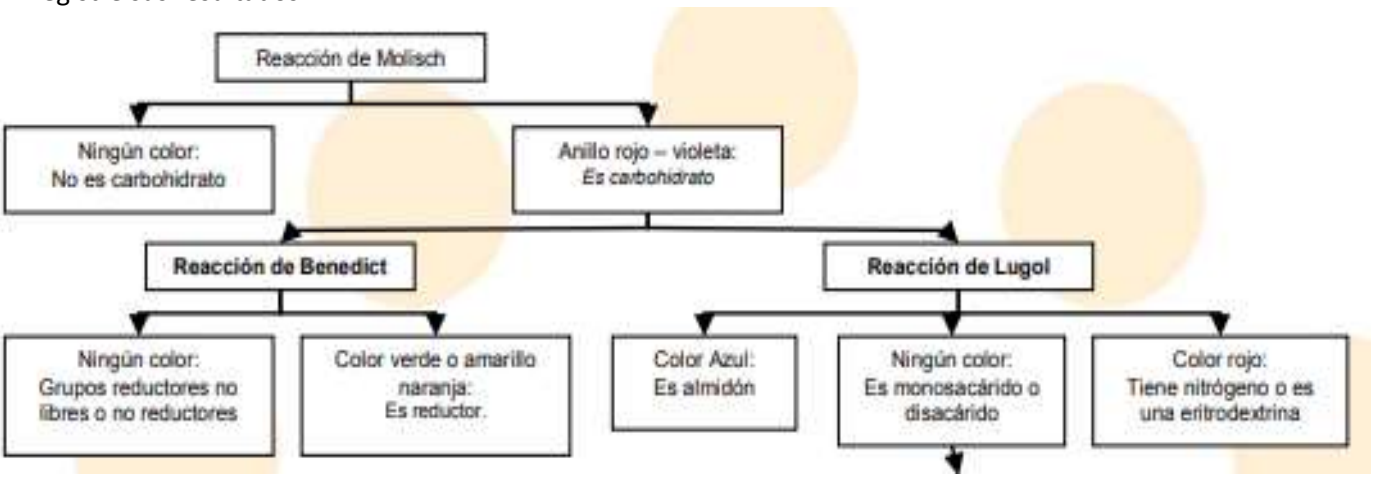
Reacción de Benedict

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia 2. Agregue 0,5mL de reactivo de Benedict.
3. Coloque el tubo en un baño de agua hirviendo durante tres minutos.
4. No olvide registrar los resultados obtenidos

5. Un precipitado oscuro es positivo para carbohidratos reductores. (El reactivo contiene citrato de cobre en medio alcalino suave, al reaccionar con los azúcares reductores da un precipitado de óxido cuproso)

Reacción del Lugol

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia 2. Adicione cinco gotas de la solución de Lugol, observe los cambios que se presentan.
3. Si no hay color, corresponde a un monosacárido o un disacárido, si da color azul se tiene almidón. Si el color es rojo la muestra contiene nitrógeno o es una eritrodextrina
4. Registre sus resultados



II. AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS

Ensayo de Biuret

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Adicione gota a gota solución de sulfato de cobre al 0,5%, agite y espere la formación de un color violeta (en este caso el ensayo es positivo).
3. Registre los resultados encontrados.

Ensayo de Biuret

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Adicione gota a gota solución de sulfato de cobre al 0,5%, agite y espere la formación de un color violeta (en este caso el ensayo es positivo).
3. Registre los resultados encontrados.

Reacción Xantoprotéica

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Añada 0,5mL de ácido nítrico concentrado
3. Caliente los tubos en baño de maría.
4. Deje enfriar y agregue cuidadosamente solución de hidróxido de sodio al 10% en exceso.
5. Un precipitado blanco inicialmente formado, se vuelve luego amarillo y posteriormente se disuelve dando a la solución un color amarillo intenso casi anaranjado. Este resultado se da si en la proteína se encuentran los aminoácidos: fenilalanina, tirosina, tiroxina y triptófano.
6. Registre sus resultados.

Ensayo de Millón

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Añada cuatro gotas del reactivo de Millón (solución de nitrato de mercurio (II), nitrato de mercurio (I) y ácido nítrico)
3. Caliente hasta ebullición; si no aparece color adicione tres gotas más y caliente.
4. Si se produce un precipitado rojo la solución problema contiene los aminoácidos: tirosina o tiroxina, de lo contrario no.
5. Registre sus resultados.

- **Ensayo de Sakaguchi**

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Adicione 0,5mL de solución de hidróxido de sodio al 5%, dos gotas de **α– naftol** en etanol y dos gotas de solución de hipoclorito de sodio al 10%.
3. Agite; la aparición de un color rojo intenso indica que la proteína posee el aminoácido: arginina.
4. Registre los resultados.

- **Ensayo para detectar azufre**

1. Tome un tubo de ensayo limpio y seco por cada sustancia a analizar, adicione 0,5mL o 0,25g de la sustancia (en caso de ser sólida agregue 1mL de agua).
2. Añada 1mL de solución acuosa de **nitrato de plomo al 10 %**
3. Si la proteína contiene azufre aparecerá un precipitado negro de sulfuro de plomo

III. ÁCIDOS CARBOXÍLICOS Y DERIVADOS

Acidez

1. Coloque en un tubo de ensayo 2mL de la solución de ácido carboxílico a ensayar
2. Ensaye el pH de la solución con un papel indicador universal.
3. Registre los resultados encontrados.
4. Adicione al tubo, 2mL de solución de $NaHCO_3$, observe si se produce desprendimiento de CO_2.
5. Registre los resultados encontrados.
6. Repita el procedimiento para cada uno de los ácidos que disponga y compare los resultados.

TABLA 2. PRUEBAS DE CLASIFICACIÓN

Grupos Funcionales	Pruebas
Alcoholes	prueba con nitrato cérico oxidación de Jones prueba de Lucas
hidrocarburos insaturados	bromo en CCl_4 prueba de Baeyer
halogenuros de alquilo	yoduro de sodio en acetona
aldehidos y cetonas	2,4-dinitrofenilhidrazina prueba de Tollens prueba del yodoformo
ácidos carboxílicos	detección de solución ácida reacción con bicarbonato
Aminas	prueba con ión cobre
Fenoles	prueba con ión férrico

Prueba del bicarbonato

Una pequeña cantidad del compuesto a examinar se coloca en un pequeño vidrio de reloj y se añade una solución de bicarbonato de sodio al 10%. Si es un ácido, se observa el desprendimiento de burbujas de CO_2.

IV. ALCOHOLES

Pruebas para alcoholes

- **Oxidación de Jones**

En un tubo de ensayo pequeño coloque 1 gota de la muestra a examinar o 10 mg del sólido y añada 10 gotas de acetona. Agite la mezcla con una varilla de vidrio y añada 1 gota del reactivo de Jones (preparada añadiendo 1 g de CrO_3 en 1 mL de H_2SO_4 concentrado a 3 mL de agua). Agite y observe cualquier cambio de color.

- **Reactivo de Lucas**

Coloque dos gotas de la muestra a examinar (10 mg si es un sólido) en un tubo de ensayo pequeño, seguidas de 10 gotas del reactivo de Lucas. (Este reactivo se prepara disolviendo 13.6 g de $ZnCl_2$ anhidro en 10.5 mL de HCl concentrado mientras se enfría en un baño de hielo). Agite la mezcla con una varilla de vidrio y deje en reposo. Observe los resultados. El alcohol puede clasificarse basándose en los tiempos indicados anteriormente. (PRECAUCION: el HCl concentrado y aún más el reactivo de Lucas, son corrosivos).

V. PRUEBAS PARA HIDROCARBUROS INSATURADOS (ALQUENO Y ALQUINOS)

- **bromo en tetracloruro de carbono**

En un tubo de ensaye pequeño preparado con una pipeta Pasteur, coloque dos gotas de la muestra a examinar (o 15 mg si es sólido) seguido por 0.5 mL de cloruro de metileno. Agregue gota a gota y agitando, una solución al **2% de bromo en tetracloruro de carbono**. Si hay presente un hidrocarburo insaturado, la solución requerirá dos o tres gotas del reactivo antes de que el color café rojizo del bromo persista. En la ausencia de un hidrocarburo insaturado, la solución mantiene el color desde el principio.

- **Prueba de baeyer**

En un tubo de ensaye coloque 0.5 mL de acetona libre de alcohol seguida de dos gotas de la muestra a examinar (15 mg si es un sólido). Añada gota a gota y agitando dos o tres gotas de una solución acuosa de $KMnO_4$ al 1%. La prueba positiva será la desaparición del color púrpura del reactivo y la formación de un precipitado café de óxido de manganeso. Algunos grupos funcionales que sufren oxidación con permanganato interfieren con la prueba (fenoles, aminas aromáticas, aldehidos, alcoholes primarios y secundarios).

VI. PRUEBA DE HALOGENUROS ALIFÁTICOS

Son compuestos orgánicos constituidos por Carbono e Hidrógeno, en los cuales los átomos de Carbono forman cadenas abiertas. Los hidrocarburos alifáticos de cadena abierta se clasifican en alcanos, álcenos o alquenos y alcinos o alquinos.

- **Yoduro de sodio en acetona**

En un tubo de ensaye pequeño coloque 1 gota (o 10 mg) de la muestra a examinar en tres gotas de acetona. Añada 0.5 mL del reactivo de yoduro de sodio en acetona (preparado disolviendo 3 g de NaI en 25 mL de acetona). La prueba positiva consiste en la aparición de un precipitado de NaX en 5 minutos. Si no se observa precipitado, añada una piedra de ebullición y caliente a ~50o C por 5 minutos. Deje enfriar y observe si la prueba es positiva.

VII. PRUEBA PARA AMINAS

- **Prueba con el ión cobre**

Las aminas dan una coloración verde-azul o un precipitado cuando se añaden a una solución de **sulfato de cobre** acuoso.

En un tubo de ensaye coloque 0.5 mL de una solución de sulfato de cobre al 10% y añada 1 gota (o 10 mg) de la muestra a examinar. Una coloración azul-verde o un precipitado constituyen una prueba positiva. El amoniaco también da prueba positiva.

VIII. PRUEBA PARA FENOLES

- **Prueba con el ión férrico**

La mayoría de los fenoles y Fenoles forman complejos coloridos en la presencia del ión férrico. Los fenoles dan colores rojo, azul, púrpura o verde.

En un tubo de ensaye coloque dos gotas de agua, o 1 gota de agua y 1 de etanol, o 2 de etanol, de acuerdo a la solubilidad de la muestra a examinar. Añada una gota de la muestra si es líquida o 10 mg si es sólida. Agite la mezcla con una varilla de vidrio. Añada una gota de una solución acuosa de **FeCl3** acuoso al 2.5%. Agite y observe la formación de color. Si es necesario, añada una segunda gota de FeCl3.

IX PRUEBA NITROGENO

- **Prueba química para nitrógeno**

La prueba con cal sodada (mezcla de cal e hidróxido de sodio) se usa para detectar la presencia de nitrógeno en compuestos orgánicos. En un tubo de ensayo pequeño, mezcle **50 mg de cal sodada y 50 mg de MnO2**. Añada una gota del líquido desconocido o 10 mg si es un sólido. Coloque una tira húmeda de papel pH o papel tornasol rojo sobre la boca del tubo. Sostenga el tubo con unas pinzas para el tubo de ensayo, y caliente el contenido, haciendo un ángulo, suavemente al principio y después vigorosamente. Los compuestos que contienen nitrógeno desprenden amoniaco. La prueba positiva se observa cuando el papel cambia a azul.

C. Prueba del nitrógeno: ¿Qué puede concluir?
D. Pruebas de Clasificación: **Alcoholes:** a) prueba del nitrato cérico amónico b) oxidación de Jones c) prueba de Lucas ¿Qué puede concluir?
Hidrocarburos insaturados: a) bromo en tetracloruro de carbono b) prueba de Baeyer ¿Qué puede concluir?
Halogenuros alifáticos: a) yoduro de sodio en acetona ¿Qué puede concluir?
Aldehidos y cetonas: a) prueba de 2,4-dinitrofenilhidracina b) prueba de Tollens c) prueba del yodoformo ¿Qué puede concluir?
Acidos carboxílicos: a) prueba del Litmus b)prueba del bicarbonato ¿Qué puede concluir?
Aminas: a) prueba con el ión cobre ¿Qué puede concluir?
Fenoles: a) prueba con el ión férrico ¿Qué puede concluir?
¿Qué puede concluir respecto a las estructuras de los compuestos problema?