



“INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIERREZ, CHIAPAS”

ING. QUIMICA

INFORME TECNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

TEMA:

“ANÁLISIS FITOQUÍMICO, DEL EXTRACTO ACEITOSO
DE CHICALOTE (ARGEMONE MEXICANA) OBTENIDO
EN TRES TIEMPOS DIFERENTES”

LUGAR DE REALIZACION

“CENTRO DE AGROECOLOGÍA DE LA BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA.”

PRESENTA:

ENRIQUEZ DOMINGUEZ TERESA

N° DE CONTROL

12270218

ASESOR INTERNO
MTRA. FARRERA
ALCÁZAR ROCÍO

ASESOR EXTERNO
DR. AGUSTÍN ARAGÓN
GARCÍA

INDICE

Contenido

INDICE.....	1-2
1 Introducción	5
2 Justificación	6
3 Objetivos	7
3.1 Objetivo general.....	7
3.2 Objetivos específicos.....	7
4 Generalidades de la institución.....	8
4.1 Localización.	8
4.2 Centro de agroecología y ambiente.....	8
4.3 Objetivos.	8
4.4 Misión.....	8
4.5 Visión.....	9
4.6 Buap-ca-94 - manejo sostenible de Agroecosistemas.	9
5 Planteamiento del problema	10
6 Limitaciones	10
7 Fundamento teórico.....	11
7.1 Chicalote Argemone Mexicana	11
7.1.1 Botánica y ecología.....	11
7.1.2 Etnobotánica y antropología	11
7.1.3 Historia	12
7.1.4 Química	12
7.2 Estudio fitoquímico	13
7.3 Extracción.....	13
7.3.1 Extracción líquido-líquido.....	14
7.3.2 Extracción sólido-líquido.	15
7.3.3 Características del disolvente de extracción.....	16
7.3.4 Equipo Soxhlet.....	18

7.4	Cromatografía	22
7.4.1	Cromatografía sólido-líquido	23
7.5	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	27
7.5.1	Fundamentos físicos la espectroscopia de RMN.....	27
7.5.2	El espectrómetro de resonancia magnética nuclear.....	29
7.5.3	Resonancia magnética nuclear de 1 H. Apantallamiento o protección magnética por los electrones.	30
7.5.4	El espectro de RMN de 1 H.....	34
7.5.5	Interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de 1H.....	39
7.5.6	<i>Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de 13C</i>	40
7.6	Materiales, equipos y reactivos	42
7.6.1	Extracción Soxhlet.	42
7.6.2	Cromatografía por capa fina.	42
7.6.3	Cromatografía en columna.....	42
7.7	Equipos utilizados.....	42
7.8	Procedimiento y descripción de las actividades realizadas	44
7.8.1	Extracto de chicalote en aceite	44
7.8.2	Identificar los extractos aceitosos (2012, 2013 y 2016) por Cromatografía en capa fina (CCF)44	
7.8.3	Determinar el disolvente adecuado para la extracción de aceite puro de Argemone Mexicana (molido)	45
7.8.4	Extracción de <i>Argemone Mexicana</i> en equipo Soxhelt.....	46
7.8.5	Purificación por Cromatografía en columna	47
8	Resultados	48
8.1	Resultado de los componentes de los extractos aceitosos 2012, 2013, 2016 y aceite puro en CCF 48	
8.2	Resultado CCF para seleccionar el solvente para la extracción Soxhlet	48
8.3	Resultado de rendimiento de la extracción en Soxhlet.	49
8.4	Resultado de Cromatografía en columna	49
8.4.1	Rendimiento del componente puro, obtenido en por Cromatografía en columna..	49
8.5	Resultado de solubilidad del compuesto puto en aceite y agua.....	50
8.6	Resultado de resonancia del compuesto puro.....	50
8.7	Resultado de la vida de anaquel en los extractos aceitosos del 2012, 2013 y 2016.	52

8.7.1	Resultados de concentración.....	52
9	Conclusiones.....	53
10	Recomendaciones.....	53
11	Anexos.....	54
11.1	Anexo A.....	54
11.2	Anexo B.....	55
11.3	Anexo C.....	56
12	Fuentes de Información.....	57

1 Introducción

La finalidad de esta investigación es realizar la identificación química de los extractos aceitosos de Argemone mexicana obtenidos en el año 2012, 2013 y 2016 para asegurar que las propiedades químicas del extracto no cambien con el tiempo, así como la identificación del compuesto químico que está en mayor proporción en dicha planta.

El Centro de Agroecología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ha desarrollado un producto para el control agroecológico de plagas insectiles que dañan cultivos de follaje como amaranto, maíz y frijol, entre otros.

La innovación de este producto, elaborado a base de chicalote (Argemone mexicana) y cuya marca está en registro con el nombre de InsectiBUAP, radica en que no daña el ambiente, ni mata a los insectos, como los pesticidas químicos sintéticos. “El propósito del desarrollo de este control alternativo a los insecticidas químicos sintéticos es convivir con los insectos, no matarlos, debido a que muchos de ellos intervienen en la polinización y son fuente de alimento de otros seres vivos, como anfibios, por lo que son benéficos y no dañinos”

El Centro de Agroecología, del Instituto de Ciencias de la BUAP (ICUAP), requiere saber, si las propiedades químicas de los extractos aceitosos de Argemone mexicana cambian con el tiempo.

Para realizar la investigación fitoquímica de dicha planta, El Centro de Agroecología ha solicitado la ayuda del Laboratorio de Investigación del Jardín Botánico de la BUAP, realizando ahí todas las pruebas fitoquímicas.

En dicho laboratorio se realizaron diferentes técnicas para lograr los objetivos deseados tales como: Extracción Soxhlet, Cromatografía por Capa Fina (CCP), Cromatografía en Columna y Resonancia.

En la técnica de Cromatografía por Capa Fina, se observó que, los extractos aceitosos de Argemone mexicana obtenidos en el año 2012, 2013 y 2016 no cambian con el tiempo.

2 Justificación

El uso de insecticidas vegetales para el control de plagas tiene ciertas ventajas, ya que por ser sustancias naturales no contaminan y son de baja toxicidad; pero también presentan desventajas en su uso, ya que son de baja persistencia con un tiempo de actividad corto, su preparación es laboriosa y son difíciles de utilizar en grandes cantidades, sin embargo, su uso debe considerarse como una opción que reemplace la utilización de insecticidas químicos (Aragón y Caselin, 1995).

Dado que el manejo de plagas es cada vez más complicado por el uso de plaguicidas químicos sintéticos, los cuales provocan daños al ambiente y a la salud humana, surgió Entobiomex, un producto generado por especialistas del Centro de Agroecología, del Instituto de Ciencias de la BUAP (ICUAP), para el control agroecológico de plagas insectiles que dañan cultivos de follaje como amaranto, maíz y frijol, entre otros.

Los investigadores de dicha institución desean realizar un análisis fotoquímico a la planta del Chicalote (*Argemone mexicana*), esto con la finalidad de saber si las propiedades químicas de dicha planta cambian al paso del tiempo.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar por medio de análisis fitoquímicos si los compuestos orgánicos presentes en los extractos aceitosos de *Argemone mexicana* obtenidos en el año 2012, 2013 y 2016 sufren algún cambio con el tiempo de almacenamiento, determinar su vida de anaquel.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar el compuesto químico con mayor presencia en *Argemone mexicana* por medio de análisis de resonancia.
- Determinar la vida de anaquel de los extractos obtenidos de *Argemone mexicana*
- Determinación de rendimiento de la extracción de *Argemone Mexicana*

4 Generalidades de la institución.

4.1 Localización.

Centro de Agroecología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

14 ur, N° 6301, C.P 72570, Heroica Puebla de Zaragoza, PUE



IC 1a	Invernadero	IC 1	Laboratorios y Cubículos
IC 1b	Laboratorio de Hongos y Zetas	IC 2	Cubículos
IC 1c	Invernadero	IC 3	Aula
IC 1d	Laboratorios Lombricultura	IC 4	Laboratorios y Cubículos
IC 5	Lombricultura	IC 5	Biblioteca y Cubículos
IC x	Lombricultura	IC 6	Laboratorios
		IC 7	Laboratorios y Cubículos
		IC 8	Laboratorios y Cubículos
		IC 9	Laboratorios, Cubículos y Salón de Usos Múltiples
		IC 10	Laboratorios, Cubículos y Salón de Usos Múltiples
		IC 11	Laboratorios y Cubículos
		IC 11a	Invernadero
		IC 11b	Almacén y Área de Fermentación
		IC 11c	Almacén
		IC 11d	Bodega
		IC 12	Laboratorios y Sala Audiovisual

4.2 Centro de agroecología y ambiente.

Los profesores investigadores del Centro de Agroecología del ICUAP desarrollan investigación, docencia y formación de recursos humanos de manera conjunta, para contribuir a la solución de los problemas de la agricultura, mediante el desarrollo de tecnologías de producción agrícola y forestal con un enfoque agroecológico, para ser incorporados en los sistemas de producción.

4.3 Objetivos.

Fomentar y promover el desarrollo de teorías, metodologías y técnicas que permitan entender y resolver problemas de la producción agrícola con un enfoque agroecológico, buscando evitar el deterioro del ambiente mediante la investigación científica, para formar recursos humanos que desarrollen un campo amplio de conocimientos y las estrategias que permitan la vinculación con la sociedad.

4.4 Misión.

Contribuir a la solución de los problemas de la agricultura mediante el desarrollo de la investigación científica y tecnológica con un enfoque agroecológico, la formación de recursos humanos de calidad de pre y posgrado, la vinculación con organismos oficiales, del sector productivo y de la sociedad, además de transferir oportunamente los productos generados en una perspectiva interdisciplinaria y sustentable.

4.5 Visión.

Al año 2018 los investigadores del CENAGRO conformarán una planta académica con el 100% de doctores, con un cuerpo académico consolidado, desarrollando líneas de generación y aplicación del conocimiento definidas, con programas de maestría y doctorado incorporados al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT, con una infraestructura adecuada y suficiente para vincular la investigación a programas educativos, al sector productivo, a organismos oficiales y a la sociedad. El CENAGRO participará en convenios institucionales a nivel regional, nacional e internacional y realizará la divulgación oportuna de los conocimientos y productos generados, que permitan mantener prestigio internacional.

4.6 Buap-ca-94 - manejo sostenible de Agroecosistemas.

Aragón García Agustín

✉ agustin.aragon@correo.buap.mx

Jiménez García Daniel

✉ daniel.jimenez@correo.buap.mx

López Olguín Jesús Francisco

✉ jesus.buap@correo.buap.mx

Martínez Guerrero Marco Antonio

✉ anmarti@siu.buap.mx

5 Planteamiento del problema

Dado que esta innovación es una técnica económica, de fácil aplicación y, sobre todo, amigable con el ambiente; el Centro de Agroecología, del Instituto de Ciencias de la BUAP (ICUAP), requiere saber, si las propiedades químicas de los extractos aceitosos de *Argemone mexicana* cambian con el tiempo, esto tiene como finalidad el saber si los extractos aceitosos obtenidos en el año 2012, 2013 y 2016 tienen el mismo efecto.

Los extractos del chicalote fueron almacenados, el extracto obtenido en 2012 fue almacenado durante 4 años mientras el de 2013 fue de 3 años, a lo que se quiere saber es, si dichos extractos se descomponen o si su concentración es la misma que desde la fecha de su extracción.

6 Limitaciones

- Las limitaciones que surgieron al llevar a cabo este proyecto fue el tiempo, ya que en ocasiones el Laboratorio de Investigación del Jardín Botánico suspendía labores: por Practicas de laboratorio, por días festivos o por congresos, donde los encargados eran los exponentes en dichos congresos.
- Los materiales de laboratorio eran limitado.
- La falta de conocimiento en el tema de resonancia.
- La falta de comunicación entre los encargados del laboratorio y mi asesor, puesto que en cada junto se llegaba a acuerdos diferentes.

7 Fundamento teórico

7.1 Chicalote *Argemone Mexicana*

7.1.1 Botánica y ecología.

Es una hierba anual con un líquido amarillo brillante. Tiene las hojas de color verde azulado con líneas azul-brillante y se ven desgarradas, con el borde dentado, terminando cada diente en una espina. Las flores son amarillentas, grandes y parecen como si fueran de papel. Tiene los frutos como unas cápsulas alargadas y espinosas, por la parte superior se abren y al madurar, se escapan las semillas, las cuales son muy pequeñas, negruzcas y rugosas.



Originaria de América boreal, México. Presente en climas semicálido, semiseco y templado desde el nivel del mar y los 2750msnm. Crece en terrenos de cultivo abandonados, en zonas agrícolas o a orillas de caminos, asociada a bosques tropicales caducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, de pino, mixto de pino-encino y de juníferos.

Figura 1: *Argemone Mexicana*

7.1.2 Etnobotánica y antropología

El chicalote es una planta recomendada para curar problemas de los ojos, como dolor, escozor, manchas e inflamación (V. mal de los ojos); aunque principalmente se usa en las cataratas, aplicando directamente el látex fresco o fomentos del cocimiento de la corteza por 5 o 6 días. La leche (látex) fresca se aplica por las noches sobre el párpado o dentro del ojo para quitar el escozor, y mezclada con jugo de mezquite, se pone en gotas para remover las nubes de los ojos. Para aliviar la sordera, se muelen las bolitas (frutos), se colocan en un trapo o algodón, y se ponen en la oreja. En Michoacán se usa para la tsandukus, en purépecha se llama así a la enfermedad de los ojos, se manifiesta por una excesiva secreción (lagañas), originada por un cambio brusco de temperatura. En este caso, puede ser suficiente una sola aplicación. De la misma forma se aplica en ojos irritados, aunque se sugiere ponerla por la mañana.¹

Se emplea la raíz, a manera de cataplasma, para aliviar el dolor de pulmón, padecimiento originado por el exceso de trabajo (se reconoce porque la espalda duele y se siente caliente). Cuando se padece tos causada por el frío, no se puede respirar bien y duele el pecho, entonces se toma un té preparado con las flores.

¹ (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

Se emplea para hacer brotar el chincual, es decir, ronchas o erupciones localizadas en diversas partes del cuerpo de los niños. Para tal fin, se les baña con el cocimiento de la planta. Otros describen el chincual como una irritación (enrojecimiento) del ano en los niños. En este caso, se remuelen hojas y tallo en un balde con agua para darle baños de asiento. Contra la sarna, se puede usar la hierba fresca y la semilla seca, o el aceite de la semilla. Además, con el agua donde se hirvieron las raíces, suelen bañarse a los bebedores (alcohólicos) que tienen la piel irritada.

También se reporta útil en el procedimiento de la bilis, dolor de muelas, cólicos de los niños (V. cólico del recién nacido), expulsión de placenta, flujo, heridas y llagas, dolor de riñón, diabetes, alferecía, infecciones en la piel, granos, manchas, salpullido, inflamación, paludismo, convulsiones, espasmos, infecciones y hemorragias, como purgante y cicatrizante.²

7.1.3 Historia

El Códice Florentino, en el siglo XVI, lo indica para el dolor de los ojos. En el mismo siglo, Francisco Hernández señala: "evacua todos los humores, principalmente los pituitosos y los que dañan las articulaciones, cura las inflamaciones de los ojos, es eficaz contra los accesos de las fiebres, cura las úlceras de las partes sexuales, la sarna, disuelve las nubes de los ojos, consume la carne superflua y calma el dolor de la jaqueca".³

En el siglo XX, Narciso Souza describe su uso para afecciones del hígado páncreas, falta de apetito, como emético y purgante, para inflamación de los ojos y enfermedades de la piel. Agrega que se le atribuyen propiedades pectorales y soporíferas. Por los mismos años que Souza, Luis Cabrera la registra como: antitusígeno, hipnótico y para la tos ferina. Finalmente, la Sociedad Farmacéutica de México menciona su uso como: antiescabiático, antiespasmódico, antitusígeno, catártico, dermatosis, emetocatórtico, hipnótico, pectoral y sedante.⁴

7.1.4 Química

Esta planta se caracteriza por la presencia de alcaloides iso-quinolínicos detectados en todos sus órganos. La protopina y la berberina se encuentran en mayor cantidad en las ramas, y la sanguinarina en la raíz y en las semillas. Alcaloides menores incluyen la cheilantiofolina, cheileritrina, coptisima, cóptopina, esculerina y estilopina. En las flores se detectaron los flavonoides 3-metoxi-quercetín, isoramnetín y el mono y diglucósido. En la

² (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

³ (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

⁴ (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

semilla, el argemexitín, eriodictiol y luteolín; un aceite fijo en el que se encuentran los ácidos grasos argemónico y mexicánico, y mexicanol. La raíz contiene beta-sitosterol.⁵

7.2 Estudio fitoquímico

La Fitoquímica es una disciplina científica, donde se inicia la etapa de la investigación permitiendo detectar o determinar cualitativamente los principales metabolitos presentes y a partir de allí orientar la extracción, aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales, se puede nombrar de distintas maneras a este estudio como: marcha fitoquímica, escreening fitoquímico, tamizaje fitoquímico, cribado, etc

7.3 Extracción

La extracción es el proceso de separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente, basado en la libre distribución de esta en dos fases. Mediante esta técnica se pueden separar componentes que se hallan presentes en mezclas sólidas, (utilizando un Soxhlet) o mezclas líquidas, (utilizando un embudo de decantación), aprovechando las diferencias de solubilidad de los componentes de la mezcla en un disolvente adecuado.

Una extracción con disolventes es la técnica de separación más utilizada en el laboratorio químico, empleada para separar un producto orgánico de una mezcla o de una fuente natural.

FUNDAMENTO TEÓRICO:

Esta técnica se fundamenta en la separación de un compuesto por extracción que se basa en la transferencia selectiva del compuesto desde una mezcla sólida o líquida con otros compuestos hacia una fase líquida (normalmente la fase sólida es un disolvente orgánico). El éxito de la técnica depende en la diferencia de solubilidad en el disolvente de extracción entre el compuesto deseado y los otros compuestos presentes en la mezcla inicial.

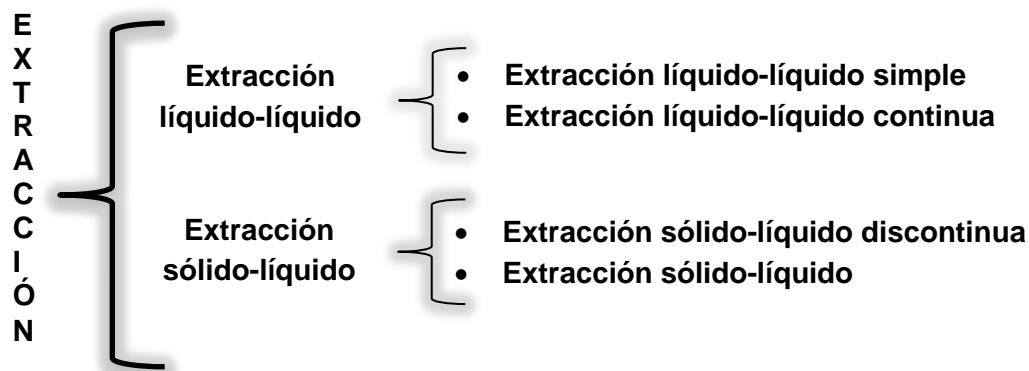
OBJETIVO:

El objetivo principal de la extracción es separar selectivamente el producto de una reacción, o bien eliminar las impurezas que lo acompañan en la mezcla de

⁵ (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

reacción, gracias a sus diferencias de solubilidad en el disolvente de extracción elegido.⁶

Los métodos de extracción pueden ser de dos tipos, discontinua (Extracción líquido-líquido) o continua (Extracción sólido-líquido). En el siguiente mapa conceptual se muestra las clasificaciones de estos dos tipos de extracción.



Cuadro sinóptico 1: Clasificación de extracción.

7.3.1 Extracción líquido-líquido

7.3.1.1 Extracción líquido-líquido simple.

La extracción líquido-líquido es una técnica instrumental utilizada para diversos fines. Esta suele ser una operación muy habitual en los primeros pasos de un tratamiento de reacción que permite eliminar excesos de reactivos utilizados, así como de algunas impurezas formadas en la reacción. Como se ha mencionado antes, es una técnica muy utilizada para llevar a cabo la extracción de compuestos orgánicos que se encuentran en fuentes naturales. Por ejemplo, una extracción líquido-líquido muy utilizada ha sido la extracción de la cafeína del café para obtener café descafeinado.⁷

En los laboratorios orgánicos este tipo de técnica se suele llevar a cabo mediante la utilización de dos líquidos inmiscibles utilizando un embudo de decantación. Las dos fases líquidas de una extracción son:

⁶ (Extracción, s.f)

⁷ (Extracción líquido-líquido, s.f)

1. Fase Acuosa: agua, disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, disoluciones acuosas ácidas, disoluciones acuosas básicas, disoluciones acuosas de bisulfito de sodio, etc.
2. Fase Orgánica: Disolución o disolventes inmiscibles con el agua.

7.3.1.2 Extracción líquido-líquido continua.

La extracción líquido-líquido por el método simple, es uno de los procedimientos de extracción más se utiliza en el laboratorio químico, este suele utilizarse siempre que el reparto del compuesto a extraer en el disolvente de extracción es suficientemente favorable. Cuando no sucede así, y la solubilidad del compuesto a extraer en los disolventes de extracción habituales no es muy elevada se suele utilizar otro procedimiento donde implica una extracción continua de la fase inicial (normalmente una fase acuosa) con porciones nuevas del disolvente orgánico de extracción. Para evitar utilizar grandes volúmenes de disolvente de extracción, el proceso se realiza en un sistema cerrado en donde el disolvente de extracción se calienta en un matraz y los vapores del disolvente se hacen condensar en un refrigerante colocado sobre un tubo o cámara de extracción en el que contiene la disolución acuosa a extraer. El disolvente condensado caliente se hace pasar a través de la disolución acuosa, para así llegar finalmente, con parte del producto extraído, al matraz inicial, donde el disolvente orgánico se vuelve a vaporizar, donde repite un nuevo ciclo de extracción, mientras que el producto extraído, no volátil, se va concentrando en el matraz.

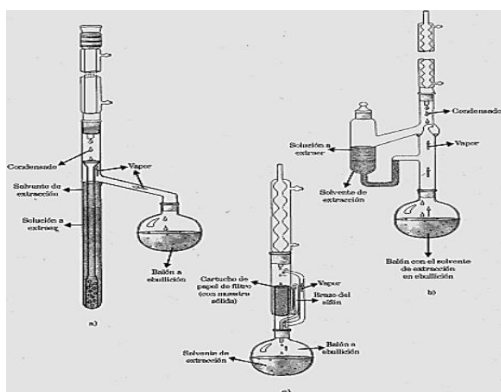


Figura 2: Extracción líquido- líquido continua

7.3.2 Extracción sólido-líquido.

7.3.2.1 Extracción sólido-líquido discontinua.

La separación de una mezcla de compuestos sólidos puede llevarse a cabo aprovechando diferencias de solubilidad en un determinado disolvente orgánico, si uno de los componentes de la mezcla es soluble en un determinado disolvente, pero mientras que los otros son insolubles, se puede hacer una extracción consistente en añadir este

disolvente a la mezcla contenida en un recipiente (vaso de precipitados, un matraz o una cápsula de porcelana), en frío o en caliente, agitando o triturando con la ayuda de una varilla de vidrio y separar por filtración la disolución que contiene el producto extraído y la fracción insoluble que contiene las impurezas.

Si, al contrario, lo que se pretende es disolver las impurezas de la mezcla sólida, dejando el producto deseado como fracción insoluble, el proceso, en lugar de extracción, se denomina lavado.

7.3.2.2 Extracción sólido-líquido continua.

La extracción sólido-líquido es mucho más eficiente cuando se realiza de manera continua en un sistema cerrado con el disolvente de extracción caliente, esta técnica es similar a la metodología utilizada en la extracción líquido-líquido continua, que se basa en la maceración con disolvente orgánico, previamente vaporizado en un matraz y condensado en un refrigerante.

La mezcla sólida a extraer se coloca en un cartucho o bolsa de celulosa que se coloca en la cámara de extracción.

El paso del disolvente orgánico con parte del producto extraído al matraz de balón inicial se produce por un efecto sifón, permite que el mismo disolvente orgánico vuelva a ser vaporizado, repitiendo un nuevo ciclo de extracción, mientras que el producto extraído, no volátil, se va concentrando en el matraz.



Figura 3: Extracción sólido-líquido continuo

7.3.3 Características del disolvente de extracción.

La selectividad de la extracción de un componente de una mezcla disuelta en un determinado disolvente se puede conseguir al añadir otro disolvente que corresponda con las siguientes condiciones.

- No debe ser miscible con el otro disolvente. El agua o una disolución acuosa suele ser uno de los disolventes implicados. El otro disolvente es un disolvente orgánico.

- El componente deseado deberá ser mucho más soluble en el disolvente de extracción que en el disolvente original.
- Que el resto de los componentes no sean solubles en el disolvente de extracción.
- Que sea lo suficientemente volátil, de manera que se pueda separar fácilmente del producto extraído mediante destilación o evaporación.
- Este no deberá ser tóxico ni inflamable, aunque, desafortunadamente hay pocos disolventes que cumplan los dos criterios: hay disolventes relativamente no tóxicos pero inflamables como lo es el hexano, otros no son inflamables pero sí tóxicos como el diclorometano o el cloroformo, y otros son tóxicos e inflamables como el benceno.

Disolventes inmiscibles con el agua: Disolventes utilizados con mayor frecuencia.

- Mientras más polar es el disolvente orgánico, más miscible (soluble) es en el agua.
- Un ejemplo de disolventes polares es el metanol, el etanol o la acetona que son miscibles con el agua, y por lo tanto, no son adecuados para extracciones líquido-líquido.
- Los disolventes orgánicos que tienen baja polaridad como el diclorometano, el éter dietílico, el acetato de etilo, el hexano o el tolueno son los que se suelen utilizar como disolventes orgánicos de extracción.

Tabla de disolventes de extracción comúnmente utilizados

Tabla 1: Disolventes de extracción menos densos que el agua.

Nombre	Fórmula	Densidad (g/mL)	Punto de Ebullición (°C)	Peligrosidad
Éter dietílico	(CH ₃ CH ₂) ₂ O	0.7	35	Muy inflamable, tóxico
Hexano	C ₆ H ₁₄	≈ 0,7	>60	Inflamable
Benceno	C ₆ H ₆	0.9	80	Inflamable, tóxico, carcinógeno
Tolueno	C ₆ H ₅ CH ₃	0.9	111	inflamable
Acetato de etilo	CH ₃ COOCH ₂ CH ₃	0.9	78	Inflamable, irritante.

Tabla 2: Disolventes de extracción más densos que el agua

Nombre	Fórmula	Densidad (g/mL)	Punto de Ebullición (°C)	Peligrosidad
Diclorometano	CH ₂ Cl ₂	1,3	41	Tóxico
Cloroformo	CHCl ₃	1,5	61	Tóxico
Tetracloruro de	CCl ₄	1,6	77	Tóxico

carbono				
---------	--	--	--	--

7.3.4 Equipo Soxhlet.

El equipo Soxhlet es un material de vidrio que se utiliza para la extracción de compuestos contenidos en un sólido, a través de un solvente afín. Este método es aplicable en muestras de alimentos en general, ya que la técnica se basa en la extracción de grasas de una muestra orgánica. El aparato de Soxhlet fue creado en 1879 por el químico alemán Franz Von Soxhlet.

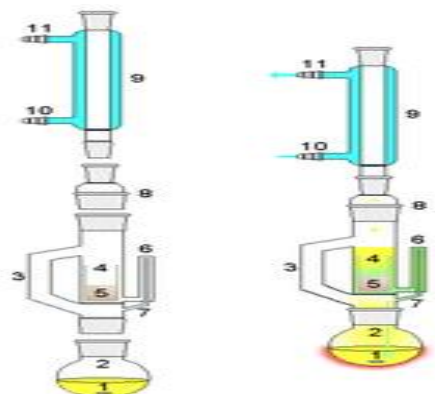
FUNDAMENTO.

La metodología del equipo Soxhlet se basa en la extracción de grasa de la muestra mediante el tratamiento con solvente en dicho equipo. NOTA: la duración del tiempo de extracción depende del tipo de muestra que se analice, pero la mayoría requieren hasta 4 horas.

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

1. Colocación del solvente en un matraz balón.
2. Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
3. El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
4. Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta que llegue al punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.
5. Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el matraz balón del solvente.

7.3.4.1 Partes principales:



1. Buzo/ Agitador/ Granallas/ Esferas.
2. Balón.
3. Brazo para ascenso del vapor.
4. Cartucho de extracción o Soxhlet.
5. Muestra (residuo).
6. Entrada del sifón.
7. Descarga del sifón.
8. Adaptador.
9. Refrigerante para reflujo.
10. Entrada de agua de refrigeración.
11. Salida de agua de refrigeración.

Figura 4: Equipo Soxhlet.

7.3.4.2 Solventes utilizado en el equipo soxhlet.

Se debe utilizar un solvente afín a la muestra que se va a analizar, este depende de las propiedades de la muestra.

Tabla 3: Punto de ebullición de solventes (°C)

Éter	35
Diclorometano	40
Éter de petróleo	35-50
Cloroformo	62
Metanol	65
Etano-Benceno	65
Hexano	69
Etanol tolueno	73
Acetato de etilo	77
Etanol	78
Benceno	80
Ciclohexano	81
Ácido fórmico	101
Dioxano	102
Tolueno	111

7.3.4.3 Pasos para el proceso de extracción:

- 1. Preparación de la muestra.** La operación comienza con la preparación de la muestra. Cada sistema de trabajo tiene su manera de preparar la muestra. Con frecuencia debe ser dividida en fragmentos de mayor o menor tamaño.⁸
- 2. Cartuchos:** Este cartucho consiste en un recipiente cilíndrico con base semiesférica para que apoye perfectamente en la base del equipo extractor y sea además más resistente. Los materiales más utilizados son el algodón prensado y la porcelana porosa o bien de papel filtro. La cantidad de muestra lo condiciona el tamaño del cartucho y este el del extractor. Es por eso que existen varios tamaños de soxhlet, y es conveniente antes de comenzar a trabajar definir cuál es la medida que se requiere.⁹
- 3. Tapón del cartucho:** Una vez cargado el material que se puede hacer con la mano en caso de hojas, tallos etc., o bien con un embudo o con una cuchara de cocina si está molido, se debe colocar un tapón por las dudas la muestra tienda a flotar e irse del cartucho.¹⁰
- 4. Colocación del solvente:** La cantidad de solvente debe ser la necesaria para que al ascender al cartucho y antes de que se haga la sifonada, no quede seco el balón inferior porque de esa manera, o se seca la muestra y se quema, o cuando caiga el líquido de la sifonada sobre el vidrio recalentado se puede producir una explosión de los vapores con el consiguiente riesgo de accidente. Si la cantidad a agregar no está estipulada en la norma, se carga el solvente desde arriba, lentamente, para que vaya cubriendo el cartucho y luego produzca el rechupe. Esta es la cantidad mínima. Pero como durante la operación hay pérdida del solvente por evaporación, y además debe quedar una cantidad mínima en el balón para que no se concentre el extracto demasiado, hay que agregar por lo menos una cantidad semejante en exceso.¹¹
- 5. Solventes a utilizar:** Si se sigue una norma o técnica obviamente que el solvente estará indicado. Pero con frecuencia, particularmente en los laboratorios de investigación, se suelen realizar extracciones no normalizadas. Por eso es conveniente saber el rango de estas sustancias que se pueden utilizar en el extractor soxhlet. La experiencia que se posee es que hay una temperatura máxima y mínima de ebullición en la que el equipo funciona adecuadamente. En el extremo inferior se encuentra el diclorometano (cloruro de metilo) que se utiliza para la extracción de grasas y resinas de manera selectiva. Este solvente tiene un punto de ebullición de 40° muy cercano a la temperatura ambiente particularmente en los climas cálidos. Cuando se efectúa una extracción con el agua de refrigeración a 26°C, se pierde más de la mitad del solvente. Con respecto al extremo superior hay que decir que para la cantidad de energía limitada que generan los calentadores eléctricos comunes, a medida que aumenta el punto de ebullición disminuye significativamente el caudal de solvente que se evapora y por ende la velocidad de extracción. Sin embargo hay que hacer notar que además del punto de ebullición es importante el calor latente de evaporación. Así se puede por ejemplo trabajar con esencia de trementina con cierta facilidad, aunque se evapore a 145°C, y no obstante las extracciones con agua se hacen demasiado lentas casi al punto de que no sean factibles. En la tabla N° 3 se expone una lista, no exhaustiva, de los solventes comunes utilizados en las

⁸ (Núñez, 2007)

⁹

¹⁰

¹¹ (Núñez, 2007)

extracciones con Soxhlet. Otra característica importante en cuanto al tipo de solventes es que los de carácter no polar suelen tener alguna dificultad en sifonar puesto que no mojan el vidrio. Ello es frecuente con los derivados clorados como el diclorometano y el cloroformo y los hidrocarburos superiores al hexano.¹²

- 6. Calentamiento:** Es corriente utilizar calentadores eléctricos de esos llamados múltiples, como el que se ve en la Figura N° 5, además que poseen reóstatos para variar el tiempo en el que las resistencias están encendidas. Habitualmente tienen varios puntos. En el primero las resistencias están casi todo el tiempo apagadas y en el último no cortan nunca. El uso habitual es que al inicio de la operación se pongan en máximo para llevar el equipo a régimen, esto es el punto indicado como 'MAX' o 'Hi' por high en inglés, y así ir regulándolo en función de la velocidad de extracción que requiera la operación. Con frecuencia sucede que al comenzar la evaporación el solvente se sobrecalienta y posteriormente produce una evaporación explosiva que hace que gran cantidad de vapores lleguen al refrigerante que no da abasto en la condensación. Incluso puede pasar que si el equipo no está bien sujeto en los dos lugares necesarios, es decir que en el balón y en el extractor, salte la parte superior y escapen vapores calientes del solvente, suceso que puede ser peligrosa.¹³



Figura 5: Conexión del equipo Soxhlet.

- 7. Refrigeración:** En la Figura N° 5 se puede observar lo importante que es la ubicación de las mangueras puesto que en este proceso, al haber seis refrigerantes habrá doce conexiones de agua. Las conexiones se pueden realizar en serie o bien en paralelo. La conexión en serie es la más práctica, ya que usa menos manguera y requiere de una sola canilla y un desagüe. La única limitación sería el aumento de la temperatura del agua de refrigeración a medida que el mismo líquido pasa de un refrigerante al otro, y un defecto es que el sistema queda como un todo y si se saca un equipo hay que acomodar las mangueras nuevamente. En el sistema en paralelo o individual cada equipo tiene su entrada y salida de agua independiente, por lo que se requerirán más canillas y más desagües, aunque se puede instalar un sistema de canilla con varias salidas y un colector de efluentes. El flujo de agua debe regularse para utilizarse solamente lo necesario, dado al alto consumo, particularmente en el caso de que se use agua potable de la canilla.¹⁴
- 8. Operación de extracción:** Una vez que el equipo está armado, abierta el agua, el refrigerante, cargado el cartucho con muestra e introducido el solvente, sólo queda encender el calentador para poder comenzar la operación. Una vez llegada a la temperatura a la de ebullición del solvente éste comienza a evaporarse y, luego de que calienten las paredes del equipo, comienza a condensarse en el refrigerante y a

¹²

¹³

¹⁴ (Núñez, 2007)

caer en forma de gotas sobre el cartucho. A medida que el condensado va cayendo sobre el cartucho este comienza a escurrir por la parte inferior del mismo llenando del recipiente de extracción hasta que llega al nivel de la bajada del sifón y rechupe, con todo el material disuelto, hacia el balón inferior. El tope del sifón está por encima del cartucho para asegurar que todas las veces el material a extraer quede mojado en el solvente.¹⁵

Una vez que el sistema está en régimen las sifonadas se producen a intervalos regulares. Los tiempos comunes del sifonado están alrededor de 5 y 20 minutos, según la potencia del calentador, el solvente, la temperatura externa, etc. Para eso es interesante saber con alguna aproximación el comportamiento general de la extracción. Con ese fin se puede utilizar un equipo de extracción que tiene.

- 9. Culminación de la operación:** Una vez que se da por terminado el proceso de extracción, es conveniente esperar un cierto tiempo para que el sistema se enfría hasta que sea fácil manipularlo. Después se desmonta el equipo y se extrae el cartucho que está saturado de solvente y se coloca en un sitio aireado o en la campana para que se seque la muestra. La extracción de la muestra del cartucho húmedo puede ocasionar su deterioro. Se deberá enjuagar el extractor para que quede listo para la próxima vez que se utilice. Y con esto se da por terminada la operación de extracción.¹⁶

7.3.4.4 Ventajas del equipo soxhlet:

Este método se basa en la rápida difusividad de los compuestos en un fluido y al poder de solvatación del fluido supercrítico, lo que ha hecho que la extracción por el equipo Soxhlet sea una poderosa alternativa a las extracciones con disolventes líquidos.

7.3.4.5 Ventajas adicionales.

- Posibilidad a trabajar a bajas temperaturas.
- Protección contra el oxígeno y minimización de riesgos de oxidación de la muestra.
- Fácil control de las condiciones de extracción mediante al cambio de presión y temperatura.
- Reducción o supresión completa de las etapas de concentración del extracto.

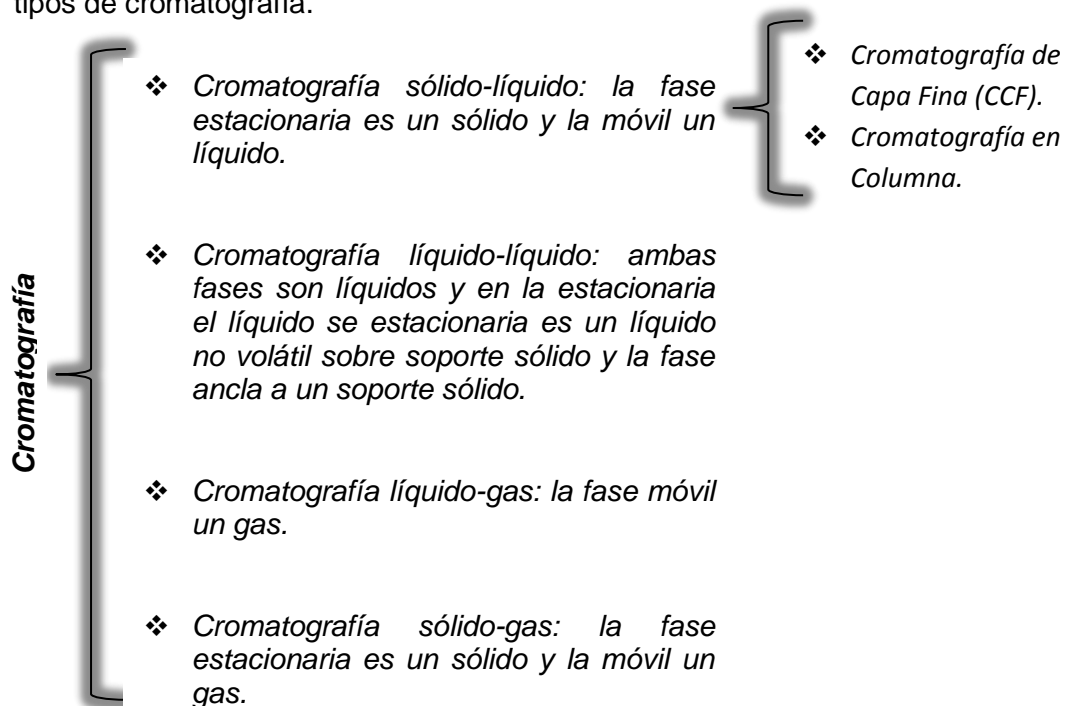
7.4 Cromatografía

15

16

Hay una gran diversidad de técnicas para realizar una separación de mezclas, mediante el aprovechamiento de las propiedades físicas de los componentes de una mezcla, entre ellas se destaca la solubilidad característica de cada componente debido a la polaridad que este presenta, dicha propiedad se aprovecha con la ayuda de la cromatografía en columna y en placa, en la cual las moléculas se distribuyen en diferentes fases, teniendo la relación con la diferencia de solubilidad que las diversas moléculas muestran a cada una de las fases, Esta técnica permite observar correspondencia entre un compuesto y una muestra de referencia. Otra propiedad característica altamente utilizada para la separación de mezclas es la capacidad que tienen algunos componentes a cristalizarse, la recristalización es una técnica en la cual la distribución de una mezcla de componentes entre dos disolventes (solvente y antisolvente), de forma que algún componente presente la tendencia a cristalizar, permitiendo así la purificación de los componentes de la mezcla.

La cromatografía es uno de los mejores métodos, y posiblemente el más utilizado en el que se puede conseguir la separación de los componentes de una mezcla. Esta separación se consigue utilizando un sistema de dos fases: una fase estacionaria en donde se retienen los compuestos a separar y una fase móvil que desplaza de forma diferencial los compuestos a través de la fase estacionaria. En función de la naturaleza de las fases, se pueden distinguir distintos tipos de cromatografía, a continuación se un esquema de los tipos de cromatografía.



Cuadro sinóptico 2: Clasificación de Cromatografía.

7.4.1 Cromatografía sólido-líquido

7.4.1.1 Cromatografía de Capa Fina (CCF).

La cromatografía en capa fina (en inglés thin layer chromatography o TLC) es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación.
- Comparar muestras. Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.
- Realizar el seguimiento de una reacción. Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado.

La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.¹⁷

7.4.1.1.1 Adsorbentes y eluyentes

Los dos adsorbentes (fase estacionaria) más ampliamente utilizados son la gel de sílice (SiO_2) y la alúmina (Al_2O_3), ambas de carácter polar. La alúmina anhidra es el más activo de los dos, es decir, es el que retiene con más fuerza a los compuestos; por ello se utiliza para separar compuestos relativamente apolares (hidrocarburos, haluros de alquilo, éteres, aldehídos y cetonas). El gel de sílice, por el contrario, se utiliza para separar sustancias más polares (alcoholes, aminas, ácidos carboxílicos). El proceso de adsorción se debe a interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno entre el soluto y el adsorbente. El adsorbente debe ser inerte con las sustancias a analizar y no actuar como catalizador en reacciones de descomposición. El adsorbente interacciona con las sustancias mediante interacción dipolo-dipolo o mediante enlace de hidrógeno si lo presentan.¹⁸

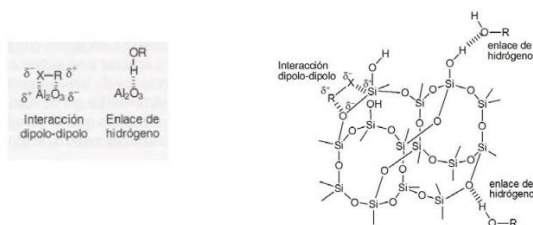


Figura 6: Estructura de Gel de sílice.

El orden de elución de un compuesto se incrementa al aumentar la polaridad de la fase móvil o eluyente. Este puede ser un disolvente único o dos miscibles de distinta polaridad.

¹⁷ (CROMATOGRAFÍA EN PLACA FINA, s.f)

¹⁸

En el siguiente recuadro se recoge por orden creciente de fuerza eluyente los disolventes más comúnmente empleados.

Hexano < tetraclorometano < cloroformo < diclorometano < acetato de etilo < acetona < 2-propanol < metanol < agua

En general, estos disolventes se caracterizan por tener bajos puntos de ebullición y viscosidad, lo que les permite moverse con rapidez. Raramente se emplea un disolvente más polar que el metanol. Usualmente se emplea una mezcla de dos disolventes en proporción variable; la polaridad de la mezcla será el valor promediado en función de la cantidad de cada disolvente empleada. El eluyente idóneo para cada caso ha de encontrarse por "el método del ensayo y del error."¹⁹

7.4.1.1.2 Revelado de las placas

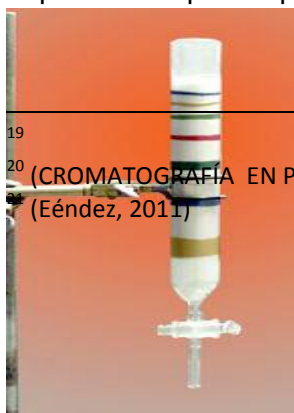
La mayor parte de las placas de cromatografía llevan un indicador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz ultravioleta (254 nm). El indicador absorbe la luz UV y emite luz visible. La presencia de un compuesto activo en el UV evita que el indicador absorba la luz en la zona en la que se encuentra el producto, y el resultado es la visualización de una mancha en la placa que indica la presencia de un compuesto.²⁰

En el caso de compuestos que no absorben luz UV, la visualización (o revelado) del cromatograma requiere utilizar un agente revelador. Este tiene que reaccionar con los productos adsorbidos proporcionando compuestos coloreados.

7.4.1.2 Cromatografía en Columna.

La cromatografía en columna es quizás el método más general, utilizado para la separación, a la vez que para la purificación, de diferentes compuestos orgánicos que se encuentren en estado sólido o líquido.

En este tipo de cromatografía, la fase estacionaria utilizada, es decir, el absorbente, se coloca en el interior de una columna de vidrio, la cual finaliza con una llave para controlar el paso de sustancias al exterior de la columna. La fase estacionaria se impregna con el eluyente o fase móvil. Seguidamente la mezcla orgánica que nos interesa separar la depositamos por la parte superior de la fase estacionaria, y así la fase móvil podrá ir atravesando el sistema.²¹



19
20 (CROMATOGRAFÍA EN PLACA FINA, s.f)
(Eéndez, 2011)

Los compuestos que se encuentran disueltos en la fase móvil, poco a poco saldrán de la columna cromatográfica, y se recogen en fracciones. Las fracciones menos polares, que son por lo general las que se retienen poco o nada en el absorbente, serán las primeras en salir de la columna. En cambio, las sustancias más polares, quedan retenidas por más tiempo en el absorbente, y a menudo es necesario el uso de diferentes disolventes con la finalidad de incrementar su polaridad para que sean arrastradas por estos.²²

Figura 8: Cromatografía en columna.

El tiempo que se necesita para hacer fluir un compuesto por la columna, se conoce con el nombre de tiempo de retención. Este tiempo varía, siendo característico de cada compuesto en una condiciones cromatográficas determinadas, que varían según el absorbente usado, el disolvente, la presión, el diámetro que tenga la columna utilizada, etc.

El absorbente mayormente utilizado para las cromatografías en columna, es el gel de sílice. A veces, en sustitución del gel de sílice, cuando éste es incompatible con la mezcla a cromatografiar, se utilizan la alúmina o el florisil (silicato magnésico). La cromatografía en columna puede realizarse por gravedad o a media presión. Cuando se realiza a media presión, se conecta la cabeza de la columna a un compresor o a una línea de aire comprimido.

La medida de las partículas de gel de sílice para realizar las cromatografías a media presión debe ser más pequeñas que en el caso de la cromatografía por gravedad. Si en la cromatografía por gravedad utilizásemos un gel de sílice con un tamaño de partículas más pequeñas, no se produciría elución, pues se impediría el flujo del disolvente. Pero en cambio, si aplicamos presión, entonces debido a la fuerza si se produciría la elución por el disolvente.²³

A causa de la disminución del tamaño de las partículas del absorbente, se produce una separación más eficaz. Generalmente la cromatografía a media presión, produce mejores resultados que la cromatografía por gravedad, y además, al ser más rápida, es la más utilizada.

Cuando vamos a realizar una cromatografía en columna, lo primero que debemos hacer es elegir un disolvente adaptado para nuestro caso, para así optimizar la separación de los componentes de la mezcla. Dicha operación se produce a través de cromatografía analítica en capa fina. La variante más influyente en la eficacia de la separación de la cromatografía a media presión usando gel de sílice es el diámetro de la columna, así como la cantidad de gel utilizado.

Para elegir el disolvente, primero se lleva a cabo una cromatografía en capa fina de la muestra a analizar. El disolvente debe producir una buena separación de los componentes de la mezcla en la placa, colocando el componente menos polar a un R_f cercano a 0.3. En el caso de columnas pequeñas, lo ideal es usar un eluyente menos polar que el conseguido en el resultado de la cromatografía en placa.²⁴

²²

²³ (Eéndez, 2011)

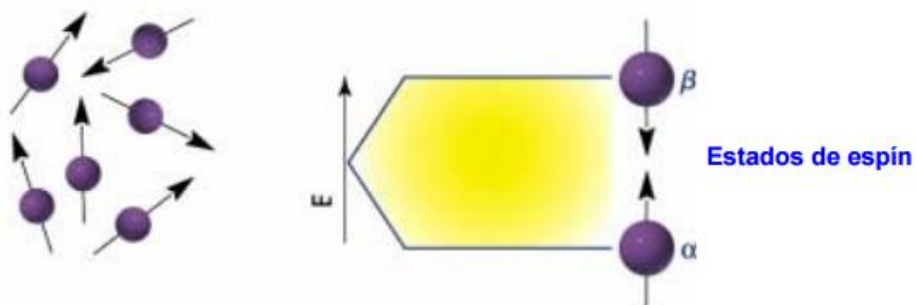
²⁴

A veces se utilizan mezclas de disolventes y se hace una elución en gradiente. Para esto, la cromatografía se inicia con una mezcla de disolventes de polaridad adecuada para poder separar el componente que posea mayor R_f , y así, una vez recogido, se aumentará poco a poco la polaridad para poder ir separando los componentes más polares. Si cuando se empieza la cromatografía se usa un disolvente excesivamente polar, los componentes de la mezcla eluirán conjuntamente, lo que llevaría a que la separación no tenga lugar. Una de las mezclas de disolventes más utilizadas es hexano/acetato de etilo.

7.5 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

7.5.1 Fundamentos físicos la espectroscopia de RMN

La espectroscopia de RMN fue desarrollada a finales de los años cuarenta para estudiar los núcleos atómicos. En 1951, los químicos descubrieron que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear podía ser utilizada para determinar las estructuras de los compuestos orgánicos. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse sólo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Esta situación se da en los átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir poseen espín, igual que los electrones, ya que los núcleos poseen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes. En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético, tal y como se muestra en la siguiente figura N°8, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín β .²⁵



²⁵ (Fundamentos de Química Orgánica, s.f)

Figura 8: Campo magnético y espines

Existen más núcleos en el estado de espín α que en el β pero aunque la diferencia de población no es enorme sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN.

La diferencia de energía entre los dos estados de espín α y β , depende de la fuerza del campo magnético aplicado H_0 . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín. En la siguiente gráfica se representa el aumento de la diferencia energética entre los estados de espín con el aumento de la fuerza del campo magnético.²⁶

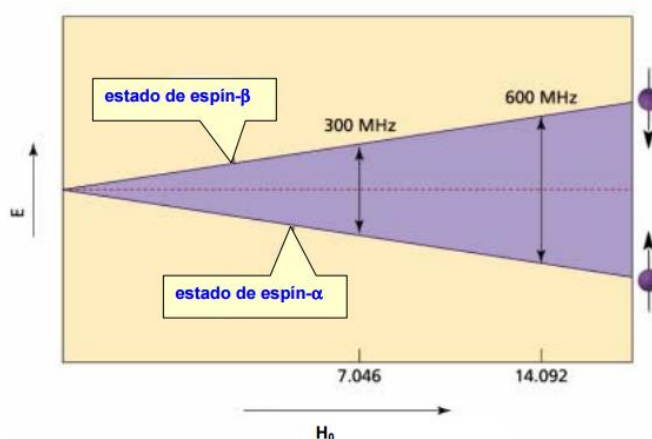


Figura 9: la región de las radiofrecuencias (rf)

Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de espín β . Esta radiación se encuentra en la región de las radiofrecuencias (rf) del espectro electromagnético por eso se le denomina radiación rf. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía (ΔE) entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN. El término resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia o la radiación rf. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín a otro como respuesta a la radiación rf a la que son sometidos. La siguiente ecuación muestra la dependencia entre la frecuencia de la señal y la fuerza del campo magnético H_0 (medida en Teslas, T).²⁷

$$\Delta E = h \nu = h \frac{\gamma}{2\pi} H_0 \quad \text{donde } \gamma = \text{radio giromagnético}$$

²⁶

²⁷ (Fundame

El valor del radio giromagnético depende del tipo de núcleo que se está irradiando; en el caso del ^1H es de $2.675 \times 10^8 \text{T}^{-1}\text{s}^{-1}$. Si un espectrómetro de RMN posee un imán potente, éste debe trabajar a una mayor frecuencia puesto que el campo magnético es proporcional a dicha frecuencia. Así por ejemplo, un campo magnético de 14.092 T requiere una frecuencia de trabajo de 600 MHz. Hoy en día los espectrómetros de RMN trabajan a 200,300, 400, 500 y 600 MHz.²⁸

7.5.2 El espectrómetro de resonancia magnética nuclear

A continuación, se muestra de forma esquemática los principales componentes de un equipo para medidas de resonancia magnética nuclear.

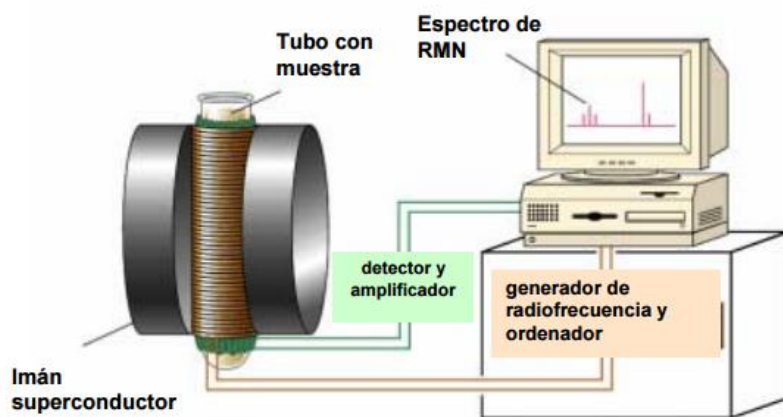


Figura 10: Espectrómetro de RMN

Como se observa, el espectrómetro de RMN consta de cuatro partes:

1. Un imán estable, con un controlador que produce un campo magnético preciso.
2. Un transmisor de radiofrecuencias, capaz de emitir frecuencias precisas.
3. Un detector para medir la absorción de energía de radiofrecuencia de la muestra.

4. Un ordenador y un registrador para realizar las gráficas que constituyen el espectro de RMN.

Para obtener un espectro de RMN, se coloca una pequeña cantidad del compuesto orgánico disuelto en medio mililitro de disolvente en un tubo de vidrio largo que se sitúa dentro del campo magnético del aparato. El tubo con la muestra se hace girar alrededor de su eje vertical. En los aparatos modernos el campo magnético se mantiene constante mientras un breve pulso de radiación rf excita a todos los núcleos simultáneamente. Como el corto pulso de radiofrecuencia cubre un amplio rango de frecuencias los protones individualmente absorben la radiación de frecuencia necesaria para entrar en resonancia (cambiar de estado de espín). A medida que dichos núcleos vuelven a su posición inicial emiten una radiación de frecuencia igual a la diferencia de energía entre estados de espín. La intensidad de esta frecuencia disminuye con el tiempo a medida que todos los núcleos vuelven a su estado inicial. Un ordenador recoge la intensidad respecto al tiempo y convierte dichos datos en intensidad respecto a frecuencia, esto es lo que se conoce con el nombre de transformada de Fourier (FT-RMN). Un espectro FT-RMN puede registrarse en 2 segundos utilizando menos de 5 mg de muestra.²⁹

7.5.3 Resonancia magnética nuclear de 1 H. Apantallamiento o protección magnética por los electrones.

Hasta ahora se ha descrito el concepto de resonancia de un núcleo aislado dentro de un campo magnético, pero en realidad los núcleos, como pueden ser los protones o los carbonos que forman las moléculas orgánicas, no se encuentran aislados sino que están rodeados de electrones que los protegen parcialmente del campo magnético externo al que se ven sometidos. Los electrones se mueven generando un pequeño campo magnético inducido que se opone al campo magnético externo.

En cualquier molécula la nube electrónica que existe alrededor de cada núcleo actúa como una corriente eléctrica en movimiento que, como respuesta al campo magnético externo, genera una pequeña corriente inducida que se opone a dicho campo. El resultado de este hecho es que el campo magnético que realmente llega al núcleo es más débil que el campo externo, por tanto, se dice que el núcleo está protegido o apantallado. Este apantallamiento es muy importante desde el punto de vista experimental ya que el campo magnético efectivo (H_{ef}) que siente un protón dentro de una molécula es siempre menor que el campo externo, y por lo tanto, para que el núcleo entre en resonancia dicho campo externo debe ser mayor.³⁰

²⁹ (Fundamentos de Química Orgánica, s.f)

³⁰

$$H_{ef} = H_0 - H_{loc}$$

Si todos los protones (1H) de una molécula orgánica estuvieran apantallados de igual forma, todos entrarían en resonancia con la misma combinación de frecuencia y campo magnético. Sin embargo, los protones se hallan dentro de entornos electrónicos diferentes y, por tanto, se encuentran diferentemente protegidos o apantallados.

Por ejemplo, en el metanol el átomo de oxígeno retira densidad electrónica del entorno electrónico que rodea al protón del grupo hidroxilo, quedando este átomo de hidrógeno menos protegido que los protones del grupo metilo. La consecuencia es que el protón del grupo hidroxilo resuena a un campo magnético menor que los protones del grupo metilo.³¹

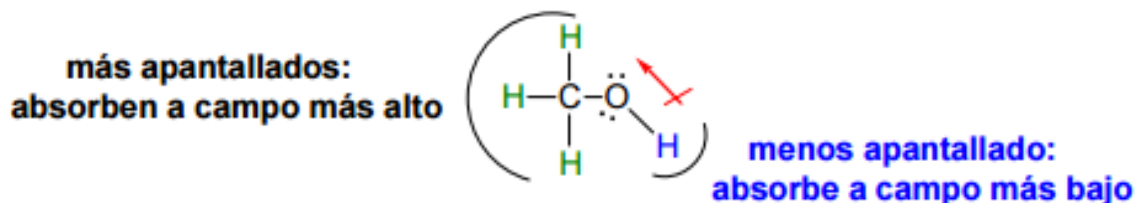


Figura 11: Metanol el átomo de oxígeno

Por lo general, los efectos de protección, o apantallamiento, de las nubes electrónicas que rodean a cada protón son diferentes, lo que provoca diferentes frecuencias de emisión. El resultado es un espectro de diversas frecuencias donde cada conjunto de núcleos específicos da origen a una señal única de RMN. Así pues, un espectro de RMN es una gráfica de la intensidad de señal en función de la frecuencia de la energía electromagnética que liberan los diversos núcleos de una muestra.

Las variaciones en las frecuencias de absorción de resonancia magnética nuclear, que tienen lugar debido al distinto apantallamiento de los núcleos, reciben el nombre de desplazamientos químicos (unidades δ ó ppm).³²

En la práctica es difícil medir el campo magnético al que un protón absorbe con suficiente exactitud para distinguir protones individuales ya que las absorciones sólo varían en unas pocas milésimas. Un método más exacto para expresar desplazamientos químicos es determinar el valor respecto a un compuesto de referencia que se añade a la muestra. La diferencia en la intensidad del campo magnético necesario para la resonancia de los protones de la muestra y de los protones de referencia se puede medir, ahora sí, con mucha exactitud

³¹

³² (Fundamentos de Química Orgánica, s.f)

$$\delta(\text{ppm}) = \frac{\nu_{\text{muestra}} - \nu_{\text{referencia}}}{\nu_{\text{referencia}}}$$

El compuesto de referencia más común en resonancia magnética nuclear es el tetrametilsilano (TMS, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$). Como el silicio es menos electronegativo que el carbono, los grupos metilo del TMS son relativamente ricos en electrones, es decir, sus protones están fuertemente apantallados. Como consecuencia de este apantallamiento, estos protones absorben a una intensidad de campo mayor que el resto de protones enlazados al carbono o a otros elementos, de manera que casi todas las señales de resonancia magnética nuclear aparecen a campos más bajos (hacia la izquierda de la señal del TMS). Además todos los protones del TMS absorben con el mismo desplazamiento químico dando una única absorción intensa.³³

La escala más común de desplazamiento químico es la escala δ (delta) en la que la absorción del tetrametilsilano (TMS) se define como 0.00 δ . La mayor parte de los protones absorben a campos menores que el TMS, de modo que la escala δ aumenta hacia los campos menores. La mayoría de las señales de protones (1 H) varían entre 0 y 12 δ , mientras que las señales del ^{13}C varían del 0 a 250 δ .

Como el desplazamiento químico de un protón está determinado por su entorno se han construido tablas con valores representativos:

tipo de protón	Despl. químico (δ)	tipo de protón	Despl. químico (δ)
$-\text{CH}_3$	0.7-1.3		9.5-10.0
$-\text{CH}_2-$	1.2-1.4		10.0-12.0
$-\text{CH}$	1.4-1.7	$-\text{C}-\text{OH}$	1.0-6.0
	1.5-2.5	$\text{O}-\text{C}-\text{H}$	3.3-4.0
	2.1-2.6	$-\text{C}-\text{NH}_2$	1.5-4.0
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2.5-3.1	$\text{Cl}-\text{C}-\text{H}$	3.0-4.0
$\text{Ar}-\text{H}$	6.0-9.0	$\text{Br}-\text{C}-\text{H}$	2.5-4.0
	4.5-6.5	$\text{I}-\text{C}-\text{H}$	2.0-4.0

Tabla 4: Moléculas dobles enlaces y los anillos aromáticos

La tabla 4: muestra que los dobles enlaces y los anillos aromáticos producen grandes efectos desprotectores o desapantallantes en sus protones vinílicos y aromáticos respectivamente. En el caso de los derivados aromáticos, el campo magnético externo induce una corriente en el anillo aromático que se opone a dicho campo magnético. Sin embargo, estas líneas de campo inducido se curvan y en la parte exterior del anillo se suma al campo externo, tal y como se ve en la siguiente figura:



desapantallados y absorben a valores bajos del campo magnético aplicado, de ahí que la mayor parte de los protones aromáticos absorben en el rango de 7-8 δ .

Por otro lado, los protones vinílicos de un alqueno están desprotegidos o desapantallados por los electrones π del mismo modo que se desapantallan los protones aromáticos. Sin embargo, este efecto no es tan grande en el caso del alqueno, ya que no existe el anillo tan efectivo de electrones que hay en los derivados del benceno. Una vez más, en los alquenos, el movimiento de los electrones π genera un campo magnético inducido que se opone al campo magnético externo en la parte media del doble enlace. No obstante, los protones vinílicos están en la periferia de este campo, donde el campo inducido no se opone sino que refuerza el campo externo. Como resultado de este efecto desapantallante, la mayor parte de los protones del vinilo absorben entre 5-6 δ .³⁴

Por otra parte, los protones acetilénicos absorben entre 2.5-3 δ . Esto es debido a que la densidad electrónica de un triple enlace forma un cilindro que rodea al enlace σ C-C, de manera que el protón acetilénico queda situado a lo largo del eje de dicho campo inducido quedando, pues, completamente apantallado, de ahí que este protón se encuentre a valores de desplazamiento químico mucho menores que en el caso de un protón vinílico.

³⁴ (Fundamentos de Química Orgánica , s.f)

7.5.4 El espectro de RMN de ^1H

En la figura 13: que aparece a continuación corresponde al espectro de resonancia magnética nuclear del 1-bromo-2,2-dimetilpropano. Se puede observar la presencia de dos señales de distinta intensidad. La señal a $3.28\ \delta$ corresponde a los dos protones del grupo metileno, que por estar cerca del átomo de bromo electrón-atrayente experimentan un efecto de desapantallamiento. La señal más intensa a $1.05\ \delta$ corresponde a los 9 protones de los grupos metilo.³⁵

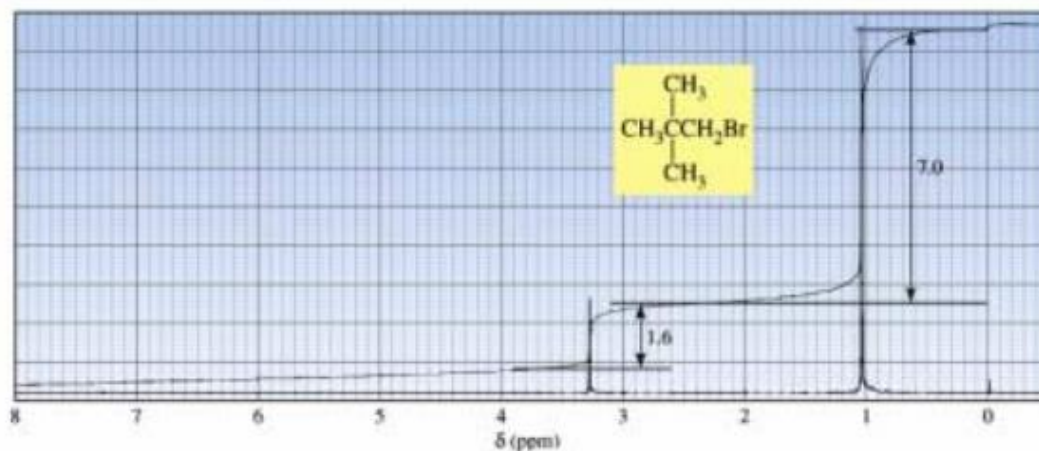


Figura 13: 1-bromo-2,2-dimetilpropano

7.5.4.1 Curva de integración.

La intensidad relativa de una señal en la espectroscopia de RMN protón es proporcional al número de protones que contribuyen a la señal. La curva superpuesta a las señales del espectro, que se puede observar en la figura anterior, es la llamada curva de integración. La altura del escalón permite calcular el número de átomos de hidrógeno que dan origen a cada señal. Así, en la figura del espectro anterior se mide una altura para cada escalón $7.0\ \text{cm}$ y $1.6\ \text{cm}$. Para calcular el número de átomos de hidrógeno que originan cada señal se procede del siguiente modo:

1º. Se suman las dos integraciones y se divide por el número total de hidrógenos de la estructura:

$$7.0 \text{ cm} + 1.6 \text{ cm} = 8.6 \text{ cm}$$

nº de hidrógenos del 1-bromo-2,2-dimetilpropano = 11 H

$$\text{Por tanto: } \frac{11H}{8.6 \text{ cm}} = 1.28 \text{ H/cm}$$

2º. Para saber el número de hidrógenos de cada señal se multiplica su integración por el valor anterior.

$$7.0 \text{ cm} \times 1.28 \text{ H/cm} = 9 \text{ H}$$

$$1.6 \text{ cm} \times 1.28 \text{ H/cm} = 2 \text{ H}$$

Así pues, la señal más intensa se debe a 9 protones (tres metilos de la estructura) mientras que la menos intensa se debe a tan sólo dos protones (metileno).

7.5.4.2 Desacoplamiento espín-espín.

Como ya se indicado anteriormente un protón en un espectro de resonancia magnética nuclear está sujeto tanto al campo magnético externo como al campo inducido por los electrones que lo rodean. Pero, además, si en su entorno hay otros protones, sus campos magnéticos, aunque sean pequeños afectan a la frecuencia de absorción del protón que se está observando.

En la figura 14: se muestra el espectro del 1,1-dicloroetano:

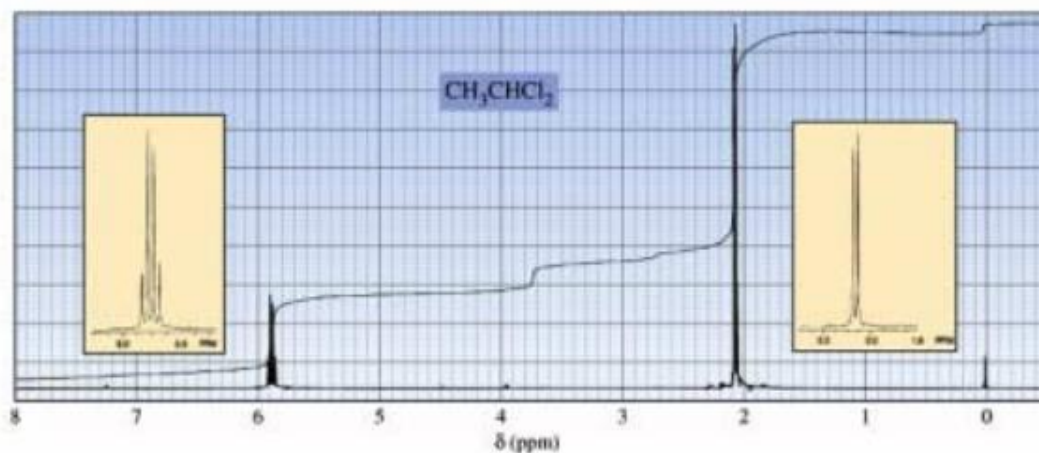


Figura 14: 1,1-dicloroetano

Como se observa en el espectro del 1,1-dicloroetano ($C_2H_4Cl_2$) aparecen dos señales cuyas áreas están en relación 1:3. La señal más pequeña (H_a) se debe al protón del carbono unido a los dos átomos de cloro (CH_3CHCl_2) y aparece a 5.85 δ . Este desplazamiento a campo bajo es debido al desapantallamiento que provocan los dos átomos adyacentes de cloro. Además, esta señal no es tan simple como las señales que se observan en el espectro del 1-bromo-2,2-dimetilpropano, que están constituidas por una sola línea. En el espectro del 1,1-dicloroetano la señal a 5.85 δ está formada en realidad por un conjunto de cuatro señales, que en RMN se denomina cuadruplete (cuatro picos). La señal de mayor intensidad, que aparece a 2.1 δ , está formada por dos líneas y se denomina doblete (dos picos). Esta señal corresponde a los tres átomos de hidrógeno del grupo metilo (CH_3CHCl_2).³⁶

Este desdoblamiento de señales en multipletes, denominado desdoblamiento de espín, se origina cuando los espines magnéticos de dos tipos diferentes de protones interaccionan. Cuando esta interacción ocurre se dice que los protones están acoplados magnéticamente.

El desdoblamiento de espín-espín se explica teniendo en cuenta todos los posibles espines individuales de los protones. En el 1,1-dicloroetano los protones del grupo metilo (CH_3CHCl_2) se encuentran bajo la influencia de un pequeño campo magnético generado por el protón adyacente. En algunas moléculas el campo magnético que incide en algunos protones del grupo CH_3 está alineado con el campo magnético externo, y en otras se alinea contra el campo, tal y como se muestra en la figura 15:

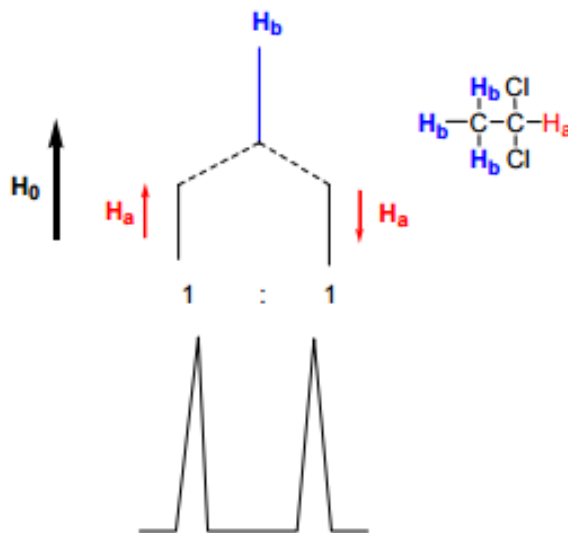


Figura 15: alineado en el campo magnético externo y alineado contra el campo.

³⁶ (Fundamentos de Química Orgánica , s.f)

Cuando el protón H_a está alineado con el campo externo, los protones H_b se ven afectados por un campo magnético externo ligeramente más intenso, es decir, se ven desapantallados y absorben a un campo menor. Por otro lado, cuando el campo de H_a está alineado en contra al campo magnético externo, los protones H_b se encuentran apantallados o protegidos, ya que sienten la presencia de un campo magnético menor al externo y, por tanto, absorben a campo más alto. Aproximadamente, el 50% de moléculas de 1,1-dicloroetano tienen a los protones H_a alineados con el campo externo y el otro 50% de moléculas tienen a los protones H_a alineados en contra de él, La consecuencia es que los protones H_b presentan dos absorciones que dan lugar a dos señales, de idéntica área, que son las que forman el doblete del espectro. El desdoblamiento de espín es una propiedad recíproca, es decir, si un protón desdobla a otro, el segundo protón debe desdoblar al primero. Así, en el caso anterior el protón H_a genera una señal cuadruplete porque acopla con los tres protones H_b . Este cuadruplete se genera porque hay ocho permutaciones de los espines de los tres protones H_b , tal y como se muestra en la figura nº16:

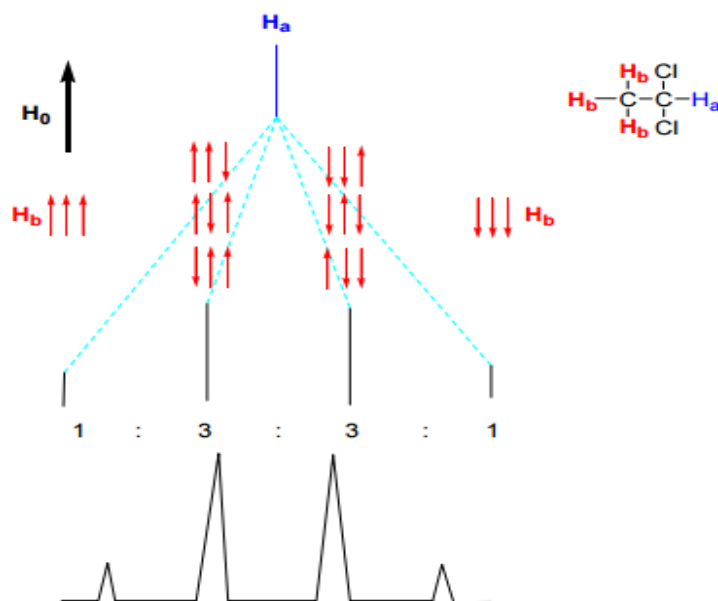


Figura 16: cuadruplete

De las permutaciones de espines resultan cuatro señales, siendo las dos del centro tres veces mayores que las de los extremos ya que corresponden a tres permutaciones posibles de espín equivalentes (absorben a la misma frecuencia).

Este tipo de análisis que se ha descrito para averiguar el desdoblamiento de espín-espín del 1,1-dicloroetano se puede ampliar para sistemas más complejos. En general, la multiplicidad o número de picos de una señal, viene dada por la regla $N+1$, donde N es el número de protones equivalentes que desdoblan una señal. Las áreas relativas del multiplete $N+1$ vienen dadas por el llamado triángulo de Pascal.

Tabla 5: número de picos de una señal

N. protones equivalentes	Número de picos (multiplicidad)	Relaciones de área (triángulo de Pascal)
0	1 (singulete)	1
1	2 (doblete)	1 1
2	3 (tripleto)	1 2 1
3	4 (cuadrupleto)	1 3 3 1
4	5 (quintupleto)	1 4 6 4 1
5	6 (sextupleto)	1 5 10 10 5 1

7.5.4.3 Constantes de acoplamiento.

Las distancias entre picos de los multipletes dan mucha información estructural. A la distancia entre los picos de un multiplete (medida en Herzios) se le llama constante de acoplamiento entre los protones magnéticamente acoplados. Se simboliza como J_{ab} donde H_a y H_b son los protones que acoplan entre sí. En la figura nº17 se muestran las constantes de acoplamiento para el 1,1-dicloroetano:

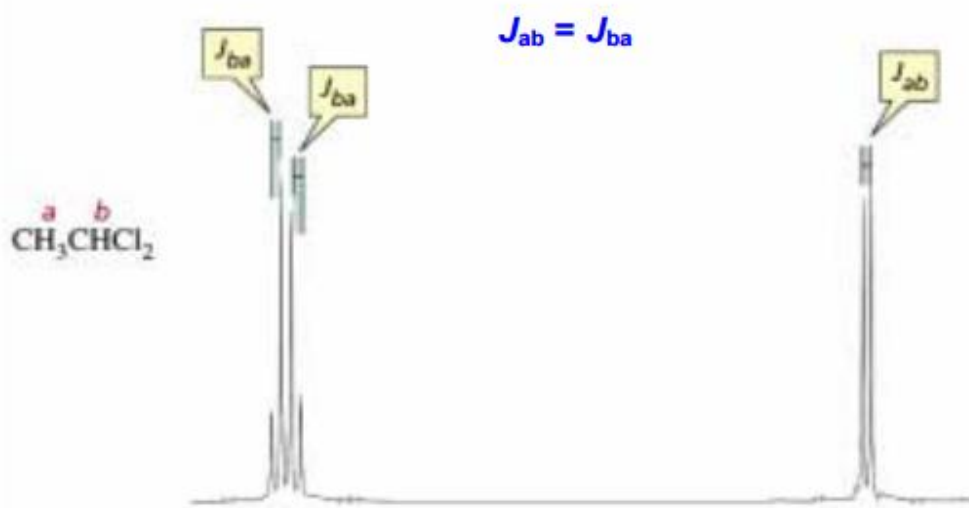


Figura 17: Constantes de acoplamiento del 1,1-dicloroetano:

La siguiente tabla muestra algunos valores típicos de constantes de acoplamiento:

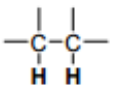



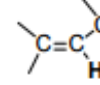


Estructura							
J (Hz)	7	15	10	2	6	8	2

Tabla 6: valores típicos de constantes de acoplamiento

Como se observa en la tabla anterior, las constantes de acoplamiento ayudan a distinguir entre los posibles isómeros de un compuesto, como en el caso del ácido 3-cloropropenoico. Este compuesto presenta dos isómeros geométricos, el ácido Z-3-cloropropenoico y el ácido E-3-cloropropenoico. Estos dos isómeros pueden distinguirse por RMN debido a las constantes de acoplamiento que presentan las señales debidas a los protones Ha y Hb tal y como muestra la siguiente figura:

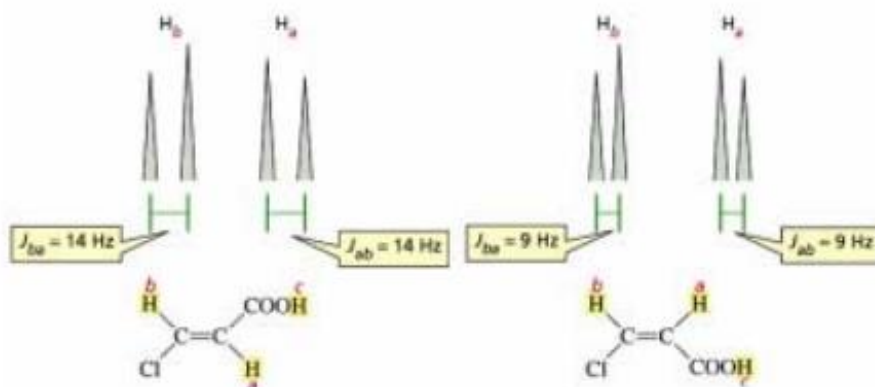


Figura 18: Señal de presencia de protones Ha y Hb.

Como se observa, el isómero E presenta mayor constante de acoplamiento entre Ha y Hb que el isómero Z.

7.5.5 Interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H.

La rápida y correcta interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de protones requiere de mucha práctica. A continuación se citan los pasos a seguir para llevar a cabo el análisis espectral de forma correcta:

1. A partir de la fórmula molecular:

a. Calcular el número de insaturaciones que posee el compuesto cuya estructura se quiere elucidar. Este número de insaturaciones puede indicar la presencia de anillos, dobles o triples enlaces. El número de insaturaciones se calcula según la siguiente expresión:

$$g = N^{\circ} \text{ átomos de C} + 1 - \frac{n^{\circ} \text{ átomos H} + n^{\circ} \text{ átomos halógeno} - n^{\circ} \text{ átomos N}}{2}$$

b. Relacionar las áreas de integración de los picos con el número de totales de protones de la estructura para obtener el número de protones que representa cada pico individual.

2. La presencia de un singulete ancho en el espectro podría deberse a protones de –NH o –OH. Si el singulete ancho se encuentra más allá de 10 ppm es probable que se trate de un –OH de ácido.

3. Las señales entre 10 y 9 δ son indicativas de la presencia de un aldehído.

4. Las señales que aparecen entre 8 y 7 δ indican la presencia de un anillo aromático.

5. Las señales entre 6 y 5 δ indican la presencia de protones olefínicos. Mediante el valor de la constante de acoplamiento se puede deducir si la olefina es cis o trans.

6. Las señales entre 4 y 3 δ indican que hay protones en un carbono unido a un grupo electronegativo como es el oxígeno o un halógeno.

7. La presencia de una señal alrededor de 2.5 δ se debe al protón de un alquino terminal.

8. Las señales que aparecen entre 2.5 y 2.1 δ pueden indicar la presencia de protones adyacentes a un grupo carbonilo.

7.5.6 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de ^{13}C

La resonancia magnética nuclear de ^{13}C es complementaria a la de ^1H . Esta última técnica se utiliza para deducir la estructura del esqueleto carbonado observando los entornos magnéticos de los átomos de hidrógeno, mientras que la espectroscopia de RMN de ^{13}C determina el entorno magnético de los átomos de carbono.³⁷

Aproximadamente el 99% de los átomos de carbono en una muestra natural son del isótopo ^{12}C . Este isótopo posee un número par de protones y un número par de neutrones, por tanto, no tiene espín magnético y no puede dar lugar a señales de

³⁷ (Fundamentos de Química Orgánica, s.f)

resonancia magnética nuclear. El isótopo de ^{13}C menos abundante tiene un número impar de neutrones, lo que le confiere un espín magnético de 1/2, igual al del protón. La espectroscopia de resonancia magnética nuclear de ^{13}C es menos sensible que la de ^1H debido a que sólo el 1% de los átomos de carbono posee espín y a que, además, la frecuencia de resonancia del ^{13}C , para un campo magnético dado, es la cuarta parte de la que se da en la RMN de ^1H .³⁸

Los desplazamientos químicos del carbono son de 15 a 20 veces mayores que los del hidrógeno debido a que el carbono está directamente unido a los átomos que resultan ser bien apantallantes o desapantallantes. Por ejemplo, el protón de un aldehído absorbe a 9.4 ppm en el espectro de ^1H mientras que el carbono de carbonilo absorbe a 180 ppm en el espectro de ^{13}C . Además, las señales en el espectro de ^{13}C son líneas verticales, es decir, no hay desdoblamientos de espín-espín. Esto se debe a que sólo el 1% de los átomos de carbono entran en resonancia, y por tanto, existe una probabilidad muy pequeña de que un núcleo de ^{13}C esté adyacente a otro núcleo de ^{13}C . A continuación se da una tabla de valores aproximados de desplazamientos químicos en un espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C :

Estructura	$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$	$\text{R}-\text{CH}_3$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{R}$	$\text{R}-\overset{\text{R}}{\underset{\text{R}}{\text{C}}}-\text{H}$	$\text{R}-\overset{\text{R}}{\underset{\text{R}}{\text{C}}}-\text{R}$	$-\text{C}\equiv\text{C}-$	$\text{C}=\text{C}$
J (Hz)	0	8-35	15-20	20-60	30-40	65-85	100-150

208

Tema 10


Estructura		$\text{I}-\overset{\text{C}}{\text{---}}-\text{Br}-\overset{\text{C}}{\text{---}}$	$\text{Cl}-\overset{\text{C}}{\text{---}}$	$\text{N}-\overset{\text{C}}{\text{---}}$	$\text{O}-\overset{\text{C}}{\text{---}}$	$\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OR}$	$\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OH}$	$\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{H}$	
J (Hz)	110-170	0-40	25-65	35-80	40-60	50-80	165-185	175-185	190-200

Tabla 7: valores aproximados de desplazamientos químicos en un espectro de resonancia magnética nuclear.

7.6 Materiales, equipos y reactivos

7.6.1 Extracción Soxhlet.

MATERIALES	REACTIVOS
20 gr de chicalote molido	Éter
Equipo soxhelt	Hexano
Cucharita	
Cartucho de papel filtro	
Balanza	
Matraz balón	
Rota vapor	

7.6.2 Cromatografía por capa fina.


MATERIALES	REACTIVOS
Vaso de precipitado de 50ml	Acetato de etilo
Vidrio de reloj	Agente revelador (ácido sulfúrico)
Placas de cromatografía	Sistema 9:1, 8:2, 7:3 y 95:5 (Hexano-Acetato)
Lápiz	
Plancha	


7.6.3 Cromatografía en columna.


MATERIALES	REACTIVOS
Columna en vidrio	Gel de sílice
2 vulvos de seguridad	Sistema 9:1, 8:2, 7:3 y 95:5 (Hexano-Acetato)
Probeta 500ml	
Rota vapor.	
Extracción de chicalote	

7.7 Equipos utilizados.

EQUIPO	ESPECIFICACIONES
Equipo soxhlet	1:Marca: ry

	<p>2:certificación: iso9001 3: lugar de origen: china 4: material: vidrio borosilicato(gg-- 17), pesado de la pared. 5: de la capacidad: 250ml 6: alcance de la aplicación: para la investigación científica, de la enseñanza, la medicina, derivados del petróleo y las industrias químicas 7: De extracción soxhlet appartus bolb con condensador aplicable volátiles extracto de método, la materia orgánica contenida en la grasa, la lixiviación de grasa de extracción.</p>
---	---

EQUIPO	ESPECIFICACIONES
<p>Rotavapor</p> 	<p>1: Marca del rotavapor buchi b-100 2: El Rotavapor® R-100 es un evaporador rotatorio de alta calidad para satisfacer las necesidades esenciales de la clásica Aplicaciones de laboratorio. Es capaz de una velocidad de rotación ajustable manualmente de 20 a 280 Rpm y equipado con una elevación de gato de acción para el levantamiento manual del matraz de evaporación. Includo es El condensador seleccionado, los frascos de recepción y evaporación de 1 L y un conducto de vapor</p>

EQUIPO	ESPECIFICACIONES								
<p>Columna de Cromatografía</p> 	<p>Marca:Eseve</p> <table border="1" data-bbox="521 1465 1123 1633"> <thead> <tr> <th data-bbox="521 1465 667 1566">Articulo No.</th> <th data-bbox="667 1465 813 1566">D.I. x largo en mm.</th> <th data-bbox="813 1465 992 1566">Cap. volumen en mm.</th> <th data-bbox="992 1465 1123 1566">Juntas</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="521 1566 667 1633">129A-2</td> <td data-bbox="667 1566 813 1633">19x400</td> <td data-bbox="813 1566 992 1633">115</td> <td data-bbox="992 1566 1123 1633">14/23 ó 14/20</td> </tr> </tbody> </table>	Articulo No.	D.I. x largo en mm.	Cap. volumen en mm.	Juntas	129A-2	19x400	115	14/23 ó 14/20
Articulo No.	D.I. x largo en mm.	Cap. volumen en mm.	Juntas						
129A-2	19x400	115	14/23 ó 14/20						

7.8 Procedimiento y descripción de las actividades realizadas

7.8.1 Extracto de chicalote en aceite

Se muele la planta en un molino eléctrico para obtener un polvo fino, se agrega en un recipiente de 3 litros, se pesan 2700 gramos de Chicalote y se mezcla 9.85 litros de aceite vegetal, se mueve para hacer homogénea la mezcla y se deja reposar por 30 días para extraer los principios activos. Se realiza una filtración para separar la parte sólida de la líquida.

7.8.2 Identificar los extractos aceitosos (2012, 2013 y 2016) por Cromatografía en capa fina (CCF)

Los extractos de *Argemone Mexicana* obtenidos en el 2012, 2013 y 2016 se sometieron a una prueba de CCF, esto con la finalidad de identificar si, los compuestos químicos sufrían algún cambio debido al tiempo.

Para poder identificar estos compuesto, fue necesario plaquear en CCF las tres diferentes muestra y una muestra madre (aceite vegetal comestible, con sistemas de diferente polaridad que son: 9:1, 8:2, 7:3, 95:5 (Hexano- Acetato) y 9:1 (Cloruro-Etanol).

7.8.2.1 Diagrama de flujo

1.- Se corta placas para Cromatografía de 2 cm de ancho y 4 cm de largo.



2.- Se agrega 0.5 ml de sistema 9:1 (Hexano- acetato) en un vaso de precipitado, taparlo con un vidrio de reloj.



3.- En un vial se coloca Acetato de etilo, esto servirá para lavar los tubos capilares.



4.- Con un lápiz se marca una línea horizontal de 4cm de largo en la parte inferior de la placa y cuatro líneas pequeña línea vertical, como se muestra en la sig. Imagen.



5.- Con la ayuda de tubos capilares se aplica una gota de aceite testigo en la primera línea vertical, se enjuaga el tubo capilar.

↓

6.- Repetir el paso 5, ahora con las muestra 2012, 2013 y 2016.

↓

7.- Una vez lista la placa con las 4 aplicaciones, se hace un corrido de sistema (9:1). La placa se saca cuando está a 0.5cm antes de llegar al borde superior.

↓

8.- La placa se sumerge en agente revelador y se coloca en una plancha para observar las manchas obtenidas.

↓

9.- Repetir los 8 procedimientos hasta que deje de salir la mancha con 9:1.

↓

9.- Repetir los 9 procedimientos anteriores ahora con sistema (Hexano- Acetato) 8:2, 7:3. 95.5, 9:1 (Cloruro- Etanol)

7.8.3 Determinar el disolvente adecuado para la extracción de aceite puro de Argemone Mexicana (molido)

Para esta prueba se propusieron dos solventes, Hexano y Éter, este análisis se hizo con la finalidad de saber cuál de los dos solventes nos muestra más componentes químicos debido a la polaridad de los compuestos. Este análisis se hizo por CCF.

NOTA: La prueba se hizo con el aceite obtenido en el 2012, 2013 y la muestra patrón, ya que aún no teníamos el extracto del 2016.

Cabe mencionar que los extractos obtenidos del 2012, 2013 y 2016, están mezcladas con aceite vegetal, lo que se necesitara hacer una extracción de la planta *Argemone Mexicana* molida.

7.8.3.1 Procedimiento para determinar el disolvente.

1. En una placa para cromatografía, se trazan una línea horizontal y tres verticales.
2. En un vaso de precipitado se agrega 0.5 ml de hexano, se tapó con un vidrio de reloj.
3. en la primera línea vertical, se deposita una gota de la muestra patrón, en la segunda línea se coloca la muestra 2012 y en la tercera línea la muestra obtenida en el 2013.
4. La placa se coloca en el vaso de precipitado y se tapa con la ayuda del vidrio de reloj.
5. La placa tiene que sacarse 0.5 cm antes de llegar del borde superior. Luego se procede a sumergirlo en agente revelado durante un par de segundos. Después se

seca con un pedazo de servitoalla, y se coloca en la plancha, después de unos minutos, se comienza a observa las manchas (componentes químicos).

6. Se repite el mismo procedimiento del 1 – 5, ahora con el solvente Eter.

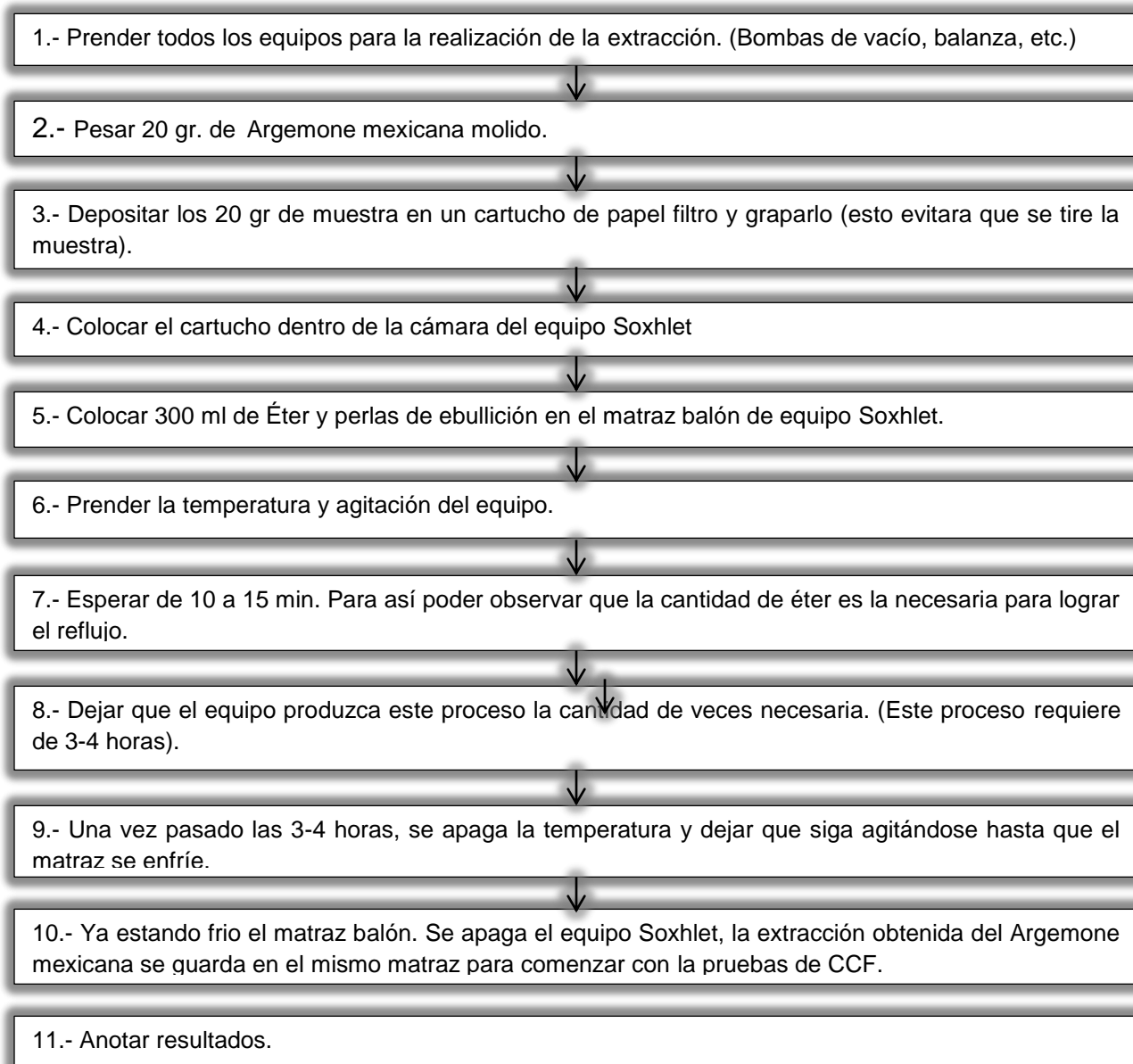
Una vez obtenidos los resultados, se seleccionará el mejor solvente para proceder con la extracción.

7.8.4 Extracción de *Argemone Mexicana* en equipo Soxhelt.

La realización de esta técnica es complementaria a Cromatografía por columna, para poder aislar un compuesto químico, es necesario eliminar las impurezas que contiene la materia orgánica, si bien, la extracción por Soxhelt es una técnica bastante empleada en los laboratorios de química orgánica, ya que es muy efectiva.

En el siguiente diagrama se muestra el procedimiento empleado para la extracción

7.8.4.1 Diagrama de flujo.



7.8.5 Purificación por Cromatografía en columna

La cromatografía en Columna, también es una cromatografía sólido-líquido, y cumple la misma función que la CCF; solo que en esta técnica lo que se busca es purificar una mezcla, es decir, separar los compuestos orgánicos de una mezcla, en este caso el aceite de Argemone mexicana.

7.8.5.1 Diagrama de flujo.

1.- Prender el rotavapor y checar su nivel de agua del baño maría, encender la temperatura 50 °C.

2.- A la extracción obtenida en el matraz balón, se le agrega 5 ml de éter y 20 gr de gel de sílice.

3.- Una vez que el rota vapor llegue a los niveles indicados para trabajar, se incorpora el matraz al rota vapor. Esto con la finalidad de recuperar el éter que sirvió para la mezcla entre la extracción y el gel de sílice.

4.- Terminado el proceso del rota vapor, se procede a montar la columna para la Cromatografía, ajustándolas a un soporte universal y pinzas.

5.- Se introduce 10 gr de gel de sílice a la columna de vidrio y luego se coloca el producto obtenido en el rota vapor. Posteriormente se le agrega una cama de algodón en la parte superior.



6.- En la parte superior de la columna se le encima un recipiente de 500 ml, y se le agrega 500 ml de hexano (Esto con la finalidad de que la muestra comience a bajar y así poder eliminar las primeras impurezas de la muestra). Comenzando a bajar el eluyente por la columna, se comienza a tomar muestras en tubos de ensaye (hasta acabar los 490 ml, ya que la columna no puede quedar seca, es decir, sin eluyente).

7.- Una vez listo las muestras en el tubo de ensaye, se realizara las pruebas en CCF. Para detectar la presencia de compuestos impuros.

8 Resultados

8.1 Resultado de los componentes de los extractos aceitosos 2012, 2013, 2016 y aceite puro en CCF

	95:5	9:1	8:2	7:3	5:5	9:1 (Cloruro-Etanol)
Muestra patrón		X	X	X	X	X
Extracto 2012	X	X	X	X	X	X
Extracto 2013	X	X	X	X	X	X
Extracto 2016	X	X	X	X	X	X

Nota: Los X marcados en la siguiente tabla, son la presencia de manchas en análisis obtenido de Cromatografía en capa fina, véase la **Figura 1 en el Anexo A**

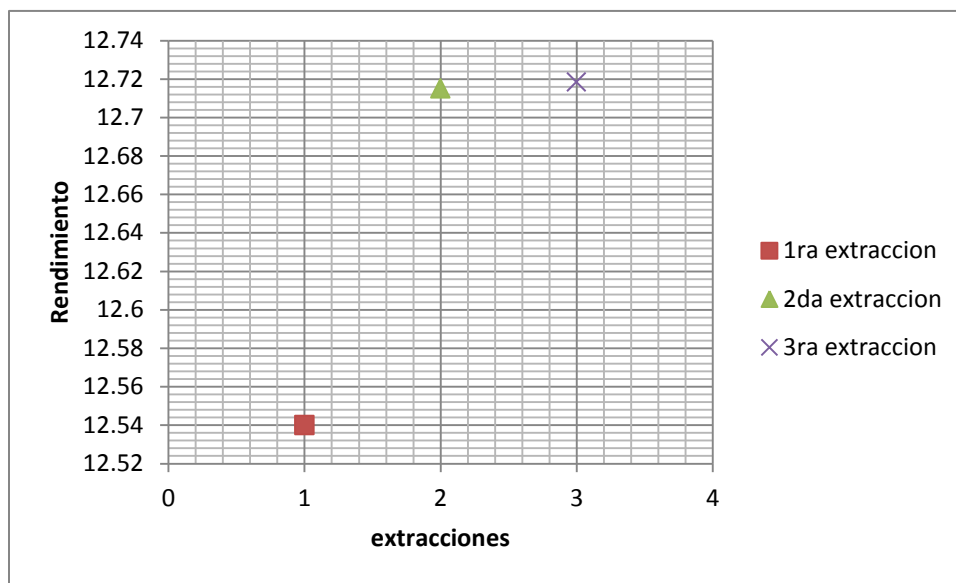
8.2 Resultado CCF para seleccionar el solvente para la extracción Soxhlet

	2012	2013
Hexano	3	3
Éter	4	4

Nota: En el **Figura 2 del anexo A** se muestra claramente que se obtienen más compuestos orgánicos en la cromatografía de capa fina con el solvente Éter.

8.3 Resultado de rendimiento de la extracción en Soxhlet.

Extracción	Vol. de Eter	gr de chicalote	gr de aceite obtenido	%Rendimiento
1	300 ml	20	2.508	12.54
2	300 ml	20	2.543	12.715
3	300 ml	60	7.631	12.71833333



Nota: las primero dos extracciones fueron hechas con la finalidad de conocer los compuestos orgánicos involucrados, antes de proceder al aislamiento.

8.4 Resultado de Cromatografía en columna

3ra. técnica de cromatografía

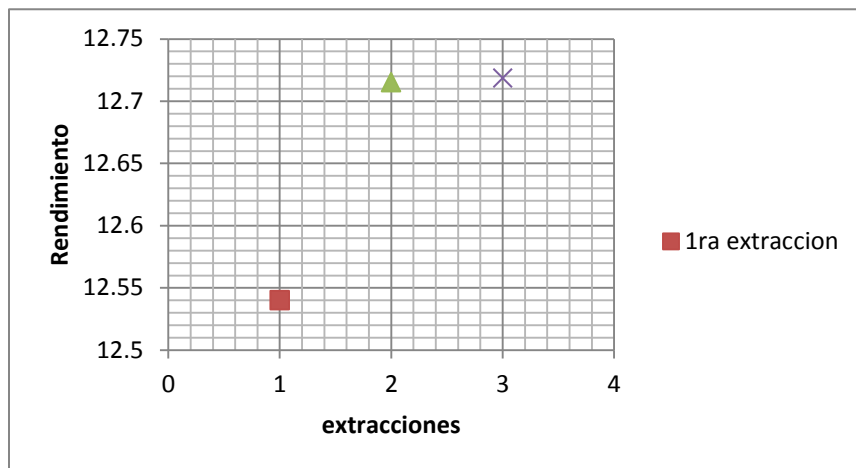
Solvente	Hexano	95,5	9,1	8,2
vol. ml	1500 ml	2235 ml	3175 ml	2000 ml
Mancha	1	2	3	4

Nota: En la siguiente tabla se presenta el volumen de solvente utilizando en la cromatografía en columna, en la Figura 3, 4, 5 y 6 se muestra la presencia de manchas.

8.4.1 Rendimiento del componente puro, obtenido en por Cromatografía en columna.

Extracción	Vol. De Éter	gr de chicalote	gr de compuesto puro	% Rendimiento
------------	--------------	-----------------	----------------------	---------------

3	2.5 L	7.631	1.02	13.36653125
---	-------	-------	------	-------------



Nota: el rendimiento del compuesto puro que se obtuvo por Cromatografía en columna fue de 13.366%

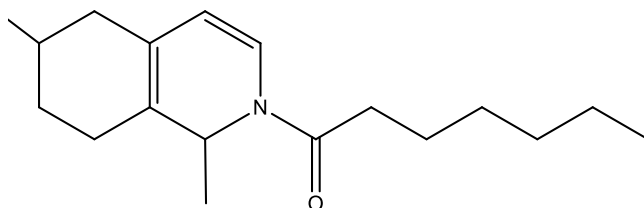
8.5 Resultado de solubilidad del compuesto puro en aceite y agua.

El compuesto puro fue sometido a pruebas de solubilidad. Dicho componente no se diluyó en agua, pero sí en aceite. Véase los resultados en la Figura 7 en el anexo C

8.6 Resultado de resonancia del compuesto puro.

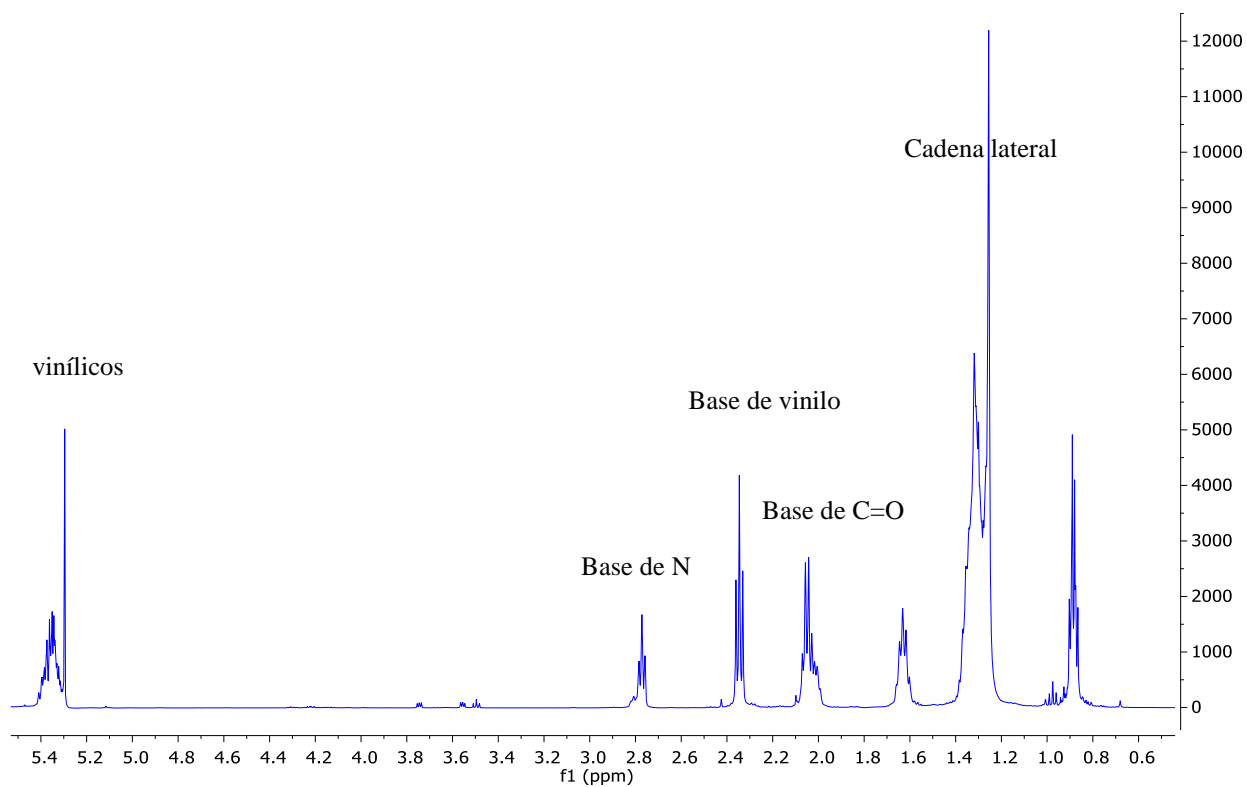
Reporte de análisis de muestra obtenida de extracción con éter etílico y purificación con columna cromatográfica en fácil móvil.

Estructura Resultante.

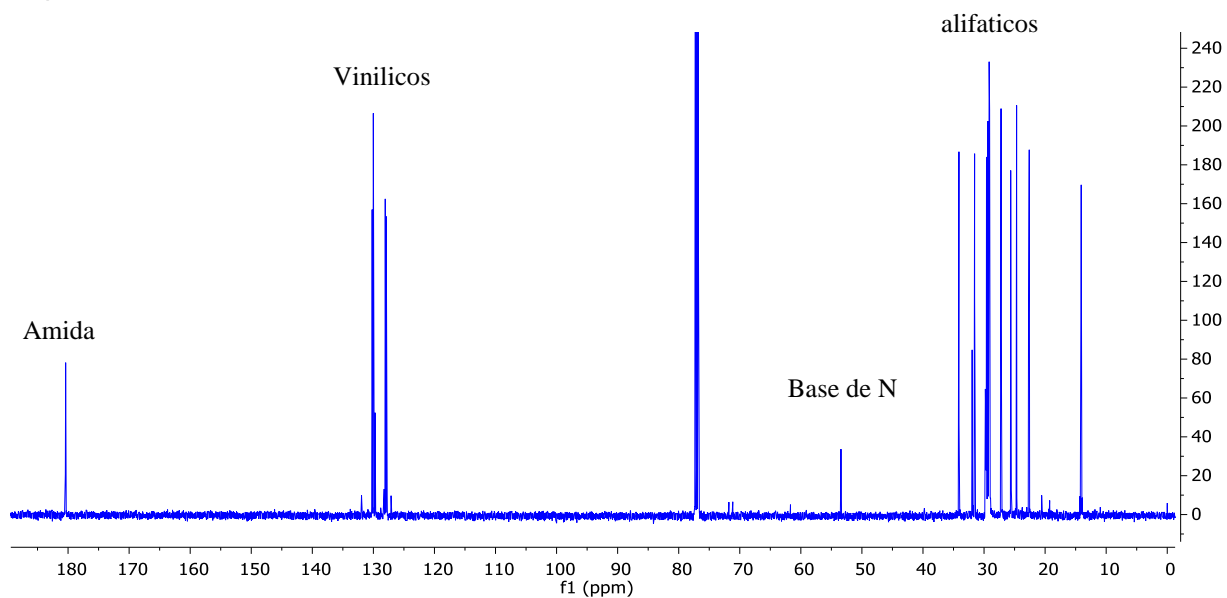


Nombre: 1-(1,6-dimetil-5,6,7,8-tetrahydroisoquinolin-2(1H)-il)heptan-1-one

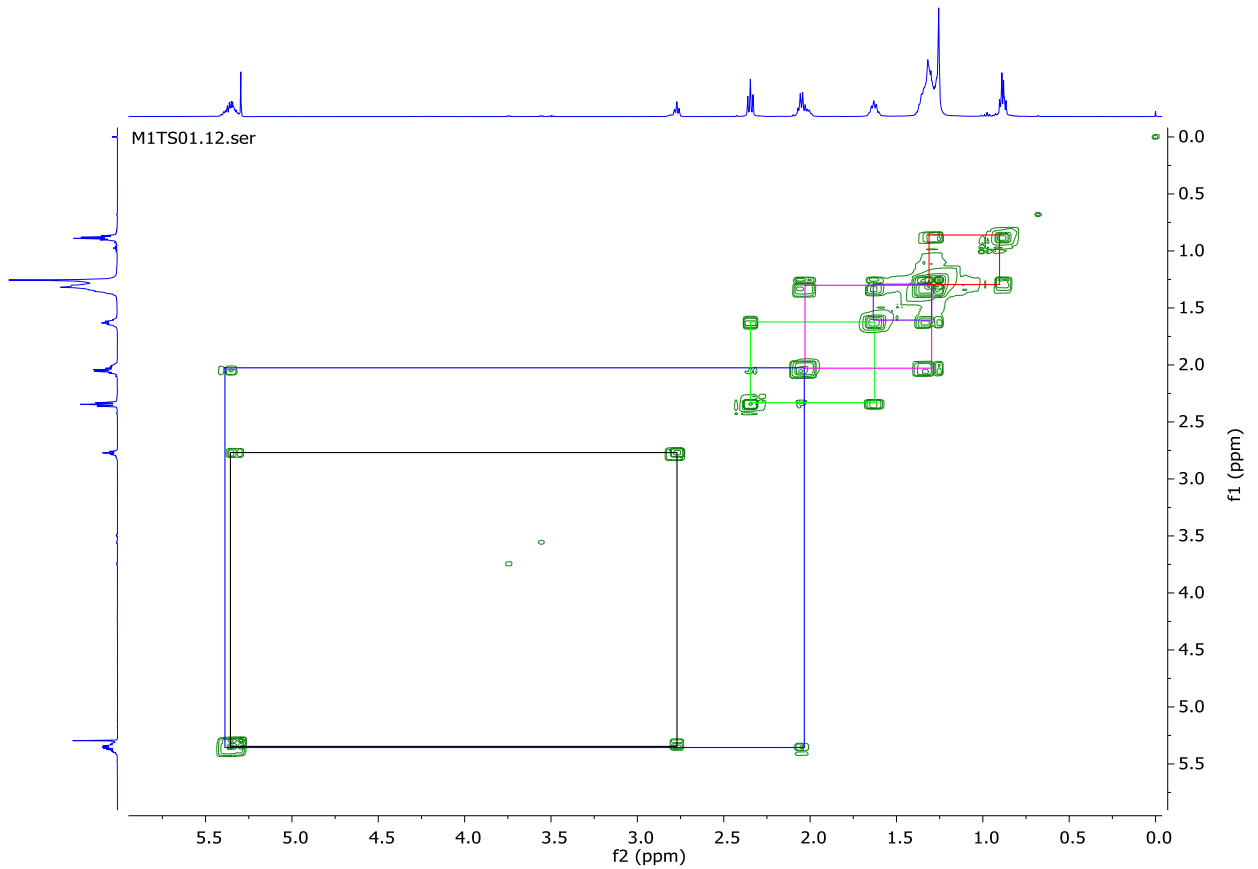
Experimento de ^1H RMN.



Experimento de ^{13}C RMN.

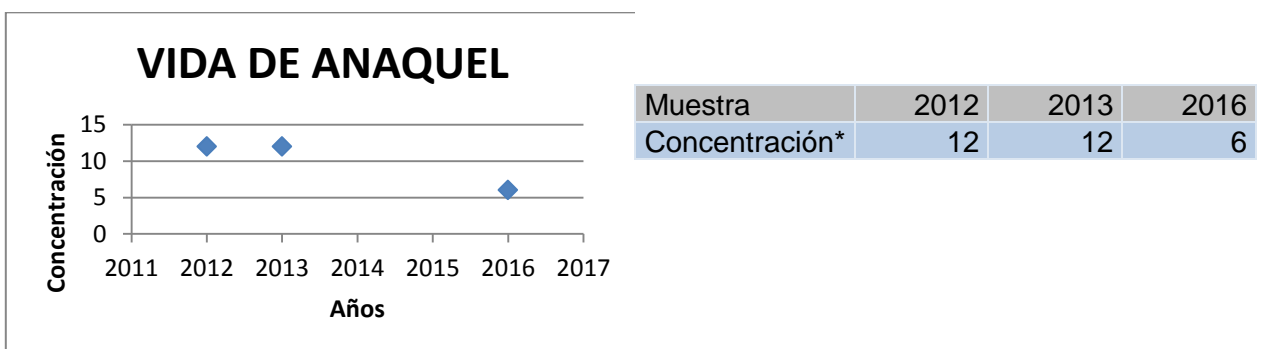


Experimento COSY.



8.7 Resultado de la vida de anaquel en los extractos aceitosos del 2012, 2013 y 2016.

8.7.1 Resultados de concentración.



* la concentración viene corregida por 10^{-4} .

El resultado muestra que para la muestra de 2012 se garantiza 4 años de vida de anaquel y de 2013 3 años de vida de anaquel, en el caso de 2016 se observó una anomalía en la baja de la concertación lo que puede indicar que la extracción no haya sido idónea pero no se observaron rasgos de descomposición.

9 Conclusiones.

Los resultados por CCF obtenidos del análisis de los extractos aceitosos de chicalote (*Argemone Mexicana*), es que los compuestos en dicha planta no surge ningún cambio, ya que se observan los mismos componentes en los extractos del *Argemone Mexicana* 2012, 2013 y 2016.

Mientras que los análisis posteriores para la vida de anaquel, los extractos de *Argemone Mexicana* presento una vida útil de cuatro años, ya que la concentración del extracto obtenido en el 2012 y 2013 no han cambiado durante este tiempo y tampoco se observaron descomposición de los compuestos, el extracto obtenido en el 2016 tiene variación muy grande en su concentración, dando una concreción de 6 corregida por 10^{-4} . Este puede deberse que al momento que extrajeron los componentes del chicalote no, se utilizó las mismas porciones.

Los resultados de resonancia muestran la presencia de amida, Base N, vinílicos, alifáticos. Dado a este resultado, los doctores especialistas dieron como nombre: **1-(1,6-dimetil-5,6,7,8-tetrahydroisoquinolin-2(1H)-il)heptan-1-one**, dicho compuesto no es soluble en agua pero si en aceite.

10 Recomendaciones

Las recomendaciones que sugiero para este proyecto, aislar los cuatro componentes orgánicos presentes en *Argemone Mexicana* y hacer pruebas biológicas con estos cuatro compuestos diferentes; así como también, hacerle pruebas de resonancia a los distintos compuestos, ya que solo se pudo identificar el compuesto que está en mayor porcentaje en el chicalote.

11 Anexos

11.1 Anexo A

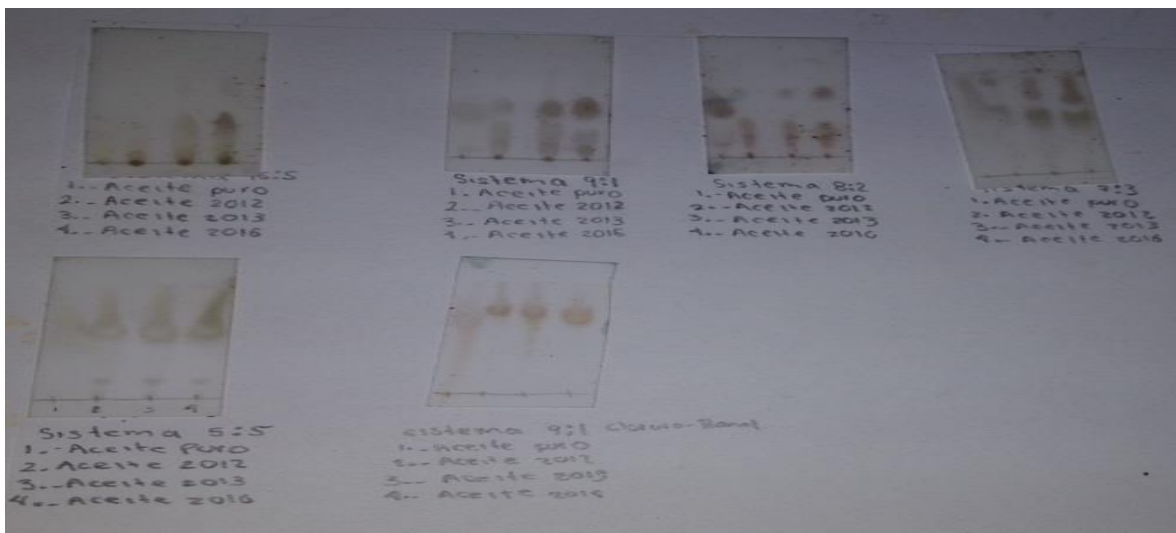


Figura 1: Resultado de los componentes de los extractos aceitosos 2012, 2013, 2016 y aceite puro en CCF.

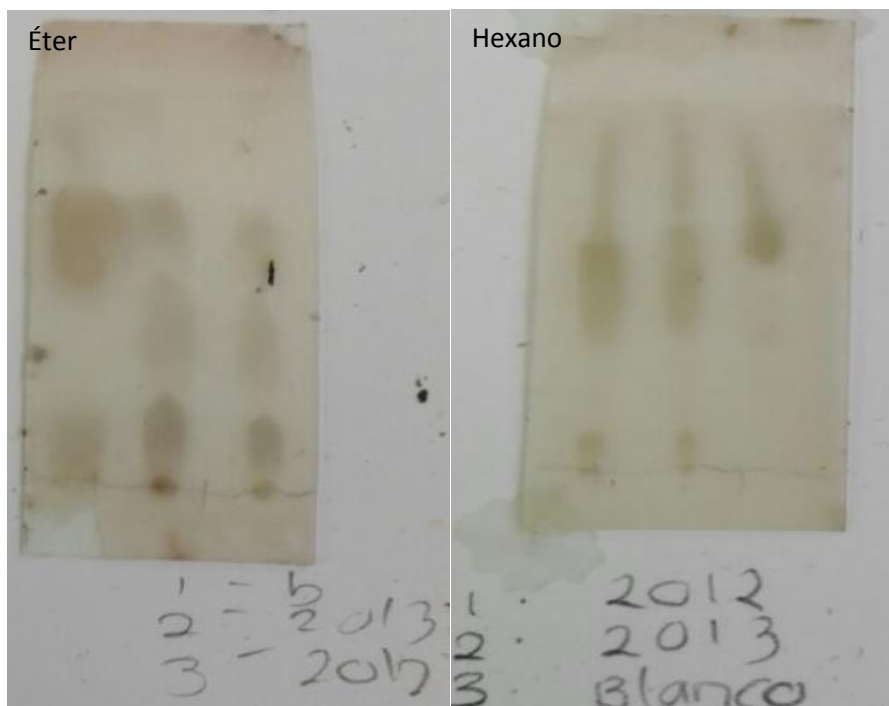


Figura 2: Resultado CCF para seleccionar el solvente para la extracción Soxhlet.

11.2 Anexo B

Figura 3: Resultado de Cromatografía en columna de Hexano



Figura 4: Resultado de Cromatografía en columna de 95:5



Figura 5: Resultado de Cromatografía en columna de 9:1

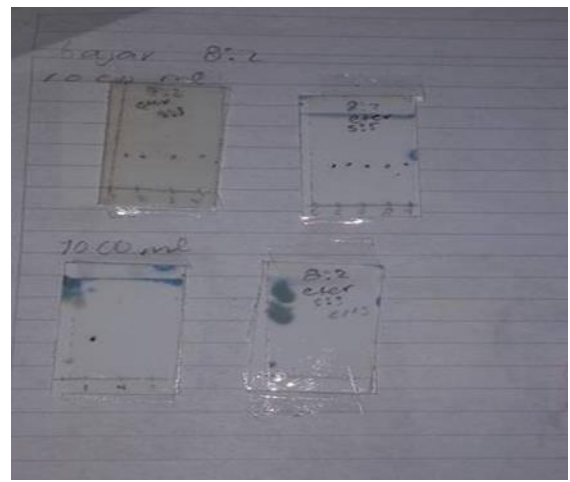


Figura 6: Resultado de Cromatografía en columna de 8:2

11.3 Anexo C

Figura 7: Resultado de solubilidad del compuesto puto en aceite y agua.



12 Fuentes de Información.

<https://www.flores.ninja/chicalote/>

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7515>

http://www.ub.edu/oblg/oblg%20castellano/extraccio_tip.html

https://rodas5.us.es/file/23a16560-123f-bec5-ec5b-44a3042a281d/2/laboratotio_quimica_organica_SCORM.zip/pagina_16.htm

<http://procesosbio.wikispaces.com/Extracci%C3%B3n+s%C3%B3lido-l%C3%ADquido>

http://www.ub.edu/oblg/oblg%20castellano/cromatografia_altres.html

<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>

<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>

<https://www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf>

http://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-experimentales/tecnicas-basicas-de-laboratorio-quimico/teoria/Extraccion_teoría.pdf

http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf

<http://quimica.laguia2000.com/general/cromatografia-en-columna>

<http://biomodel.uah.es/tecnicas/crom/inicio.htm>

<http://unrn.edu.ar/blogs/TMAI2013/files/2013/08/Extraccion-Cromatografia-Parte1.pdf>

<http://www.sinorg.uji.es/Docencia/FUNDQO/TEMA10FQO.pdf>

<file:///C:/Users/Samsung/Downloads/pdf814.PDF>