

# PRÁCTICA 6: SEPARACIÓN DE FASES

## INTRODUCCIÓN

El valor de la máxima solubilidad de una sustancia en un determinado disolvente recibe el nombre de concentración de saturación y tiene un valor límite en unas condiciones de temperatura y presión dadas. Por tanto, siempre que estemos **en condiciones de equilibrio**, cualquier proceso que tienda a aumentar la concentración de una disolución saturada (de sólido en líquido) provocará la aparición del exceso de sólido.

Si el sólido se forma de un modo rápido, desordenado, en muchos puntos simultáneamente (núcleos de cristalización), y las partículas son, en consecuencia, de tamaño muy pequeño, hablaremos de un **proceso de precipitación**. Si, por el contrario, el sólido se forma de un modo lento, ordenado, en pocos núcleos, con la aparición de partículas poliédricas de tamaño apreciable (a veces a simple vista) de morfología característica (cristales) hablaremos de un **proceso de cristalización**. La diferencia de matiz entre uno y otro proceso está en la velocidad con la que se lleven a cabo y en el grado de control que se ejerza sobre las variables que en él intervenga, más que en el grado de cristalinidad de las muestras obtenidas. Así, aunque la morfología altamente simétrica de un cristal sea una manifestación del orden interno (estructura) del mismo, lo contrario no es siempre cierto, y bien puede suceder que un sólido precipitado no sea amorfo sino cristalino, y sean las condiciones de formación las que hayan determinado la aparición de muchos microcristales en lugar de unos pocos macrocristales (cristales únicos).

Otra diferencia de matiz importante es que la precipitación se limita a la formación en medio acuoso de sólidos iónicos (electrolitos) poco solubles mediante alguna reacción química, mientras que la cristalización puede referirse a una más amplia gama de solutos (iónicos, covalentes, etc.), de disolventes (polares, apolares, etc., ) y de procesos (físicos o químicos).

Por último, ambos procesos son utilizados en química como métodos de purificación de sólidos, necesitando ambos de técnicas de separación de la fase líquida (aguas madres) tales como la decantación, filtración o centrifugación que comentamos brevemente más adelante.

Una reacción de precipitación es aquella en la cual se produce la formación de una fase sólida en el seno de una disolución, de un modo normalmente tan rápido que no puedan formarse cristales únicos. Por ejemplo, al mezclar una disolución de nitrato de mercurio (I) con otra de ácido clorhídrico, se forma un nuevo compuesto, cloruro de mercurio(I), que se separa del seno de la disolución bajo la forma de polvo blanco.

Las reacciones de precipitación se utilizan a menudo con alguno de los siguientes fines:

- Separación
- Identificación (análisis cualitativo)
- Determinación (análisis cuantitativo)

Las sales (sulfuros, haluros, carbonatos, sulfatos, etc.) y los hidróxidos metálicos son los tipos de compuestos inorgánicos entre los que se encuentra un mayor número de sustancias poco solubles, aunque los límites de solubilidad son muy amplios y no es fácil encontrar reglas generales debido a ser muy numerosos los factores que intervienen. En general podemos decir que cuando las interacciones soluto-disolvente son mayores y del mismo tipo que las del soluto-soluto, la solubilidad se ve favorecida. El ejemplo típico es el caso de compuestos iónicos disueltos en disolventes polares, o compuestos orgánicos en disolventes apolares. En los compuestos iónicos, la solubilidad es mayor cuánto menores son los iones producidos y mayor es su carga. Esto es así porque para estos iones es más fácil formar esferas de hidratación en disolventes polares atrayendo moléculas de agua.

## **TÉCNICAS DE SEPARACIÓN DE SÓLIDOS: DECANTACIÓN, FILTRACIÓN Y CENTRIFUGACIÓN.**

### **Decantación.**

Esta técnica de separación de un sólido del seno de la disolución en que se ha formado, la más sencilla de todas, consiste en el vertido cuidadoso de un líquido sobrenadante. Como paso previo es necesario dejar reposar la mezcla hasta que el precipitado se separe de una forma nítida en el fondo del recipiente, quedando transparentes las aguas madres. Conviene realizarla en un recipiente que facilite el vertido (por ejemplo en un vaso de precipitados) y en una etapa que, realizada previamente a otras técnicas más finas como la filtración, supone un ahorro considerable de tiempo en la purificación de sustancias insolubles.

### **Filtración.**

Consiste en hacer pasar la mezcla (líquido y sólido) a través de un tamiz, cuyos orificios sean más pequeños que las partículas a separar. Normalmente se utiliza papel de filtro, aunque si las aguas madres atascasen el papel (caso por ejemplo de los ácidos fuertes concentrados o de las sustancias muy oxidantes) se deberán emplear placas filtrantes de otro material (por ejemplo vidrio poroso).

Para la técnica de filtración mediante papel de filtro, que debe ser colocado en un embudo de vidrio, el papel se dobla en cuatro recortándolo en forma de cuadrante de círculo, de modo que pueda formarse un cono que se adapte al embudo. El borde del papel debe quedar aproximadamente a 1cm por debajo del borde del embudo. Si se requiere mayor rapidez en la filtración, doblando adecuadamente el papel, se utilizará un filtro de pliegues o bien se filtrará a vacío.

Para la filtración a vacío se utilizará un embudo Büchner en lugar de un embudo corriente. Este embudo irá acoplado a un kitasato (Erlenmeyer provisto de acomodamiento lateral) mediante unos conos de goma o tapón adecuado, y el kitasato irá unido a una trompa de agua que provocará la succión por vacío (efecto Venturi). Sobre el fondo del Büchner se coloca el papel de filtro cortado a la medida exacta, se vierte la mezcla a separar y se abre la trompa.

### **Centrifugación.**

En esta técnica de separación de sólidos y líquidos se emplea la fuerza centrífuga de un sistema (mecánico o eléctrico) que hace girar la muestra a gran velocidad (de unas 2000 a unas 80000 rpm), lo que acelera la separación de fases con respecto a las otras técnicas en que sólo se emplea la fuerza gravitatoria. Los tubos empleados son de un diseño especial, con el fondo cónico y, dada su fragilidad, van colocados en unos soportes metálicos. Es muy importante, para evitar vibraciones debidas a descompensaciones en el peso, llenar todos los tubos de la centrífuga (incluso los que no se utilicen para la separación) con pesos aproximadamente iguales.

## **SEPARACIÓN DE LÍQUIDOS INMISCIBLES**

Dos o más líquidos inmiscibles se pueden separar en orden a sus diferentes densidades. El más denso ocupará el fondo del recipiente, mientras que el más ligero ocupará la zona superior, esta separación se realiza con los llamados embudos de separación.

### **Utilización del embudo de separación**

El tapón y la llave, que deben estar bien ajustados, se lubrican con una grasa adecuada antes de cada uso. El embudo de decantación debe manejarse con ambas manos; con una se sujeta el tapón asegurándolo con el dedo índice o con la palma de la mano y con la otra se manipula la llave. Se invierte el embudo y se elimina la presión de su interior; se agita con suavidad durante uno o dos segundos y se abre de nuevo la llave. Cuando deja de aumentar perceptiblemente la presión en el interior, se aseguran tapón y llave y se agita enérgicamente durante uno o dos minutos. Se pone de nuevo en contacto con la atmósfera a través de la llave, se vuelve a cerrar ésta y se apoya, ya en posición normal, en un aro metálico con unos trozos de tubo de goma que lo protegen de las roturas.

Se destapa y se deja en reposo hasta que sea nítida la separación entre las dos capas del líquido. En la parte inferior debe tenerse siempre un vaso de precipitados de gran tamaño

con objeto de poder recoger todo el líquido en caso de que el embudo se rompiese por accidente.

Si la fase que nos interesa separar es la superior, entonces se abre la llave y se deja caer toda la fase inferior y parte de la superior. Se desecha lo recogido y a continuación se deja caer el resto del contenido del embudo. Si la fase que nos interesa es la inferior, entonces se abre la llave y se cierra bastante antes de que empiece a caer la fase superior. De esta forma se evitan contaminaciones entre ambas fases.



Embudos de decantación

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Separación de clorofila y xantofila por extracción.

Proceder a la extracción de clorofila con una mezcla de acetona/agua conforme al procedimiento especificado en el Apéndice II. Se toman alrededor de 10 ml de esta disolución y se guardan en un frasco topacio para su posterior uso. Llamaremos a esta disolución MUESTRA A.

A continuación mezclar el resto del contenido resultante de la extracción con acetona, con 15 ml de benceno en un embudo de decantación (**ATENCIÓN:** no utilizar el embudo hasta no consultar con el profesor). Agitar y dejar que se separen la fase acetónica que contiene la clorofila de la fase bencénica que contiene la xantofila y resto de compuestos (carotenoides, fenoles, etc...). Para separar la clorofila se abre el grifo del embudo y se vierte toda la fase bencénica y parte de la mezcla acetónica en un vaso de precipitados. La disolución que contiene clorofila se vierte finalmente en un vaso aparte y se guarda. Esta será la MUESTRA B.

Una vez se tengan ambas muestras, medir las absorbancias (consultar el guión de la práctica 7 de espectrofotometría) de ambas muestras a las longitudes de onda especificadas en la siguiente tabla:

	$\lambda = 350 \text{ nm}$	$\lambda = 400 \text{ nm}$	$\lambda = 440 \text{ nm}$
Muestra A			
Muestra B			

Discutir a partir de los datos obtenidos, y conforme al espectro conocido de la clorofila, el proceso de separación entre la clorofila y el resto de los componentes que acompañan a ésta (xantofilas, carotenoides, etc...) en su proceso de extracción a partir de las hojas.

## 2. Efecto de la temperatura sobre la solubilidad.

A 2 ml de disolución de nitrato de plomo 0.1 M (medidos con una probeta) en un tubo de ensayo se le añaden dos gotas de ácido clorhídrico 2 M. Observar la formación de un precipitado blanco de cloruro de plomo. Disolver el precipitado calentando el tubo de ensayo con el mechero. (**ATENCIÓN:** para evitar proyecciones, no realizar esta operación hasta recibir instrucciones). A esta disolución se le añaden tres gotas de yoduro de potasio y se observa la formación de un precipitado amarillo de yoduro de plomo. Separar el precipitado del líquido por centrifugación. (**ATENCIÓN:** NO abrir la centrífuga cuando esté en marcha bajo ninguna circunstancia.)

2.1 Escribir las reacciones que tienen lugar.

2.2 ¿Por qué precipita el yoduro de plomo en caliente cuando el cloruro de plomo permanecía disuelto? Explicar las diferencias de solubilidad.

Eliminar todos los residuos echándolos a la cubeta de halogenados.

## 3. Obtención, precipitación y filtrado de un complejo de $\text{Cu}^{2+}$ .

En un vaso de precipitado de 100 ml disolver 0.5 g de  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$  en 10 ml de agua (calcular la molaridad). En una probeta de 10 ml medir 3 ml de dicha disolución y ponerla en un vaso de precipitados de 50 ml. Añadir 7 ml de amoníaco ( $\approx 1\%$  en volumen) a ese mismo vaso. Se observará un cambio brusco de color debido a la formación del complejo amoniacal,  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})_2^{2+}$ . Este complejo se precipitará añadiendo 10 ml de metanol. Filtrar el precipitado utilizando para ello el embudo Büchner y el kitasato.

3.1 Escribir las reacciones que han tenido lugar

3.2 Explica de forma sencilla el cambio de color del complejo de cobre

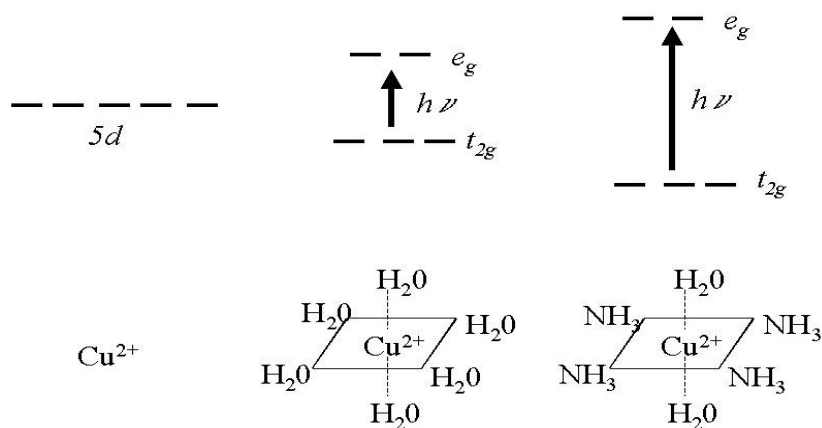
Eliminar los residuos echándolos a la cubeta de metales.

## APÉNDICE I: LOS COLORES DE LAS DISOLUCIONES DE METALES DE TRANSICIÓN

Los orbitales  $d$  de los metales de transición o de sus iones tienen la misma energía, esto es, son degenerados. Sin embargo, cuando se forman complejos de este tipo de metales, los electrones de estos orbitales interactúan con los electrones de las moléculas que se unen al metal (los ligandos), de tal manera que esa degeneración se rompe. La forma en que esto se produce depende de los ligandos y de la geometría del complejo resultante. Entonces es posible que un electrón de uno de los nuevos orbitales  $d$  de energía más baja se promueva a otro nivel  $d$  de energía más alta mediante la absorción de un fotón de la longitud de onda adecuada, que a veces puede ser de luz visible.

La luz visible es la combinación de todos los colores del espectro. Es lo que percibimos cuando todos ellos son transmitidos. Sin embargo, cuando alguna de las frecuencias es absorbida, lo que vemos es una combinación de los colores que nos llegan. Por ejemplo, si del espectro completo de colores: rojo, amarillo, naranja, verde, azul y violeta, una disolución absorbe todos menos el verde, veremos esa disolución verde, pero también la veremos así si los que absorbe son solo el rojo, el naranja y el violeta. La causa es que la combinación de los restantes también se percibe como verde.

La disolución de los complejos acuosos de  $\text{Cu(II)}$  tienen sus bandas de absorción en la zona roja-naranja-amarilla, luego lo que se transmite está en la zona verde-azul-violeta y la disolución es azul. Como la energía de la radiación electromagnética depende de su longitud de onda, los niveles entre los que se efectúa la transición están poco espaciados (se absorbe de la zona roja). Sin embargo, el cambio de ligandos puede alterar este estado de cosas y cambiar el color de la disolución resultante, como se indica en la siguiente figura.



## APÉNDICE II: EXTRACCIÓN DE LA CLOROFILA

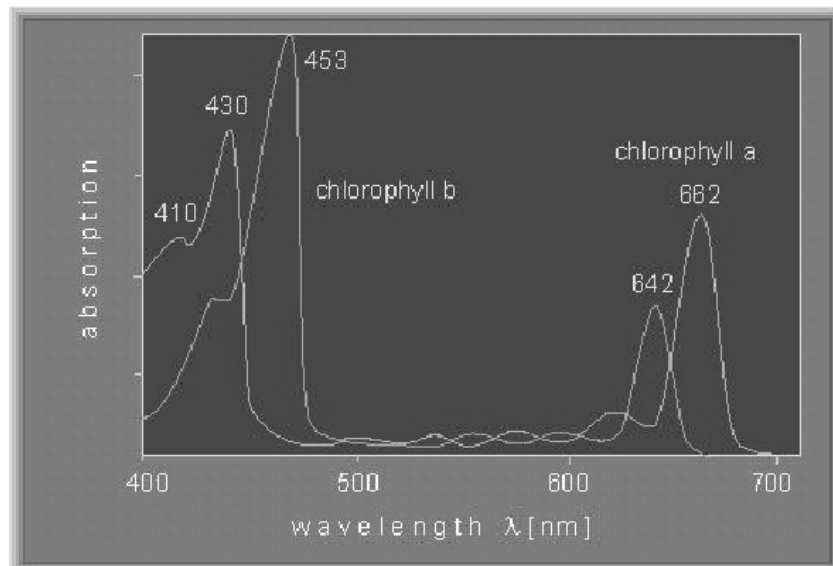
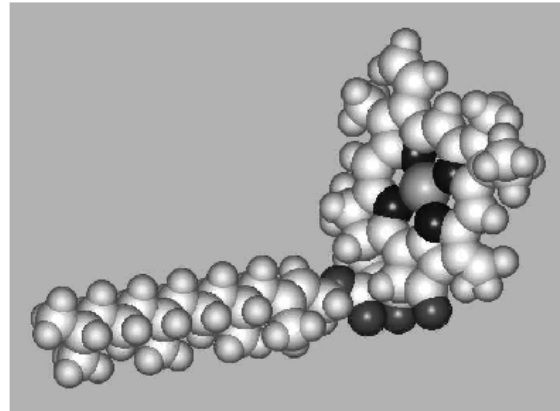
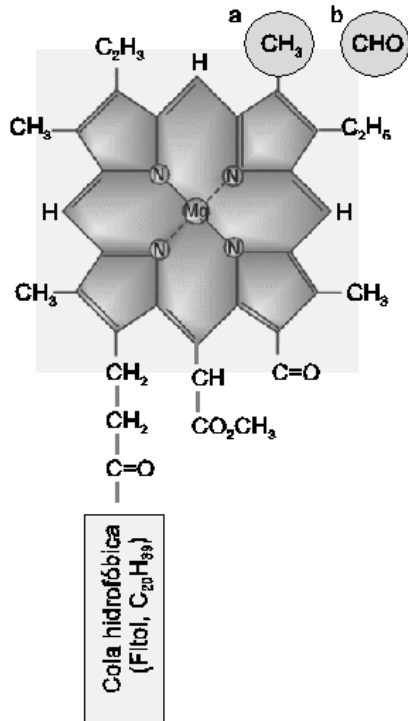
Para extraer clorofila a partir de hojas verdes se procede de la siguiente manera:

1. Se preparan 50 ml de una mezcla de acetona al 80% con agua destilada.
2. Las hojas se cortan en trozos pequeños y a continuación se pesan en la balanza de precisión hasta conseguir un total de 0.1 gramos de muestra.
3. La cantidad pesada se trasvasa a un mortero de vidrio y se añade un poco de la acetona al 80%. Las hojas se trituran entonces en presencia de la acetona hasta comprobar que el líquido va adoptando una coloración verde.
4. La disolución obtenida se filtra y se recoge en un matraz de 25 ml. Se vuelve a adicionar acetona a las hojas en el mortero, se continúa su trituración, se filtra de nuevo y se recoge el líquido en el mismo matraz. Esta operación se repite tres o cuatro veces hasta observar que las hojas han perdido por completo su color verde, quedando amarillas o pardas.
5. Se enrasa la disolución del matraz hasta 25 ml con la disolución de acetona al 80%

## APÉNDICE III: ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA CLOROFILA

La clorofila absorbe la energía solar necesaria para iniciar el ciclo fotosintético de muchas plantas y bacterias. La principal propiedad físicoquímica responsable de este hecho es la elevada absorbancia que presenta la clorofila en el intervalo de longitudes de onda entre 400 nm y 700 nm (ver la figura más abajo). La molécula de clorofila puede absorber un fotón de estas longitudes de onda al excitar un electrón de los que ocupan los orbitales moleculares que forman los dobles enlaces conjugados C=C y C=N de la estructura central que rodea al átomo de magnesio. Existen dos tipos principales de clorofila, la clorofila a y la clorofila b, que se diferencian por la presencia de un grupo CH<sub>3</sub> o CHO, respectivamente, en uno de los anillos C<sub>4</sub>N (ver figura). La presencia de este grupo funcional altera ligeramente la estructura y energía de los dobles enlaces conjugados, dando lugar a espectros de absorción distintos para cada tipo de clorofila. Así, la clorofila a en disolución alcohólica presenta máximos de absorción en 430 nm y 662 nm, mientras que la clorofila b los presenta en 453 nm y 642 nm (ver figura). La posición exacta de estos máximos depende del disolvente que se utilice. Nosotros trabajaremos con acetona al 80%, por lo que es de esperar que los máximos de absorción estén sólo unos pocos nanómetros desplazados respecto de estos valores.

## Clorofila a y b Estructura y Espectro de absorción



# PRÁCTICA 7: ESPECTROFOTOMETRÍA

## INTRODUCCIÓN

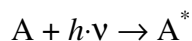
La Espectrofotometría es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). Los fundamentos físico-químicos de la espectrofotometría son relativamente sencillos.

Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Esto permite que se inicien ciclos vitales de muchos organismos, entre ellos el de la fotosíntesis en plantas y bacterias. La Mecánica Cuántica nos dice que la luz está compuesta de fotones cada uno de los cuáles tiene una energía:

$$E_{\text{fotón}} = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda ,$$

donde  $c$  es la velocidad de la luz,  $\nu$  es su frecuencia,  $\lambda$  su longitud de onda y  $h = 6.6 \cdot 10^{-34}$  J·s es la constante de Planck. Cuando decimos que una sustancia química absorbe luz de longitud de onda  $\lambda$ , esto significa que las moléculas de esa sustancia absorben *fotones* de esa longitud de onda.

En esta práctica estudiaremos la absorción de luz en el ultravioleta cercano ( $\lambda \approx 325$ - $420$  nm) y en el visible ( $\lambda \approx 420$ - $700$  nm). Cuando una molécula absorbe un fotón en este intervalo espectral, se excita pasando un electrón de un orbital del estado fundamental a un orbital excitado de energía superior. De esta manera la molécula almacena la energía del fotón:

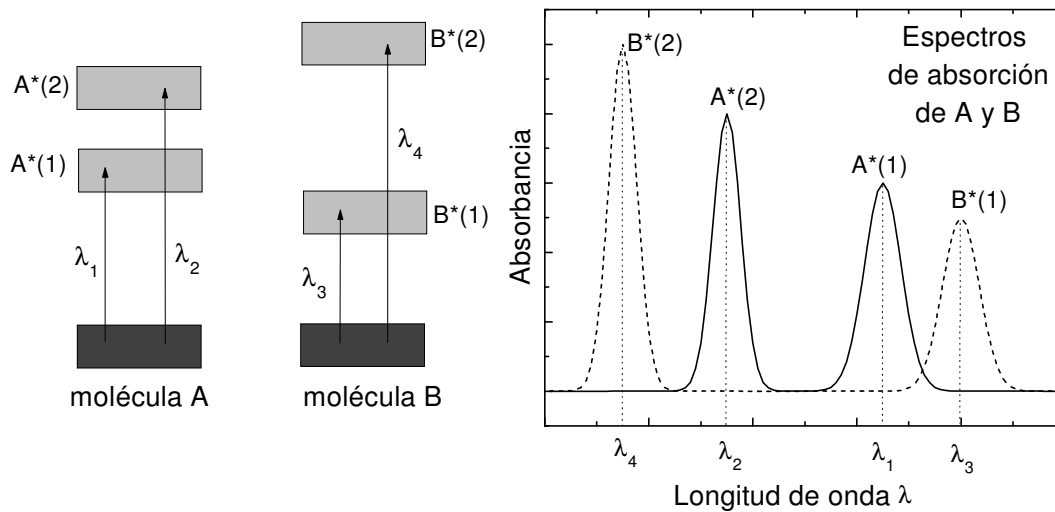


$$E(A^*) = E(A) + E_{\text{fotón}}$$

Como la energía se conserva, la diferencia de energía entre el estado fundamental de la molécula (A) y su estado excitado ( $A^*$ ) debe ser exactamente igual a la energía del fotón.

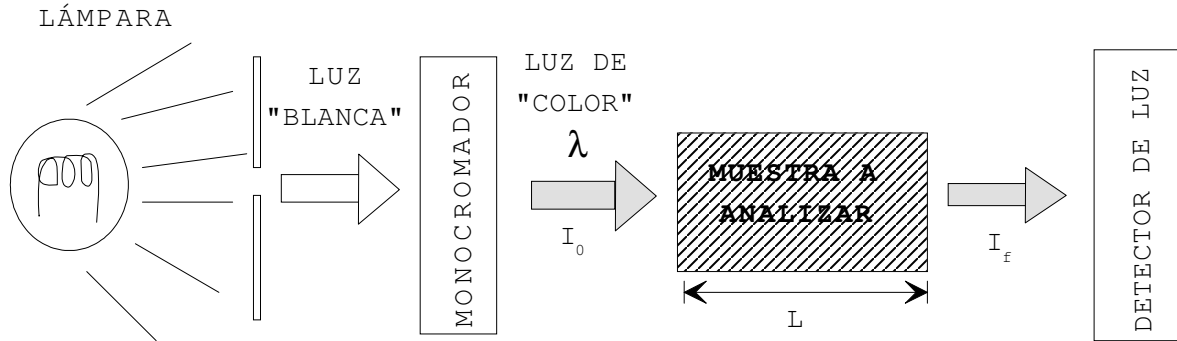
Es decir, una molécula sólo puede absorber fotones cuya energía  $h \cdot \nu$  sea igual a la energía de un estado molecular excitado. Cada molécula tiene una serie de estados excitados discretos (o bandas) que dependen de su estructura electrónica y que la distinguen del resto de moléculas. Como consecuencia, el **espectro de absorción**, es decir, la luz absorbida en función de la longitud de onda, constituye una verdadera señal de identidad de cada sustancia o molécula.

En esta práctica, intentaremos detectar las dos variedades de la clorofila A y B midiendo su espectro de ultravioleta/visible. Cuando dos o más sustancias aparecen mezcladas en una misma muestra sus espectros de absorción aparecen superpuestos tal como se representa en la siguiente figura:



Los espectros de absorción se miden mediante un instrumento denominado espectrómetro. Los instrumentos que vamos a usar en esta práctica constan de una fuente de luz "blanca" caracterizada por un espectro de emisión continuo en un intervalo amplio de longitudes de onda (en nuestro caso 350 nm-900 nm) y de un monocromador que actúa como filtro óptico transmitiendo un haz de luz de longitud de onda fija  $\lambda$  e intensidad  $I_0$ . Este haz de luz penetra en la cubeta de análisis donde se encuentra la muestra. Un detector sensible a la luz mide la intensidad del haz a la salida  $I_f$ .

## COMPONENTES DEL ESPECTROFOTÓMETRO



La intensidad del haz de luz se va atenuando a medida que atraviesa la cubeta debido a la absorción de las moléculas de la muestra. El ritmo de absorción depende de la intensidad inicial de luz y de la concentración de moléculas. De esta manera, cuando un haz de luz de intensidad  $I$  recorre una distancia  $dL$  en una muestra con una concentración de moléculas  $[B]$ , se produce una atenuación de intensidad  $dI$  dada por:

$$dI = -k \cdot [B] \cdot I \cdot dL$$

La constante  $k$  se denomina coeficiente de absortividad molar. La expresión anterior se puede integrar de la siguiente forma:

$$\frac{dI}{I} = -k \cdot [B] \cdot dL \Rightarrow \int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = -k \cdot [B] \cdot \int_0^L dL \Rightarrow \ln \frac{I_f}{I_0} = -k \cdot [B] \cdot L \quad ,$$

lo cual da lugar a la **ley de Beer-Lambert**<sup>1</sup> para la absorción que relaciona la intensidad a la salida e la muestra  $I_f$ , con la intensidad inicial  $I_0$ , la concentración de moléculas y la distancia recorrida por la luz en la muestra,  $L$ :

$$I_f = I_0 \cdot e^{-k \cdot [B] \cdot L}$$

El espectrofotómetro, en lugar de la intensidad, mide la **absorbancia  $A$**  que se define por:

$$A \equiv \ln \frac{I_0}{I_f} = k \cdot [B] \cdot L$$

<sup>1</sup> En realidad, la ley de Beer-Lambert se define con una potencia de 10, en lugar de una exponencial. Para corregir este hecho basta recordar que  $\ln x = (\ln 10) \log x$ . El coeficiente de absorción molar sería en rigor  $\epsilon = k / \ln 10$ .

La utilización de la absorbancia al realizar los espectros tiene la ventaja de ser directamente proporcional a la concentración de moléculas en la muestra.

## PARTE EXPERIMENTAL

### ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL ANIÓN DICROMATO Y DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES

El cromo es un contaminante producido por la actividad humana. Su presencia en forma oxidada en el agua de ríos o humedales tiene efectos perjudiciales para la fauna y la flora. La práctica que vamos a hacer consiste en la determinación de la concentración de dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) en una muestra problema (que podría tomarse como una muestra de agua de un río que se quiere analizar). Para ello realizaremos los siguientes experimentos:

- Mediremos el espectro de absorción del anión dicromato y localizaremos su máximo de absorción.
- Nos situaremos en dicho máximo y mediremos la absorbancia de 4 disoluciones de concentración conocida de dicromato preparadas por nosotros. Esto nos proporcionará una recta de calibrado.
- Mediremos la absorbancia de la muestra problema y determinaremos su concentración a partir de la recta de calibrado.

Comenzamos preparando las 4 disoluciones de dicromato utilizando siempre pipetas y matraces aforados y la balanza de precisión. Se partirá de una disolución trabajo previamente preparada de concentración 0.25 g/l de dicromato potásico ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $P_m = 294.2$  g/mol). Cada pareja utilizará esta disolución concentrada para preparar las siguientes 4 disoluciones más diluidas que serán las que usaremos en el espectrofotómetro:

Disolución 1: diluir 1 ml de concentrada con agua en un matraz aforado de 25 ml.

Disolución 2: idem, 2 ml de concentrada.

Disolución 3: idem, 3 ml de concentrada.

Disolución 4: idem, 5 ml de concentrada.

Calcular la molaridad de todas las disoluciones, incluida la concentrada.

Con la disolución 4, mediremos el espectro de absorción del dicromato de 325 a 505 nm, realizando primero un blanco con agua pura (consultar con el profesor). A continuación introducimos una cubeta con la disolución 4 (la más concentrada) y medimos la absorbancia en el intervalo de longitudes de onda fijado tomando valores cada 20 nm. Repetiremos la operación de manera más fina en la región donde hayamos observado una mayor absorbancia, esta vez tomando valores cada 10 nm. Establecer, a partir de esta medida, dónde se encuentra el máximo de absorción del ión dicromato. Anotar entonces el valor de absorbancia para esa longitud de onda de la Disolución 4.

Repetir la medida, a la misma longitud de onda (máximo de absorción del dicromato) para las disoluciones 3, 2 1 y de una mezcla problema de concentración desconocida. Anotar los correspondientes valores de absorbancia frente a concentración para hacer una recta de calibrado.

Procedemos a realizar el análisis de datos:

- 1) Representamos gráficamente el espectro de absorción del dicromato (absorbancia frente a longitud de onda).
- 2) Representamos la absorbancia en el máximo de las Disoluciones 1-4 frente a la molaridad y ajustamos los 4 puntos a una recta por el método de mínimos cuadrados. A partir de la regresión lineal obtenida, determinar: a) El coeficiente de absorción molar  $k$  del anión dicromato; b) la concentración de la muestra problema.