

LABORATORIO DE BIOLOGÍA

GUÍA # 2

RECONOCIMIENTO DE BIOMOLÉCULAS ORGÁNICAS

1. OBEJTIVOS

1. Reconocer las moléculas esenciales para la vida, los grupos funcionales que las componen y sus características.
2. Determinar cualitativamente los carbohidratos presentes en muestras biológicas.
3. Identificar grasas en muestras biológicas.
4. Reconocer cualitativamente las proteínas presentes en muestras biológicas.

2. MATERIALES Y REACTIVOS

Materiales	Reactivos	Equipos
<ul style="list-style-type: none"> - Tubos de ensayo pequeños (40 de 10-15 ml de capacidad) - Gradillas (6). - Pinzas para tubos de ensayo. - Vasos de precipitado (de 50 y 200 ml) - Mortero de porcelana (6). - Bisturí y cuchillas. - Toallas de papel. - Goteros. - Pipetas de plástico. 	<ul style="list-style-type: none"> - Reactivo de Benedict. - Lugol - Reactivo de Biuret. - Reactivo de Sudan. - Sol de glucosa al 20%. - De los estudiantes (por grupo): - Una papa, un sobre de gelatina sin sabor, un huevo de gallina, una pera, aceite o mantequilla (10-15 ml o 5 gr. aproximadamente) 	<ul style="list-style-type: none"> - Plancha de calentamiento

3. FUNDAMENTO TEÓRICO

Los organismos se distinguen de la materia inanimada por estar compuestos de moléculas orgánicas, que incluyen carbohidratos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos. Estas moléculas son orgánicas porque están compuestas en gran medida por átomos de carbono. Los átomos de carbono pueden formar una gran diversidad de moléculas porque pueden enlazarse con hasta cuatro elementos para formar el esqueleto de las moléculas orgánicas. Además de carbono, las moléculas orgánicas contienen varios o todos estos elementos: hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo. Sin embargo, las moléculas orgánicas son algo mas que estructuras de átomos de Carbono. Al esqueleto de carbono se unen átomos o grupos de átomos, llamados grupos funcionales, los cuales determinan las características y la reactividad química de las moléculas.

CARBOHIDRATOS:

Los carbohidratos son componentes estructurales importantes de las células y son además una forma importante de almacenar energía. Estas moléculas usualmente contienen carbono, hidrógeno y oxígeno en una proporción de 1:2:1. Los carbohidratos se clasifican como monosacáridos (una sola molécula de azúcar), disacáridos (dos monosacáridos) o polisacáridos (dos o más disacáridos), dependiendo del tamaño y la complejidad de la molécula.

Los carbohidratos incluyen azúcares, almidones, quitina y celulosa. Los azúcares sirven temporalmente para almacenar energía y construir otras moléculas. Los almidones y el glucógeno son polisacáridos que sirven para almacenar energía a plazo más largo en plantas y animales, respectivamente. La celulosa forma las paredes celulares de las plantas y la quitina fortalece las cubiertas externas duras (exoesqueleto) de muchos invertebrados y varios tipos de hongos. Otras clases de polisacáridos forman las paredes celulares de las bacterias.

- **Reactivo de Benedict:** Muchos monosacáridos, como la glucosa y la fructosa, y algunos disacáridos, se conocen como azúcares reductores porque poseen un aldehído libre (no enlazado a los otros grupos en la molécula). La Prueba de Benedict se usa para detectar la presencia de azúcares reductores porque el reactivo de Benedict contiene cobre y éste se reduce en presencia de azúcares reductores. Durante esta reacción el azúcar se oxida. La reacción antes mencionada se conoce como una reacción oxidación-reducción ("REDOX") porque la oxidación del azúcar sucede simultáneamente con la reacción de reducción del cobre.

Cuando se añade el reactivo de Benedict al azúcar reductor, y se aplica calor, el color de la mezcla cambia a naranja o ladrillo intenso mientras mayor sea la abundancia de azúcares reductores. Un cambio a color verde indica la presencia de menos azúcares reductores. Las azúcares que no reducen, como la sacarosa, no producen cambios en color y la solución se mantiene azul.

- **Prueba de Yodo:** El fundamento de esta técnica se basa en la especificidad del almidón (polímero de glucosa) cuando esta presente en solución, la cual da un color azul en presencia del Yodo. El yodo presenta: yoduro de potasio y yodo bisublimado, mas agua (solución de Lugol). El yodo de la solución tiene afinidad por los enlaces α 1-4 y α 1-6 de la moléculas de almidón, esta interacción del yodo por dichos enlaces producen el cambio de coloración.

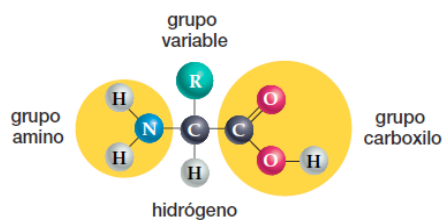
LÍPIDOS:

Los lípidos, igual que los carbohidratos, son una fuente importante de energía almacenada. Los lípidos son componentes importantes de las membranas celulares, de algunas vitaminas, de ciertas hormonas y del colesterol. Los lípidos son solubles en solventes no-polares y son muy poco solubles en agua porque se componen principalmente de cadenas de hidrocarburos.

- **Prueba de Sudán:** Detecta las cadenas de hidrocarburos. El reactivo de Sudán produce una reacción hidrofóbica donde los grupos no-polares (los hidrocarburos) se agrupan y son rodeados por moléculas del reactivo. La prueba de Sudán tiñe los hidrocarburos o lípidos de rojo.

PROTEÍNAS:

Las proteínas son moléculas compuestas por una o más cadenas de aminoácidos. Las proteínas desempeñan muchas funciones; esta diversidad de funciones es posible gracias a la variedad de estructuras proteínicas. Las células contienen cientos de enzimas diferentes, que son proteínas importantes que dirigen casi todas las reacciones químicas que se dan en la célula. Otros tipos de proteínas se utilizan para fines estructurales, como la elastina, que da elasticidad a la piel; la queratina, que es la principal proteína de las uñas, el pelo, las plumas y los cuernos de los animales; y la seda de las telarañas y los capullos de los gusanos de seda. Incluso otras proteínas brindan una fuente de aminoácidos para el desarrollo de animales jóvenes como la albúmina de la clara de huevo y la caseína de la leche. La hemoglobina transporta el oxígeno en la sangre; mientras que las proteínas contráctiles en los músculos permiten el movimiento tanto de células individuales como del cuerpo completo de los animales. Algunas hormonas, como la insulina y la hormona del crecimiento, son proteínas; los anticuerpos (que ayudan a combatir enfermedades e infecciones), y muchos venenos (como el de la serpiente de cascabel) producidos por animales también son proteínas.



Estructura de un aminoácido

1. **Prueba de Biuret:** El reactivo de Biuret se compone de hidróxido de sodio y sulfato de cobre. El grupo amino de las proteínas reacciona con los iones de cobre del reactivo de Biuret y el reactivo cambia de azul a violeta. Este cambio de color se considera resultado positivo para proteínas.

El propósito de esta práctica es familiarizarse con algunas de las pruebas que se utilizan para detectar moléculas orgánicas según sus propiedades únicas. Por lo general, se puede determinar la clase de molécula orgánica añadiendo un reactivo que reacciona con un grupo funcional particular. Si el grupo funcional está presente, el reactivo formará un color específico. De lo contrario, no habrá cambio de color. Esto es un ejemplo de una prueba colorimétrica.

Las pruebas que detectan la presencia de moléculas orgánicas son pruebas cualitativas, mientras que las pruebas que permiten determinar la cantidad de una molécula orgánica son pruebas cuantitativas. Las pruebas colorimétricas pueden ser cuantitativas si la intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de sustancia orgánica.

4. PROCEDIMIENTO

PRECAUCIONES:

- Cuidado al trabajar con los mecheros.
- No llene demasiado el baño de agua.
- Use pinzas para sostener los tubos de ensayo; el contenido estará muy caliente.
- El reactivo de Benedict y de Biuret son cáusticos y puede causar quemaduras.
- Manipule con cuidado los reactivos, se pueden manchar fácilmente la ropa, mesones, manos, etc.
- Al finalizar la práctica deje limpios los materiales y mesones.

a. DETECCIÓN DE CARBOHIDRATOS

Prueba de Benedict

1. Pele y triture un fragmento de papa, haga lo mismo con la pera. Trate de extraer el zumo.
2. Marque 4 tubos de ensayo con los números de 1 a 4.
3. Adicionar así:
 - Tubo 1: 3 ml de agua
 - Tubo 2: 3 ml de papa
 - Tubo 3: 3 ml Jugo de pera
 - Tubo 4: 3 ml de solución de glucosa al 20%.
4. Agregar 1 ml de reactivo de Benedict en cada tubo.
5. Mezclar.
6. Calentar los tubos durante 10 minutos en baño maría.
7. Observar y registrar resultados. Reconocer colores, intensidades de color, comparar entre las muestras.

Prueba de Lugol

1. Se parte de los mismos zumos o jugos que se prepararon previamente (de papa y pera).
2. Realizar el mismo procedimiento de marcaje de tubos (pueden ser los mismos usados en la prueba de Benedict, previamente lavados)
3. Adicionar cada una de las cuatro muestras (como se indicó anteriormente) en las mismas cantidades mencionadas y
4. Agregar 1 ml de Lugol
5. Mezclar.
6. Observar y registrar resultados. Reconocer colores, cambios de color, intensidad de los mismos y comparar entre las cuatro muestras.

Tabla 1: Resultados obtenidos en la identificación de Carbohidratos

Muestra	Reactivo de Benedict		Lugol
	Antes de calentar	Después de calentar	
1. Agua			
2. Jugo de papa			
3. Jugo de pera			
4. Solución de glucosa			

b. DETECCIÓN DE LÍPIDOS

1. Marque 3 tubos de ensayo con los números 1, 2 y 3.
2. Agregue a cada tubo:
Tubo 1: 1 ml de agua + 1 ml de aceite.
Tubo 2: 1 ml de jugo de papa o pera preparado previamente + 1 ml de agua.
Tubo 3: 2 ml de agua.
3. Adicione 1 gota de reactivo de Sudan en cada tubo.
4. Mezcle.
5. Observe y registre resultados.

Tabla2: Resultados obtenidos con el Reactivo de Sudan

Muestra	Observaciones
1. Agua y aceite	
2. Jugo de papa o pera	
3. Agua	

c. DETECCIÓN DE PROTEÍNAS

1. Preparar $\frac{1}{4}$ del sobre de gelatina sin sabor, según las instrucciones de la caja y mantener en baño María.
2. Separar la clara del huevo de gallina (Albúmina).
3. Rotular 4 tubos de ensayo con los números del 1 al 4.
4. Adicionar en cada tubo:
Tubo 1: 2 ml de Agua
Tubo 2: 2 ml de solución de gelatina.
Tubo 3: 2 ml de clara de huevo.
Tubo 4: 2 ml de zumo de pera.
5. Agregar a cada tubo 1 ml de reactivo de Biuret.
6. Mezclar
7. Observar y registrar observaciones.

Tabla 3: Resultados de la identificación de proteínas.

Muestra	Reactivo de Biuret	
	Positivo	Negativo
1. Agua		
2. Gelatina		
3. Albúmina		
4. Zumo de Pera		

6. CUESTIONARIO

1. ¿Por qué en los experimentos se incluye un tubo con agua?
2. En la detección de carbohidratos, cuál de los tubos tiene más azúcares reductores, por qué?
3. ¿Cuál es la función del almidón para las plantas?
4. ¿Cuál es el principal componente de la clara de huevo y de la gelatina comercial?
5. ¿Qué es el reactivo de Benedict y qué detecta en los carbohidratos?
6. ¿Qué es el Lugol y por qué tiñe ciertos carbohidratos?
7. ¿Qué es el reactivo de Sudán y por qué se usa para reconocer lípidos?
8. ¿Qué es el reactivo de Biuret y cómo reacciona con las proteínas?

7. BIBLIOGRAFÍA

- Lehninger, A. 1987 Bioquímica. 2a edición. Edt. S.A. Barcelona – España Pag. 1095.
- Thompson, R & Thompson, B. Illustrated guide to home Biology experiments, All lab, no Lecture. Published by Make:Books, an imprint of Maker Media, a division of O'Reilly Media, Inc. 2012.
- Chagoya, H, *et al.* Manual de prácticas de la materia de biología general. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. (2011). Recuperado el 20 de Agosto de 2012 de: bios.biologia.umich.mx/files/manualbiologiageneral.pdf
- <http://academic.uprm.edu/~jvelezg/labmoleculas.pdf> Revisado el 18 de Septiembre de 2012.