

1. Título práctica de laboratorio:

RECONOCIMIENTO DE MACROMOLÉCULAS

Integrantes:

Código:

2. OBJETIVOS

General

Identificar macromoléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas utilizando métodos colorimétricos.

Específicos:

- Identificar en el laboratorio la presencia de carbohidratos, lípidos y proteínas presentes en muestras problema.
- Relacionar los conceptos teóricos con las diferentes pruebas de identificación de macromoléculas orgánicas.
- Realizar análisis de los resultados obtenidos, comprendiendo el fundamento de los procedimientos y argumentando la relación entre las muestras y los reactivos.

3. REFERENTES CONCEPTUALES

Palabras clave Carbohidratos, Lípidos, Proteínas, Reactivos.

La mayoría de compuestos orgánicos en los organismos vivos son: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, las cuales están constituidas por subunidades (monómeros) que se unen (enlaces covalentes) gracias a la ocurrencia de reacciones de deshidratación (1). Las principales características químicas de las macromoléculas son:

- **Carbohidratos:** Son moléculas constituidas por elementos químicos de Carbono (C), Hidrógeno (H) y Oxígeno (O) en una proporción de 1:2:1. Sus monómeros corresponden a los monosacáridos o azúcares simples. Cuando se unen dos monosacáridos se producen los disacáridos (fructosa) y en el caso de que se unan tres o más se formará un polisacárido (almidón, glucógeno o celulosa) (1) (2). El tipo de enlace que se da entre estos monómeros es de tipo glucosídico.
- **Proteínas:** Son moléculas complejas conformadas por aminoácidos, que son sus monómeros, estos están unidos por enlaces peptídicos. Las proteínas son moléculas esenciales en la química de la vida. Es así como los biólogos frecuentemente utilizan el

microscopio de luz para observar especímenes con tamaños muy pequeños. Un microscopio de luz es un sistema coordinado de lentes arreglados para producir una imagen bien clara y definida del espécimen con un mayor tamaño. La invención del microscopio de luz fue muy importante para la biología, debido a que éste fue usado para formular la teoría celular y el estudio de la estructura biológica a nivel celular. El microscopio de luz reveló un infinito mundo al ojo y la mente humana. Hoy es un instrumento fundamental para la mayoría de los científicos que requieren de él (1). tanto así que son componentes estructurales y funcionales en los organismos. En todos los procesos metabólicos de los seres vivos están presentes estas moléculas, por lo cual el buen funcionamiento de cualquier proceso está determinado por la buena disponibilidad de estas moléculas y de forma adecuada. Las proteínas son específicas de cada especie, y a la vez son específicas frente a otras moléculas, lo que las convierte en el principal factor diferencial entre una especie y otra (1) (2).

- **Lípidos:** Conforman un grupo bastante heterogéneo cuya consistencia es de tipo grasosa o aceitosa, lo que las lleva a ser moléculas de tipo insoluble en agua y solubles en solventes orgánicos (ej: éter, cloroformo, acetona, benceno). Entre los lípidos de importancia biológica están los fosfolípidos (componente más abundante en membrana), colesterol (precursor de hormonas esteroideas y componente de membrana), carotenoides y ceras (productos vegetales). Estas moléculas actúan como combustibles biológicos importantes, es decir, como productores energéticos, también participan como componentes estructurales de las membranas celulares y participan en vías de señalización celular. Los lípidos más abundantes en los seres vivos son las grasas neutras, que producen más energía por gramo frente a los carbohidratos por lo que son una forma económica de almacenar reservas alimenticias pero contraproducente para la salud si están en exceso (2).

4. CONSULTA PREVIA

- Ver el video en:
https://www.youtube.com/results?search_query=determinar+lipidos+y+proteinas
- Ver el video en:
<https://drive.google.com/file/d/1NVL8DvswBvnPYMtE7HCa1iSjY4r5hiG/view?usp=sharing>
- ¿Qué es un azúcar reductor?
- ¿Con relación a los reactivos de Benedict, Lugol, Biuret y Sudan IV: ¿Para qué se utilizan?
- ¿Cuál es su fundamento? En cada una de las pruebas cuando los resultados obtenidos se consideran positivos y cuando negativos, (incluya en esta respuesta la (s) reacción (es) química (s) correspondiente (s)).
- ¿Qué es un enlace peptídico?
- ¿Qué es solubilidad?
- ¿Qué es polaridad y de que depende?
- ¿Qué es el tejido adiposo y qué funciones cumple?

MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Parte A. Materiales y equipos	Reactivos
1. Gradilla	20 mL. Sacarosa 1%

14. Tubos de ensayo	20 mL. Glucosa 1%
1. Trípode	20 mL. Fructosa 1%
1. Plancha de calentamiento	20 mL. Almidón 1%
1. Pinza para tubo	100mL. Agua destilada
	20 mL. Sol. de aminoácidos 1%
	20 mL. Caseína 1%
	20 mL. Reactivo de Benedict
	20 mL. Reactivo de Biuret
	20 mL. Lugol

Parte B. Materiales y equipos

Reactivos

1. Gradilla	20 mL. Sudan IV
10. Tubos de ensayo	200mL. Agua destilada
Papel de arroz	20 mL. Etanol 96%
1. Gotero	Xilol o similar
1. Bandeja	Aceite de inmersión

Materiales que debe traer el estudiante

- Elementos de bioseguridad (Bata, guantes de nitrilo, monogafas, tapabocas...etc.)
- Toallas absorbentes.
- Laminas portaobjetos
- Laminas cubreobjetos
- Bisturí
- Marcador sharpie
- Huevo
- 10 mL. Miel
- 10 mL. Jugo de cebolla
- 1 papa pequeña
- 50 mL. Aceite vegetal de cocina
- 50 mL. Aceite de oliva
- 10 mL. Leche entera
- 10 mL. Leche descremada
- 10 mL. Removedor de esmalte
- 9 cm² (trozo de 3 cm x 3 cm) Piel de pollo

5. PROCEDIMIENTO

PARTE A

Detección de carbohidratos:

Reactivo Lugol

- Marque 7 tubos de ensayo (1-7), uno para cada uno de las soluciones registradas en el anexo 1 (Tabla 1).
- Adicione en cada tubo 2 ml de la solución correspondiente con el número del tubo.

- Adicione 2 gotas de Lugol a cada tubo. Registre el color inicial tanto de las soluciones de cada uno de los tubos y del reactivo (Lugol).
- Registre los resultados en el anexo 1 (Tabla 1).

Reactivo de Benedict

- Marque 7 tubos de ensayo (1-7), uno para cada uno de las soluciones registradas en el anexo 1 (Tabla 1).
- Llene hasta la mitad de la capacidad del vaso de precipitado con agua de la llave y póngala a calentar.
- Adicione en cada tubo 2ml de la solución correspondiente con el número del tubo.
- Adicione 10 gotas de Reactivo de Benedict a cada tubo. Registre el color inicial tanto de las soluciones de cada uno de los tubos y del reactivo de Benedict.
- Coloque los tubos dentro del vaso de precipitado con agua caliente durante cinco minutos.
- Saque los tubos del vaso y colóquelos en la gradilla, déjelos a temperatura ambiente.
- Registre los resultados en el anexo 1 (Tabla 1).

Detección de proteínas

- Rotule cinco tubos de ensayo 1-5. Cada uno corresponde a la solución o producto registrado en el anexo 1 (Tabla 2).
- Para el tubo No. 1, rompa suavemente el huevo de gallina y recoja la clara (albúmina) en un vaso de precipitado.
- Adicione en cada tubo 1 ml de la solución correspondiente.
- Adicione 5 gotas de reactivo de Biuret a cada tubo y mezcle cuidadosamente.
- Registre los resultados en el anexo 1 (Tabla 2).

PARTE B

Solubilidad de lípidos en solventes polares

- Rotule tres tubos de ensayo 1-3.
- Al tubo número uno adiciónale 5 ml de agua y al tubo dos 2,5 ml de removedor de esmalte (manipúlelo con cuidado es muy tóxico) y al tubo número tres 2,5 ml de etanol.
- Adicione 10 gotas de aceite vegetal en cada tubo.
- Registre sus observaciones en el anexo 1 (Tabla 3).

Detección de lípidos

- Rotule seis tubos de ensayo 1-6. • Adicione 2 ml de las soluciones registradas en el anexo 1 (Tabla 4).
- Adicione 5 gotas de agua al tubo 1
- Adicione 5 gotas de sudan IV a los tubos 2, 3, 4, 5 y 6
- Mezcle el contenido de cada tubo.
- Registre sus resultados en el anexo 1 (Tabla 4).

Observación de tejido adiposo (lípidos)

- Limpie cuidadosamente la lámina y la laminilla.
- Con un bisturí retire una capa finísima de la parte interna de la piel de pollo y colóquela sobre la lámina.
- Fije la muestra adicionando 2 o 3 gotas de etanol. Deje reposar por 5 minutos.
- Lave cuidadosamente con agua destilada.
- Agregue 2 o 3 gotas de Sudán IV, deje reposar durante 5 minutos.

- Cubra con la laminilla.
- Observe al microscopio (con los objetivos de 10 X, 40 X y 100 X).
- Dibuje y registre en su cuaderno las observaciones realizadas.

Se recomienda disponer los residuos de reactivos orgánicos en el recipiente marcado como residuos orgánicos, que se encuentra ubicado en el laboratorio. Los residuos de solventes polares se dispondrán en un recipiente diferente. Los estudiantes deberán lavar y secar todo el material utilizado en la práctica. Utilizar correctamente todos los elementos de bioseguridad en el laboratorio.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Campbell N, Reece J. Biología. Quinta edición ed. San Francisco: Pearson Education; 2008.
2. Copper G, Haussman R. La Célula. Quinta edición ed.: Marban; 2009.

Anexo 1. TABLAS DE RESULTADOS

Tabla 1. Reacción de Benedict y de Lugol. Apoye los resultados obtenidos tomando una foto del antes y una del después a cada uno de los ensayos (Benedict y Lugol).

Tubo	Solución	Color inicial de las soluciones	Benedict (color final)	Lugol (color final)
1	Jugo de cebolla			
2	Papa en trozos			
3	Sacarosa 1%			
4	Glucosa 1%			
5	Fructosa 1%			
6	Agua destilada			
7	Almidón 1%			

Tabla 2. Reacción de Biuret. Apoye los resultados obtenidos tomando una foto del antes y una del después al ensayo.

Tubo	Soluciones	Color inicial
1	1 mL albúmina de huevo	
2	1mL miel	
3	1mL solución de aminoácidos	
4	1ml agua destilada	
5	1mL caseína	

Tabla 3. Detección de solventes polares. Apoye los resultados obtenidos tomando una foto del antes y una del después al ensayo.

Tubo	Soluciones	Color inicial
1	1 mL albúmina de huevo	
2	1mL miel	
3	1mL solución de aminoácidos	
4	1ml agua destilada	
5	1mL caseína	

Tabla 4. Detección de lípidos (Sudán IV). Apoye los resultados obtenidos tomando una foto del antes y una del después al ensayo.

Tubo	Soluciones	Color inicial
1	2 ml de aceite de oliva + agua	

2	2 ml de aceite de oliva + Sudan IV	
3	2 ml de miel + Sudan IV	
4	2 ml de agua destilada + Sudan IV	
5	2 ml de leche descremada + Sudan IV	
6	2 ml de leche entera + Sudan IV	

INFORME DE LABORATORIO

Integrantes:

Código:

TABLA DE RESULTADOS:

Diligencie las tablas correspondientes al anexo 1 con los datos registrados en la práctica y describa lo más detallado posible, de forma organizada, los resultados observados (cambio en la coloración, en la consistencia o en alguna otra característica)

DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

A partir de los resultados de las tablas y sus descripciones analice dichos resultados argumentando los cambios percibidos. Adicionalmente responda las siguientes preguntas:

- Cuando se agrega Lugol a la muestra de almidón, el cambio de coloración que se presenta en el tubo de ensayo es azul oscuro o violeta intenso, ¿por qué se da? ¿Es un cambio físico? o un cambio químico? o los dos? Argumente
- Como resultado se debe observar en el laboratorio que el Lugol registre cambio de color como resultado positivo para el almidón. ¿La respuesta del Lugol con el glucógeno será positiva o negativa? Argumente. ¿La respuesta del Lugol con la celulosa será positiva o negativa? Argumente
- ¿Cuáles son los componentes del reactivo de Benedict? ¿Cuál es la finalidad de introducir la muestra de la sacarosa en agua caliente? ¿Por qué cambia de coloración la muestra después de calentarla?
- Si se realiza la experiencia con una pera en lugar de azúcar de mesa, ¿cuál será el resultado? ¿Se presentará cambio de coloración? Explique por qué sí o por qué no
- Cuando se adiciona reactivo de Biuret a la clara de huevo o a la leche, la reacción positiva debe dar una coloración morada (o lila) dependiendo del sustrato. ¿Realmente qué identifica dicho reactivo? Sea BASTANTE explícito en su respuesta.
- ¿El Sudán se mezcla con el aceite? o con el agua? ¿O con ninguno? Explique

CONCLUSIONES

Plantee 3 conclusiones en forma argumentativa con respecto a la práctica realizada

BIBLIOGRAFÍA

Ingrese la lista de referencias utilizadas para la resolución del informe. Cite de acuerdo con las normas APA