

## 1 Título práctica de laboratorio: PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS LÍPIDOS, DIGESTIÓN Y PERFIL LIPÍDICO

### 2 OBJETIVOS

#### Generales:

- Realizar pruebas físicas y químicas para la identificación de lípidos y su relación con algunos procesos metabólicos.

#### Específicos:

- Determinar la solubilidad de algunos aceites y grasas en solventes polares orgánicos.
- Observar el fenómeno de emulsificación de los lípidos y relacionarlo con la digestión.
- Verificar la insaturación de un ácido graso por oxidación del doble enlace.
- Establecer el perfil lipídico en un paciente y analizar su estado metabólico y posibles riesgos.

### 3 REFERENTES CONCEPTUALES

Se llama lípidos a un conjunto de moléculas orgánicas, la mayoría biomoléculas, compuestas principalmente por carbono e hidrógeno y en menor medida oxígeno, aunque también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno. Tienen como característica principal ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos como el benceno.<sup>1</sup>

Los lípidos forman un grupo de sustancias de estructura química muy heterogénea, siendo la clasificación más aceptada la siguiente:<sup>2</sup>

#### LÍPIDOS SAPONIFICABLES

Los lípidos saponificables son los lípidos que contienen ácidos grasos en su molécula y producen reacciones químicas de saponificación. A su vez los lípidos saponificables se dividen en:

**Lípidos simples:** Son aquellos lípidos que sólo contienen carbono, hidrógeno y oxígeno. Estos lípidos simples se subdividen a su vez en: Acilglicéridos o grasas (cuando los acilglicéridos son sólidos se les llama grasas y cuando son líquidos a temperatura ambiente se llaman aceites) y Céridos o ceras.

**Lípidos complejos:** Son los lípidos que además de contener en su molécula carbono, hidrógeno y oxígeno, también contienen otros elementos como nitrógeno, fósforo, azufre u otra biomolécula como un glúcido. A los lípidos complejos también se les llama lípidos de membrana pues son las principales moléculas que forman las membranas celulares: Fosfolípidos y Glicolípidos.

**Lípidos insaponificables:** Son los lípidos que no poseen ácidos grasos en su estructura y no producen reacciones de saponificación. Entre los lípidos insaponificables encontramos a: Terpenos, Esteroides y Prostaglandinas. En la figura 1 se muestra la clasificación general de los lípidos.

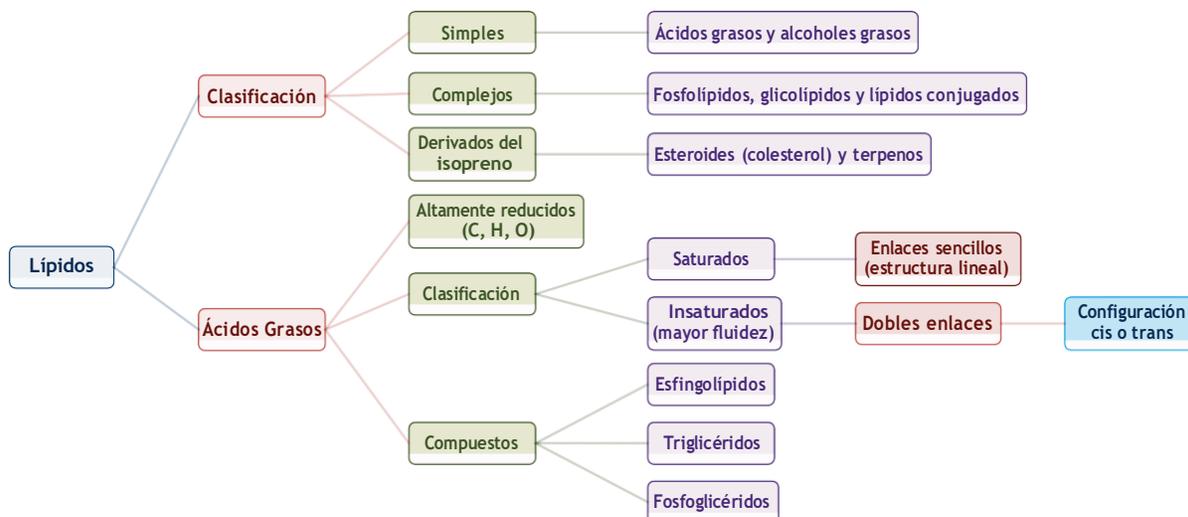


Figura 1: Clasificación de los lípidos.<sup>3</sup>

En el cuerpo, las grasas sirven como una fuente eficiente, de energía cuando están almacenadas en el tejido adiposo. Sirven como aislante térmico en los tejidos subcutáneos y alrededor de ciertos órganos, y los lípidos no polares actúan como aislantes eléctricos que permiten la propagación rápida de las ondas despolarizantes a lo largo de los nervios mielinizados. El contenido de lípidos en el tejido nervioso es alto. Los lípidos y proteínas combinados (lipoproteínas) son constituyentes celulares importantes que se encuentran en la membrana celular y en las mitocondrias.<sup>4</sup> Los lípidos también son precursores de otros componentes de la célula (vitaminas del grupo D, ácidos biliares y hormonas de naturaleza de esteroides).

En términos de química, los lípidos son un grupo diverso de compuestos con algunas propiedades en común basadas en similitudes estructurales, sobre todo el predominio de grupos no polares. Los lípidos, son compuestos, anfipáticos, es decir que contienen regiones hidrofóbicas y regiones hidrofílicas. (Figura 2).

## COLESTEROL

El colesterol, una molécula importante de los animales, es un ejemplo de esteroide (Figura 3). Además de ser un componente esencial de las membranas de las células animales, el colesterol es precursor de la biosíntesis de todas las hormonas esteroideas, la vitamina D y las sales biliares. El colesterol posee dos sustituyentes metilo esenciales (C-18 y C-19), que están unidos al C-13 y C-10, respectivamente, y un doble enlace  $\Delta^5$ . Una cadena lateral hidrocarbonada ramificada está unida a C-17.

Debido a que esta molécula tiene un grupo hidroxilo (unido a C-3), se clasifica como esteroide. (Aunque el término esteroide es más adecuado para designar a las moléculas que contienen uno o varios grupos carbonilo o carboxilo, suele utilizarse para describir todos los derivados con la estructura de anillo esteroide). El colesterol normalmente se almacena dentro de las células en forma de éster de ácido graso. La reacción de esterificación está catalizada por la enzima acilCoA: colesterol aciltransferasa (ACAT), que se encuentra en la cara citoplásmica del retículo endoplásmico.<sup>2</sup>

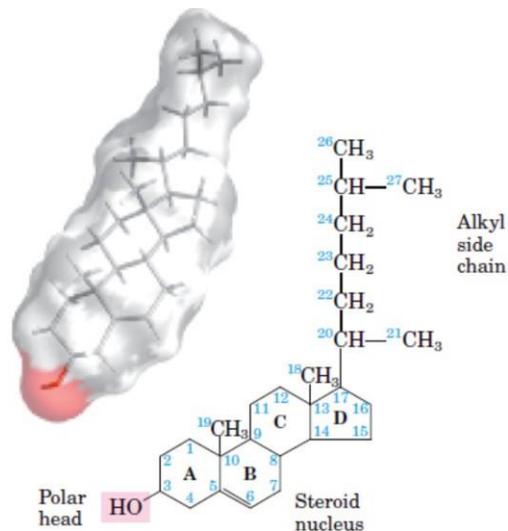


Figura 2: Carácter anfipático de los lípidos.<sup>5</sup>

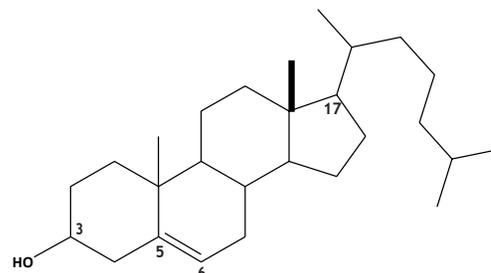


Figura 3: Estructura del Colesterol.<sup>6</sup>



## 5 PROCEDIMIENTO

### PARTE I

#### 1. Solubilidad de los lípidos

- Tome 3 tubos de ensayo, rotúlelos (1, 2 y 3) y a cada uno de ellos añada las siguientes sustancias, en las cantidades que se indican en la tabla 1:

Tabla 1: Cantidades pruebas de solubilidad de los lípidos.

Tubo / Sustancia	Agua (mL)	Etanol (mL)	Cloroformo (mL)	Aceite de oliva (gotas)
Tubo 1	2,0	--	--	3,0
Tubo 2	--	2,0	--	3,0
Tubo 3	--	--	2,0	3,0

- Agite y observe
- Los tubos donde no se disuelve el aceite llévelos al baño María a 65 °C para aumentar solubilidad
- En los tubos donde observe solubilización continúe la adición de aceite gota a gota hasta cuando no haya más disolución.
- Repita el procedimiento con mantequilla, agregando pequeñas cantidades con ayuda de miro espátula. Registre los datos y analice.

 Disponga los residuos en el recipiente rotulado como: Tubo 2 "Alcoholes y fenoles". Tubo 3 "Disolventes orgánicos halogenados".

#### 2. Emulsificación (Digestión):

- Tome 4 tubos de ensayo, rotúlelos (1, 2, 3 y 4) y a cada uno de ellos añada las siguientes sustancias, en las cantidades que se indican en la tabla 2:

Tabla 2: Cantidades pruebas de emulsificación de los lípidos.

Tubo / Sustancia	Agua (mL)	Aceite de oliva (mL)	Jabón (mL)	Disolución de albumina 5% (mL)	Disolución de Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 10% (mL)
Tubo 1	3,0	1,0	1,0	--	--
Tubo 2	3,0	1,0	--	1,0	--
Tubo 3	3,0	1,0	--	--	--
Tubo 4	3,0	1,0	--	--	1,0

- Agite cada uno de los tubos y compare la suspensión del líquido en cada solución inmediatamente después de agitar y luego de 5 minutos. Observe y registre las observaciones y cambios. mantequilla, agregando pequeñas cantidades con ayuda de una microespátula. Registre los datos y analice.

 Disponga los residuos en el recipiente rotulado como "Grasas y aceites".

#### 3. Prueba de instauración:

- En 1 tubo de ensayo adicione 3 mL de aceite de oliva y adicione lentamente 4 gotas de disolución de KMnO<sub>4</sub> al 1% en alcohol, agite y observe el cambio de coloración.
- Repita el procedimiento en otros tubos de ensayo utilizando ácido esteárico\* disuelto en etanol y mantequilla\* disuelta en etanol. Observe y registre las observaciones y cambios.

\* Cantidades tomadas con la punta de una microespátula

 Disponga los residuos en el recipiente rotulado como "Disoluciones de metales pesados".



## PARTE II

## 1. Perfil Lipídico

Determinar el **Colesterol total**, **HDL**, **LDL** y **Triglicéridos** en una muestra de suero o plasma. Las reacciones para la determinación de estas moléculas serán realizadas de acuerdo al protocolo indicado por el fabricante del Kit.

Tabla 3: Cantidades pruebas de solubilidad de los lípidos.

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón de colesterol (S)	--	10 $\mu$ L	--
Muestra	--	--	10 $\mu$ L
Reactivo A	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Agite y observe
- Los tubos donde no se disuelve el aceite llévelos al baño María a 65°C para aumentar solubilidad
- En los tubos donde observe solubilización continúe la adición de aceite gota a gota hasta cuando no haya



Disponga los residuos en el recipiente rotulado como: Tubo 2 "Alcoholes y fenoles". Tubo 3 "Disolventes orgánicos halogenados".

## 2. Triglicéridos:

- Determine el índice masa corporal de todos los estudiantes. Adjunte los resultados en una tabla.
- Seleccione los estudiantes con el índice corporal más bajo y más alto. Extraiga una muestra de sangre sin anticoagulante de dos de ellos (extremos), que de manera voluntaria donen la muestra.
- Lea cuidadosamente el inserto que viene en el kit de Triglicéridos
- Marcar cuatro tubos limpios y secos 1,2, 3 y 4

Tabla 3: Cantidades pruebas de determinación de triglicéridos.

Tubo / Sustancia	Suero 1 ( $\mu$ l)	Suero 2 ( $\mu$ l)	Patrón	Reactivo (mL)
Tubo 1	20	--	--	1,0
Tubo 2	--	20	--	1,0
Tubo 3	--	--	20	1,0
Tubo 4	--	--	--	1,0

- Mezclar bien e incubar a 37 C por 10 minutos, leer en el espectrofotómetro.
- Realizar los cálculos respectivos.



Disponga los residuos en el recipiente rotulado como "Grasas y aceites".



## 6 Preguntas de profundización

### Para entregar resueltas en el pre-informe

- Haga un cuadro donde resuma los resultados de los análisis fisicoquímicos de los lípidos
- Calcule la concentración de triglicéridos y colesterol en cada muestra.
- Según los resultados obtenidos indica en qué situación se encuentra cada una de los donantes.
- Investiga como la concentración de triglicéridos y colesterol son indicativos de posibles patologías
- Explicar en qué consiste la determinación del perfil lipídico completo y su importancia en la determinación del riesgo cardíaco en el hombre.
- Analizar la correlación entre los resultados y el diagnóstico de hiperlipidemias

### Bibliografía

1. Horton, H. Robert; Moran, Laurence A.; Scrimgeour, K. Gray; Perry, Mark D.; Raw, J. David. (2008) .Principios deBioquímica. 4ª Edición, Editorial Pearson Educación, México
2. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). Biochemistry, ; W. H.
3. Smith, A., Datta, S. P., Smith, G. H., Campbell, P. N., Bentley, R., & McKenzie, H. A. (2000). Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology. Oxford University Press (OUP).
4. Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2008). Lehninger principles of biochemistry. Macmillan.
5. Voet D, Voet JG, Pratt C. (1999). Fundamentals of biochemistry. USA: John Wiley and Sons

