Laboratorio 4



Moléculas esenciales para la vida



Al finalizar este laboratorio el estudiante podrá:

- 1. Reconocer las moléculas esenciales para la vida, los grupos funcionales que las componen y sus características.
- 2. Conocer pruebas para la identificación de grupos funcionales.
- 3. Definir qué es una reacción "Redox".
- Identificar mediante pruebas químicas las moléculas de importancia biológica presentes en muestras sin identificar (desconocidos).

INTRODUCCIÓN

os seres vivos se distinguen de la materia inanimada por estar compuestos de moléculas orgánicas, que incluyen carbohidratos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos. Estas moléculas son orgánicas por tener átomos de carbono. Además de carbono, las moléculas orgánicas contienen varios o todos estos elementos: hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo. Los átomos de carbono pueden formar una gran diversidad de moléculas al enlazarse con hasta cuatro elementos y formar el esqueleto de las moléculas orgánicas. Estas moléculas pueden formar cadenas que varían en su extensión y arreglo (pueden ser rectas, ramificadas o formar anillos). Los enlaces entre átomos de carbono, y entre éstos y otros átomos, pueden ser sencillos o dobles.

Una de las moléculas orgánicas más simples es metano (CH₄), formada por enlaces sencillos de un átomo de carbono con cuatro átomos de hidrógeno. Si se cambiara uno o varios de los átomos de hidrógeno por otros grupos de átomos, las propiedades de la molécula nueva cambiarían drásticamente. Estos grupos de átomos se conocen como **grupos funcionales**. A continuación se detallan algunas características de varios grupos funcionales importantes (vea también la Tabla 4.1).

GRUPOSFUNCIONALES:

Grupo hidroxilo: -OH

🎏 Un átomo de oxígeno unido a un átomo de hidrógeno.

🎏 Es un grupo polar¹ porque el átomo de oxígeno tiene una carga parcial negativa.

🍀 Se disuelve en agua debido a la interacción del grupo hidroxilo con las moléculas de agua.

🍀 Presente en carbohidratos y alcoholes.

🎏 Ejemplos de alcoholes sencillos: metanol y etanol.

Grupo carbonilo: -CO

🌿 Un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno por un enlace covalente doble.

Si el grupo carbonilo se encuentra al *final* de la molécula y está unido a un átomo de hidrógeno, el compuesto orgánico se conoce como un **aldehído**.

Si el grupo carbonilo se encuentra en el *medio* de la molécula, el compuesto orgánico se conoce como una **cetona**.

Es un grupo polar porque el átomo de oxígeno tiene una carga parcial negativa.

🎏 Está presente en los carbohidratos.

🌿 Ejemplo de un aldehído es formaldehído, y un ejemplo de una cetona es acetona.

Grupo carboxilo: -COOH

Un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno por un enlace covalente doble, y unido por un enlace covalente sencillo con otro átomo de oxígeno, que a su vez está enlazado a un átomo de hidrógeno.

¹ El arreglo geométrico de los átomos en algunas moléculas hace que algunas moléculas tengan partes con cargas eléctricas positivas y otras partes con cargas eléctricas negativas. En este caso, la molécula es polar, o sea, que tiene polos eléctricos. De no tener cargas la molécula es una molécula no polar. El que una molécula sea polar determina si puede reaccionar con otras moléculas o que pueda formar soluciones. Ejemplo de una molécula polar es el agua, que tiene cargas negativas hacia un lado de la molécula, por parte del oxígeno, y cargas positivas, por parte del hidrógeno, hacia el otro lado.

- 🌿 Es un grupo altamente polar debido a los dos átomos de oxígeno.
- 🎏 Presente en los ácidos orgánicos, como los aminoácidos.
- 🧱 Ejemplos de dos moléculas que contienen este grupo son el ácido acético y el ácido fórmico.

D. Grupo amino: -NH₂

- **#**Un átomo de nitrógeno unido covalentemente a dos átomos de hidrógeno.
- Es un grupo básico débil.
- Elos compuestos que tienen este grupo funcional se conocen como aminas.
- Presente en los aminoácidos y en los ácidos nucleicos.
- 🌿 Ejemplos de moléculas que contienen este grupo: cisteína y triptófano (aminoácidos).

E. Grupo sulfhídrilo: -SH

- 🌿 Un átomo de azufre unido a un átomo de hidrógeno.
- 🍀 Grupo importante para las proteínas porque les provee estabilidad interna.
- Elos compuestos que tienen este grupo funcional se conocen como tioles.
- Ejemplo de un tiol: etanetiol.

F. Grupo fosfato: -OPO₃

- Un átomo de oxígeno unido covalentemente a un carbono, con los demás átomos de oxígeno unidos al fósforo.
- 🍀 Componente importante de los fosfolípidos y de los ácidos nucleicos.
- 🍀 Los compuestos que tienen este grupo funcional se conocen como fosfatos orgánicos.
- Una molécula que posee grupos fosfatos es el ATP, o trifosfato de adenosina, que es la fuente principal de energía de las células.

Tabla 4.1 Grupos funcionales más importantes y ejemplos de moléculas que los poseen.

Grupo funcional	Clase de molécula Ejemplo			
Hidroxilo —OH	Alcoholes	H H		
(a) Carbonilo	Aldehídos	H H O H—C—C—C H H H (Propanal)		
(b) Carbonilo	Cetonas	H O H		
Carboxilo OH	Ácidos carboxílicos (Ácidos orgánicos)	H O // H—C—C \ H OH (Ácido Acético)		
Amino H N H	Aminas	H H H—C—N H H (Metilamina)		
Sulfhídrilo —SH	Tioles	H H H—C—C—SH H H (Etanetiol)		
Fosfato O II O P O O O	Fosfatos orgánicos	OH OH H O H—C—C—C—O—P—O		

EJERCICIO 4.1 IDENTIFICACIÓN DE MOLÉCULAS BIOLÓGICAS

El propósito de los ejercicios de esta sección es familiarizarle con algunas de las pruebas que se utilizan para detectar moléculas orgánicas según las propiedades únicas que le proveen sus grupos funcionales.

Por lo general, podemos 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.

A. Carbohidratos

Los carbohidratos son componentes estructurales importantes de las células y son además una forma importante de almacenar energía; los que conocemos como las azúcares y polímeros de azúcares. Estas moléculas usualmente contienen carbono, hidrógeno y oxígeno en una proporción de 1:2:1. Los carbohidratos se clasifican como *monosacáridos*, disacáridos o polisacáridos, dependiendo del tamaño y la complejidad de la molécula (Figura 4.1). Los monosacáridos se componen de una sola molécula de azúcar. Cuando dos monosacáridos se unen se produce un disacárido, y cuando dos o más se unen se produce un polisacárido.

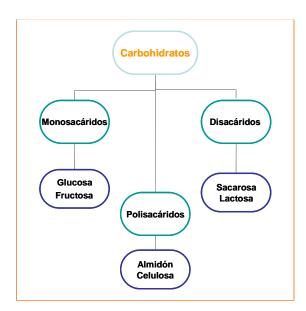


Figura 4.1

Ejemplos de carbohidratos.

A.1. Prueba de Benedict:

Muchos monosacáridos, como la glucosa y la fructosa, y algunos disacáridos, son 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 que 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.²

- 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.
- Los monosacáridos que forman anillos no son azúcares reductores porque no tienen un grupo aldehído libre, pero pueden reducir si se convierten en monosacáridos abiertos.

MATERIALES

- Tubos de ensayo pequeños*
- Lápiz de cera
- Goteros

- Solución de 1% almidón
- Solución de 5% sacarosa
- Solución de 5% fructosa
- Solución de 5% glucosa

Reducción: reacción en la cual una sustancia gana electrones, es privada de oxígeno o recibe un átomo de hidrógeno.

² Oxidación: reacción en la cual una sustancia pierde electrones, recibe un oxígeno o es privada de hidrógeno.

Reactivo de Benedict

Agarraderas de tubos de ensayo

"Hot plate"

"Beakers"

* Es importante que los tubos que se usen sean pequeños, sino malgastará soluciones y reactivos.

PROCEDIMIENTO

- 1. Rotule cinco tubos de ensayo pequeños del 1 al 5.
- 2. Añada la solución de almidón hasta 1 ml en el tubo 1.
- 3. Añada agua hasta 1 ml en el tubo 2.
- 4. Añada la solución de sacarosa hasta 1 ml en el tubo 3.
- 5. Añada la solución de fructosa hasta 1 ml en el tubo 4.
- 6. Añada la solución de glucosa hasta 1 ml en el tubo 5.
- 7. Añada 1 ml de reactivo de Benedict en los cinco tubos.
- 8. Caliente los tubos (uno a uno) por 3 minutos en baño de maría. Vea abajo la precaución.
- 9. Remueva y observe los colores obtenidos.

P R E C A U C I O NCuidado al trabajar con los tubos. No llene demasiado el baño de agua.

- Use pinzas para sostener los tubos de ensayo; el contenido estará
- El reactivo de Benedict es cáustico y puede causarle quemaduras.
- 10. Anote los resultados en la Tabla 4.2 y compárelos con los resultados negativos y positivos que aparecen en la Figura 4.2.

Tabla 4.2	2 Resultados de la	a prueba de Benedict para azúcares reductores				
Tubo	Contenido	Color antes de calentar Color después de calenta				
1	Almidón					
2	Agua					
3	Sacarosa					
4	Fructosa					
5	Glucosa					

12. ¿Por qué se hace el experimento en un tubo con agua?

- 13. A juzgar por las estructuras químicas de sacarosa, fructosa y glucosa, ¿cuáles son azúcares reductoras?
- 14. ¿Qué color muestra una reacción negativa en presencia de azúcares reductoras?
- 15. ¿Cuál de los tubos contiene más cantidad de azúcares reductoras?
- 16. ¿Qué sucederá si se hace la prueba con azúcar de mesa?
- 17. ¿Son todos los monosacáridos azúcares reductoras?
- 18. ¿Son los disacáridos y polisacáridos azúcares reductoras?

A.2. Prueba de Yodo:

- 🍀 La prueba de yodo se usa para detectar *almidón*.
- El almidón es un polímero de glucosa producido por las plantas y es una fuente importante de energía almacenada.
- La molécula de almidón forma hélices entre las cuales se inserta el yodo, tiñendo el almidón de azul oscuro a negro.

MATERIALES

- Tres tubos de ensayo pequeños
- Solución de 5% glucosa
- Solución de 1% almidón
- Yodo
- Goteros
- Lápiz de cera

PROCEDIMIENTO

- 1. Rotule tres tubos del 1 al 3.
- 2. Añada 1 ml de solución de glucosa en el tubo 1.
- 3. Añada 1 ml de la solución de almidón en el tubo 2.
- 4. Añada 1 ml de agua hasta el tubo 3.
- 5. Añada de 2 gotas de yodo a cada tubo.
- **6.** Anote los resultados en la Tabla 4.3 y compárelos con los resultados en la <u>Figura 4.2</u>.

Tabla 4.3 Resultados de la prueba de yodo para almidón					
Tubo	Contenido	Positivo	Negativo		
1	glucosa				
2	Almidón				
3	Agua				

7. ¿Cuál es la función del almidón para la planta de papa?

B. Grasas (o 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 hidrocarbonos.

B.1. Prueba de Sudán para identificación de grasas:

- 🎏 Detecta las cadenas de hidrocarbonos.
- El reactivo de Sudán produce una reacción hidrofóbica donde los grupos no-polares (los hidrocarbonos) se agrupan y son rodeados por moléculas del reactivo.
- La prueba de Sudán tiñe los hidrocarbonos de rojo (Figura 4.2).

MATERIALES

- Tubos de ensayo
- Agua y aceite
- Reactivo de Sudán

PROCEDIMIENTO

- 1. Añada 1 ml de agua y 1 ml de aceite al tubo 1.
- 2. Añada sólo 2 ml de agua al tubo 2.
- 3. Añada una gota del reactivo de Sudán y mezcle.
- 4. Anote sus resultados
- 5. ¿Qué capa de la mezcla tiñó de rojo?

B.2. Prueba de Sudán para detectar grasas en almidón, agua destilada y aceite vegetal:

MATERIALES

Tijeras, lápiz

• Solución de almidón

Papel de filtro

• Agua destilada

Tenazas

• Plato Petri

Aceite vegetal

• Tres goteros

• Reactivo de Sudán

PROCEDIMIENTO

1. Corte un pedazo de papel de filtro que quepa en el fondo de un plato Petri.

2. Con un lápiz escriba las siguientes letras en el papel de filtro:

 $A = \underline{a}$ lmidón

G = agua

 $V = aceite \underline{v}egetal$

- 3. Dibuje un círculo pequeño al lado de cada letra.
- **4.** Utilizando goteros añada una gota de cada producto en el círculo correspondiente sobre el papel de filtro.
- 5. Añada una gota del reactivo de Sudán a cada área circulada.
- 6. Lave el papel con agua en el plato Petri.
- 7. Deje secar el papel de filtro.
- 8. Refiérase a la Figura 4.2, y anote los resultados en la Tabla 4.4

Tabla 4.4 R	lesultados de la prueba de Sudán para grasas			
Mancha	Solución	Intensidad de color		
A	Almidón			
G	Agua			
V	Aceite vegetal			

- 10. ¿Qué revelan los resultados sobre el almidón, el agua destilada y el aceite vegetal?
- 11. ¿Contienen estos tres productos la cantidad de grasa esperada?

C. Proteínas

Las proteínas son componentes estructurales de las células, controlan sus procesos metabólicos y actúan como mensajeros químicos. Además, son parte importante de los anticuerpos, enzimas y receptores celulares. Las proteínas están formadas por cadenas de aminoácidos. Debido a la presencia de los grupos amino y carboxilo, los aminoácidos resisten cambios en pH y son amortiguadores importantes en soluciones biológicas.

C.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 (Figura 4.2).



PRECAUCIÓN

El reactivo de Biuret es cáustico y puede causar

MATERIALES

- Tubos de ensayo
- Lápiz de cera
- Solución de albúmina 1%

- Solución de 1% almidón
- Reactivo de Biuret

PROCEDIMIENTO

- 1. Rotule tres tubos del 1 al 3.
- 2. Añada 1 ml de albúmina al tubo 1.
- 3. Añada 1 ml de glucosa al tubo 2.
- 4. Añada 1 ml de agua al tubo 3.
- **5.** Añada 3 gotas del reactivo de Biuret a cada uno de los tres tubos y agite suavemente.
- **6.** Refiérase a la Figura 4.2 para comparar colores.
- 7. Anote los resultados en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5	a 4.5 Resultados de la prueba de Biuret para almidón				
Tubo	Contenido	Positivo	Negativo		
1	Albúmina				
2	Almidón				
3	Agua				

- 8. ¿Cuál es el componente principal de la albúmina?
- 9. ¿Dónde se puede conseguir la albumina?

D. Ácidos Nucleicos

Las células tienen dos tipos de ácidos nucleicos: el ácido ribonucleico (ARN) y el ácido desoxiribonucleico (ADN). El ADN compone los genes que contienen la información hereditaria, mientras que el ARN es importante durante la síntesis de proteínas. En este ejercicio, a través de un procedimiento sencillo aislará el ADN de las frutas.

MATERIALES

Por grupo:

- Frutas (fresa, kiwi, tomate, guineo o mangó) o cebollas
- Filtro de café, papel toalla o gasa de cocinar (Cheese cloth)
- Tubo de ensayo
- Embudo cónico
- Varilla de vidrio o palito de madera
- Vaso pequeño (beaker) o matraz
- Bolsas plásticas sellables
- Alcohol 70% (frío, en hielo)
- Solución lítica *



; NOTAS IMPORTANTES!

- Las frutas pueden ser frescas o congeladas. Si son congeladas, se deben descongelar antes del laboratorio.
- Se puede utilizar cualquier fruta, pero las fresas usualmente producen una mayor cantidad de ADN.

PROCEDIMIENTO

* Prepare de antemano la solución lítica:

Solución lítica

Mezcle líquido de fregar (o champú sin acondicionador) con agua en una razón de 1:9 A cada 100 ml de solución preparada añada 1 gr de NaCl.

- 1. Seleccione una fruta y corte en pedazos hasta tener el equivalente a media taza.
- 2. Pónga los pedazos en una bolsa plástica que selle y añada 10 ml de la solución lítica.
- 3. Macere con las manos en la licuadora hasta que se forma un puré.
- 4. Coloque el embudo cónico con el filtro de café o gasa sobre el vaso o matraz y filtre el líquido.
- 5. Transfiera el líquido filtrado a un tubo de ensayo hasta llegar a aproximadamente 5 cm del fondo del tubo.
- 6. Coloque el tubo de ensayo en hielo por 5 minutos.
- 7. Mézcle por inversión dos a tres veces.
- 8. Añada 5 ml del alcohol frío al tubo y agite suavemente con movimientos circulares.
- 9. Dentro de poco tiempo, se observarán tres capas:

En el fondo, el extracto de fruta.

En el medio, los hilos de ADN.

En la capa superior, el alcohol.

- 10. Remueva el ADN con la varilla de vidrio y descríbalo (color, textura, apariencia).
- 11. ¿Cuál es la función de la solución lítica?
- 12. ¿Por qué fue importante utilizar alcohol a una temperatura fría?

EJERCICIO 4.2 IDENTIFICACIÓN DE MOLÉCULAS BIOLÓGICAS EN DESCONOCIDOS

Todas las moléculas orgánicas presentes en nuestro cuerpo se derivan directamente o indirectamente de los alimentos que ingerimos. Las cantidades y proporciones de estas moléculas orgánicas varían de un alimento a otro. Los granos y las papas, por ejemplo, son ricos en almidón, mientras que las carnes son ricas en proteínas y grasas. Para determinar el valor nutricional de los alimentos hay que identificar las moléculas orgánicas que contienen. En este ejercicio se determinará la presencia de algunos compuestos orgánicos en varias mezclas desconocidas.

MATERIALES

- Tubos de ensayo pequeños
- Goteros
- Lápiz de cera
- Yodo

- Reactivo de Sudán
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Biuret

- 1. El instructor tendrá disponibles de dos a cuatro muestras desconocidas, a las cuales se les realizarán pruebas para detectar los compuestos presentes.
- 2. Cada prueba debe tener un control.
- **3.** Consulte la <u>Figura 4.2</u> para determinar si los resultados fueron negativos o positivos y anote los resultados en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Resultados pruebas de desconocidos					
Muestra	Pruebas		Prueba	Prueba	
del	Carbohic	Carbohidratos		Proteínas	
desconocido	Benedict Yodo		Sudán	Biuret	
1					
2					
3					
4					

4. ¿Cuáles de los siguientes se encontraron en cada desconocido?

Desconocido	Azúcares	Almidón	Grasas	Proteínas	
1					
1					
2					
3					
4					
7					

5¿Cuáles fueron los controles positivos y negativos en el experimento. ¿Por qué son útiles estos controles?

6. Prepare un informe sencillo que presente y discuta los resultados de este experimento.



Resultados de la Prueba de Benedict.

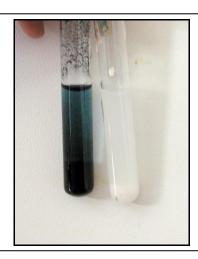
Color ladrillo: Positivo (concentración alta de

azúcar)

Color verde: Positivo (concentración baja de

azúcar)

Color azul: Negativo



Resultados de la Prueba de Yodo:

Color negro o azul oscuro: Positivo

(presencia de almidón)

Color blanco transparente: Negativo



Resultados de la Prueba de Sudán:

Color **rojo**: Positivo (contiene cadenas de hidrocarbonos)

Color original o transparente: Negativo



Resultados de la Prueba de Biuret:

Color **violeta**: **Positivo** (contiene grupos amino)

Color azul: Negativo

Figura 4.2

Resultados positivos y negativos de las pruebas para la detección e identificación de moléculas orgánicas.

LABORATORIO 4: MOLÉCULAS ESENCIALES PARA LA VIDA

PLAN DE ENSEÑANZA PARA LOS INSTRUCTORES

Destrezas que el estudiante adquirirá a partir de este laboratorio:

- 1. Trabajo grupal e individual
- 2. Comunicación escrita
- 3. Aplicación del laboratorio anterior (Cómo escribir un informe científico)
- 4. Utilización de equipo de laboratorio y pruebas químicas simples

Manejo del laboratorio:

- Prepare el baño de María temprano durante el laboratorio.
- Los estudiantes deben estar familiarizados con conceptos químicos básicos. De no ser así, debe darse un repaso al comienzo del laboratorio.
- Los estudiantes deben usar bata de laboratorio y zapatos cerrados porque trabajarán con sustancias corrosivas, tintes y baño de maría.
- Recuérdele a los estudiantes que deben venir preparados para el próximo laboratorio.

Manejo del tiempo:

1.	Prueba corta	(10 minutos)
2.	Presentación de objetivos y repaso de química	(10 minutos)
3.	Ejercicio 4.1: Identificación de moléculas biológicas	
	A.1: Azúcares reductoras	(25 minutos)
	A.2: Prueba de almidón	(10 minutos)
	B.1: Grasas	(15 minutos)
	C.1: Proteínas	(10 minutos)
	D: Ácidos nucleicos	(15 minutos)
4.	Discusión resultados (Ejercicio 4.1)	(10 minutos)
4.	Ejercicio 4.2: Desconocidos	(35 minutos)
5.	Discusión resultados (Ejercicio 4.2)	(10 minutos)
6.	Resumen y conclusiones	(15 minutos)
7.	Repaso y preguntas búsqueda de referencias	(10 minutos)
9.	Recoger el laboratorio	(5 minutos)