

Lípidos y Proteínas

1.- Lípidos

Los lípidos comprenden un grupo de compuestos de origen vegetal o animal, estructuralmente muy heterogéneos que se definen por una propiedad física (solubilidad) más que por su estructura.

Se clasifican en dos tipos generales: los que son como las **grasas y las ceras**, los cuales contienen enlaces éster y pueden ser hidrolizados; y los que son como el **colesterol y otros esteroides**, los cuales no tienen enlaces ésteres y no pueden ser hidrolizados.

En general, los lípidos desempeñan un papel fundamental como reserva energética en las células y organismos, y también como componentes de la estructura de las membranas, además de actuar como detergentes biológicos (fosfolípidos, diésteres del ác.fosfórico). Las ceras forman superficies protectoras en las hojas y en los frutos de los vegetales superiores, en la cutícula de insectos y en las formaciones epidérmicas de aves y mamíferos. Los esteroides (de estructuras tetracíclicas) dan lugar a una enorme variedad de biomoléculas activas como hormonas (testosterona, estrógenos) esteroides, toxinas y venenos. Y los terpenos dan lugar a una enorme variedad de aceites esenciales que dan su olor característico a muchos frutos, caucho y algunas vitaminas.

Las grasas animales y los aceites vegetales son los lípidos (**triacilgliceroles o triglicéridos**) que se encuentran con mayor abundancia en la naturaleza; aunque parecen diferentes sus estructuras están estrechamente relacionadas, son triésteres del glicerol con tres ácidos carboxílicos de cadena larga.

En los aceites se define el índice de acidez, en general muy variable pero su determinación es importante tanto en los aceites comestibles como en los lubricantes, porque no pueden tener más de un límite dado. La acidez en realidad no guarda relación con las características sensoriales del mismo sino que tiene que ver con la cantidad de ácidos grasos libres que éste contiene. En general se expresa como el porcentaje de acidez, que indica el % del ácido predominante en el material. Por ejemplo, en aceites es el ácido oleico, en jugo de frutas es el ácido cítrico y en leche es el ácido láctico. Un aceite se define extra virgen cuando su acidez es inferior al 1%.

Comúnmente, la acidez se determina mediante la valoración (volumetría) con un reactivo básico mediante una titulación donde la reacción produce un cambio de color en el indicador. El indicador más común es la fenoftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), que vira a color rosa, y el agente titulante es una base que depende del ácido a determinar, por ejemplo, KOH (para ácido oleico) y NaOH (para ácido láctico).

1.1 Objetivos:

- Comprobar la solubilidad de ciertos lípidos.
- Determinar el índice de acidez de diferentes aceites.

1.2 Materiales:

1. Vasos de precipitados
2. Soporte para bureta,
3. Bureta de 25 ml
4. Varios tipos de aceites (maíz, oliva, girasol, soja, almendras, chía)
5. Manteca
6. Etanol
7. KOH, 0.1 N.
8. Indicador: fenolftaleína
9. Agua destilada

1.3 Ensayo de Solubilidad/Emulsiónamiento :

1.3.1 Procedimiento:

1. Colocar en tubos de ensayos diferentes 0.5 g de manteca, aceite de girasol y de oliva.
2. Añada a cada tubo 2 ml de agua destilada. Agite y anote los resultados, inmediatamente después de la agitación y posteriormente al reposo.
3. Repita el procedimiento colocando en lugar del agua destilada 2 ml de etanol y luego éter de petróleo. Agite y anote los resultados, inmediatamente después de la agitación y posteriormente al reposo.

Lípido	Estado físico	Color	Olor	Solubilidad en agua	Solubilidad en alcohol	Solubilidad en éter de petróleo

¿Qué diferencias encuentra entre los lípidos observados? ¿Por qué a temperatura ambiente algunos son sólidos y otros líquidos?

1.4 Ensayo de acidez

1. Pesar 5 g ($\approx$ 5,5 ml) de una muestra de aceite en un vaso de precipitado y agregar 10 ml de etanol (V_1).
2. Preparar en otro vaso de precipitados un blanco, reemplazando los 5 g de aceite por 5 ml de agua destilada y 10 ml de etanol (V_2).
3. Titular con KOH 0,1 N y 3 gotas de fenolftaleína al 1 % hasta color rosado persistente.
4. Al volumen de KOH gastado en la titulación del aceite (V_1) se resta el volumen de KOH del blanco (con agua destilada, V_2). De esta manera se calcula el índice de acidez.
5. Repetir el ensayo con diferentes aceites.
6. Registrar y analizar.

Aceite de	Blanco	Maíz	Oliva	Girasol	Canola	Almendras	Chía
ml de KOH							
Índice de acidez							

2.- Proteínas

Las proteínas son biomoléculas grandes que se encuentran en todo organismo viviente. Existen muchos tipos y tienen funciones biológicas diferentes. La queratina de la piel y las uñas, la fibroína de la seda, las telas de la araña y la mayor parte de las enzimas que catalizan las millares de reacciones biológicas dentro de las células son proteínas.

Sin importar su función, todas las proteínas están constituidas de muchas unidades de aminoácidos enlazados en una cadena larga. Los aminoácidos, como su nombre lo indica, son bifuncionales, contienen un grupo amino básico, y un grupo carboxilo ácido. Su valor como bloques biológicos de construcción proviene del hecho de que pueden asociarse en grandes cadenas formando enlaces amida entre el grupo $-NH_2$ de un aminoácido y el grupo $-COOH$ de otro.

Son más complejas desde el punto de vista estructural que el resto de las biomoléculas. Mientras que los hidratos de carbono y las grasas están compuestas de C, H y O, las proteínas tienen en su mayoría N, S y P.

Una forma de clasificarlas es en **fibrosas** o **globulares**, según su forma tridimensional. Las **proteínas fibrosas** (colágeno y queratina) consisten en cadenas de polipéptidos, arregladas lado a lado en largos filamentos. Sirven para construir materiales estructurales como tendones, pezuñas, cuernos y músculos. Las **proteínas globulares** (hemoglobina, albúmina de huevo x ej.), en cambio, suelen estar enrolladas en formas semiesféricas y compactas; son solubles en agua (a diferencia de las anteriores) y se mueven dentro de la célula. La mayor parte de los varios millares de enzimas conocidas son proteínas globulares. El enrollamiento de estas proteínas se debe a las débiles atracciones intermoleculares existentes. Con frecuencia, un ligero cambio en la temperatura o en el pH altera la estructura terciaria (enrollamiento) y causa que la proteína se desnaturalice. La **desnaturalización** es un proceso irreversible y se efectúa en condiciones tan suaves que la estructura primaria permanece intacta (secuencia de aminoácidos), pero la terciaria se desdobra de una forma globular específica a una cadena enrollada al azar. Esta desnaturalización produce cambios en las propiedades físicas y biológicas, como la disminución de la solubilidad (coagulación). La mayor parte de las enzimas pierden su actividad catalítica cuando se desnaturalizan, debido a que para su acción se necesita una estructura terciaria definida con precisión.

2.1 Objetivos:

- Determinar algunas propiedades químicas de las proteínas
- Producir desnaturalización de proteínas bajo diferentes condiciones

2.2 Desnaturalización de la albúmina

2.2.1 Materiales:

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1. Solución de clara de huevo (4 huevos) | 5. Solución concentrada de NaOH (20%) |
| 2. 4 Tubos de ensayo | 6. Batidor |
| 3. Etanol | 7. Agua destilada |
| 4. Ácido clorhídrico concentrado | 8. Lienzo filtrador |

2.2.2 Procedimiento

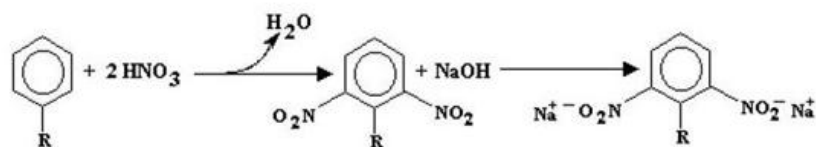
1. Preparación de solución de clara de huevo (albúmina): Batir claras de 4 huevos en 1 litro de agua destilada hasta que la proteína quede dispersa, filtrar la dispersión a través de un lienzo doblado varias veces para eliminar materias fibrosas.
2. Poner 2 ml de la solución de clara de huevo en 4 tubos de ensayo, numerados del 1 al 4.

3. Al 1º calentarlo gradualmente y observar a qué temperatura aproximada se produce la coagulación.
4. Al 2º agregarle 4 ml de etanol.
5. Al 3º agregarle unas gotas de ácido clorhídrico concentrado.
6. Al 4º agregarle 4 ml de solución concentrada de hidróxido de sodio.
7. Observar en qué casos ocurre coagulación (pérdida de solubilidad) y analizar qué características posee el proceso con cada reactivo.

2.3 Prueba del anillo de Héller para proteínas (Ensayo de Xantoproteíco)

La reacción xantoprotéica es un método que se puede utilizar para determinar la presencia de proteínas solubles en una solución, empleando ácido nítrico concentrado. La prueba da resultado positivo en aquellas proteínas con aminoácidos portadores de grupos aromáticos. Si una vez realizada la prueba se neutraliza con un álcali, se torna color amarillo oscuro.

Esta reacción se debe a la formación de un compuesto aromático nitrado de color amarillo, cuando las proteínas son tratadas con ácido nítrico concentrado. Generalmente, se forma primero un precipitado blanco que cambia a amarillo al calentarlo. El color se empieza a tornarse anaranjado cuando la solución se vuelve básica. La prueba da resultado positivo en aquellas proteínas con aminoácidos portadores de grupos bencénicos, tirosina, fenilalanina y triptofano, obteniéndose nitrocompuestos de color amarillo, que se vuelven anaranjados en medio fuertemente alcalino (formación del ácido pirámico o trinitrofenol). En esta prueba se produce la nitración del anillo bencénico presente en dichos aminoácidos.



2.3.1 Materiales

1. Solución de clara de huevo
2. 1 Tubo de ensayo
3. Acido nítrico concentrado

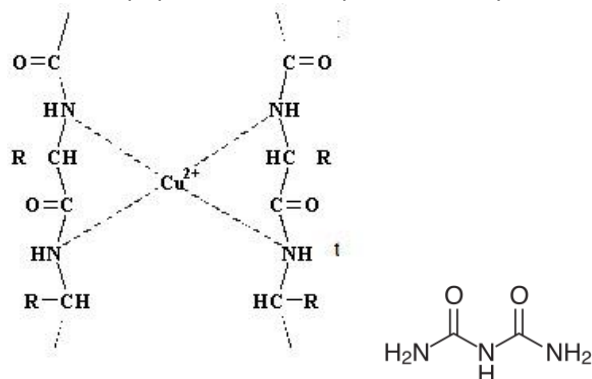
2.3.2 Procedimiento

Coloque 4 ml de solución de clara de huevo en un tubo de ensayo. Incline el tubo y con un cuentagotas coloque 2 ml de ácido nítrico por debajo de la solución de clara de huevo. Observe la precipitación en las interfaces de ambas capas.

2.4 Reacción de Biuret

La presencia de proteínas en una mezcla se puede determinar mediante la reacción del Biuret. El reactivo de Biuret contiene CuSO_4 en solución acuosa alcalina (gracias a la presencia de NaOH o KOH). La reacción se basa en la formación de un compuesto de color violeta, debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones Cu^{2+} y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos presentando un máximo de absorción a 540 nm (por

espectrofotómetro). Esta reacción la producen los péptidos y las proteínas, pero no los aminoácidos ya que se debe a la presencia del enlace peptídico CO-NH que se destruye al liberarse los aminoácidos.



2.4.1 Materiales

1. Reactivo de Biuret (1.5 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 6.0 g de tartrato de sodio y potasio. Disolver en 500 ml de agua destilada, agregar 300 ml de solución de NaOH al 10% y aforar a 1000 ml). Se conserva en un frasco oscuro para evitar acción de la luz.
2. 5 Tubos de ensayo
3. Solución de clara de huevo
4. Solución de Gelatina sin sabor
5. Leche
6. Azúcar
7. Ácido acético o vinagre.
8. Papel de filtro
9. Platina calefactora

2.4.2 Procedimiento

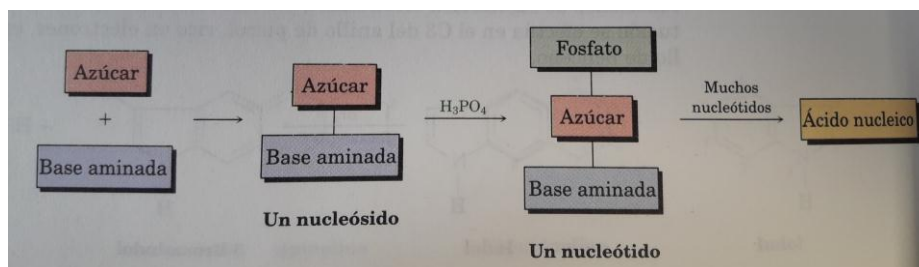
1. Colocar 2 ml de leche en un tubo de ensayo, calentar a 40°C y agregar unas gotas de ácido acético/vinagre. Se extrae el sólido por filtración y se coloca en otro tubo de ensayo.
2. Colocar 2 ml de clara de huevo, de solución de gelatina, solución de azúcar en diferentes tubos de ensayos.
3. Agregar a cada tubo en gotas el reactivo de Biuret.
4. Observar y registrar los resultados.

Nota: Preparación del Reactivo de Biuret: Se pesa 1,5 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 6,0 g. de tartrato de sodio y potasio. Se disuelve en 500 ml de agua destilada y se adiciona 300 ml de una solución de NaOH al 10%. Se afora a 1000 ml con agua destilada. Finalmente el reactivo de Biuret se guarda en un frasco ámbar y se conserva en refrigeración.

3.- Ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos – ácidos desoxirribonucleicos (ADN) y ácidos ribonucleicos (ARN)- son los mensajeros químicos de la información genética de una célula. En el ADN de las células está codificada toda la información que determina la naturaleza de la misma; regula su desarrollo y división, y dirige la biosíntesis de las enzimas y de otras proteínas necesarias para todas las funciones celulares.

Al igual que las proteínas, son biopolímeros formados por unidades de aminoácidos, los ácidos nucleicos son biopolímeros formados por nucleótidos, reunidos para formar una larga cadena. Cada nucleótido está compuesto de un nucleósido enlazado a un grupo fosfato, y cada nucleósido está compuesto por un azúcar aldopentosa unida a una base heterocíclica, purina o pirimidina.



El componente azúcar en los ARN es la ribosa y en los ADN es 2' –desoxirribosa (el prefijo 2'-desoxi indica que falta el oxígeno de la posición 2' de la ribosa).

En los desoxirribonucleótidos hay cuatro bases aminadas heterocíclicas. Dos son piridinas sustituidas (adenina y guanina) y dos son pirimidinas sustituidas (citosa y timina).

Las moléculas de ADN son enormes, tienen pesos moleculares hasta de 150 mil millones y longitudes de hasta 12 cm cuando se les estira; se encuentran principalmente en el núcleo de las células.

3.1 Materiales

1. Vaso de precipitados de 500 ml
2. Vaso de precipitados de 250 ml
3. Licuadora
4. Cuchara plástica
5. 2 filtros de café N°2 (conos)
6. 20 ml de agua destilada
7. Champú color claro
8. 1 banana
9. Sal de mesa
10. Etanol al 95%
11. Conservadora con hielo
12. 1 varilla de vidrio o pipeta pasteur

3.2 Procedimiento

1. Colocar en un tubo de ensayo alcohol al 95% y refrigerar.
2. Colocar en un vaso de precipitados de 500 ml la banana junto con 200 ml de agua destilada y licuar hasta obtener un buen mezclado, llamaremos a esto solución A.

3. En otro vaso de precipitados de 250 ml colocar una cucharada de champú y dos pizcas de sal. Agregar 20 ml de agua destilada y mezclar suavemente sin hacer espuma. Solución B.
4. Luego agregar 3 cucharadas de la solución A y colocar en agitación durante 10 minutos.
5. Posteriormente filtrar la solución agitada hasta conseguir al menos 5 ml de la solución filtrada C.
6. Tomar dos tubos de ensayo con alcohol frío (debe estar lo más frío posible para obtener buenos resultados).
7. Llenar la pipeta plástica con la solución A y agregarla al alcohol. Repetir con la solución C. Dejar reposar de 2 a 3 minutos sin mover. Importante no batir el tubo de ensayo. Luego observar y registrar los resultados.

Nota: El ADN tiene la apariencia de mucus blanco y fibroso y no es soluble en alcohol. Cuando el alcohol se agrega a la mezcla, los componentes, excepto el ADN, permanecen en la solución y el ADN precipita. Cuando se obtienen buenos resultados habrá suficiente ADN para levantar con una varilla de vidrio (el ADN se enrolla a la varilla).

Nota Final: Tratamiento de Residuos Peligrosos. Según Ley Provincial N°11720 de Residuos Especiales, los desechos de esta práctica deberán desecharse en bidón de plástico bajo el rótulo de Y8 (desechos de aceites minerales) (punto 1) y con el rótulo de Y22 (compuestos de Cobre) para los de la sección 2.4. Neutralizar el resto.