



Docente: Mario Castillo Mendoza

Asignatura: Bioquímica

Semestre: segundo semestre

Año: 2014

Laboratorio: Preparación de Soluciones e identificación de Monosacáridos, disacáridos, polisacáridos
Proteínas

Introducción:

- Una **disolución** es una mezcla homogénea a nivel molecular o iónico de dos o más sustancias, que no reaccionan entre sí, cuyos componentes se encuentran en proporción que varía entre ciertos límites. Describe un sistema en el cual una o más sustancias están mezcladas o disueltas en forma homogénea en otra sustancia. También se puede definir como una mezcla homogénea formada por un disolvente y por uno o varios solutos.
- Los carbohidratos o hidratos de carbono proporcionan hasta un 70% de la energía que nuestro cuerpo necesita, además son la principal fuente de energía del cuerpo y se pueden encontrar en el pan, los cereales (trigo, maíz, arroz, avena), y verduras como, las patatas, así como a base de frutas.
La mayoría de los carbohidratos que necesita el cuerpo provienen de los alimentos en los niveles dos y tres de la pirámide alimentaria.
- La proteína es esencial para el desarrollo de los músculos, huesos, piel, tendones y órganos del cuerpo; además son los componentes básicos del cuerpo para reparar y reemplazar los tejidos dañados, una dieta bien balanceada debe tener suficiente proteína, en el deporte la dieta de un atleta debe tener alrededor de 15% de proteína en la misma.

Materiales y reactivos:

1. Tubos de ensayo
2. -Probetas de 10 mL
3. -Vasos de precipitado 50, 500 mL
4. -Goteros
5. -Gradillas
6. -Pinzas para tubos de ensayo
7. -Crayones
8. -Botellín de lavado
9. -Servilletas
10. -Gafas protectoras
11. -Soluciones de carbohidratos al 1%: glucosa, maltosa, manosa, ribosa, galactosa, fructosa, sacarosa, lactosa
12. -Reactivo de Ninhidrina
13. -Reactivo de Biuret
14. -Reactivo de Millón
15. -HNO₃ concentrado
16. -NH₄OH concentrado
17. -Reactivo de Molish
18. -H₂SO₄ concentrado
19. -Reactivo de Benedict

EXPERIMENTACIÓN: IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS (PARTE 2)

EXPERIMENTACIÓN: IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS (PARTE 2)



REACCIÓN DE MOLISCH

Esta reacción sirve para el reconocimiento de todo tipo de azúcares. Los azúcares, en medio ácido fuerte se deshidratan formando furfurales. Estos furfurales al reaccionar con el α -naftol originan complejos de intenso color.

Procedimiento:

1. Pipetear en un tubo de ensayo **2 ml de disolución de azúcar** problema
2. Anadir **2 gotas de α -naftol al 1%** y mezclar bien.
3. Con una pipeta se deja deslizar por la pared del tubo de ensayo **2 ml de ácido sulfúrico 1 N** con mucho cuidado procurando que no se mezcle para que forme una capa bajo la disolución de azúcar.

En la superficie de separación de ambas capas se producirá la deshidratación del azúcar y su reacción con el α -naftol formándose un anillo de color oscuro en dicha interfase. Ayudar la reacción con calor en baño maría. **Molisch positivo: anillo violeta oscuro.**

REACCIÓN DE FEHLING

Esta prueba se utiliza para el reconocimiento de azúcares reductores. El poder reductor que pueden presentar los azúcares proviene de su grupo carbonilo, que puede ser oxidado a grupo carboxilo con agentes oxidantes suaves. Si el grupo carbonilo se encuentra combinado no puede presentar este poder reductor.

Los azúcares reductores, en medio alcalino, son capaces de reducir el ion Cu^{2+} de color azul a Cu^+ de color rojo. Para ello el grupo carbonilo del azúcar se oxida a grupo carboxilo. En medio fuertemente básico como en nuestro caso el NaOH el ion Cu^{2+} formaría $\text{Cu}(\text{OH})_2$ insoluble por eso añadimos tartrato sódico potásico que actúa como estabilizador al formar un complejo con el Cu^{2+} .

Procedimiento:

1. Mezclar en un tubo de ensayo:
Fehling A (CuSO_4) **2 ml**
Fehling B (Tartrato/NaOH) **2 ml**
2. Agitar y **calentar a ebullición** (aproximadamente 1 min).
3. Anadir **1 ml de la disolución de azúcar** y hervir durante un minuto.

Si se reduce el cobre se forma un precipitado de **Cu_2O de color rojizo**. **Fehling positivo: color rojizo.**

REACCIÓN DE LUGOL:

Agregar a 2 ml de la muestra 4 gotas de lugol. Observe la reacción.

REACCIÓN DE BENEDICT

Esta prueba sirve para el reconocimiento de azúcares reductores. Se basa en la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ en medio básico débil. Aunque es similar a la reacción de Fehling, el medio básico débil (HNaCO_3) y el estabilizante (citrato sódico) usados hacen que este test sea más sensible y estable.

Procedimiento:

1. Pipetear en un tubo de ensayo 5 ml de reactivo de Benedict
2. Calentar a ebullición.
3. Anadir 1 ml de la solución de azúcar, mezclar bien y volver a calentar a ebullición.



Si la reacción es positiva aparece un **precipitado rojizo**, aunque si la cantidad de azúcar es pequeña puede **dar color anaranjado o verdoso.**

REACCIÓN DE BIURET

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.

Cuando una proteína se pone en contacto con un álcali concentrado, se forma una sustancia compleja denominada Biuret.

Debido a dicha reacción fue que observamos que al agregar el reactivo de sulfato de cobre mas solución de proteína precipito una coloración violeta. **Quedando en el fondo del tubo una tonalidad azul cielo reacción positiva. Precipitando a una coloración amarilla la reacción nos torna negativa al no haber presencia de proteínas.**

Identificación de proteínas mediante la reacción el Biuret

1. Vierte 1,5 ml de disolución de albúmina en un tubo de ensayo. Utiliza una pipeta graduada.
 2. Añade al tubo de ensayo 0,5 ml de NaOH (crea un medio básico, para que pueda actuar el Cu) y 4 ó 5 gotas de CuSO₄.
 3. Agita el tubo de ensayo hasta obtener una mezcla homogénea.
- Color** de la reacción oscila entre azul, violeta y rosa, dependiendo de la naturaleza de la proteína detectada.