

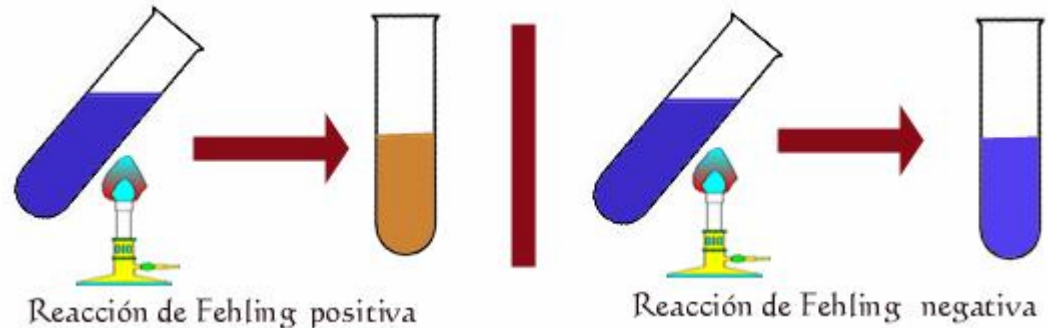
TRABAJO PRACTICO 1

DETECCION DE BIOMOLECULAS

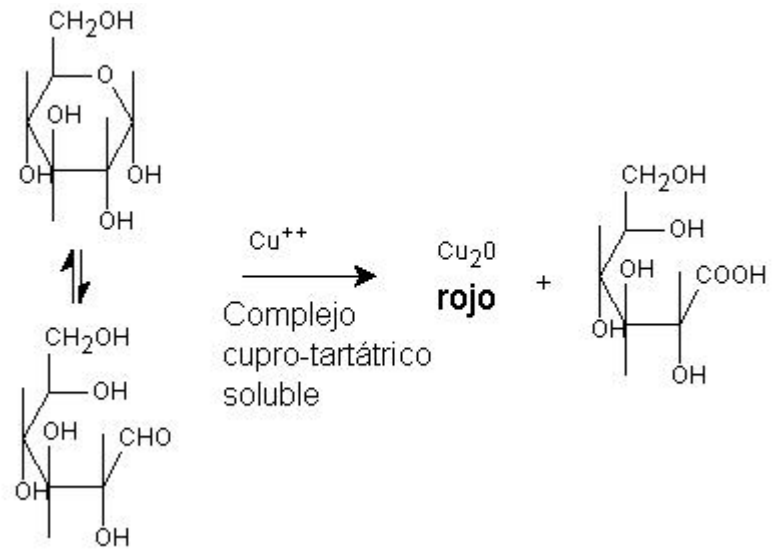
Lic. Gastón Westergaard

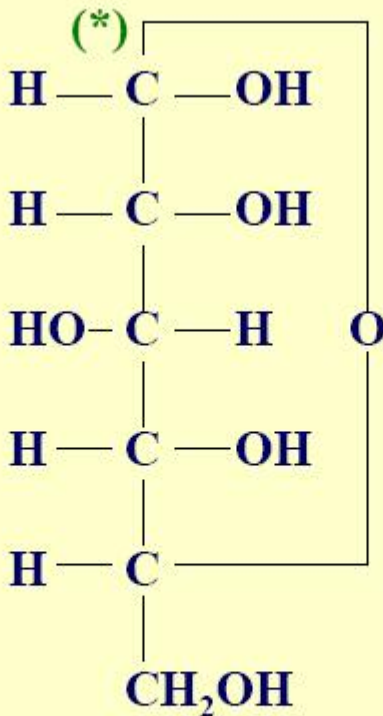
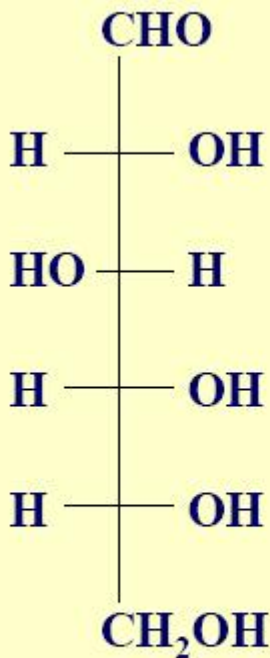
2. Test para la detección de azúcares simples reductores.

Se basa en el carácter reductor de los monosacáridos y de la mayoría de los disacáridos (excepto la sacarosa). Si el glúcido que se investiga es reductor, se oxidará dando lugar a la reducción del sulfato de cobre (II), de color azul, a óxido de cobre (I), de color rojo-anaranjado.

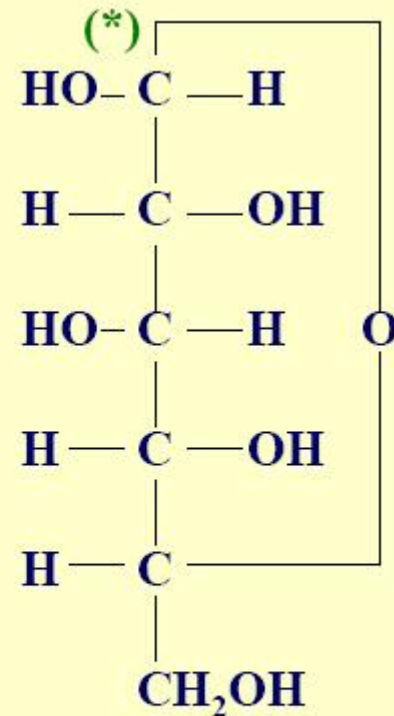


Todos los azúcares que contienen un grupo **hemiacetal** dan pruebas **positivas**. Los carbohidratos que solo contienen grupos **acetal** dan pruebas **negativas** con estas soluciones y se llaman azúcares no reductores.





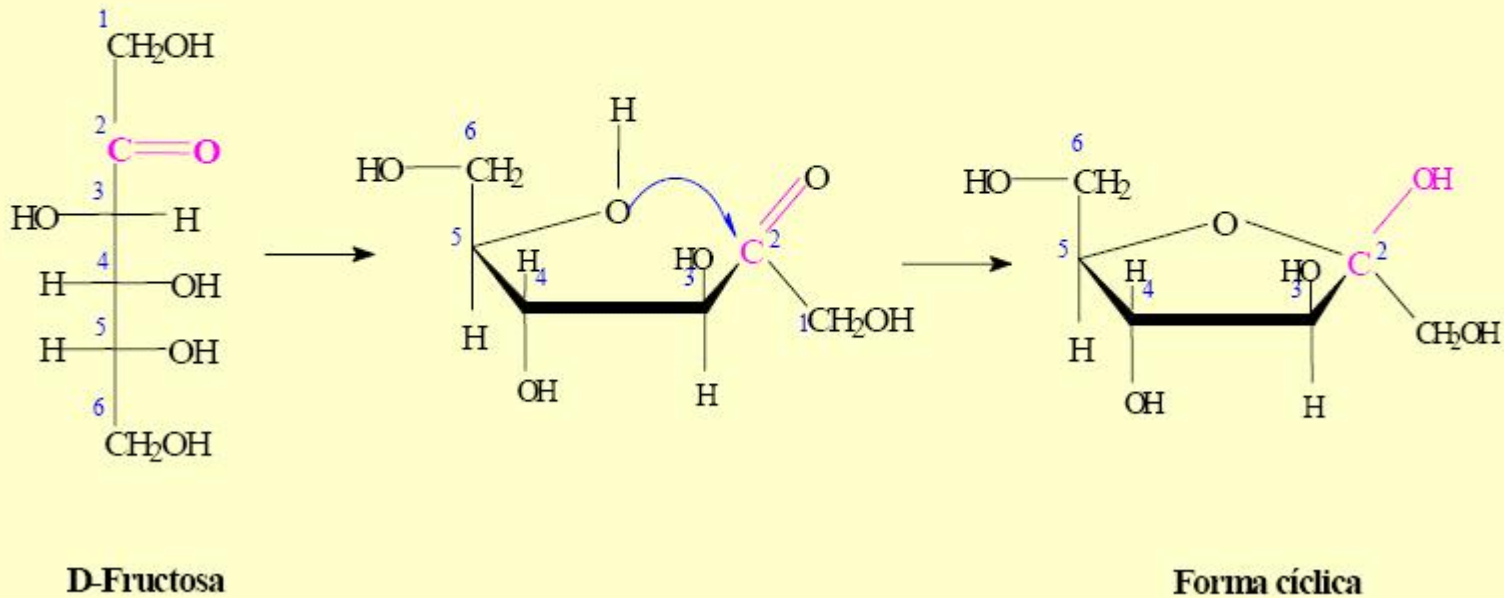
α - D - glucosa



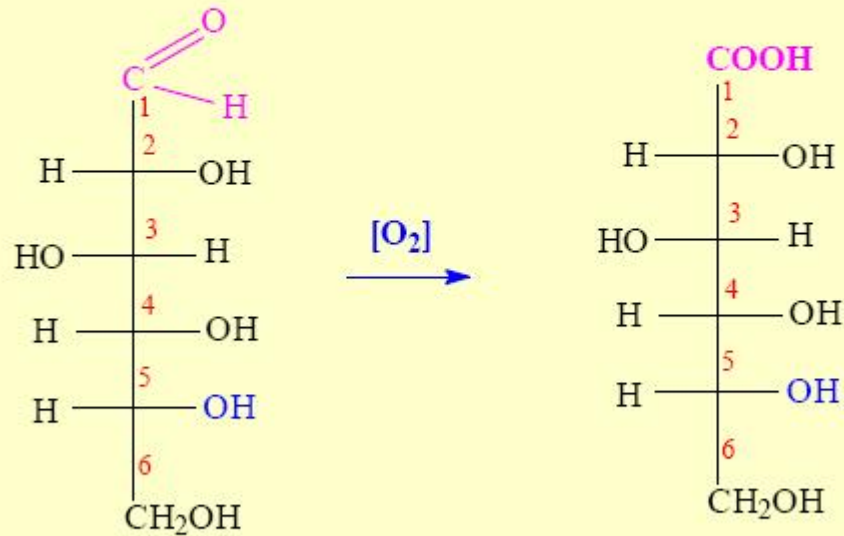
β - D - glucosa

(*) Carbonos hemiacetálicos

FORMA HEMIACETAL CICLICA DE LA FRUCTOSA

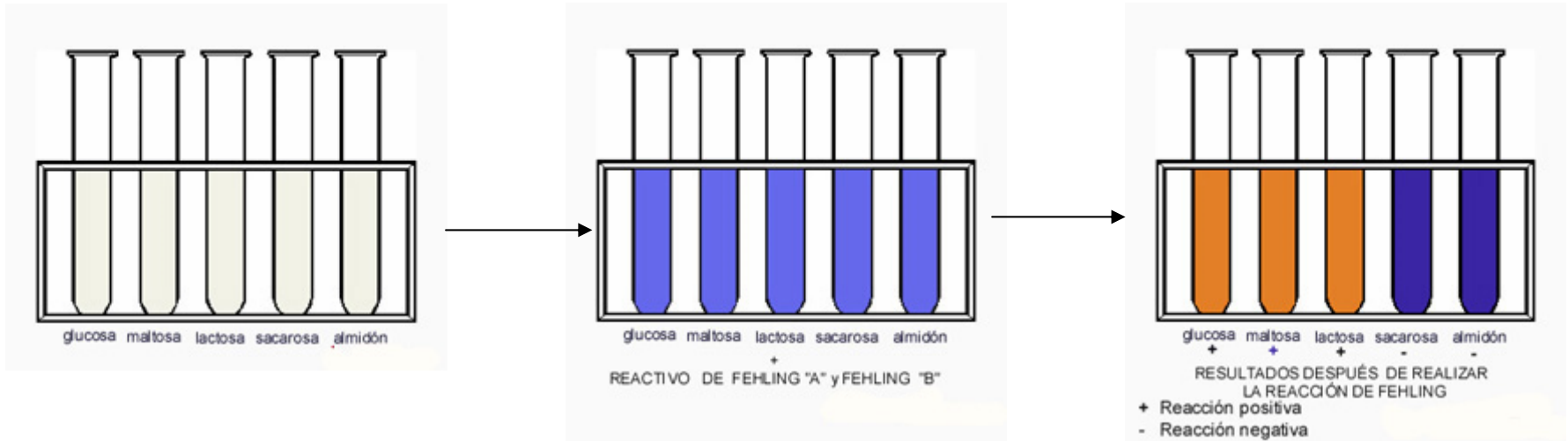


OXIDACION DE MONOSACARIDOS AZUCARES REDUCTORES



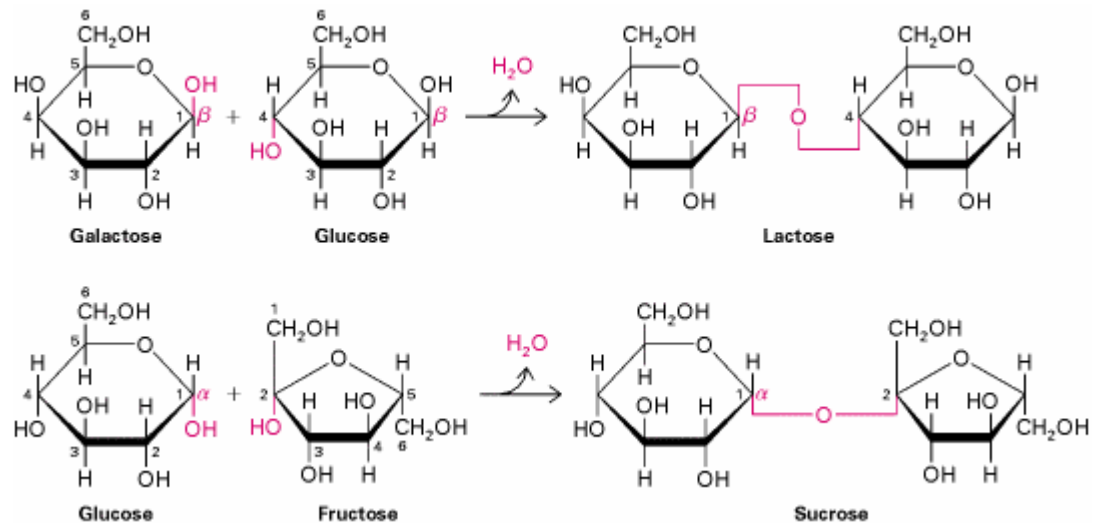
Glucosa

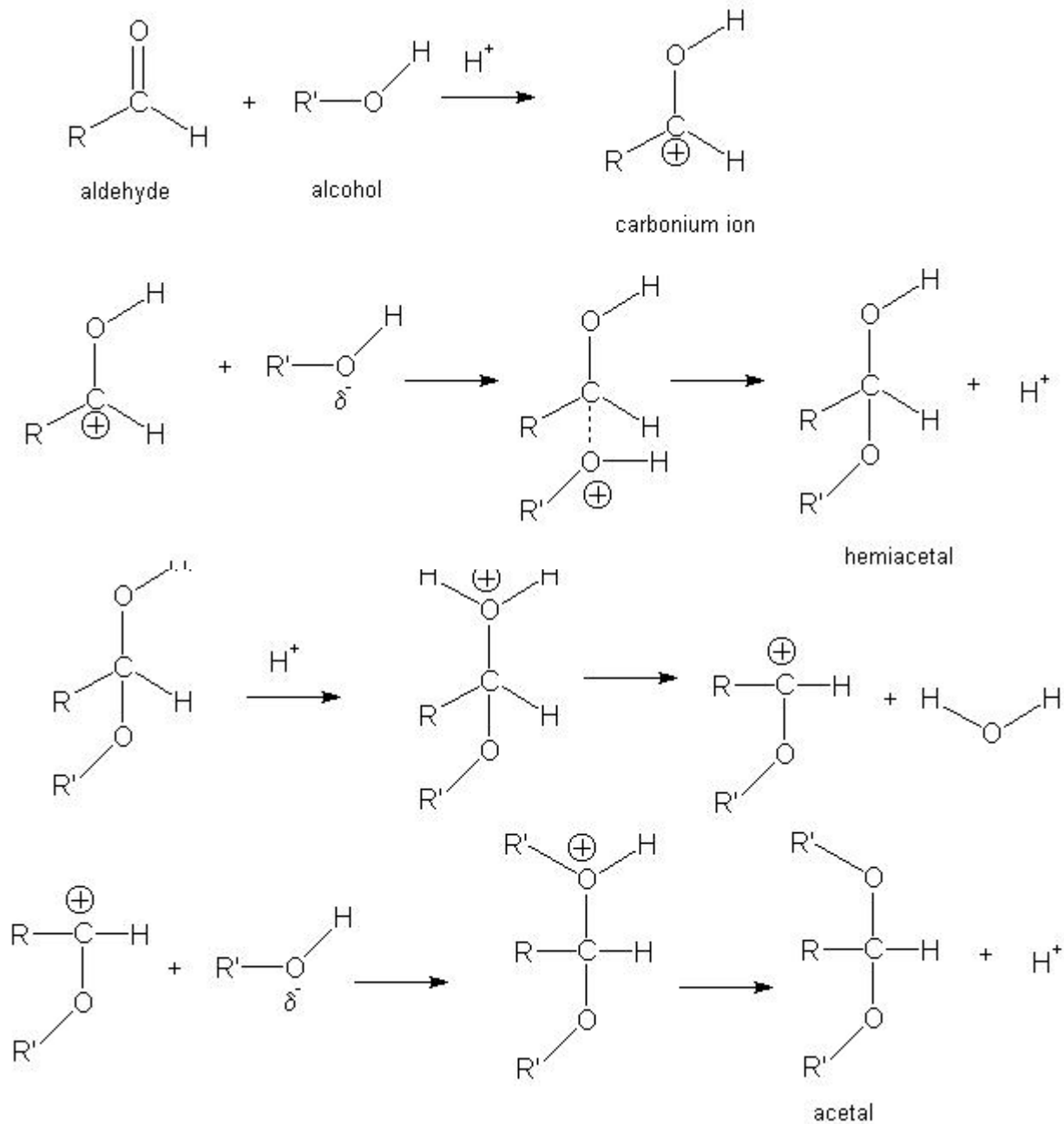
Acido Gluconico



Miel: contiene un 80 % de azúcar en forma de fructosa

Manzana: Un 85% de su composición es agua, por lo que resulta muy refrescante e hidratante. Los azúcares, la mayor parte fructosa (azúcar de la fruta) y en menor proporción, glucosa y sacarosa





3. Test para la detección de almidón.

El polisacárido almidón se colorea de azul-violeta en presencia de yodo, debido no a una reacción química, sino a la fijación del yodo en la superficie de la molécula del almidón, fijación que sólo tiene lugar en frío.



Polisacáridos

Los polisacáridos son monosacáridos unidos entre sí por uniones glucosídicas en largas cadenas.

Pueden o no tener el mismo tipo de monosacárido como eslabón en esas cadenas.

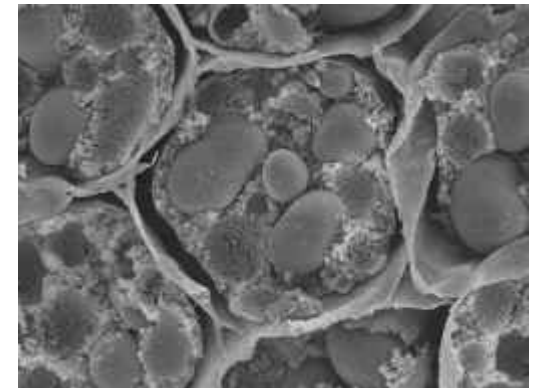
Los principales son: **almidón, celulosa y glucógeno.**

El **almidón** es la forma principal de almacenamiento de glucosa en la mayoría de las plantas. Es fabricado por las plantas verdes durante la fotosíntesis.

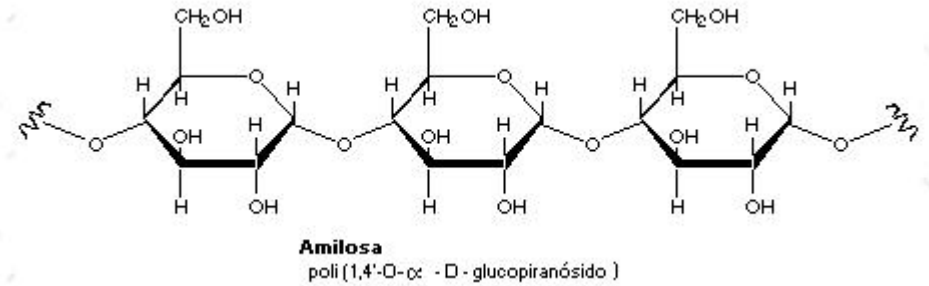
Forma parte de las paredes celulares de las plantas y de las fibras de las plantas rígidas.

A su vez sirve de almacén de energía en las plantas, liberando energía durante el proceso de oxidación en dióxido de carbono y agua.

Los gránulos de almidón de las plantas presentan un tamaño, forma y características específicos del tipo de planta en que se ha formado el almidón

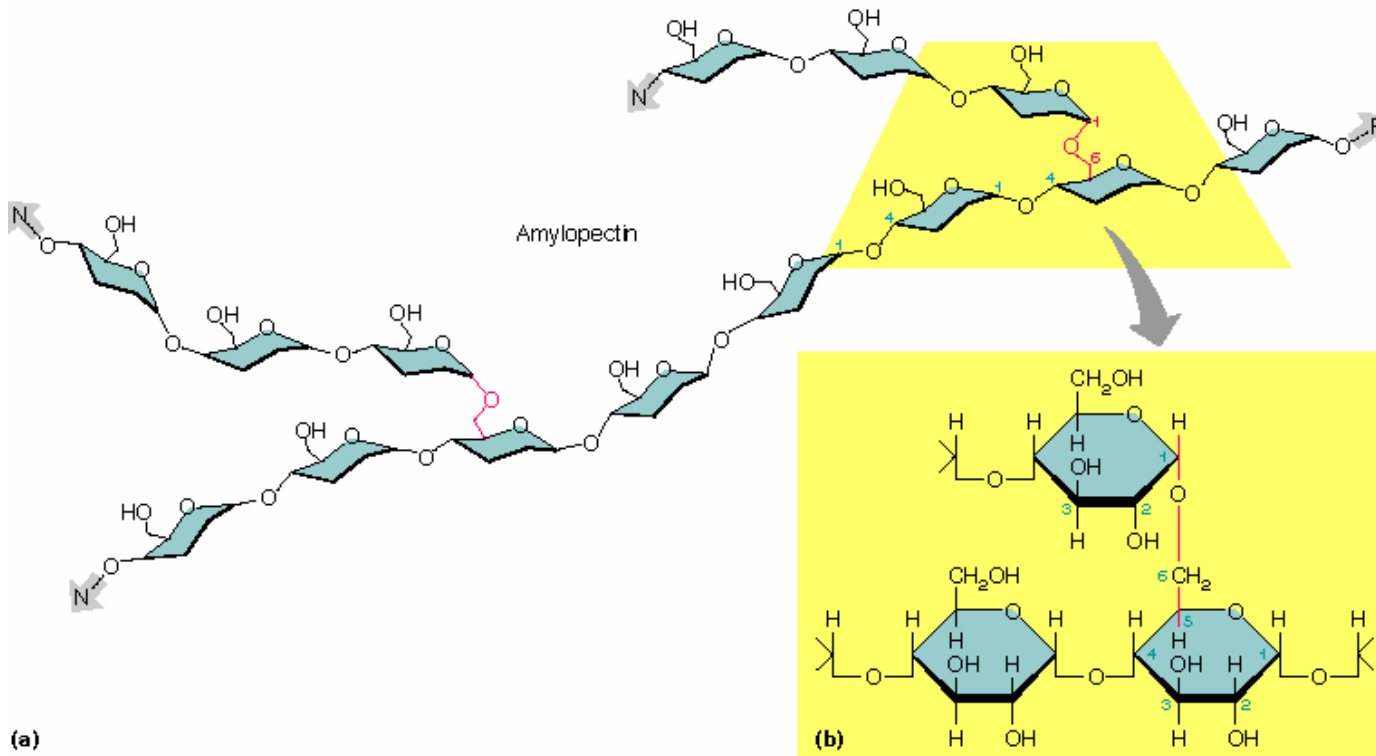


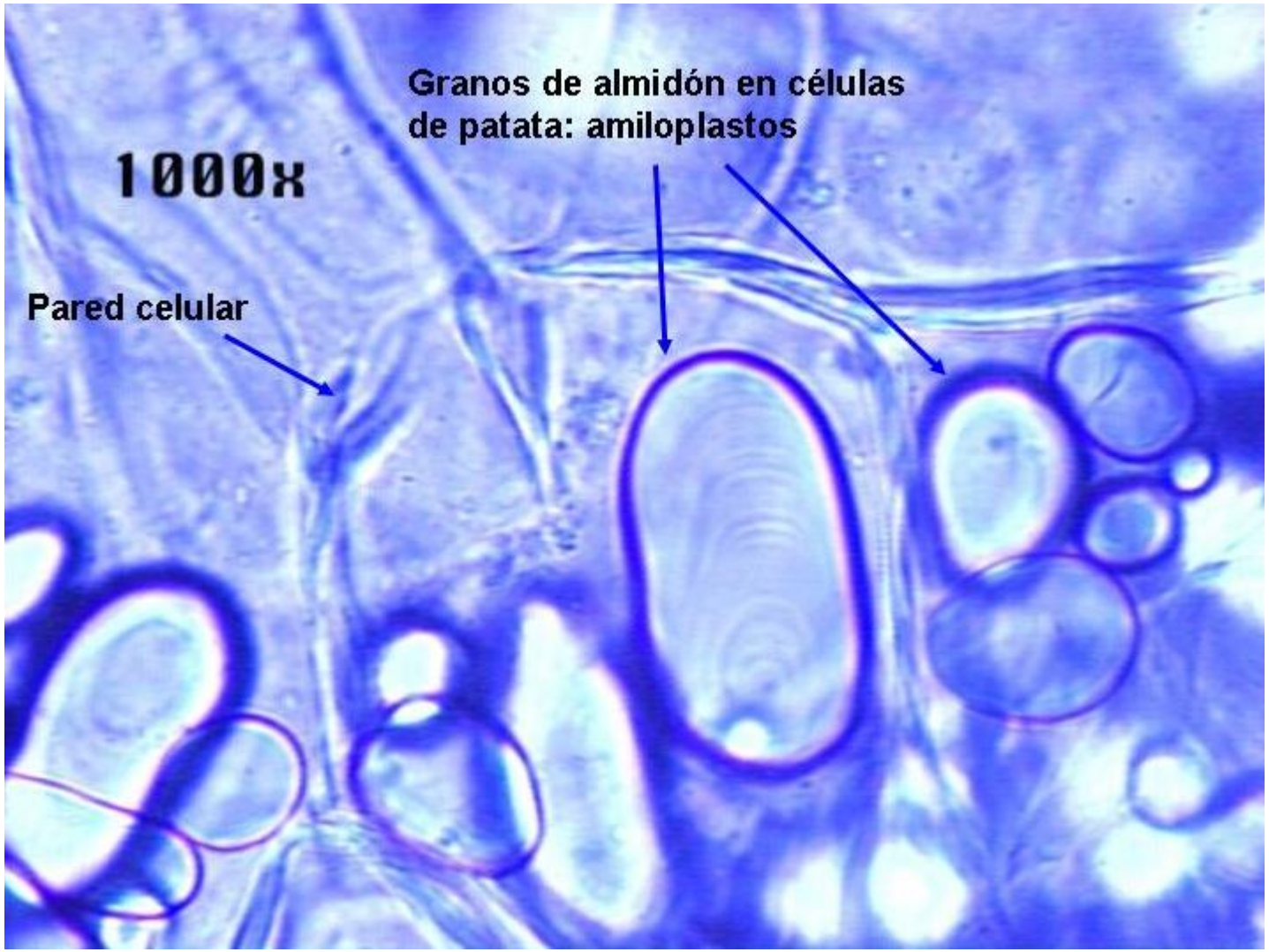
Existe en dos formas: En el primero, la **amilosa**, que constituye el 20 % del almidón ordinario, los grupos están dispuestos en forma de cadena continua y rizada, semejante a un rollo de cuerda;



En el segundo tipo, la **amilopectina**, se produce una importante ramificación lateral de la molécula.

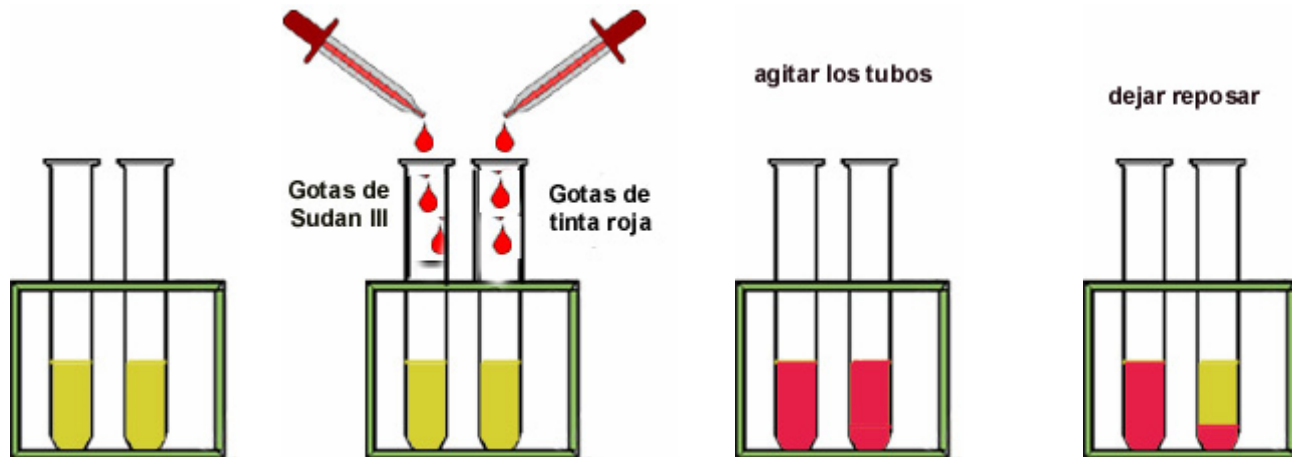
Pero ambas están formadas por unidades de glucosa unidas entre si por enlaces glicosídicos alfa 1-4.



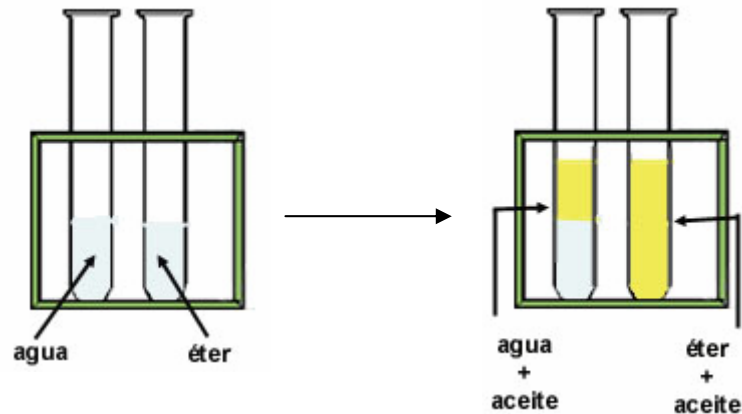


Test para la detección y el reconocimiento de algunas propiedades de los lípidos.

Las grasas se colorean en rojo anaranjado por el colorante denominado Sudan III.



Las grasas son insolubles en agua. Cuando se agitan fuertemente en ella se dividen en pequeñísimas gotitas formando una "emulsión" de aspecto lechoso, que es transitoria, pues desaparece en reposo, por reagrupación de las gotitas de grasa en una capa que por su menor densidad se sitúa sobre la de agua. Por el contrario, las grasas son solubles en los llamados disolventes orgánicos como el éter, benceno, xilol, cloroformo, etc.



Test para la detección de proteínas.

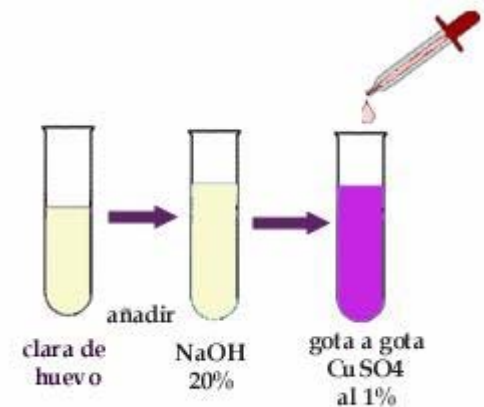
REACCION DEL BIURET

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**, de fórmula:

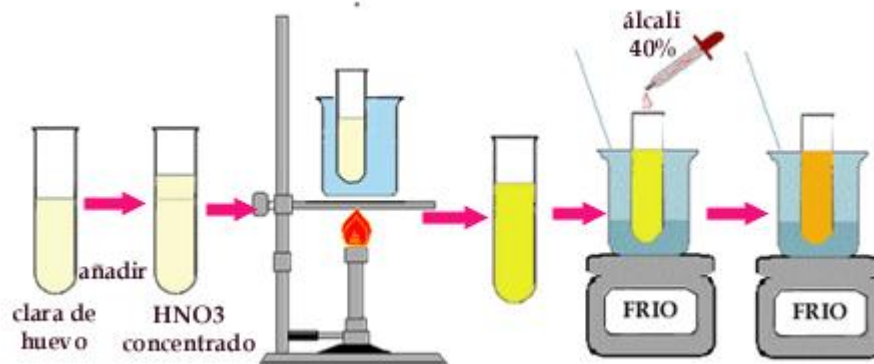


que en contacto con una solución de sulfato cúprico diluída, da una coloración violeta característica.



REACCION XANTOPROTEICA

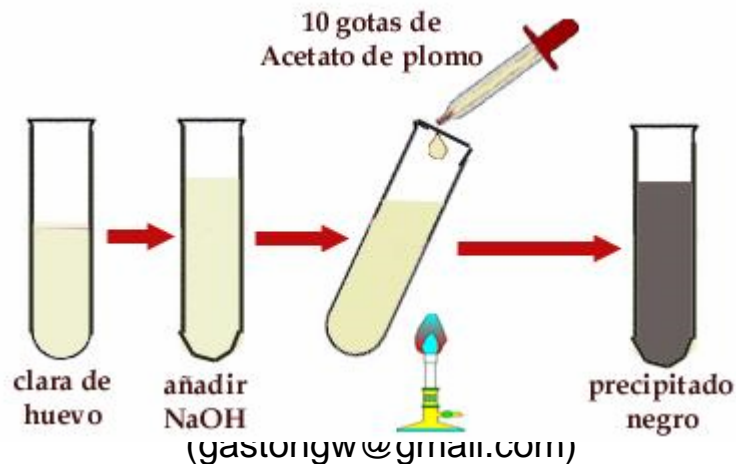
Es debida a la formación de un compuesto aromático nitrado de color amarillo, cuando las proteínas son tratadas con ácido nítrico concentrado. La prueba da resultado positivo en aquellas proteínas con aminoácidos portadores de grupos bencénicos, especialmente en presencia de tirosina. Si una vez realizada la prueba se neutraliza con un álcali vira a un color anaranjado oscuro.



REACCION DE AMINOACIDOS AZUFRADOS

Se pone de manifiesto por la formación de un precipitado negruzco de sulfuro de plomo. Se basa esta reacción en la separación mediante un álcali, del azufre de los aminoácidos, el cual al reaccionar con una solución de acetato de plomo, forma el sulfuro de plomo.

1. Poner en el tubo de ensayo de 2 a 3 cc. de albúmina de huevo (clara de huevo).
2. Añadir 2 cc. de solución de hidróxido sódico al 20%.
3. Añadir 10 gotas de solución de acetato de plomo al 5%.
4. Calentar el tubo hasta ebullición.
5. Si se forma un precipitado de color negruzco nos indica que se ha formado sulfuro de plomo, utilizándose el azufre de los aminoácidos, lo que nos sirve para identificar proteínas que tienen en su composición aminoácidos con azufre.

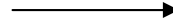


Extracción de ácidos nucleicos.

- Hígado de pollo
- Varilla de vidrio
- Mortero
- Vasos de precipitado
- Pipeta
- Probeta
- Alcohol de 96:
- Cloruro sódico 2M
- SDS
- Arena
- Trozo de tela para filtrar



Triturar medio higadito de pollo en un mortero. Añadir arena para que al triturar se puedan romper las membranas de y queden los núcleos sueltos.



Añadir al triturado, 50 centímetros cúbicos de agua. Remover hasta hacer una especie de papilla o puré.

Filtrar varias veces sobre una tela para separar los restos de tejidos que hayan quedado por romper



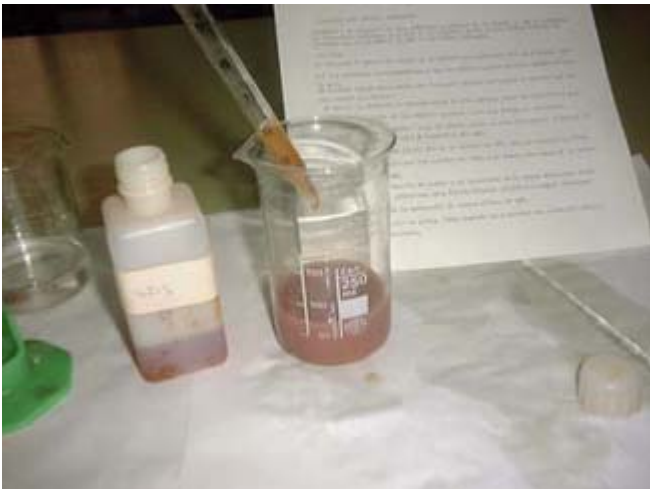
Medir el volumen del filtrado con una probeta



Añadir al filtrado un volumen igual de cloruro sódico 2M. Con ésto conseguimos producir el estallido de los núcleos para que queden libres las fibras de cromatina.



A continuación se añade 1 centímetro cúbico de SDS. (Nota: Si no se dispone de este producto puede sustituirse por un detergente de vajillas, tipo Mistol o similar). La acción de este detergente es formar un complejo con las proteínas y separarlas del ADN. Así nos quedará el ADN libre de las proteínas que tiene asociadas.

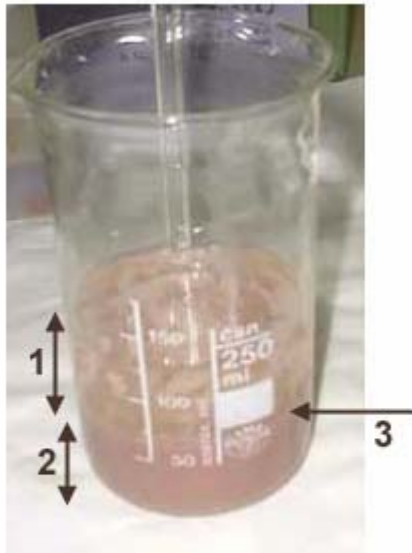




Añadir mediante una pipeta 50 centímetros cúbicos de alcohol de 96:. Hay que hacerlo de forma que el alcohol resbale por las paredes del vaso y se formen dos capas. En la interfase, precipita el ADN.

Introducir una varilla de vidrio e ir removiendo en la misma dirección. En la fotografía número 9 se indica con mayor precisión las capas. Sobre la varilla se van adhiriendo unas fibras blancas, visibles a simple vista, que son el resultado de la agrupación de muchas fibras de ADN





1. capa de alcohol
2. capa del filtrado
3. Interfase con ADN

Esta práctica puede completarse con una tinción específica de ADN.

Tenemos que tomar una muestra de las fibras que se van depositando sobre la varilla de vidrio y depositarlas sobre un porta.

Teñir durante unos minutos con un colorante básico.

Observar al microscopio.