Serie Didáctica N° 60

2026

Facultad de Ciencias Forestales - UNSE
Departamento de Ciencias Básicas
Química Orgánica y Biológica



Trabajos Experimentales de Química Orgánica y Biológica



Autores:

Lic. Julio Barraza

Prof. Pablo Badami

Dra. Evangelina González

UNSE
Universidad Nacional de Santiago del Estero

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
Ing. Néstor René Ledesma

Jardín Botánico
Ing. Lucas D. Roic · FCF · UNSE

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Departamento de Ciencias Básicas | Cátedra de Química Orgánica y Biológica

SERIE DIDÁCTICA N° [60] (Aprobada por Res. HCD FCF N° [239]/2026 en el marco de la Res. HCD FCF N° 091/2000).

AUTORES:

• Lic. Julio D. Barraza (Auxiliar de Primera Categoría)

• Prof. Pablo A. Badami (Auxiliar de Primera Categoría)

• Dra. Evangelina A. González (Profesora Titular)

CARACTERÍSTICAS DE LA EDICIÓN:

1ª edición digital en PDF / E-Book – Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero, 2026.

Registro de ISBN: En trámite ante la Cámara Argentina del Libro (CAL). Filiación Institucional: Facultad de Ciencias Forestales - UNSE.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD AUTORAL (Art. 4 Res. HCD FCF 091/2000):

«La responsabilidad del contenido de la presente publicación corre por cuenta exclusiva de los autores.»

PROPIEDAD INTELECTUAL Y CRÉDITOS GRÁFICOS: Las imágenes, fotografías de laboratorio y diagramas originales son propiedad de los autores salvo indicación contraria en el epígrafe correspondiente. Todos los derechos reservados.

CITA SUGERIDA DE LA OBRA: *Barraza, J. D., Badami, P. A., & González, E. A. (2026).* **Trabajos experimentales de Química Orgánica y Biológica***. Serie Didáctica N° [60]. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE).*

"Un científico en su laboratorio no es solo un técnico:
es también un niño ante un fenómeno natural
que le impresiona como un cuento de hadas."

Marie Curie

Prólogo

La enseñanza de la Química Orgánica y Biológica adquiere especial significado cuando los conocimientos teóricos pueden ser vinculados con la observación, la experimentación y el análisis de fenómenos concretos. En este sentido, el trabajo de laboratorio constituye un espacio fundamental para que los estudiantes no solo incorporen conceptos, sino que desarrollen habilidades para observar, formular preguntas, interpretar resultados, resolver situaciones experimentales y construir explicaciones a partir de la evidencia.

La serie **Trabajos Prácticos de Laboratorio de Química Orgánica y Biológica** ha sido concebida como un material de apoyo para acompañar y fortalecer el proceso de enseñanza y aprendizaje, articulando los contenidos desarrollados en el espacio curricular con experiencias experimentales progresivas. La propuesta parte del estudio de las propiedades y transformaciones de diferentes compuestos orgánicos y avanza hacia el reconocimiento y análisis de biomoléculas, incorporando técnicas experimentales que permiten relacionar las características estructurales de las sustancias con sus propiedades y funciones biológicas.

A lo largo de la serie se abordan experiencias vinculadas con hidrocarburos y compuestos oxigenados, carbohidratos, lípidos, aminoácidos, proteínas, enzimas y ácidos nucleicos. Paralelamente, se incorporan herramientas de análisis como la cromatografía y la espectrofotometría, entendidas no solamente como técnicas instrumentales, sino como recursos que permiten obtener información y construir interpretaciones a partir de resultados experimentales.

Un aspecto central de esta propuesta es la vinculación de los contenidos de la Química Orgánica y Biológica con el ámbito de las *Ciencias Forestales*. La utilización de materiales de origen vegetal y, particularmente, de recursos provenientes de especies de importancia regional, permite aproximar al estudiante al estudio químico de su propio entorno y reflexionar sobre las posibilidades de aprovechamiento de los recursos naturales. En este marco, el abordaje de los *Productos Forestales No Madereros* (PFNM) permite incorporar una mirada que trasciende la identificación de componentes químicos para considerar también su potencial de valorización, sus posibles aplicaciones y la necesidad de promover formas de aprovechamiento sustentables.

La experiencia con la especie *Neltuma alba*, en particular, representa un punto de integración de distintos contenidos desarrollados a lo largo de la serie, al vincular biomoléculas, actividad enzimática, espectrofotometría y análisis de un recurso forestal de relevancia regional. De este modo, el laboratorio se constituye no solo en un espacio para comprobar conceptos previamente estudiados, sino también en una instancia para formular preguntas, analizar resultados y relacionar el conocimiento químico con problemáticas y posibilidades propias del campo profesional.

La propuesta busca, asimismo, favorecer una participación activa de los estudiantes mediante el registro sistemático de observaciones, el análisis de resultados, la elaboración de gráficos, la discusión de los fenómenos observados y la construcción de conclusiones fundamentadas. Se procura así que el estudiante avance progresivamente desde una participación guiada hacia una mayor autonomía en la interpretación de los fenómenos experimentales.

En este sentido, la serie entiende al laboratorio como un ***espacio de construcción de conocimiento***, donde teoría y práctica se complementan y donde el error, la observación, la comparación y la discusión forman parte del proceso de aprendizaje. El propósito no es únicamente que el estudiante conozca determinadas reacciones, biomoléculas o técnicas analíticas, sino que pueda comprender cómo se obtiene información experimental, cómo se interpreta y cuáles son sus alcances y limitaciones.

Finalmente, esta propuesta pretende contribuir a la formación de profesionales capaces de integrar conocimientos químicos y biológicos con una mirada crítica sobre los recursos naturales y su aprovechamiento. La Química, en este contexto, deja de ser solamente un conjunto de conceptos y procedimientos para convertirse en una herramienta que permite **comprender, investigar y valorar el entorno**, favoreciendo una formación científica vinculada con las necesidades del territorio y con los principios de un aprovechamiento responsable y sustentable de los recursos forestales

La cátedra

Septiembre, 2026.

Información General:

1 – Datos de la Cátedra		
Cátedra	Química Orgánica y Biológica	
Carreras	Ingeniería Forestal Ingeniería en Industrias Forestales Licenciatura en Ecología y Conservación del Ambiente	
Departamento	Ciencias Básicas	
Edificio/Sede	Complejo Edilicio Jardín Botánico	
Correo Electrónico	quimicaorgybiolfcf2020@gmail.com	
2 – Equipo Cátedra		
Cargo	Docente	Contacto
Profesora Titular	Dra. Evangelina A. González	evagon@unse.edu.ar
Auxiliar de Primera Categoría	Prof. Pablo A. Badami	profpbadami@gmail.com
Auxiliar de Primera Categoría	Lic. Julio D. Barraza	licjuliobarraza@gmail.com
Auxiliar de Segunda Categoría	Srta. María Sofia Lescano	mslescano97@gmail.com

Ubicación del Laboratorio:

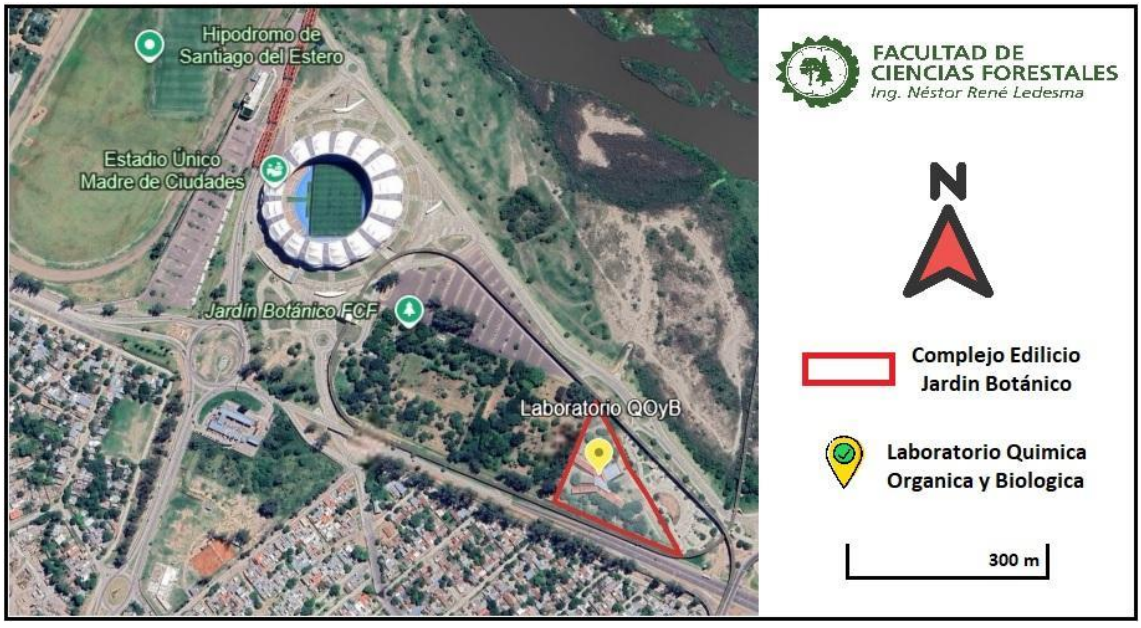


Figura 1: Ubicación del Laboratorio de Química Orgánica y Biológica FCF-UNSE. (Fuente: Mapa hibrido, Google Earth)

Índice

Contenido

Prólogo 4

NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOLÓGICA 9

MODELO DE INFORME DE LABORATORIO 15

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 1 17

Propiedades Físicas y Químicas de Hidrocarburos y Compuestos Oxigenados. 17

INTRODUCCIÓN TEÓRICA 17

PARTE EXPERIMENTAL 24

ACTIVIDADES 31

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 2 33

Identificación y diferenciación de carbohidratos en muestras de glúcidos y extractos acuosos de frutos del monte nativo. 33

INTRODUCCIÓN TEÓRICA 33

PARTE EXPERIMENTAL 42

ACTIVIDADES 50

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 3 52

Saponificación de Aceites y/o Grasas. 52

INTRODUCCION TEORICA 52

PARTE EXPERIMENTAL 55

ACTIVIDADES 57

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 4 59

Cromatografía de Aminoácidos. 59

INTRODUCCIÓN TEÓRICA 59

PARTE EXPERIMENTAL 64

ACTIVIDADES 68

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 5 70
Desnaturalización y Caracterización de Proteínas. 70
INTRODUCCIÓN TEÓRICA 70
PARTE EXPERIMENTAL 73
ACTIVIDADES 78
PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 6 80
Espectroscopia de Pigmentos Vegetales 80
INTRODUCCIÓN TEÓRICA 80
PARTE EXPERIMENTAL 88
ACTIVIDADES 89
PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 7 91
Productos forestales no madereros: 91
actividad Enzimática de extractos de semillas de *Neltuma alba* (Algarrobo blanco) con propiedades amilolíticas. 91
INTRODUCCION TEORICA 91
PARTE EXPERIMENTAL 96
ACTIVIDADES 100
PRACTICO DE LABORATORIO N° 8 102
Extracción y determinación de pureza de ADN de una muestra vegetal 102
INTRODUCCION TEORICA 102
PARTE EXPERIMENTAL 106
ACTIVIDADES 107
Bibliografía 110

NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOLÓGICA

INTRODUCCIÓN

El trabajo en el laboratorio implica un peligro potencial de accidentes, debido a la naturaleza de las sustancias y elementos que se utilizan. Además, existe la posibilidad de errores humanos al realizar la experimentación. Entre los accidentes más comunes podemos mencionar: incendios, explosiones, cortes, quemaduras, intoxicaciones, etc.

Para evitar riesgos, es necesario seguir ciertas reglas al realizar trabajos en el laboratorio; su cumplimiento no solo los disminuye, sino que muchas veces logran evitar accidentes.

La primera regla que todo aquel que trabaja en el laboratorio debe cumplir es la siguiente: el lugar de trabajo debe estar en perfecto orden. Recuerde que el orden es fundamental para evitar accidentes. Mantenga el área de trabajo ordenada, sin libros, abrigos, bolsas y cosas innecesarias o inútiles. Mantenga las mesas y vitrinas extractoras siempre limpias. Se tienen que limpiar inmediatamente todos los productos químicos derramados. Limpie siempre perfectamente el material y equipos después de su uso.

Otras normas básicas son las siguientes:

- Siga todas las indicaciones que el instructor o responsable del laboratorio le indique.
- Utilice delantal y anteojos de protección. No utilice lentes de contacto, ya que estos no pueden quitarse con la rapidez necesaria si ocurrieran proyecciones de líquidos a los ojos. Por otro lado, las lentes blandas pueden absorber los vapores orgánicos.
- Nunca debe comer, fumar o beber en el laboratorio; tampoco apoye comida sobre la mesada.
- Estudie cada experiencia antes de cada práctico y, si es posible, diseñe un esquema de lo que se realizará en el trabajo experimental. De esta manera ahorrará tiempo, podrá consultar específicamente lo que dude, y así evitará errores y accidentes innecesarios.
- En caso de accidente, por pequeño que parezca, comuníquelo inmediatamente al instructor o ayudante de laboratorio.

- Trabaje con la mayor ventilación posible.
- Si tiene el pelo largo, debe recogérselo.
- En el armado de equipos, asegúrese de usar soportes que tengan un buen apoyo, y controle el funcionamiento de los mismos.
- Nunca caliente un sistema cerrado.
- Si calienta un tubo de ensayo, no mire hacia el interior del mismo; tampoco apunte la boca del tubo hacia un compañero.
- Manipule las sustancias corrosivas con máximo cuidado.
- No fuerce los tapones o uniones de látex en los tubos de vidrio o cualquier material quebradizo. Utilice detergente o glicerina que facilitan la tarea de quitarlos.
- No use nunca equipo de vidrio agrietado o roto. Deposite el material de vidrio roto en un contenedor para vidrio, no en una papelera.
- En el laboratorio nunca debe trabajar solo, para poder recibir ayuda en caso de accidentes.
- Trabaje sin prisa, pensando cada momento en lo que está haciendo. Nunca corra en el laboratorio.

Dada la **toxicidad** de muchas sustancias con las que trabajará en el laboratorio debe tener en cuenta las siguientes precauciones:

- Está totalmente prohibido ingerir, inhalar o tocar compuestos orgánicos (muchos de estos son rápidamente absorbidos por la piel y resultan tan tóxicos como si fueran inhalados).
- No arrojar ningún residuo a las piletas ni resumideros, a menos que el docente le indique otra cosa.
- No mueva los reactivos del área designada para su manejo y medida. Si debe transportar las botellas o frascos de reactivos tómelos por el fondo, nunca de la tapa.
- Si el docente le indica que debe oler una sustancia, hágalo a una distancia de 12 a 20 cm. Sobre la boca del recipiente mueva lentamente su mano hacia la nariz y aspire con precaución. Si no detecta ningún olor, mueva un poco el recipiente que lo contiene, y repita el procedimiento. Nunca inhale.

- Evite derramar productos químicos sobre la mesada. Si sucediera esto avise al instructor o ayudante de laboratorio; pero, sobre todo, trabaje con precaución para evitar ese accidente.

Otra consideración importante es evitar **contaminar el aire**:

- Realice bajo campana de extracción toda reacción que involucre gases tóxicos.
- Coloque las tapas en los frascos inmediatamente después de usarlos. No sólo reducirá la evaporación, sino que también evitará la contaminación de los reactivos.
- Use baño de hielo cuando destile líquidos con punto de ebullición inferiores a 40º C.
- Evite una condensación incompleta. Lo conseguirá asegurándose que el agua fluya por el refrigerante cuando destile o caliente a reflujo.

Cuando se manipule **sustancias acidas y bases fuertes**, considerar las siguientes precauciones:

- Use las cantidades especificadas en la técnica correspondiente.
- Para preparar mezclas de ácido con agua y alcohol, agregue el ácido al agua o alcohol lentamente, agitando y enfriando. Si se trata de una mezcla de dos ácidos, añada en porciones, y con sumo cuidado, el más concentrado sobre el menos concentrado, agitando y enfriando. Recuerde: *"No hay que darle de beber al ácido"*.
- Proteja los ojos cuando trabaje con sustancias corrosivas.
- Lave con grandes cantidades de agua la piel si la misma hubiera tomado contacto con sustancias corrosivas. Luego, siga el tratamiento correspondiente para cada caso.

Peligros por riesgo de fuego:

- No acerque nunca recipientes que contengan líquidos volátiles a una llama.
- No encienda ninguna llama en el laboratorio si detecta olor a gas.

En caso de sufrir algún daño físico, aquí se mencionan algunas sugerencias referido a los **primeros auxilios**, dependiendo los síntomas. No obstante, es importante aclarar que, cada sustancia química posee una ficha de seguridad, donde se indica el procedimiento adecuado a seguir en caso de un accidente:

Quemaduras: Trate las quemaduras como se indica a continuación y luego llame por atención especializada. Están pueden ser:

- Con álcalis:
  - En la piel: después de lavar la zona afectada con agua, trate con solución de ácido acético al 5%.
  - En los ojos: después de lavar repetidas veces con agua, trate con solución de ácido bórico al 1%.
- Con ácido:
  - En la piel: después de lavar con agua, trate con solución de bicarbonato de sodio al 5%.
  - En los ojos: después de lavar con agua, trate con solución de bórax al 5%.
- Con bromo: Trate inmediatamente con glicerina.
- Con fuego, agua hervida o superficies metálicas calientes. Trate inmediatamente con hielo durante 30 minutos.

En el caso de tratarse de **envenenamiento de ingestión**:

- Ácidos: suministre 100 a 200 g de magnesia diluida en leche o huevo batido con agua (vomitivos).
- Álcalis: trate con limonada, vinagre en leche (vomitivos).
- Cianuros: inmediatamente suministre 1 g de tiosulfato de sodio por vía venenosa. Inhale oxígeno (antídoto).

Otro punto importante son las **etiquetas de solventes y reactivos**, en este sentido, No debe utilizar un reactivo sin haber leído previamente toda la información contenida en su etiqueta; preste especial atención a los símbolos de peligrosidad y a las recomendaciones para su correcto manejo. Se detalla a continuación la clasificación de las sustancias químicas según la ONU (Organización de las Naciones Unidas).

Símbolo	Descripción
	**Corrosivo:** Estos productos químicos causan destrucción de tejidos vivos a materiales inertes. **Precaución:** no inhalar y evitar contacto con la piel, ojos y la ropa.
	**Peligroso para la Salud:** Sustancias y preparaciones que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden implicar riesgos a la salud graves o agudos. **Precaución:** evitar el contacto con el cuerpo humano, así como la inhalación de vapores.
	**Inflamable:** Sustancias y preparaciones que pueden calentarse, con una fuente o no, e inflamarse y arder en contacto con aire; o a presión normal en contacto con aire se inflama; o en contacto con agua o aire emanan gases inflamables. **Precaución:** evitar contacto con materiales ígneos (aire, agua).
	**Comburente:** Sustancias que tienen la capacidad de incendiar otras sustancias, facilitando la combustión e impidiendo el combate del fuego. **Precaución:** evitar el contacto con materiales combustibles.
	**Toxicidad Aguda:** Sustancias y preparaciones que, por inhalación, ingesta o absorción a través de la piel, provoca graves problemas de salud e incluso la muerte. **Precaución:** todo el contacto con el cuerpo humano debe ser evitado.
	**Explosivo:** Sustancias y preparaciones que pueden explotar bajo efecto de una llama o que son más sensibles a los choques o fricciones que el dinitrobenceno. **Precaución:** evitar golpes, sacudidas, fricción, flamas o fuentes de calor.
	**Peligroso para el Medio Ambiente:** El contacto de esa sustancia con el medio ambiente puede provocar daños al ecosistema a corto o largo plazo. **Manipulación:** debido a su riesgo potencial, no debe ser liberado en las cañerías, en el suelo o el medio ambiente.

	**Irritación Cutánea:** Sustancias y preparaciones que, por penetración cutánea, pueden implicar riesgos graves, agudos o crónicos en la salud. **Precaución:** todo el contacto con el cuerpo humano debe ser evitado.
	**Gas:** Sustancias gaseosas comprimidas, líquidas o disueltas, contenidas a presión de 200 kPa o superior, en un recipiente que pueden explotar con el calor. **Precaución:** no lanzarlas nunca al fuego.

Tabla 1: Pictogramas y su descripción. (Fuente: elaboración propia)

MODELO DE INFORME DE LABORATORIO

Las siguientes normas para preparar el informe del trabajo tiene el objetivo de adecuarlo a un formato de carácter científico, usando normas preestablecidas por revistas científicas y las Normas APA, a fin de que los y las estudiantes vayan adquiriendo experiencia en la redacción científica que les servirá para su futuro profesional.

El informe debe ser presentado individualmente:

Procesador de texto Word.

Tamaño de página A4.

Tipografía Times New Roman.

Márgenes: 3 cm izquierdo y derecho, 2,5 cm superior y 2,7 cm inferior.

Secciones:

Título. Times New Roman 12. Negrita. Alineación Centrada.

Integrantes: Times New Roman 12. Alineación Centrada. Se debe completar con el apellido, primer nombre; segundo integrante; y así el resto. Ejemplo: Barraza, Julio; Badami, Pablo; González, Evangelina.

Carrera a la que pertenecen. Año de cursada. Correo electrónico del primer integrante. En Times New Roman 11. Alineación centrada.

Objetivos.

- Aquí se deben establecer los objetivos del práctico de laboratorio.
- En Times New Roman 11.

Introducción Teórica

En forma de resumen, se debe relacionar la parte experimental del práctico con el contenido teórico que se desarrolló en las clases teóricas anteriores. En Times New Roman 11. Alineación Justificada. Esta introducción teórica debe ser breve, no más de dos carillas.

Materiales y Métodos

En este apartado, se debe describir los materiales, los experimentos y los procedimientos que se realizaron en el práctico. Detallando las condiciones en que se realizaron. En Times New Roman 11. Alineación Justificada. Se debe agregar fotos de los materiales e imágenes de las ecuaciones de las reacciones. Estas fotos e imágenes deben ser centradas, numeradas, con título y mencionadas en el cuerpo del texto. También podrá realizar videos de las experiencias, en ese caso, solo debe adjuntar y compartir el enlace para que sea revisado.

Resultados

Aquí, se tiene que detallar los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos. En Times New Roman 11. Alineación Justificada. Agregando fotos que deben ser centradas, numeradas, con título y mencionadas en el cuerpo del texto, las cuales demuestren los cambios químicos observados, agregando tablas en el caso de ser necesarios. También podrá realizar videos de las experiencias, en ese caso, solo debe adjuntar y compartir el enlace para que sea revisado.

Conclusiones

En este punto se deben expresar las conclusiones a las que llegaron con sus compañeros de grupo, relacionando los resultados observados con el sustento teórico sobre el tema y los objetivos planteados al comienzo. Relacionando lo observado con las propiedades químicas y físicas de las moléculas y el experimento en cuestión. Además, se deben responder a las preguntas que se agregan al final de cada práctico. En Times New Roman 11. Alineación Justificada.

En el caso de agregar algunos elementos en el cuerpo del texto, tener en cuenta lo siguiente:

Figuras, fotos e imágenes: serán todos designados como "Figura" y numerados consecutivamente en números arábigos. Los títulos deberán ser claros y concisos y estar ubicados al pie. Ubicación central. En Times New Roman 9. De ser necesario deberán utilizarse referencias para facilitar su comprensión.

Tablas: los encabezamientos de filas y columnas deberán ser de fácil comprensión. En caso de varias tablas, deberán llevar numeración correlativa y en números arábigos. El título de la tabla se ubicará al pie de la misma. Serán designadas como "Tabla" y a continuación el número correspondiente. En Times New Roman 9.

Enlace para ver como insertar títulos a las Figuras, Imágenes, Fotos y Tablas:

https://www.youtube.com/watch?v=6cXVI9F8DQ4

https://www.youtube.com/watch?v=JVfUstw5y9k

Citas bibliográficas: en el texto deberán hacerse con el nombre del autor y el año de publicación. Ejemplos:

- (López, 1980) en el caso de un autor.
- (López y Martínez, 1990) en el caso de dos autores.
- (López *et al*., 1985) en el caso de más de dos autores.

Enlace para ver cómo insertar una Cita Bibliográfica y generar Bibliografía en Word según Normas APA:
https://www.youtube.com/watch?v=gNTfdcMkKGk

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 1

Propiedades Físicas y Químicas de Hidrocarburos y Compuestos Oxigenados.

OBJETIVOS

- Caracterizar hidrocarburos compuestos oxigenados mediante sus propiedades físicas y químicas.
- Justificar los comportamientos observados sobre la base de la estructura de los mismos.
- Adquirir destreza para el manejo del instrumental y material de laboratorio, así también como en el manejo de la bibliografía.
- Trabajar en equipo, unificar ideas y elaborar conclusiones.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Propiedades Físicas

Cuando hablamos de las *propiedades físicas* de una familia de compuestos en química orgánica, se hace referencia al punto de ebullición, punto de fusión y la solubilidad. Pero, antes de comenzar a analizar cómo son estas propiedades en los compuestos, es necesario hacer un breve repaso sobre estos conceptos.

El **punto de ebullición** es la temperatura a la cual un líquido pasa al estado gaseoso, esto ocurre cuando su presión de vapor iguala a la presión atmosférica. Está influenciada por la masa molecular y las fuerzas



El **punto de fusión** es la temperatura a la cual un sólido pasa al estado líquido. Durante la fusión, se absorbe energía para superar las fuerzas de atracción que mantienen unidas las partículas en el sólido.

La **solubilidad** de una sustancia es la capacidad que tiene para disolverse o mezclarse con otra sustancia y así formar una solución (mezcla homogénea).

Hidrocarburos

Las propiedades físicas de los hidrocarburos (Ver Figura 2) son consecuencia del hecho de que sus moléculas sólo presentan **enlaces covalentes no polares**, razón por la cual se mantienen unidas por medio de fuerzas débiles (fuerzas de Van der Waals).

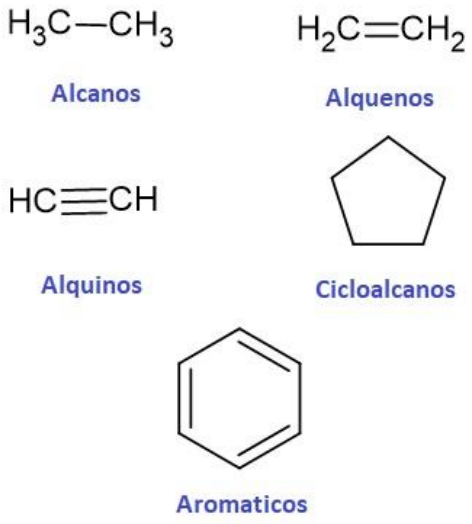


Figura 2: Estructura química de los hidrocarburos.

A medida que aumenta el número de átomos de carbono, aumenta la superficie de contacto entre sus moléculas, por ende, más intensas son las fuerzas intermoleculares y como consecuencia su punto de ebullición es mayor. Además, dentro de una familia de isómeros estructurales, cuanto más ramificada sea la cadena carbonada, menor es la superficie de contacto, y menor es el punto de ebullición.

En particular, los cuatro primeros *n*-alcanos son gases, los trece siguientes (C5 – C17) son líquidos y los de 18 átomos de carbono o más son sólidos. En lo que respecta a los alquenos y alquinos, en general, los cuatro primeros son gases y los de 5 a 10 átomos de carbono son líquidos.

En cuanto a la solubilidad, siguiendo la regla empírica: *"una sustancia disuelve a otra similar"*, los hidrocarburos son solubles en disolventes no polares como benceno, éter y cloroformo, e insolubles en agua y otros disolventes fuertemente polares. Todos son menos densos que el agua.

Compuestos Oxigenados

Las propiedades físicas de los compuestos oxigenados se basan principalmente en la presencia de un átomo de oxígeno en su estructura lo cual los transforma en sustancias polares. Todas las familias, ver Figura 3, contienen una cadena

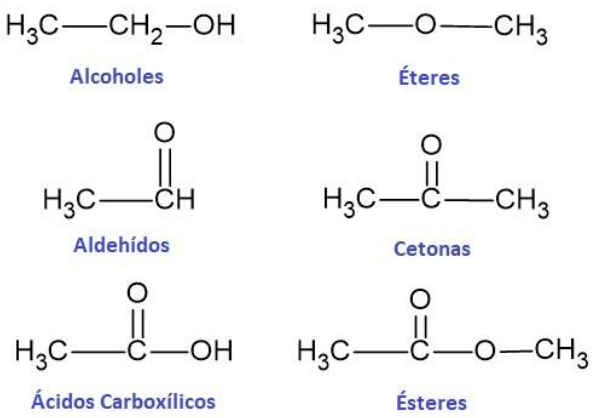


Figura 3: Estructura química de Compuestos Oxigenados.

hidrocarbonada hidrofóbica (sin afinidad por el agua) del tipo alcano, y una parte hidrófila (con afinidad por el agua) en el grupo funcional oxigenado.

Punto de Ebullición: los grupos hidroxilo (alcoholes) y carboxilo (ácidos carboxílicos) son muy polares y, son capaces de establecer *puentes de hidrógeno* con sus moléculas compañeras.



La interacción **puente Hidrógeno** es una fuerza eminentemente electrostática atractiva entre un átomo electronegativo y un átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo. Resulta de la formación de una fuerza carga-dipolo con un átomo de hidrógeno unido a un átomo de nitrógeno, oxígeno o flúor (de ahí el nombre de "enlace de hidrógeno"), que no debe confundirse con un enlace covalente a átomos de hidrógeno



https://www.educ.ar/recursos/40711/union-puente-de-hidrogeno

El *puente de hidrógeno* es la principal atracción intermolecular responsable de que los alcoholes y los ácidos carboxílicos inferiores tengan puntos de ebullición

superiores a los de los alcanos de pesos moleculares semejantes, y sean líquidos volátiles a temperatura ambiente (metanol, etanol). Desde los cuatro hasta los doce átomos de carbono, son algo viscosos y algunos isómeros muy ramificados son sólidos a temperatura ambiente. Los éteres no poseen enlaces O-H que les permitan entablar puentes de hidrógeno entre sus propias moléculas, por lo tanto, sus puntos de ebullición son mucho más bajos que los de los alcoholes de pesos moleculares semejantes y, similares a los de los alcanos, también de peso molecular semejante. En el caso de los aldehídos y las cetonas la polarización del grupo carbonilo crea atracciones dipolo-dipolo entre sus moléculas, lo que resulta en mayores puntos de ebullición que los de alcanos y éteres de peso molecular semejante. Sin embargo, esta familia de compuestos, tampoco presentan enlaces O-H que les permitan entablar puentes de hidrógeno entre sí. Por lo tanto, sus puntos de ebullición son inferiores a los de los alcoholes de peso molecular similar. Los ácidos carboxílicos hierven a temperaturas muy superiores a las de los alcoholes, aldehídos y cetonas de pesos moleculares similares ya que sus puntos de ebullición son el resultado de la formación de un dímero estable con puentes de hidrógeno entre dos de sus moléculas, lo cual duplica efectivamente su peso molecular.

Solubilidad: las moléculas de los alcoholes también se asocian con moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno. Esto permite que los alcoholes inferiores sean completamente miscibles con ella. A partir de los cuatro átomos de carbonos, la solubilidad en agua de los alcoholes disminuye rápidamente, porque el grupo hidroxilo polar (hidrofílico) constituye una parte relativamente pequeña de la molécula, en comparación con la porción hidrocarburo (hidrofóbica). A partir del hexanol son solubles solamente en solventes orgánicos. Los éteres son ideales como solventes para muchas reacciones orgánicas ya que disuelven una amplia gama de sustancias, tanto polares como no polares. Las sustancias no polares se disuelven mejor en los éteres que en los alcoholes porque no tienen red de puentes de hidrógeno que pueda romper el soluto no polar. Las sustancias polares se disuelven en los éteres debido a los momentos dipolares de los mismos y a su capacidad de actuar como aceptores de puentes de hidrogeno.

Los aldehídos y cetonas no pueden formar enlaces puente de hidrogeno entre sí, pero tienen electrones no compartidos que les permiten formarlos con otros compuestos que contengan enlaces O-H o N-H. Son aceptores de puente hidrógeno. Por lo tanto, son buenos solventes de sustancias polares como, por ejemplo, los alcoholes. También son muy solubles en agua. El acetaldehído y la acetona son miscibles en el agua (solubles en todas proporciones) al igual que otras cetonas y aldehídos con hasta 4 átomos de carbono. Estas propiedades de solubilidad son semejantes a las de los correspondientes alcoholes y éteres. Los ácidos carboxílicos forman puentes de hidrogeno con el agua y los de peso molecular más pequeño (hasta cuatro átomos de carbono) son miscibles en agua. La solubilidad en agua disminuye a medida que aumenta la cadena de carbonos. Los de más de diez carbonos son esencialmente insolubles. Además, los ácidos carboxílicos son muy solubles en los alcoholes, porque forman enlaces de hidrógeno con ellos. Los ácidos de cadena larga son más solubles en los alcoholes que en agua, dado que los alcoholes no son tan polares como el agua. La mayor parte de los ácidos carboxílicos son bastante solubles en solventes no polares como el cloroformo porque el ácido continúa existiendo en forma dimérica en el solvente no polar. Así, los puentes de hidrógeno de dímero cíclico no se rompen cuando se disuelve el ácido en un solvente polar.

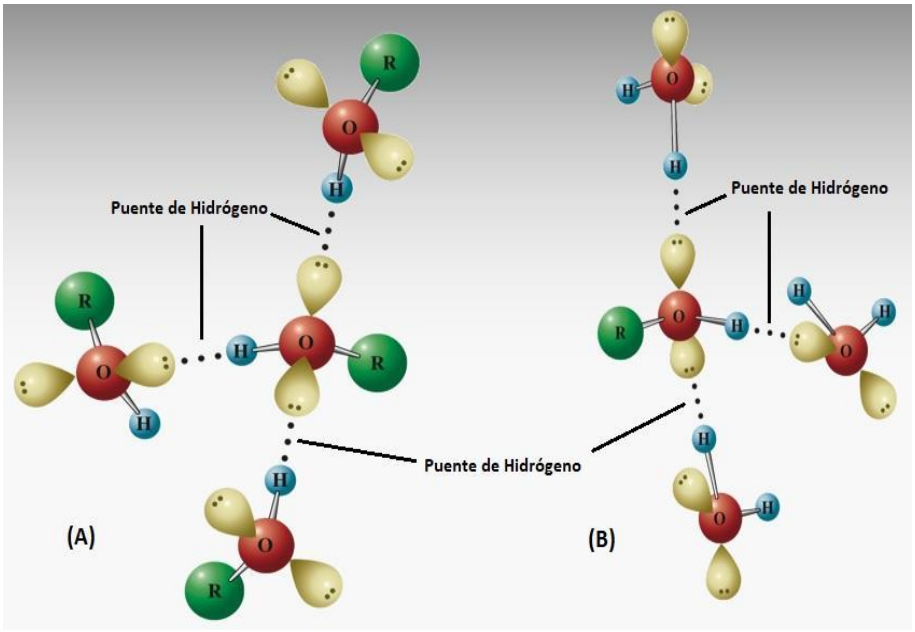


Figura 4: Ejemplo de interacción Puente Hidrógeno. (A) Entre moléculas de Alcohol. (B) Entre moléculas de Alcohol y Agua. (Fuente: Google Chrome)

En la Figura 4, se muestra un ejemplo de la interacción por puente de hidrógeno entre moléculas de un alcohol y las moléculas de agua, interacciones que determinan su punto de ebullición y solubilidad.

Propiedades Químicas

Los ALCANOS son la clase menos reactiva de los compuestos orgánicos. Su principal y tan importante reacción es la combustión, con el O_2, dando como producto CO_2, H_2O y energía.

La reacción típica de los ALQUENOS y los ALQUINOS es la **adición**. En la misma, se combina una molécula del alqueno con otra molécula para producir una sola (por eso es una adición). Así, entre otros reactivos, adicionan H_2, halógenos (X_2), halogenuros de hidrógeno (HX) y H_2O.

La adición de bromo, es sumamente útil para detectar el doble enlace carbono-carbono. Una solución de bromo en tetracloruro de carbono es roja; el dihalogenuro, al igual que el alqueno, es incoloro. La decoloración rápida del bromo en tetracloruro de carbono es característica de los compuestos con dobles y triples enlaces (Ver Figura 5).

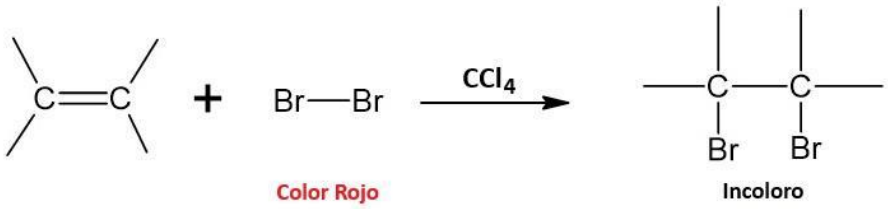


Figura 5: Reacción de adición de alquenos con Agua de Bromo. (Fuente: elaboración propia)

Otra reacción de los hidrocarburos insaturados, que también permite diferenciarlos de los saturados y de los aromáticos, es la formación de glicoles, con permanganato de potasio, esta se conoce como reacción de Baeyer, (Figura 6). Cuando un alqueno se agrega a una solución acuosa de permanganato de potasio (color morado intenso), la misma cambia su color al café opaco del MnO_2. Los alcanos y los hidrocarburos aromáticos no dan esta reacción.

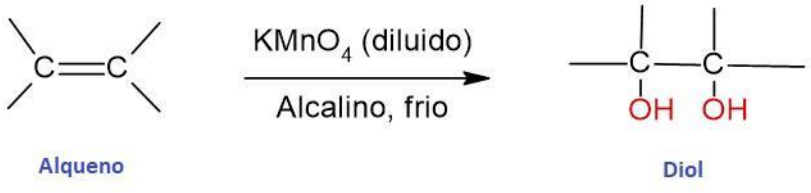


Figura 6: Reacción de Baeyer. (Fuente: elaboración propia)

Por su parte, los COMPUESTOS OXIGENADOS tienen dos enlaces polares. Los alcoholes tienen un enlace polar C-O y uno O-H; los éteres tienen dos enlaces polares C-O; los aldehídos y cetonas tienen un doble enlace C=O; los ácidos carboxílicos a su vez presentan la conjunción de enlaces de un alcohol con un aldehído. El oxígeno adopta siempre una carga parcialmente negativa en cada uno de estos enlaces. Además, el oxígeno de estos grupos funcionales tiene dos pares de electrones no compartidos, los cuales aumentan todavía más la disponibilidad de electrones en este sitio. Estas características les dan a una gran y variada reactividad en comparación a los hidrocarburos.

Carácter básico de los ALCOHOLES: los alcoholes aceptan un protón de los ácidos minerales más fuertes (como H_2SO_4) para formar iones de alquil-oxonio, similares al H_3O^+ (ion hidronio). Puede sufrir seguidamente una deshidratación, produciendo un alqueno. Por ejemplo, obtenemos el alqueno isobutileno (2-metilpropeno), en el medio de reacción ácido, a partir de alcohol *ter*-butílico (2-metilpropan-2-ol) el cual se deshidrata con mucha facilidad como se muestra en la Figura 7.

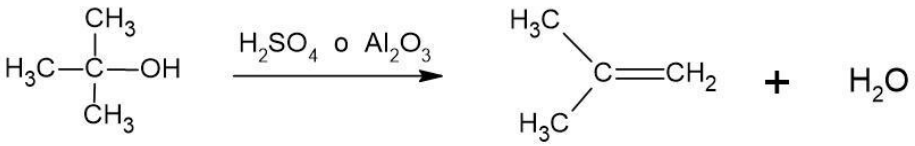


Figura 7: Reacción de deshidratación de alcoholes. (Fuente: elaboración propia)

En cuanto a los ALDEHÍDOS, se oxidan con facilidad a ácidos carboxílicos debido a la presencia de un átomo de hidrógeno unido al carbono carbonílico. Ello se consigue bajo condiciones de oxidación suave, por ejemplo, usando los iones plata, presentes en el *reactivo de Tollens*. Las CETONAS, en cambio, no poseen ese hidrógeno y solo se oxidan en condiciones vigorosas (reactivos fuertes y altas temperaturas) con ruptura de enlaces C-C. Esta característica distintiva permite diferenciar un aldehído de una cetona (ver Figura 8).

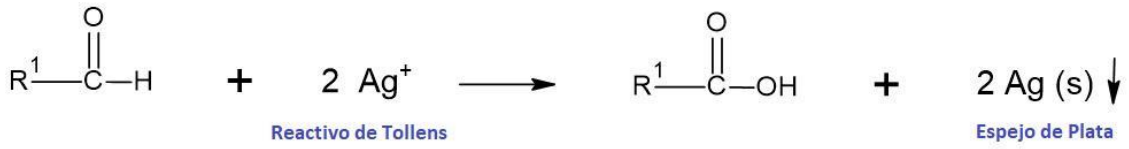


Figura 8: Reacción de oxidación de aldehídos con el Reactivo de Tollens. (Fuente: elaboración propia)

Con respecto a los ÁCIDOS CARBOXÍLICOS podemos decir que sus reacciones son muy diferentes a las de los aldehídos y cetonas ya que, a pesar de poseer también un grupo carbonilo, es el –OH el que realmente experimenta casi todas las reacciones (posibles gracias a la presencia del carbonilo C=O).

Pueden experimentar la pérdida de su H^+ al reaccionar con una base. Los ácidos carboxílicos se deprotonan por el bicarbonato de sodio (base débil), formando la sal de sodio del ácido, CO_2 y H_2O (Figura 9). Las sales de sodio de los ácidos carboxílicos de cadenas cortas son incoloros y solubles en H_2O.

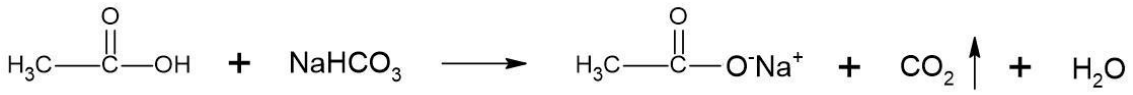


Figura 9: Carácter ácido de los Ácidos Carboxílicos. (Fuente: elaboración propia)

También los ácidos carboxílicos pueden sufrir la sustitución de su grupo hidroxilo (-OH) y ser reemplazado por un grupo alcóxido (-OR), sintetizando un éster (Figura 10).

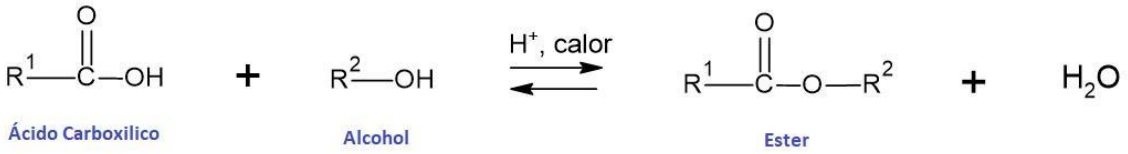


Figura 10: Reacción de Esterificación. (Fuente: elaboración propia)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- Equipo de destilación simple
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitado
- Varillas de vidrio
- Pipetas
- Probeta

Reactivos

- Éter de petróleo
- Aceite lubricante
- Aceite comestible
- Parafina
- Etanol
- Acetona
- Agua de bromo
- Permanganato de potasio
- Alcohol *ter*-butílico
- Ácido sulfúrico
- Reactivo de Tollens
- Formaldehído

- Bicarbonato de sodio
- Ácido acético



Consideraciones de seguridad sobre los reactivos a emplear en este practico

Éter de Petróleo 40-60 °C: Líquido y vapores muy inflamables. Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias. Provoca irritación cutánea. Puede provocar somnolencia o vértigo. Consejo: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, evitar su inhalación y liberación al ambiente. Se debe manipular bajo campana y utilizando guantes (Etiqueta en la Figura 11).



Figura 11: Etiqueta con información sobre el Éter de Petróleo. (Fuente: elaboración propia)

Acetona: Líquido y vapores muy inflamables. Provoca irritación ocular grave. Puede provocar somnolencia o vértigo. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel. Consejo: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente. Manipular bajo campana (Etiqueta en la Figura 12).



Figura 12: Etiqueta con información sobre la Acetona. (Fuente: elaboración propia)

Formaldehido: Nocivo en caso de ingestión. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Mortal en caso de inhalación. Se sospecha que provoca defectos genéticos. Puede provocar cáncer. Provoca daños en los órganos (ojos). Consejo: No respirar los vapores. Manipular bajo campana y usando guantes (Etiqueta en la Figura 13).

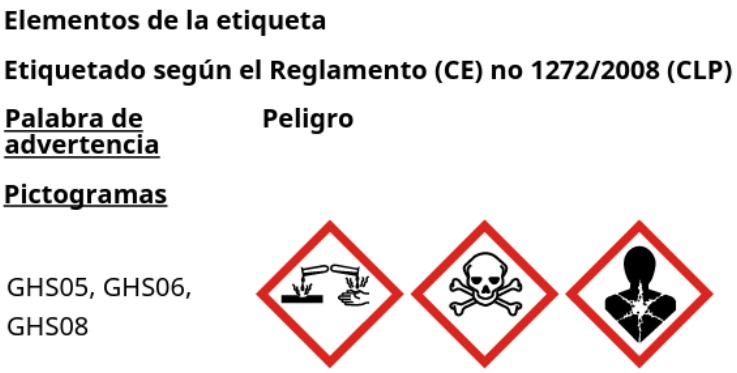


Figura 13: Etiqueta con información sobre el Formaldehido. (Fuente: elaboración propia)

Agua de Bromo: Solución liquida, peligroso para la salud, toxicidad aguda (mortal si se inhala), corrosivo para la piel (provoca graves quemaduras en la piel), provoca lesiones oculares graves. Consejo: No respirar los vapores. Manipular bajo campana y usando guantes (Etiqueta en la Figura 14).



Figura 14: Etiqueta con información sobre el Agua de Bromo. (Fuente: elaboración propia)

Ácido Sulfúrico: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Corrosión cutánea produce una lesión irreversible en la piel, esto es, una necrosis visible a través de la epidermis que alcanza la dermis. Consejo: para su manipulación, usar guantes y delantal, con pipeta de vidrio y bajo campana. De tal forma que evite contacto directo (Etiqueta en la Figura 15).

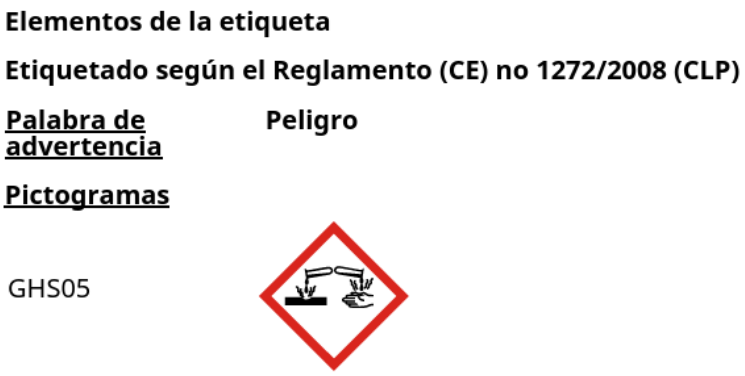


Figura 15: Etiqueta con información sobre Ácido Sulfúrico. (Fuente: elaboración propia)

Ácido Acético: Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Consejo: Manipular bajo campana, usando guantes. En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua (Etiqueta en la Figura 16).

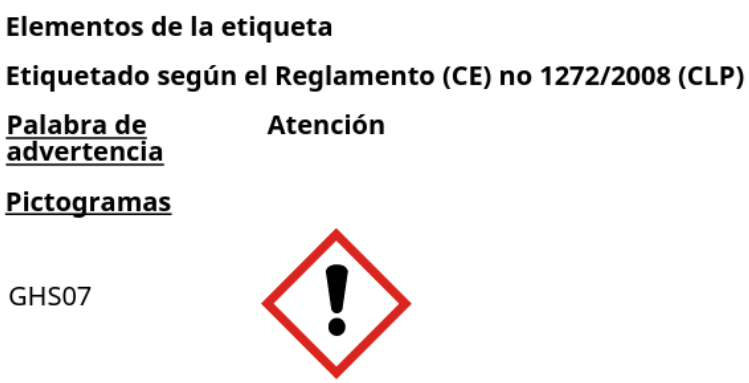
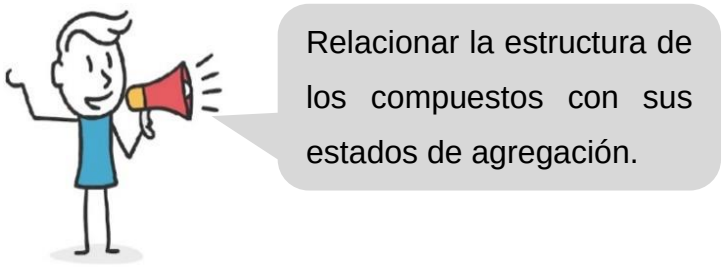


Figura 16: Etiqueta con información sobre el Ácido Acético. (Fuente: elaboración propia)

Procedimiento

1. *Puntos de Fusión y de Ebullición*

Observar, registrar, analizar y elaborar conclusiones del estado físico de las sustancias provistas por el profesor y, en cada caso, relacionarlos con la estructura molecular de los compuestos. Consultar los datos de puntos de



ebullición y de fusión que figuran en las tablas anexas y, en base a ellos, deducir si esos estados físicos son los esperados.

Observar, registrar, analizar y elaborar conclusiones de un sistema de destilación simple que contenga éter de petróleo en su punto de ebullición. El éter de petróleo no es un éter como el nombre lo indica, es un disolvente compuesto por una mezcla de alcanos, principalmente pentano, hexano y heptano.

2. *Solubilidad*

Tomar una gradilla con 8 tubos de ensayos, etiquetarlos. En un tubo colocar 1 ml de aceite lubricante, en otro unos trocitos de parafina, en un tercero 1 ml de etanol y, en el último, 1 ml de acetona. Agregar 2 ml de agua a cada tubo. Agitar y observar si alguna de las sustancias logra disolverse. Repetir el ensayo usando como disolvente éter de petróleo (ver Figura 17). Observar, registrar, analizar, *explicar y sacar conclusiones de cada experiencia.*

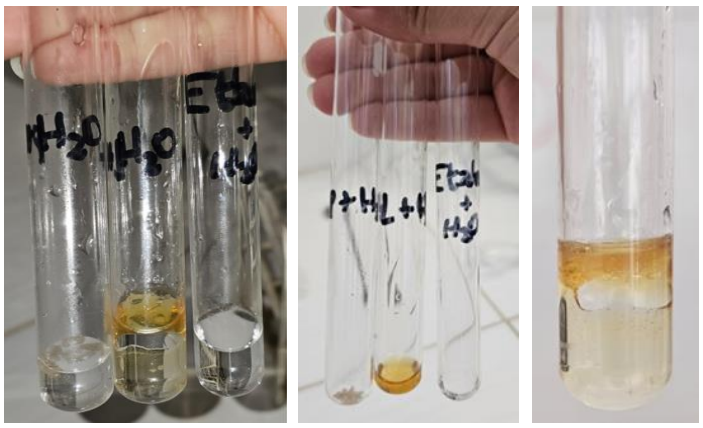


Figura 17: Prueba de Solubilidad. (Fuente: foto propia)

3. *Polaridad*

En un soporte y utilizando pinzas de metal, colocar dos goteros invertidos. Llenar uno de ellos con agua y el otro con aceite comestible. Tomar una regla plástica y frotarla con un trozo de lana. Abrir los picos de ambos goteros, de modo que salga un fino chorro con los compuestos. Acercar la regla a los chorros sin tocarlos y observar. Explicar lo observado basándose en las estructuras y propiedades de las sustancias.

4. *Adición en alquenos*

Reacción con Br_2 en CCl_4 (Agua de Bromo): tomar una gradilla con 2 tubos de ensayos conteniendo uno de ellos 2 ml de aceite lubricante y el otro 2 ml de aceite comestible. El aceite comestible se usa para visualizar la presencia de compuestos con dobles enlaces (alqueno), en una sustancia de uso común.

La composición de los aceites vegetales se estudiará más adelante en la asignatura. Añadir a cada uno 2 o 3 gotas de la solución de Br_2 en CCl_4, ver Figura 18. Explicar y fundamentar los resultados obtenidos.



Figura 18: Reacción de decoloración con el Agua de Bromo. (Fuente: foto propia)

5. *Deshidratación de alcoholes y adición en alquenos*

Tomar un tubo de ensayos conteniendo 3 ml de solución de $KMnO_4$ al 3%. Agregar 1 ml de alcohol ter-butílico y luego LENTAMENTE corriendo por las paredes del tubo, colocar 2 gotas de ácido sulfúrico. Explicar y fundamentar con ecuaciones químicas de reacción el resultado obtenido.

6. *Diferenciación de aldehídos y cetonas*

Reactivo de Tollens: Este reactivo consiste en una solución de $AgNO_3$ a la cual se le agrega NH_3 hasta la desaparición de un precipitado pardo. (Solución incolora). Cuando se agregan unas gotas de este reactivo a cualquier aldehído y se calienta la mezcla, en baño maría, la solución se ennegrece y la plata se deposita en las paredes del tubo formando un espejo de plata como se muestra en la Figura 19.

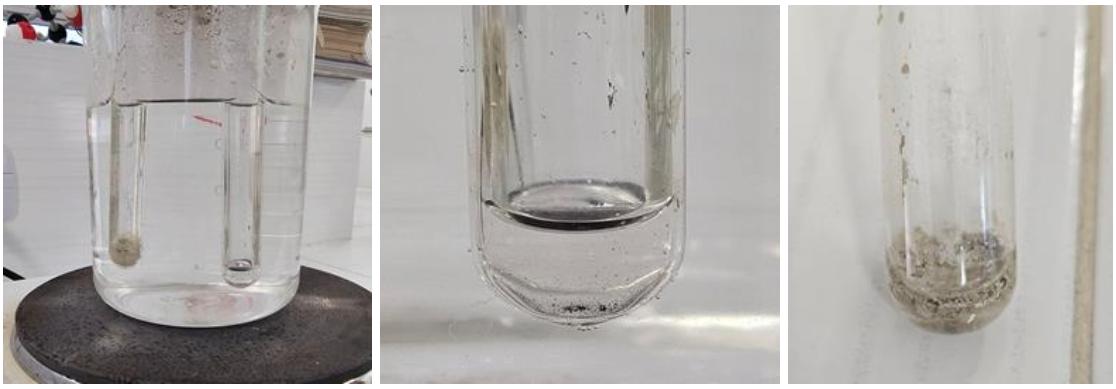


Figura 19: Prueba de Tollens y formación del espejo de plata. (Fuente: fotos propias)

En dos tubos de ensayo “limpios” verter en cada uno 2 ml de reactivo de Tollens. Añadir al primero 4 gotas de formaldehido (metanal) y al segundo 4 gotas de acetona (propanona). Calentar los tubos en baño maría hasta observar algún cambio en uno de los tubos. Explicar y fundamentar con ecuaciones químicas de reacción el resultado obtenido.

Reactivo de Benedict: Éste reactivo consiste en una solución de $CuSO_4$ (Cu^{2+}). Cuando se agrega un aldehído que contiene un grupo hidroxilo en el carbono adyacente al carbono carbonílico, se forma un precipitado rojo ladrillo por la reducción del Cu^{2+} a Cu^{1+} (ver Figura 20). La prueba es negativa para aldehídos sencillos y para cetonas.

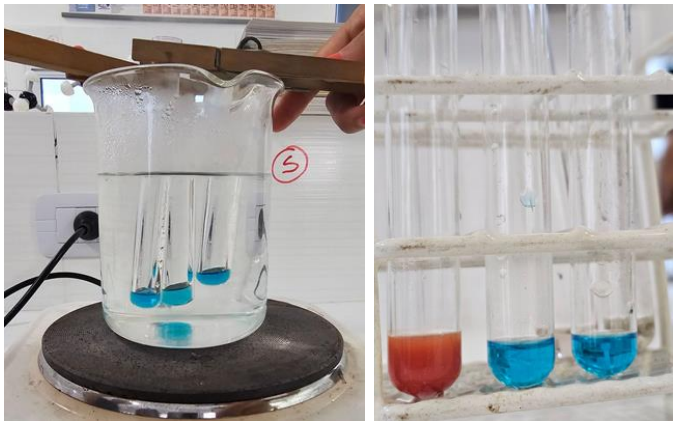
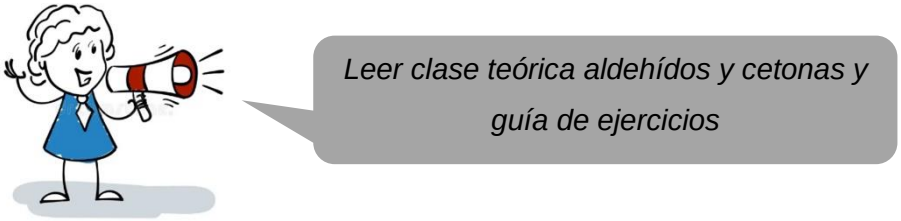


Figura 20: Prueba de Benedict. (Fuente: fotos propias)

En tres tubos de ensayo agregar 2 ml de reactivo de Benedict. Añadir al primero 4 gotas de formaldehído, al segundo 4 gotas de acetona y al tercero 4 gotas de solución de glucosa al 5%. Calentar los tubos en baño maría hasta observar algún cambio en uno de los tubos. Explicar y fundamentar con ecuaciones químicas de reacción el resultado obtenido.



7. *Caracterización de ácidos carboxílicos*

Formación de sales: Colocar en un tubo de ensayo 1 ml de ácido acético. Agregar 6 ml de solución de bicarbonato al (20%) (Ver Figura 21). Explicar y fundamentar lo observado. Escribir la ecuación correspondiente en el informe.



Figura 21: Formación de Sales de Ácidos Carboxílicos. (Fuente: foto propia)

Colocar en un tubo de ensayo 2 ml de ácido acético. Agregar 2,5 ml de propan-1-ol. Explicar y fundamentar lo observado.

ACTIVIDADES

1. Con respecto a las sustancias proporcionadas para la primera experiencia y en función de la observación. ¿Cómo se relacionan sus estados con sus estructuras?
2. En la experiencia 2 ¿Por qué algunas sustancias se disuelven en agua y otras en el éter de petróleo? ¿a qué se debe este comportamiento?
3. Describir lo que sucedió en la prueba de polaridad ¿a qué se debe la diferencia de comportamiento entre el agua y el aceite comestible?
4. En la prueba del agua de bromo ¿Qué sucedió cuando se agregó a los aceites? ¿a qué se debe la diferencia observada?
5. ¿Qué se observó cuando realizo la prueba con el $KMnO_4$? ¿Si no se le agregara acido espera que suceda lo mismo?
6. En la prueba de Tollens ¿Qué observo algún cambio entre los compuestos carbonílicos? ¿Por qué uno experimento el cambio y el otro no? Y en Benedict ¿Por qué sucedió el cambio en la glucosa y en los otros no?
7. ¿Qué se pudo observar en las pruebas de los ácidos carboxílicos? ¿la prueba con el bicarbonato daría lo mismo con un alcohol? ¿Por qué?
8. Por último, con toda esta información y lo observado en los experimentos, elabore un informe grupal siguiendo las normas del modelo de informe propuesto por la cátedra. El mismo debe ser enviado por un solo miembro del grupo al correo de la cátedra.



Lecturas de interés



BIO, POR EL DERECHO A LA CIENCIA

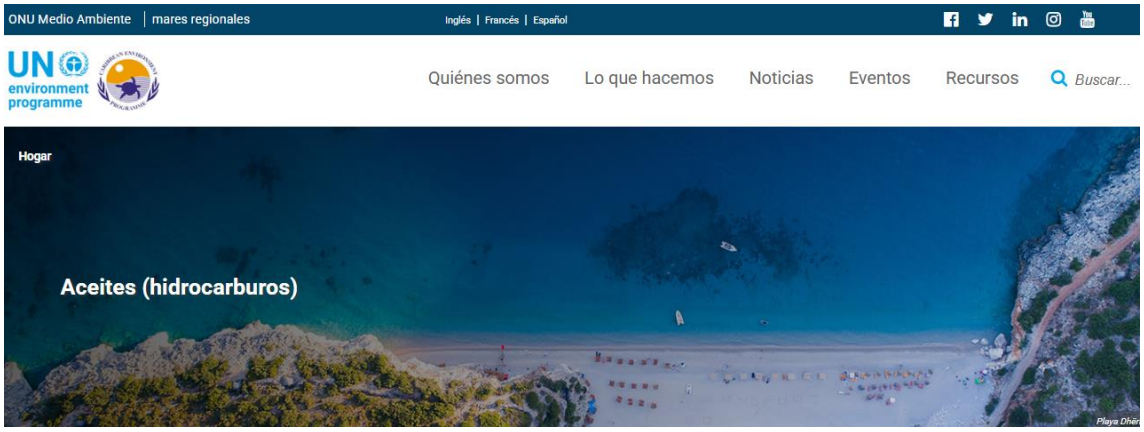
Qué está pasando con los hidrocarburos y agrotóxicos que llegan al río Negro

Científicos de la Universidad Nacional de Río Negro y el Conicet hicieron un estudio sobre los contaminantes en el agua. Cuáles son las áreas más afectadas.

POR DANIEL QUILODRÁN
18/06/2023 02:00

Compartir + Seguir en

https://www.rionegro.com.ar/ciencia/que-esta-pasando-con-los-hidrocarburos-y-agrotoxicos-que-llegan-al-rio-negro/



https://www.unep.org/cep/oils-hydrocarbons

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 2

Identificación y diferenciación de carbohidratos en muestras de glúcidos y extractos acuosos de frutos del monte nativo.

OBJETIVOS

- Identificar y diferenciar glúcidos en muestras problemas por medio de reacciones coloreadas de carácter cualitativo y relacionar con sus propiedades.
- Identificar glúcidos presentes en extractos acuosos de frutos de especies nativas del bosque santiagueño.
- Adquirir destreza en el manejo del instrumental y material de laboratorio, como así también en el armado de informe.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.
- Fomentar la participación, el dialogo, el respeto y la cooperación con el otro.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Los hidratos de carbono, carbohidratos, sacáridos o glúcidos, químicamente se definen como **polihidroxialdehídos** o **polihidroxicetonas** y las sustancias que los den por hidrólisis. Muchos poseen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$ que daba a entender, en un comienzo, que se trataba de *"hidratos de carbono"*. Aunque existían otros compuestos que, sin serlo, también respondían a la misma fórmula.



Las estructuras y los tipos de Carbohidratos se encuentran en la Clase Teórica y la Guía Práctica

Existen diferentes criterios para clasificar estas biomoléculas. Una de ellas, es teniendo en cuenta el número de unidades que constituyen el azúcar, en base a

esto, se pueden clasificar en, ***Monosacáridos*:** también llamados azúcares sencillos, están constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxicetona, en el primer caso se denominan *aldosas* y en el segundo, *cetosas.* El monosacárido más abundante en la naturaleza es la *D- glucosa*, una aldosa de 6 átomos de carbono y que a partir de éste se originan muchos otros carbohidratos. La D-glucosa es el combustible principal para la mayor parte de los organismos y es también la unidad estructural básica de los polisacáridos más abundantes, tales como el almidón y la celulosa. ***Oligosacáridos*:** (del griego *pocos*), contienen de 2 a 10 unidades de monosacáridos, unidas mediante *enlaces glucosídicos.* ***Polisacáridos*:** contienen muchas unidades de monosacáridos enlazados, unidos por enlaces glucosídicos, formando cadenas lineales o ramificadas (ver Figura 22).

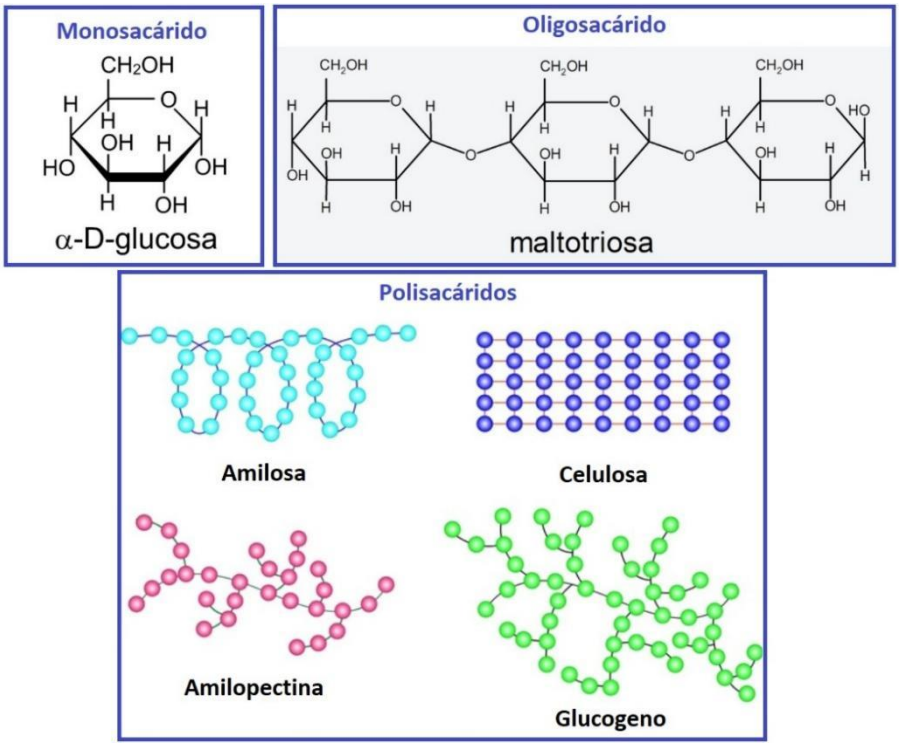


Figura 22: Ejemplos de estructuras de mono, oligo y polisacáridos. (Fuente: imagen elaboracion propia)

Los hidratos de carbono desempeñan *dos funciones biológicas* principales:

- Almacenadores de combustibles (almidón).
- Elementos estructurales (celulosa).

En la biosfera hay, probablemente mayor cantidad de glúcidos que de toda la demás materia orgánica junta, y esto se debe en gran parte, a la abundancia de *dos polímeros de la D-glucosa*: el almidón y la celulosa. El almidón es la principal

forma de almacenamiento de combustible en la mayor parte de los vegetales, mientras que la celulosa es el componente extracelular fundamental de las paredes celulares rígidas y de los tejidos fibrosos y leñosos de los mismos. El glucógeno, que se parece al almidón en su estructura, es el principal glúcido de reserva en los animales. Otros polisacáridos son los componentes principales de las paredes celulares de las bacterias.

Estos disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, se generan por la unión de monosacáridos, a través de un enlace covalente denominado **Enlace Glucosídico**, el cual es una unión entre dos o más monosacáridos por medio de un oxígeno, es decir, un enlace tipo **éter**. De acuerdo a la posición en que se produzcan los enlaces, los azucares serán:

- **Reductoras:** si el enlace deja *libre un grupo carbonilo* potencial. Ej.: maltosa, glucosa, etc.
- **No Reductoras:** si los *grupos carbonilo* han sido empleados en enlace glucosídico; por lo tanto, *no quedan libres*. Ej.: sacarosa, rafinosa, etc.

En el contexto de la ecología y la ingeniería forestal, una fuente de carbohidratos lo constituyen los frutos de plantas nativas. Estas especies adquieren especial relevancia al formar parte de los Productos Forestales No Madereros (PFNM). Los PFNM se definen como aquellos bienes de origen biológico (distintos de la madera, la leña y el carbón vegetal) y los servicios brindados por los bosques, otras áreas forestales y los árboles fuera de los bosques (FAO, 1999), algunos se muestran en la Figura 23.



Figura 23: Productos Forestales No Madereros. (Fuente: imagen elaboracion propia)

Es decir, se refiere a las plantas y sus diferentes usos, en los cuales se incluyen medicinas, alimentos, fibras, materiales de construcción, resinas, entre otros, de origen vegetal; cuya importancia económica varía de un país a otro.

Particularmente, los frutos de las plantas representan una fuente natural de carbohidratos para las comunidades locales, la fauna silvestre y diversos procesos ecológicos. Especies nativas del Bosque Chaqueño como el chañar (*Geoffroea decorticans*), el algarrobo blanco (*Neltuma alba*), algarrobo negro (*Neltuma nigra*), el mistol (*Sarcomphalus mistol*) o el molle (*Schinus spp*.) poseen frutos con contenidos variables de azúcares simples y compuestos estructurales, que históricamente han sido aprovechados para alimentación, bebidas fermentadas, harinas y jarabes.

La identificación y diferenciación de los carbohidratos en estos frutos, no solo permiten comprender su valor nutricional y su potencial uso, sino que también aportan información útil para estrategias de **aprovechamiento sostenible**, desarrollo de cadenas de valor y conservación de los ecosistemas.

En el presente práctico de laboratorio, se pretende realizar una marcha de identificación y diferenciación de carbohidratos en muestras de azucares y en extractos acuosos de frutos de cuatro especies del bosque nativo de Santiago del Estero, las cuales se muestran en la Figura 24.

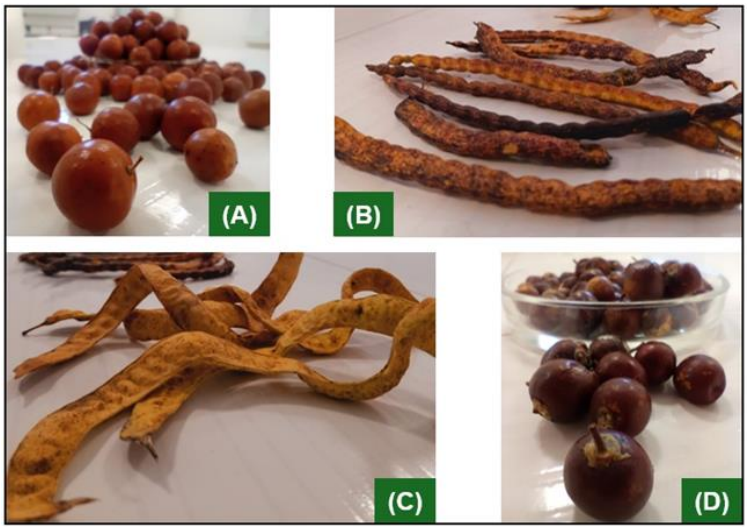


Figura 24: Frutos del monte nativo santiagueño. (A) *Geoffroea decorticans* (chañar), (B) *Neltuma nigra* (algarrobo negro), (C) *Neltuma alba* (algarrobo blanco, y (D) *Sarcomphalus mistol* (mistol). (Fuente: fotos propias)

Propiedades Químicas

Para identificar y diferenciar los carbohidratos, se llevará a cabo una serie de reacciones químicas con el objetivo de identificarlos y relacionarlos con sus características estructurales.

A) Reacción general de los glúcidos: permite su **identificación** (existen otras técnicas alternativas).

A.1 - Test de Molisch: si a una solución de un glúcido cualquiera se le adicionan unas gotas de solución alcohólica de α-naftol, se agita el tubo y luego, inclinándolo, se hace resbalar por las paredes 10 o 20 gotas de ácido sulfúrico concentrado evitando la agitación se forman dos capas de líquido. En el punto de contacto entre ambas capas, si la reacción es positiva, aparecerá un color violáceo, pero si, en lugar de α-naftol se utiliza timol, la coloración será roja (ver Figura 25).

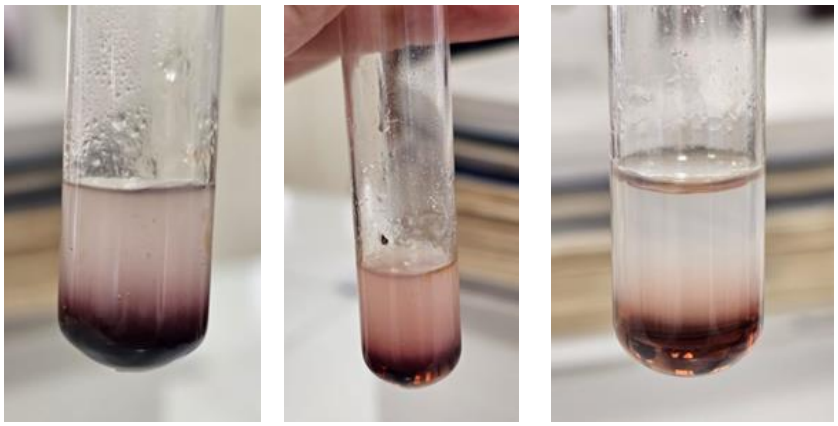


Figura 25: Muestras de Glúcidos con la Prueba de Molisch. (Fuente: fotos propias)

La reacción se debe a que el ácido sulfúrico forma por deshidratación del glúcido, un compuesto furfúrico que al condensarse con los compuestos fenólicos (α-

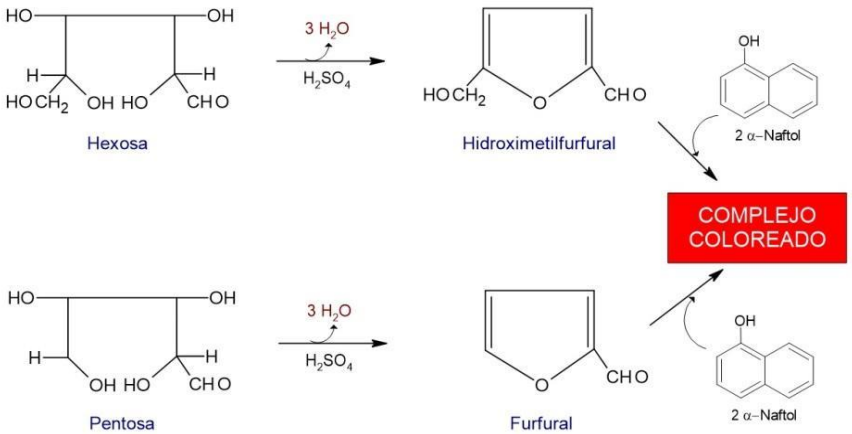


Figura 26: Ecuación de Reacción de Glúcidos con Molisch. (Fuente: elaboración propia)

naftol o timol), produce una coloración variable según la naturaleza de los mismos: azul, si es α-naftol, o roja si se trata de timol (Figura 26).

Esta reacción sirve incluso, para identificar glúcidos combinados con otras sustancias.

***B) Reacciones de diferenciación de glúcidos*:** estas permiten individualizar los distintos tipos de glúcidos. Entre ellas:

B.1 - Test de Lugol: permite **diferenciar** un polisacárido con estructura helicoidal (enlace α 1-4) de otro tipo de glúcido. El Lugol es una solución acuosa de I_2/KI, en presencia de un polisacárido, como por ejemplo el almidón, el I_2 se introduce en la hélice que forman por enrollamiento las cadenas de la amilosa (ver Figura 27).

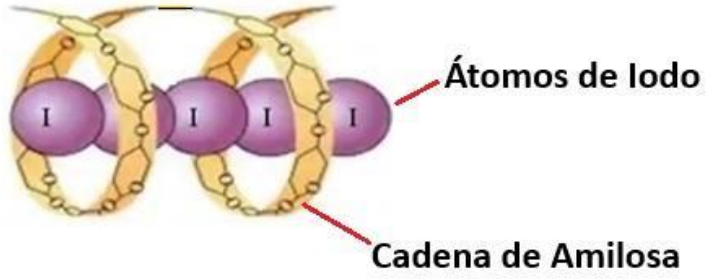


Figura 27: Representación de los átomos de iodo introduciéndose entre la amilasa enrollada. (Fuente: Imagen elaboración propia)

Este proceso no es una reacción química, ya que no cambia la estructura molecular del polisacárido. La inclusión del I_2 en la hélice altera las propiedades físicas del polisacárido, especialmente la absorción lumínica. El Lugol produce con el almidón una coloración azul o violáceo y con el glucógeno rojo caoba, como se muestra en la Figura 28.

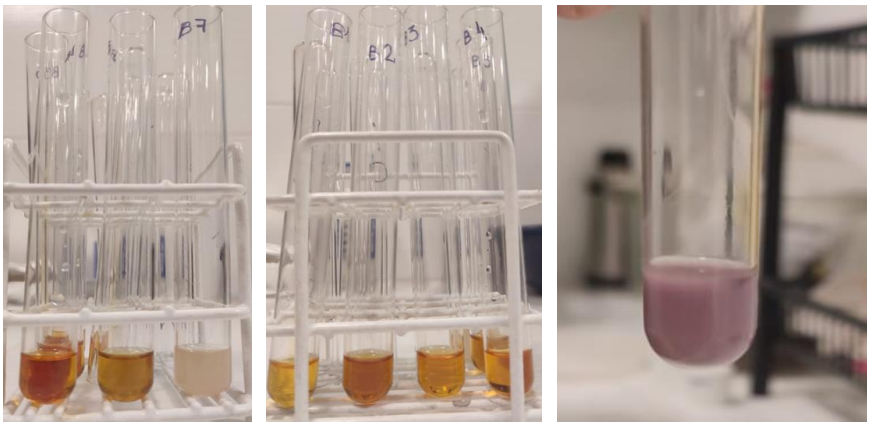


Figura 28: Prueba de Lugol para Glúcidos. (Fuente: fotos propias)

Esta unión del I_2 a la cadena es reversible. Por calentamiento desaparece la coloración, y al enfriarse reaparece.

B.2 - Test de Benedict: esta prueba es para **diferenciar** azucares reductoras de azucares no reductoras. Al calentar la solución de Benedict y los carbohidratos, la solución se torna de color rojo anaranjado/rojo ladrillo. Esta reacción se debe a la propiedad reductora de algunos carbohidratos. Los iones de cobre (II) de la solución de Benedict se reducen a iones de cobre (I), lo que provoca el cambio de color (ver Figura 29).

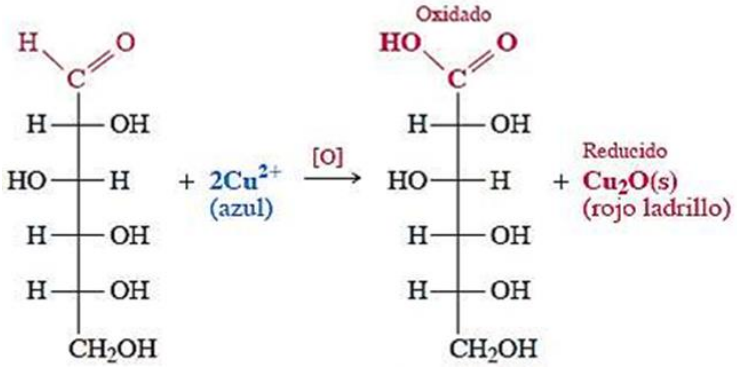


Figura 29: Ecuación de Reacción de una Azúcar Reductora. (Fuente: elaboración propia)

El cambio de coloración de azul a rojizo en el reactivo, indica una prueba positiva para azucares reductoras, tal y como se muestra en la Figura 30.

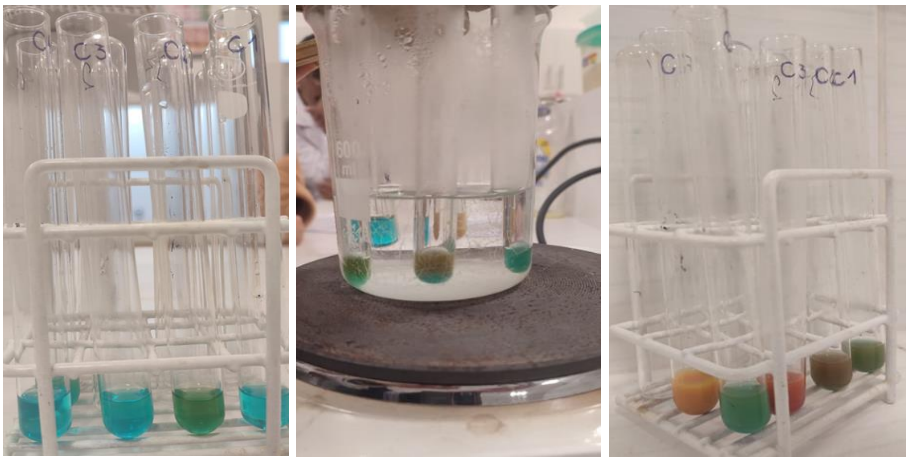


Figura 30: Prueba de Benedict para Glúcidos. (Fuente: fotos propias)

B.3 - Test de Bial: permite **detectar** pentosas. El reactivo de Bial es una solución clorhídrica de orcina, en presencia de algunas gotas de solución de cloruro férrico. Cuando se calienta una solución de pentosa con este reactivo, durante 5 minutos en baño maría a 40 ó 50° C, produce una coloración verde brillante (ver Figura 31).



Figura 31: Prueba de Bial para Glúcidos. (Fuente: fotos propias)

Es específica de las pentosas, pues éstas forman un furfural que condensa con la orcina debido a la acción del ácido clorhídrico (ver Figura 32). El producto formado, en presencia de sal férrica toma color verde. La sensibilidad de la reacción disminuye mucho si se encuentra presente simultáneamente una hexosa.

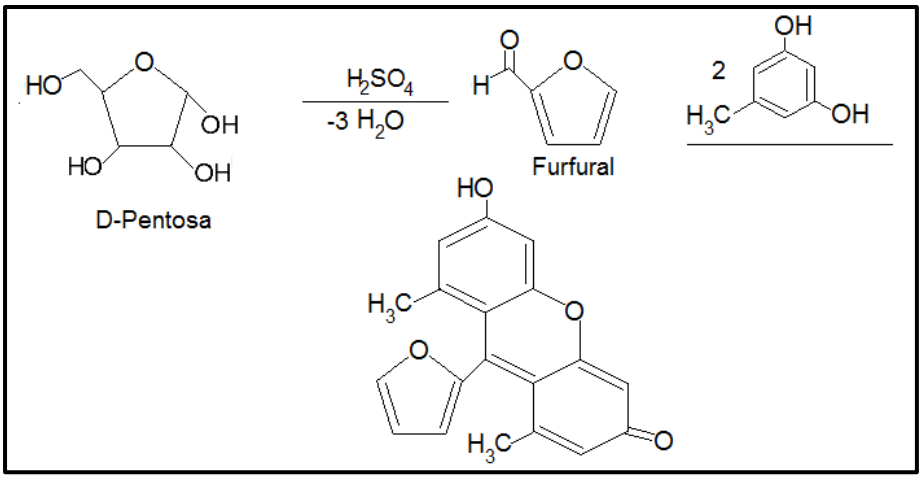


Figura 32: Reacción de una D-Pentosa condensando con orcina. (Fuente: elaboración propia)

B.4 -Test de Seliwanoff: permite diferenciar bajo estas condiciones, entre aldosas y cetosas. El reactivo de Seliwanoff consiste en una solución de resorcina en ácido clorhídrico concentrado. Al calentar a baño maría hirviendo una muestra que contenga cetosa con este reactivo, se produce una coloración roja, tal y como se muestra en la Figura 33.

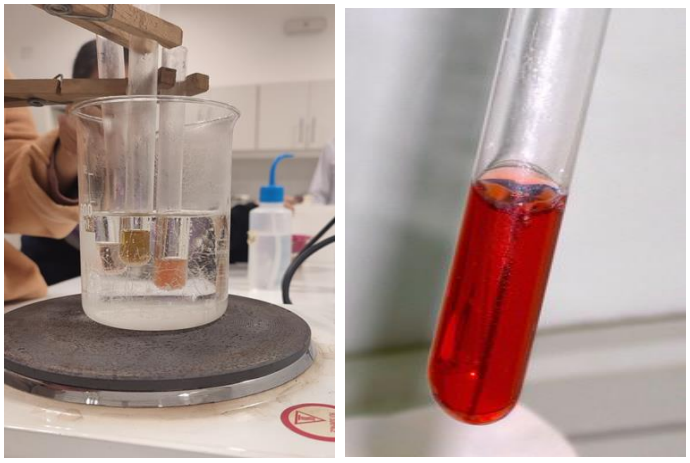


Figura 33: Prueba de Seliwanoff para Glúcidos. (Fuente: fotos propias)

Los oligosacáridos y polisacáridos que contienen fructosa dan una reacción positiva. Las aldosas no dan la reacción, porque producen derivados furfúricos con muy pequeño rendimiento y en condiciones más severas que las cetosas. El derivado furfúrico formado se condensa con resorcina, determinando la reacción (ver Figura 34).

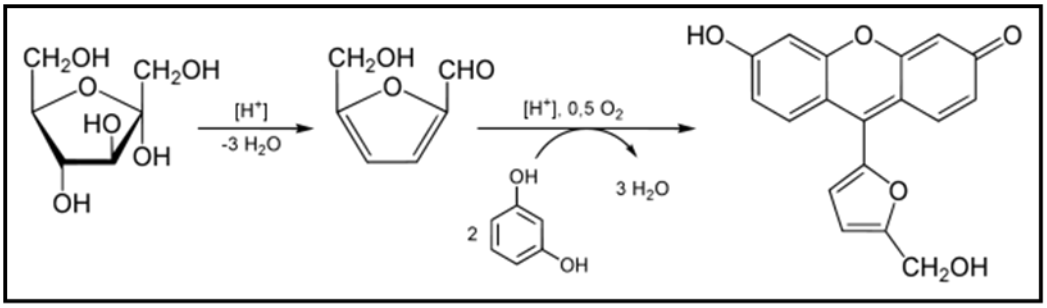


Figura 34: Reacción de condensación de una cetosa con resorcina. (Fuente: elaboración propia)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- 25 tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Pipeta para cada reactivo.
- Vaso de precipitado.
- Baño maría.
- Pinzas de madera.
- Embudo.
- Papel de filtro.
- Placa calentadora eléctrica.

Reactivos

- Reactivo de Molisch.
- H_2SO_4 concentrado.
- Reactivo de Lugol.
- Reactivo de Benedict.
- Reactivo de Bial.
- Reactivo de Seliwanoff.
- Soluciones problema de azúcares al 5%.
- Extractos acuosos de frutos de especies nativas del Bosque Chaqueño: algarrobo blanco (*Neltuma alba*), algarrobo negro (*Neltuma nigra*), chañar (*Geoffroea decorticans*) y mistol (*Sarcomphalus mistol*).



Consideraciones de seguridad sobre los reactivos a emplear en este practico

Ácido Sulfúrico Concentrado: corrosivo para metales, provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Consejo: para su manipulación, usar

guantes y delantal, con pipeta de vidrio y bajo campana. De tal forma que evite contacto directo (*ver Figura 14, página 25*).

Reactivo de Molisch: Liquido, genera vapores muy inflamables. Corrosivo para metales. Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares. Consejo: se debe manipular bajo campana, usando guantes, delantal y con pipeta de vidrio, para evitar contacto directo (ver Figura 35).



Figura 35: Información sobre el Reactivo de Molisch. (Fuente: elaboración propia)

Reactivo de Lugol: Liquido. Puede provocar daños en los órganos (tiroides) tras exposiciones prolongadas o repetidas (en caso de ingestión). Consejo: se debe manipular bajo campana, usando guantes (ver Figura 36).



Figura 36: Información sobre el Reactivo de Lugol.
(Fuente: elaboración propia)

Reactivo de Benedict: Liquido. Provoca irritación ocular grave. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evite su liberación en el ambiente, ya que puede contaminar los cursos de agua. Consejo: se debe manipular bajo campana, usando guantes (ver Figura 37).

Reactivo de Bial: Líquidos y vapores inflamables. Nocivo en caso de ingestión. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Tóxico en caso de inhalación. Consejo: se debe manipular bajo campana, usando guantes, delantal y con pipeta de vidrio, para evitar contacto directo (ver Figura 38).

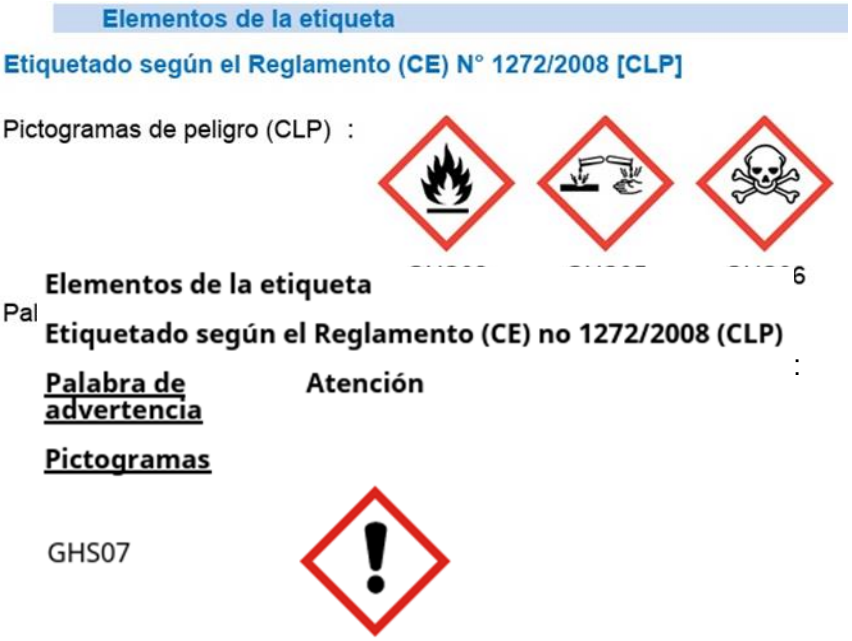


Figura 37: Información sobre el Reactivo de Benedict.
(Fuente: elaboración propia)

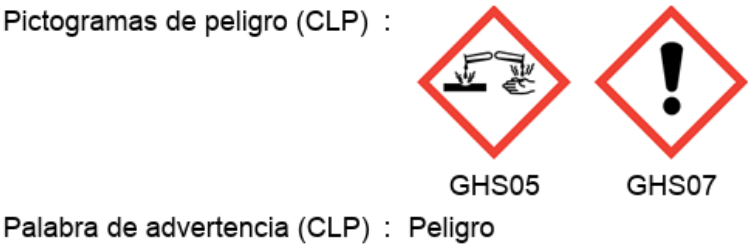


Figura 39: Información sobre el Reactivo de Seliwanoff.
(Fuente: elaboración propia)

Reactivo de Seliwanoff: Liquido. Puede ser corrosivo para metales. Provoca irritación cutánea. Provoca lesiones oculares graves. Consejo: se debe manipular bajo campana, usando guantes, delantal y con pipeta de vidrio, para evitar contacto directo (ver Figura 39).

Una vez realizados las experiencias, las mezclas de los tubos de ensayos **no deben** ser arrojadas en la bacha de la mesada, sino que se deben verter en un contenedor común (proporcionado por la cátedra) para que sea enviado al Depósito de Residuos Peligrosos – Sede Zanjón FAyA-UNSE, donde tendrá una disposición final diferenciada.

Procedimiento

Obtención del extracto

Tomar 10 g de muestra en un mortero, triturar el fruto y añadir 100 ml de agua, luego filtrar y centrifugar 5 min para separar el sólido fino del líquido. Finalmente, con una pipeta Pasteur extraer la fase liquida y someterla a los respectivos experimentos.

Realización de las reacciones de identificación

Las experiencias, explicadas anteriormente, se deben realizar siguiendo los pasos que se describen en el esquema de la Figura 40.

En esta práctica se les proporcionaran siete muestras. Seis son soluciones “problemas” de identidad desconocida, de las cuales una no es un azúcar, otra contiene un polisacárido, dos son azucares no reductoras, una contiene una pentosa, otra contiene una aldosa y la ultima una cetohexosa. La séptima solución es el extracto del fruto nativo que prepararon anteriormente.

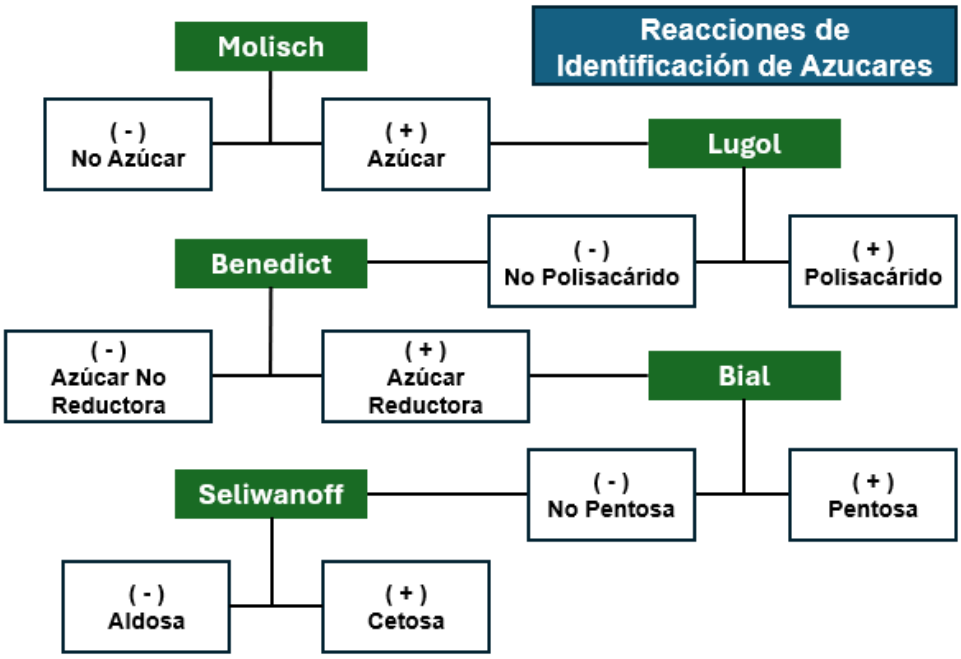


Figura 40: Esquema procedimental de la Marcha. (Fuente: elaboración)

Primera experiencia:

Test de Molisch: para identificar un azúcar de un no azúcar. Tomar 7 tubos de ensayo, rotularlos y en cada tubo colocar 2 ml de muestra y agregar 5 gotas de reactivo de Molisch. Agitar hasta homogeneizar. Luego, con el tubo inclinado,

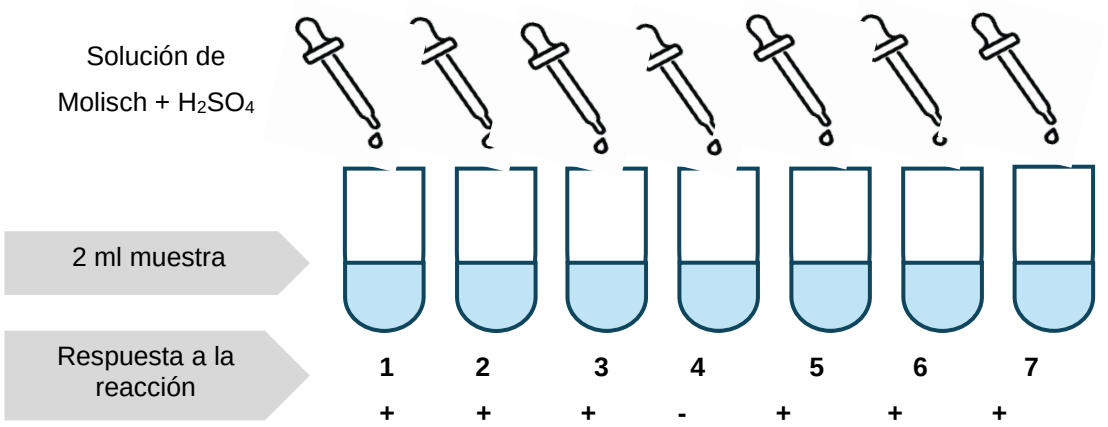


Figura 41: Procedimiento del test de Molisch para identificación de azucares. (Fuente: elaboración propia)

por sobre las paredes agregar 1 ml de H_2SO_4 concentrado, en este punto no se debe agitar, Figura 40. Observar y anotar.

Si aparece un anillo de color violeta en la interfase, el resultado es (+) Azúcar. Continuar a la segunda experiencia. Si no se visualiza un anillo de coloración violácea en el tubo, es (-) y se detiene aquí, descartándose esta muestra en la siguiente experiencia.

En la Figura 41 se ejemplifica un procedimiento. Aclaración: la respuesta en las figuras esquematizadas del procedimiento, descartan un tubo de ensayo aleatorio, solo con fines didácticos. Durante la práctica, los tubos descartados pueden ser diferentes al esquema, salvo el tubo N° 7 que contendrá la solución del extracto del fruto del árbol nativo que le toco, el cual participará de todos los ensayos.

Segunda experiencia:

Test del Lugol: en este paso se lleva a cabo este test para identificar si los azucares son o no polisacáridos. Se continua solo con las muestras positivas de la experiencia anterior. En el ejemplo de la Figura 41, se descarta el tubo 4 por lo que se continúa con 6 tubos rotulados: 1,2,3,5,6 y 7. Colocar 2 ml de muestra en cada uno de ellos llevar a cabo el Test de Lugol, esto es, agregar 1 gota de solución de Lugol en cada tubo y se agita para homogeneizar, Figura 42. Observar y anotar.

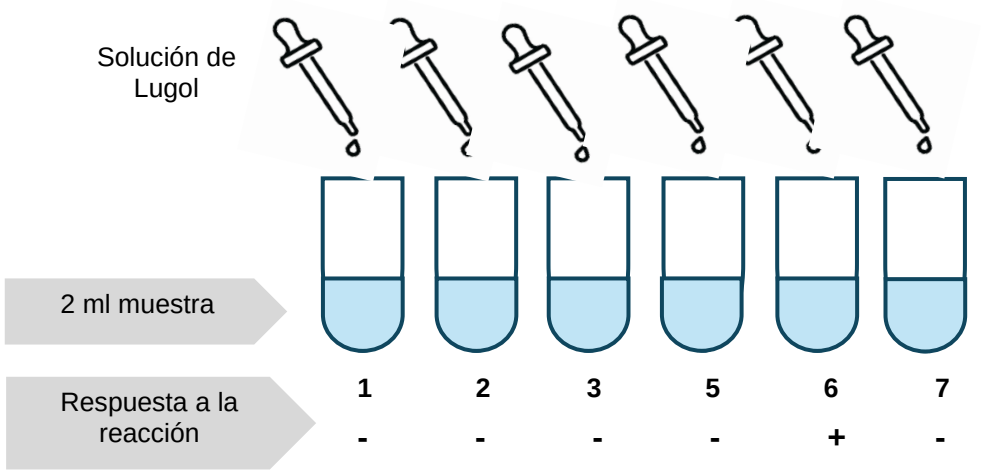


Figura 42: Procedimiento para la realización de la prueba de Lugol para azucares. (Fuente: elaboración propia)

Si la solución se torna azul oscuro, violeta o negro, es un (+): se trata de un polisacárido. Aquí termina su identificación.

Si la solución permanece de color amarillo/marrón claro, es (-). Avanza a la experiencia siguiente, descartándose la muestra positiva.

Tercera experiencia:

Test de Benedict: en este test se determina si el azúcar es o no reductor. Por ello se descartan las soluciones que dieron prueba positiva en la segunda experiencia. Siguiendo con el ejemplo de la Figura 42, en este paso se debe continuar con los tubos 1, 2, 3, 5 y 7. Por consiguiente tomar cinco tubos limpios, colocar 2 ml de muestra de las soluciones 1, 2, 3, 5 y 7 y agregar 1 ml de reactivo de Benedict. Agitar para homogeneizar tal como se muestra en la Figura 43. Luego, llevar a baño maría hasta observar el cambio esperado.

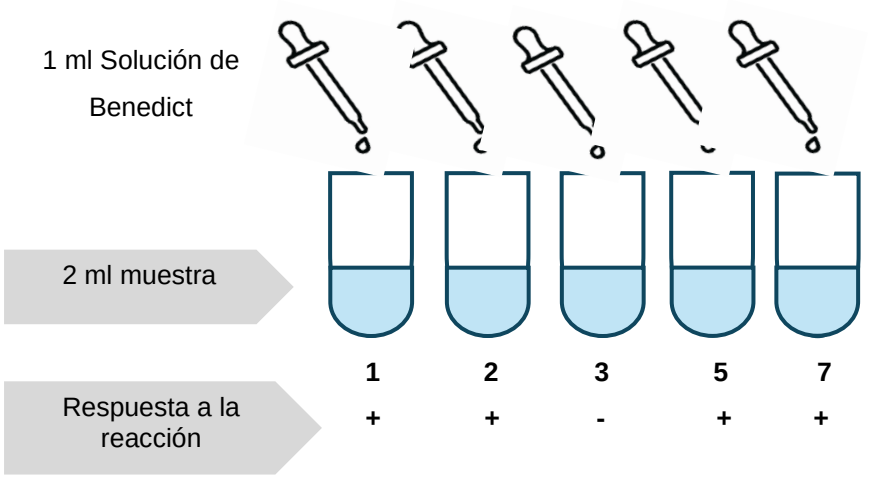


Figura 43: Procedimiento para la rección de Benedict con carbohidratos. (Fuente: elaboración propia)

Si se forma un precipitado rojo, naranja o verde, el resultado es (+): Azúcar Reductor. Continúa a la cuarta experiencia.

Si el color azul del reactivo no cambia, es un (-): Azúcar No Reductor (como la sacarosa). Aquí termina la marcha y se descartan estas muestras en la siguiente experiencia.

Cuarta experiencia:

Test de Bial: que permite diferenciar pentosas de otros monosacáridos. Para ello, se debe continuar con aquellas soluciones que contienen azucares reductores. En el ejemplo de la Figura 43 corresponde a los tubos: 1, 2, 5 y 7. Tomar entonces cuatro tubos limpios, rotularlos y colocar 2 ml de las muestras

1, 2, 5 y 7. A cada uno agregar 2 ml de reactivo de Bial, agitar. Luego, llevar a baño maría hasta observar el cambio esperado, Figura 44.

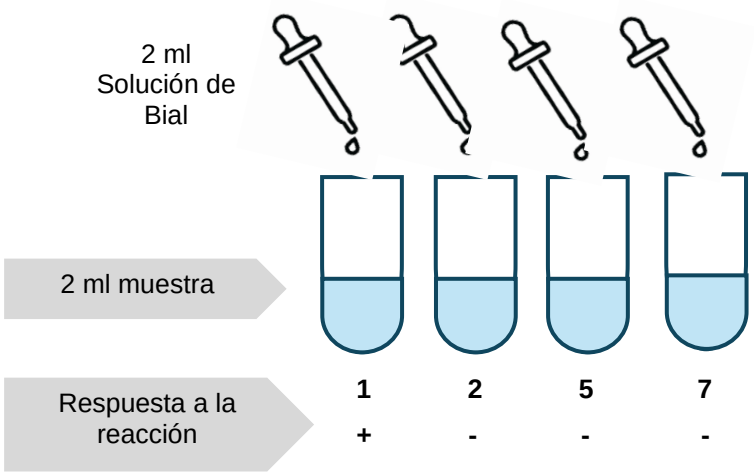


Figura 44: procedimiento para el test de Bial para carbohidratos. (Fuente: elaboración propia)

Si aparece un color azul-verdoso, es una (+): pentosa (5 carbonos). Aquí termina la identificación. Si aparece un color amarillo, marrón o no cambia a verde, es (-), indica una hexosa. Avanza a la quinta experiencia, descartándose los tubos que dieron positiva la prueba.

Quinta experiencia:

Test de Seliwanoff: permite diferenciar aldosas de cetosas. La experiencia debe realizarse sobre las muestras que dieron negativo la experiencia anterior. En el ejemplo de la Figura 44 corresponde a los tubos 2, 5 y 7. Tomar 3 tubos limpios y colocar 2 ml de las muestras 2, 5 y 7; agregar 1 ml de Seliwanoff y agitar, ver

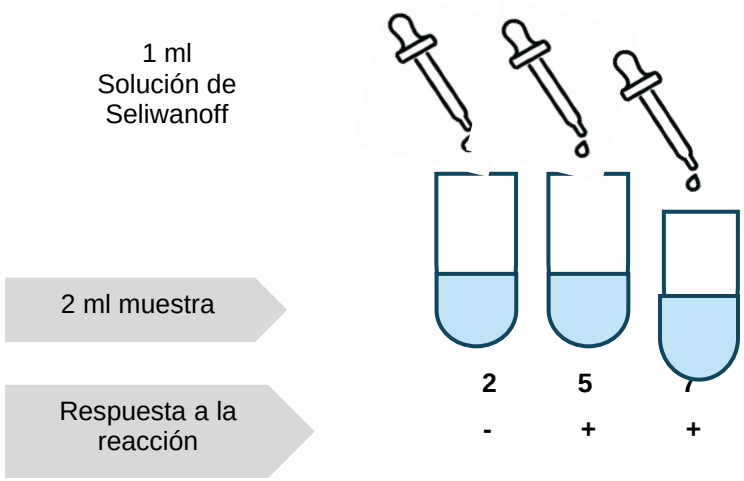


Figura 45: Test de Seliwanoff para azucares. (Fuente: elaboración propia)

Figura 45. Luego, llevar a baño maría hirviendo por 7 minutos aproximadamente. Observar el cambio esperado y anotar.

Si la solución cambia rápidamente (antes de los 2 minutos) a un color rojo guinda/cereza intenso, es una (+): cetosa (ej. fructosa).

Si el color tarda mucho en cambiar o se mantiene rosa pálido después de 5 minutos, es una (-) Aldosa (ej. glucosa).

ACTIVIDADES

1. Según el test de Molisch, ¿Cuál muestra no contiene un Glúcido? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata?
2. Según el test de Lugol, ¿Cuál muestra contiene Polisacárido? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata?
3. Según el test de Benedict, ¿Cual muestra contiene Azúcar No Reductora? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata?
4. Según el test de Bial, ¿Cuál muestra contiene la Pentosa? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata?
5. Según el test de Seliwanoff, ¿Cuál muestra contiene la Cetosa? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata? Y en función del resultado ¿Cuál muestra contiene la Aldosa? ¿Cómo pudo llegar a identificarlo? ¿De quién se trata?
6. Teniendo en cuenta el extracto acuoso del fruto de la especie nativa que le toco, y según lo observado: ¿Contiene glúcidos? ¿Se identificó la presencia de Polisacárido? ¿Contiene Azúcar Reductora o No Reductora? ¿Se detectó la presencia de Pentosas? ¿Se identificó la presencia de Aldosas o Cetosas?
7. Según lo observado en el extracto que le toco, ¿Podría decir que el fruto representa una fuente de carbohidratos importantes para el ecosistema? ¿De qué forma se lo aprovecha o se lo podría aprovechar a estos frutos?
8. Con los resultados obtenidos de las experiencias, completar el siguiente cuadro, marcando con (x) la prueba negativa y con (+) la prueba positiva para cada muestra y para el extracto.

Test	Muestras						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	Extracto
Molisch							
Lugol							
Benedict							

Bial							
Seliwanoff							

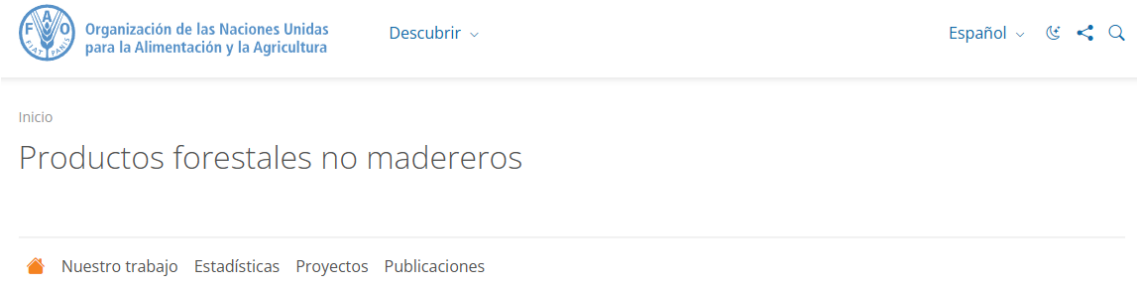
9. Finalmente, elaborar un informe sobre el trabajo realizado, respondiendo a las preguntas de las actividades y siguiendo el modelo de informe presentado por la cátedra. El mismo será uno por grupo y enviado al correo de la cátedra.



Lecturas de interés



https://www.argentina.gob.ar/ambiente/bosques/productos-forestales-no-madereros



https://www.fao.org/forestry/nwfp/es

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 3

Saponificación de Aceites y/o Grasas.

OBJETIVOS

- Comprender el mecanismo químico de la reacción de saponificación.
- Sintetizar jabón mediante la reacción de saponificación.
- Adquirir destreza en el manejo del instrumental y material de laboratorio, como así también en el armado de informe.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.

INTRODUCCION TEORICA

Los **lípidos** constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos (como éter, cloroformo o etanol). La palabra *"lípido"* proviene del vocablo griego *lipos*, que significa "grasa" o "manteca". Estas biomoléculas son una característica importante de las membranas celulares, las vitaminas liposolubles y las hormonas esteroides.

Su estructura básica se caracteriza por la presencia predominante de átomos de carbono e hidrógeno, y en menor proporción de oxígeno, aunque algunos también contienen fósforo, nitrógeno o azufre.

Dentro de la familia de los lípidos hay estructuras específicas que distinguen los diferentes tipos de lípidos. Aquellos como las ceras, grasas, aceites y glicerofosfolípidos son ésteres que pueden hidrolizarse para producir ácidos grasos junto con otros productos, incluido un alcohol. Los triacilgliceroles y glicerofosfolípidos contienen el alcohol glicerol, en tanto que los esfingolípidos contienen un Aminoalcohol llamado esfingosina. Mientras que los esteroides, que tienen una estructura completamente diferente, no contienen ácidos grasos y no pueden hidrolizarse. Estos se caracterizan por el núcleo esteroide de cuatro anillos de carbono fusionados (Ver Figura 46).

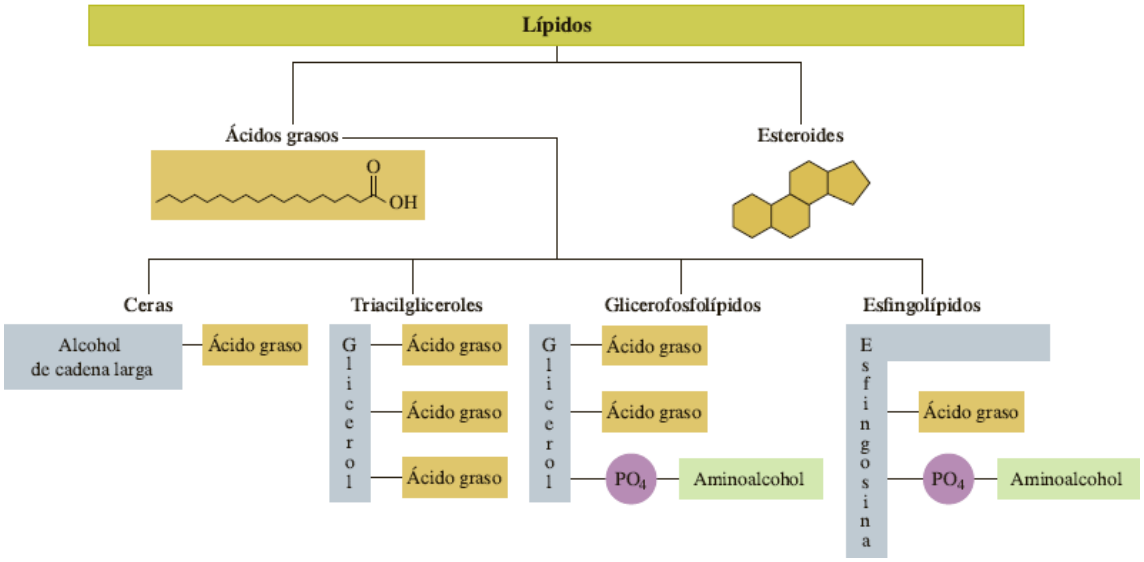


Figura 46: Clasificación de los Lípidos. (Fuente: Timberlake, 2013)

Desde el punto de vista químico, muchos lípidos son ésteres formados por la unión de un alcohol (glicerol) con ácidos grasos de cadena larga, los cuales pueden ser saturados o insaturados. Estos compuestos, conocidos como grasas y aceites, son los principales lípidos saponificables, es decir, aquellos que pueden sufrir hidrólisis alcalina para dar lugar a jabones y glicerina (Figura 47).

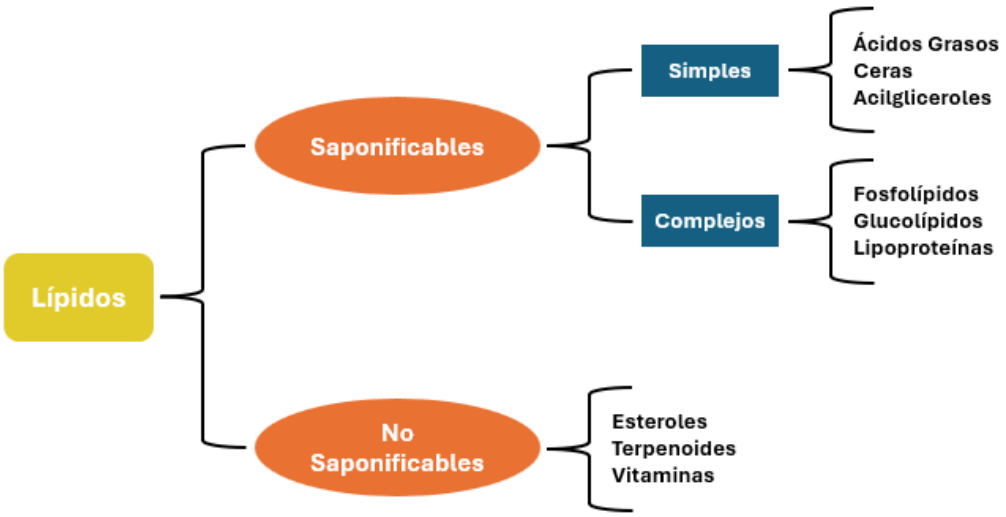


Figura 47: Clasificación de Lípidos en función de la Saponificación. (Fuente: elaboración propia)

Saponificación

La **saponificación** es una reacción característica de los lípidos en la cual los enlaces éster del triglicérido se rompen por acción de una base fuerte (como NaOH o KOH). Este término se utiliza para describir la hidrólisis en medio alcalino de esteres en general, y la hidrólisis alcalina de grasas a jabones y glicerina. El resultado es la formación de una sal del ácido graso (jabón) y el

alcohol correspondiente (glicerol). El proceso puede representarse de manera general como se muestra en la Figura 48.

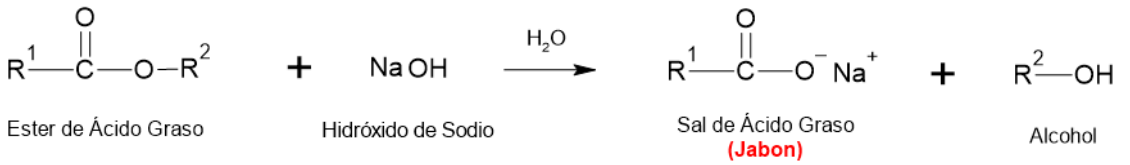


Figura 48: Ecuación de reacción de saponificación. (Fuente: elaboración propia)

Propiedades de los Jabones

Los jabones naturales, son sales sódicas o potásicas de ácidos grasos (ácidos carboxílicos de cadenas hidrocarbonadas largas). La característica principal del jabón es la presencia en la molécula de dos regiones con distinta polaridad: una hidrofílica y otra lipofílica (o hidrófoba), ver Figura 49. La parte, hidrófila se localiza en torno al grupo carboxilo, que está fuertemente polarizado y además puede formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua. Mientras que la parte lipofílica es apolar y corresponde a la cadena hidrocarbonada.

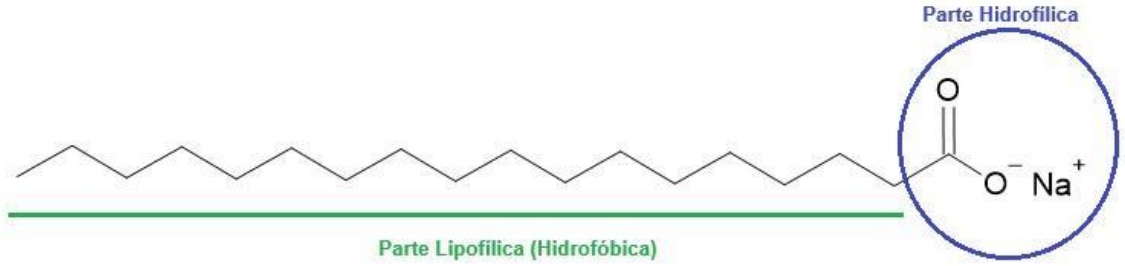


Figura 49: Estructura química de un jabón. (Fuente: elaboración propia)

Así, debido a su doble carácter hidrófilo-lipófilo (anfipático), las moléculas de jabón poseen la propiedad de solubilizar moléculas polares y no polares. Además, del hecho de su doble afinidad, estas moléculas muestran una fuerte tendencia a migrar a las interfases, de forma tal, que su grupo polar se encuentra dentro del agua y su grupo apolar se encuentra orientado hacia un medio apolar como el aire o la grasa. Pueden, incluso formar micelas, ver Figura 50. Éstas son estructuras más o menos esféricas, en la que todas las cabezas polares se encuentran interactuando con el agua (exterior) y las colas apolares están agrupadas en el interior del coloide.

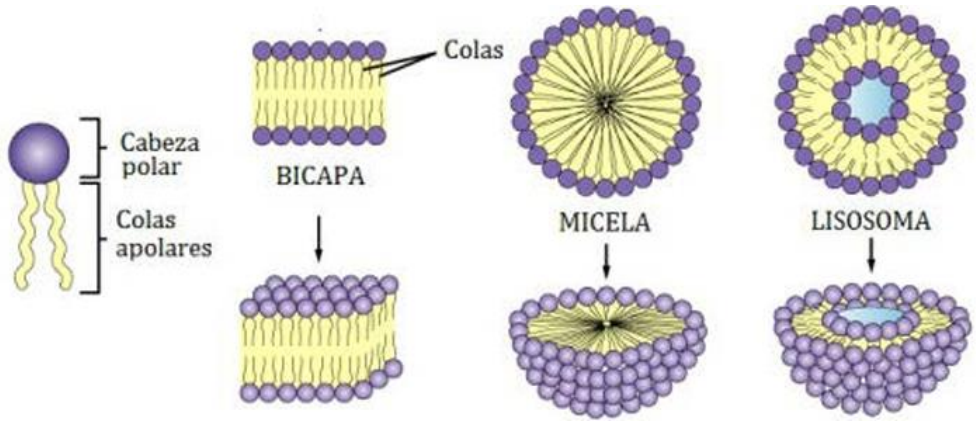


Figura 50: Estructuras que forman los lípidos en solución. (Fuente: elaboración propia)

Este fenómeno tiene importancia tanto biológica como industrial. En los organismos, la hidrólisis de lípidos constituye un proceso esencial para la obtención de energía y la formación de membranas celulares. En el ámbito tecnológico y ambiental, la saponificación permite reaprovechar residuos grasos o aceites vegetales usados para generar productos biodegradables, reduciendo el impacto de los detergentes sintéticos sobre el ambiente acuático.

Índice de Saponificación

El **Índice de Saponificación (I.S)**, que corresponde a los mg de NaOH necesarios para saponificar 1 g de grasa. Este valor es importante tener en cuenta, a la hora de hacer los cálculos para la preparación de las correspondientes soluciones y depende del tipo de lípido de que se trate. En este practico, el Índice de Saponificación (I.S) que utilizaremos es:

I.S = 134 mg NaOH/g grasa

En base a este valor, se calculará los g de NaOH que se necesitan para la saponificación de la cantidad de grasa que utilizaremos.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- 1 vaso de precipitado de 250 ml
- 2 vasos de precipitado de 100 ml
- 2 varillas de vidrio
- 1 vidrio de reloj
- 1 espátula
- 1 calentador eléctrico
- 1 probeta
- 4 tubos de ensayo
- 1 termómetro
- 1 embudo

- 1 Erlenmeyer de 250 ml
- 1 propipeta

Reactivos

- Aceite comestible/manteca vegetal/sebo.
- Hidróxido de sodio 0.5 M
- Etanol
- Agua destilada
- 75 ml de NaCl al 33,33 %



Consideraciones de seguridad sobre los reactivos a emplear en este practico

Hidróxido de Sodio: Los principales efectos adversos para la salud humana y para el medio ambiente son: corrosivo para metales. Produce corrosión cutánea, provocando una lesión irreversible en la piel, esto es, una necrosis visible a través de la epidermis que alcanza la dermis. También, provoca lesiones oculares graves. Consejo: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. Manipular bajo campana y utilizando guantes y gafas de protección (Etiqueta en la Figura 51)**.**

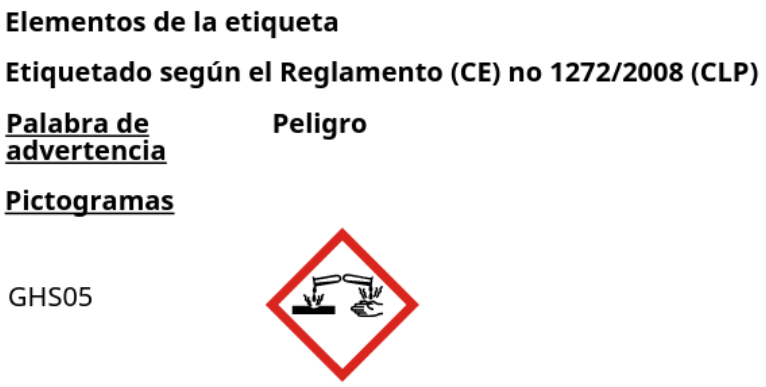


Figura 51: Etiqueta con información sobre el Hidróxido de Sodio. (Fuente: elaboración propia)

Procedimiento

- Pesar 2 g de hidróxido de sodio en un vaso de precipitado (o Erlenmeyer) de 100 ml, añadir 10 ml de agua y 10 ml de etanol, agitar durante 5 minutos.
- Pesar 20 g de aceite/manteca vegetal/sebo en otro vaso de 100 ml, en el caso de la manteca vegetal o el sebo calentar los 20 gramos hasta fundirlo antes del siguiente paso.

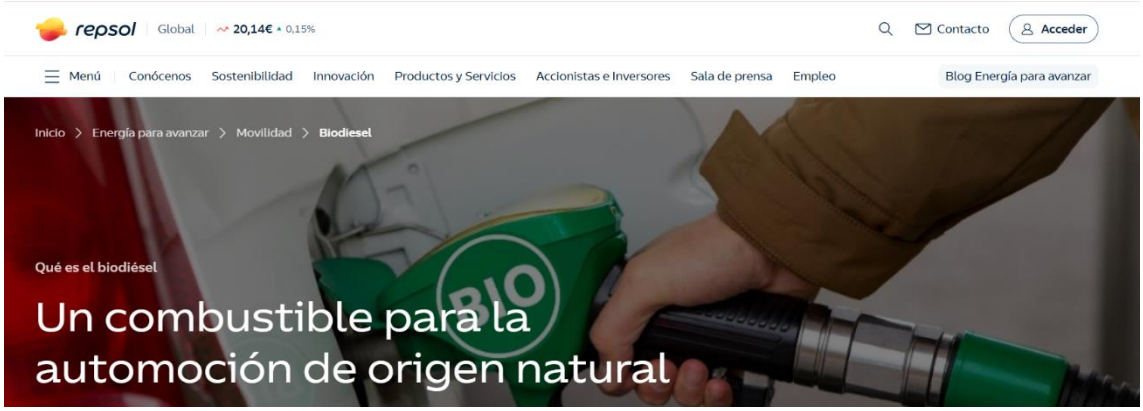
- Añadir la disolución de NaOH y agitar durante 15 minutos, calentando suavemente (a unos 50ºC) en baño maría. Durante este tiempo, se habrá formado una pasta de jabón. Luego, verter todo sobre el vaso de 250 ml que contiene la disolución de NaCl, agitar durante 5 minutos y poner a enfriar en un baño de hielo.
- El jabón se separa por filtración y se lava con tres porciones de 15 ml de agua fría. El sólido obtenido se seca al aire, se recoge el jabón con una espátula y se deja reposar en el vidrio de reloj.
- Finalmente, comprobar que el producto se comporta como un jabón, para ello debe tomar una pequeña porción de jabón (una punta de espátula) y comprobar si hace espuma al mezclar y agitar con agua en un tubo de ensayo.

ACTIVIDADES

1. ¿Qué tipo de reacción química es la saponificación?
2. ¿Qué rol cumple el hidróxido de sodio (NaOH)?
3. ¿Qué productos se obtienen y cuál es su estructura general?
4. ¿Cómo influye el tipo de ácido graso (saturado vs insaturado) en el jabón obtenido?
5. ¿Por qué los jabones pueden limpiar sustancias grasas?
6. ¿Podrían utilizarse aceites provenientes de especies forestales (ej. semillas) para producir jabón? Investigar sobre especies forestales con potencial oleaginoso.
7. ¿Qué impacto ambiental tiene desechar aceites usados? ¿Cómo contribuye la saponificación al reciclaje de residuos?
8. Finalmente, elaborar un informe sobre el trabajo realizado, respondiendo a las preguntas de las actividades y siguiendo el modelo de informe presentado por la cátedra. El mismo será uno por grupo y enviado al correo de la cátedra.



Lecturas de interés



https://www.repsol.com/es/energia-avanzar/movilidad/biodiesel/index.cshtml



https://www.moverse.org/de-tu-plato-a-tu-cocina-un-circulo-completo-hacia-la-sostenibilidad/

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 4

Cromatografía de Aminoácidos.

OBJETIVOS

- Conocer las distintas técnicas cromatográficas y diferenciar los distintos fenómenos a través de los cuales se efectúan las separaciones en dichas técnicas.
- Realizar la separación cromatográfica de una mezcla de aminoácidos desconocidos.
- Adquirir destreza en el manejo del instrumental y material de laboratorio, como así también en el armado de informe.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.
- Fomentar la participación, el dialogo, el respeto y la cooperación con el otro.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

La **cromatografía** es un método físico de separación de mezclas complejas de gran aplicación en todas las ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de *retención selectiva*, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

Puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente:

- **Separar** los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente.
- **Identificar** componentes de la mezcla comparándolos con sustancias patrones de identidad conocida.
- **Cuantificar** los componentes de la mezcla, mediante el uso de un detector que mide la cantidad de cada sustancia a medida que sale separada de la columna. Solo en algunos tipos de cromatografía como la HPLC.

La separación se debe a la influencia de dos efectos contrapuestos:

a) *Retención*: Efecto producido sobre los componentes de la mezcla por una **fase estacionaria** fija, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido.

b) *Desplazamiento:* efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una **fase móvil**, que puede ser un líquido, un gas o un fluido supercrítico.

El fenómeno de migración de los componentes de una muestra impulsados por la fase móvil, a lo largo de la fase estacionaria, se denomina *elución*. La mezcla por separar se deposita sobre la fase estacionaria, mientras que la móvil atraviesa el sistema arrastrando los componentes de la misma, los cuales se desplazan a distintas velocidades dependiendo de la magnitud de las interacciones relativas de dichos componentes con ambas fases. La fase móvil y la estacionaria se eligen de manera que los componentes de la muestra se distribuyan de manera diferente entre ambas. Aquellos componentes que son retenidos fuertemente por la fase estacionaria, se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil. Por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez junto con la fase móvil. Como consecuencia de esta movilidad diferente los componentes se separan en bandas o manchas que pueden analizarse cualitativamente y/o cuantitativamente. Esta diferencia de distribución y por ende de movilidad se debe fundamentalmente a la *afinidad selectiva* de cada componente en este caso aminoácidos entre las dos fases: la móvil y la estacionaria. Esto, a su vez, depende de ciertos factores como las interacciones fisicoquímicas entre los componentes y las fases, el coeficiente de reparto o distribución y las fuerzas de equilibrio. Sin embargo, el factor de mayor influencia que consideramos son las interacciones intermoleculares entre los solutos y las fases, que está relacionado a sus estructuras químicas y a la polaridad o apolaridad de éstas. En este sentido: componentes con mayor afinidad por la fase móvil, pasan más tiempo disueltos en la fase móvil y, por lo tanto, avanzan con mayor rapidez. Mientras que, componentes con mayor afinidad por la fase estacionaria, son retenidos por más tiempo en el soporte inerte, lo que provoca que su avance sea más lento.

<u>Interacciones</u>

Las principales interacciones que ocurren entre la muestra, la fase estacionaria y la fase móvil son:

* Adsorción: por existencia de efectos superficiales de polaridad de la fase estacionaria respecto a los solutos.
* Intercambio iónico, con interacciones de tipo ácido-base.
* Solubilización o partición en los disolventes estacionario o móvil.
* Reactividad, entre grupos químicos funcionales específicos.
* Tamizado y exclusión debido a los tamaños y formas moleculares.

Clasificación

Existen distintos tipos de técnicas cromatográficas que se pueden llevar a cabo dependiendo que se quiere analizar con ella. La Figura 52, muestra un esquema de clasificación de las técnicas.

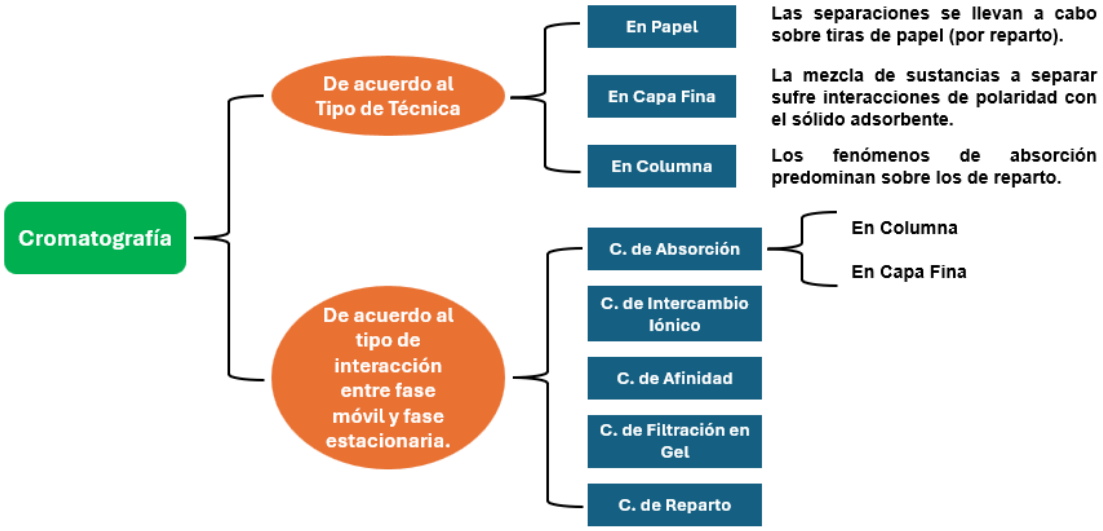


Figura 52: Clasificación de los Tipos de Cromatografía. (Fuente: elaboración propia)

Cromatografía de Reparto

Como su nombre lo indica, está basada en la separación de una mezcla de sustancia mediante el reparto existente entre la fase móvil y la fase estacionaria, soportada sobre un sólido adecuado. El disolvente puede ser líquido (cromatografía líquido – líquido) o un gas (cromatografía gas – líquido).

En la auténtica cromatografía de reparto, el único factor que influye en el movimiento de un compuesto a lo largo del papel es la solubilidad relativa de este en la fase móvil y estacionaria.

Las sustancias que son solubles sólo en el disolvente emigran a la misma velocidad que la parte frontal de éste, mientras que las que son solamente solubles en la fase estacionaria permanecerán en el origen de la cromatografía.

Uno de los más importantes aspectos de la cromatografía es que, en un sistema cromatográfico dado, el movimiento de relativo de las sustancias respecto al disolvente es constante y característico de cada uno.

Cromatografía en Papel

Es una de las técnicas cromatográficas más simples y de las más antiguas.

Consta de las siguientes etapas:

Siembra: Las muestras se aplican sobre papel cromatográfico (Whatman N° 1) en forma de solución. Para esto, los sólidos se disuelven en una pequeña cantidad de disolvente adecuado. Cuando se pretende identificar sustancias debe también sembrarse patrones conocidos de las sustancias.

Desarrollo: una vez secas las manchas sobre el papel, se procede a efectuar el desarrollo, nombre que se da al proceso en el que un disolvente fluye a través del papel, produciendo la separación. El desarrollo se puede llevar a cabo permitiendo que el disolvente suba por el papel (técnica ascendente) o que descienda por él (técnica descendente):

- *Técnica descendente:* el disolvente que ha de fluir se pone en un depósito que está colocado en la cubeta cromatográfica, el recipiente donde se lleva a cabo la cromatografía. En el fondo de la cubeta se coloca también disolvente para asegurar que la atmósfera interior esté saturada de vapor. El papel se suspende en el disolvente y se tapa herméticamente la cubeta. Tener en cuenta que la línea de siembra debe estar por debajo del contacto del papel con la fase móvil.
- *Técnica ascendente:* el disolvente se coloca en el fondo de la cubeta y el papel se suspende en la parte superior (Figura 53). Tener en cuenta en este caso que la línea de siembra debe estar por encima del nivel de la fase móvil.

Secado de Papel: cuando el disolvente ha recorrido la distancia requerida, se saca el papel de la cubeta y se seca en estufa. La cubeta debe colocarse dentro de la campana de extracción y allí deben llevarse a cabo todas las operaciones.

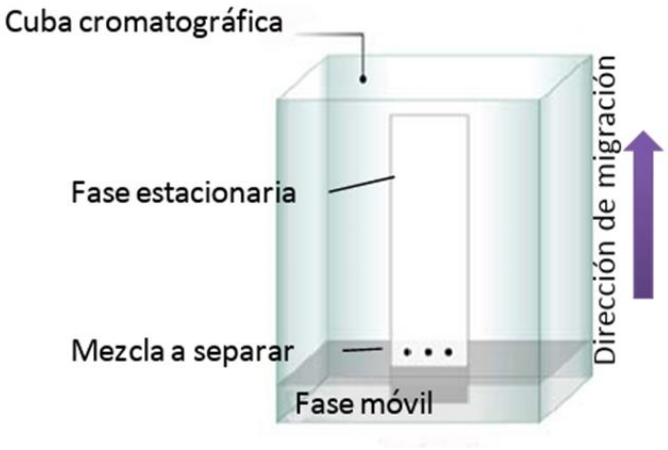


Figura 53: Cromatografía con técnica Ascendente.
(Fuente: elaboración propia)

Revelado: cuando se realiza la separación, interesa, naturalmente, localizar la posición de la sustancia en el papel. Si las sustancias son coloreadas no presenta dificultad, pero muchos compuestos son incoloros y en este caso se puede hacer unos de varios métodos. Los métodos físicos, como fluorescencia y radiactividad tienen aplicación muy limitada. El método generalmente más usado es el de hacer reaccionar a las sustancias a revelar con algún agente químico con el que forman algún compuesto coloreado, en el caso de los aminoácidos el revelador utilizado es ninhidrina.

Cálculo de R_f

Este coeficiente, también conocido como "*Factor de retención*", es una constante para cada sustancia siempre que la determinación se realice en las mismas condiciones operativas en cuanto a tipo de papel, temperatura, tiempo de corrida, solventes usados, volumen y concentración de las sustancias aplicadas. Este coeficiente se define por la ecuación 1:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la sustancia}}{\text{distancia recorrida por el frente del solvente}}$$

Ecuación 1: Cálculo del Coeficiente Rf o Factor de retención. (Fuente: elaboración propia)

La Figura 54 muestra un ejemplo del cálculo de R_f o Factor de Retención:

Los R_f de las diversas sustancias toman valores entre 0 y 1; se encuentran tabulados en la bibliografía específica y pueden ser usados, junto con otras evidencias químicas, para la identificación de los componentes de una muestra, en tanto se trate de sistemas cromatográficos idénticos.

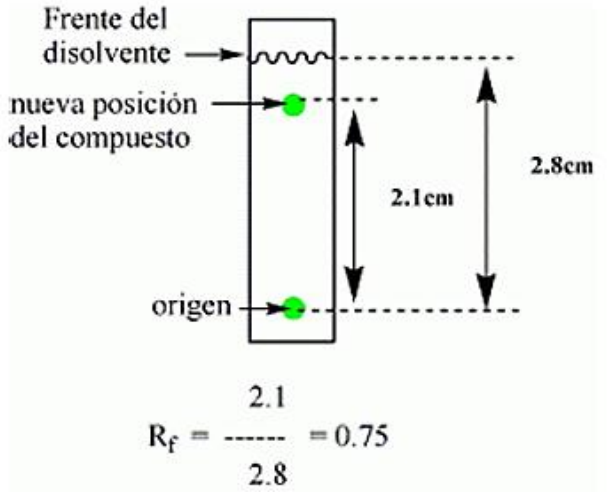


Figura 54: Ejemplo de cálculo de R_f. (Fuente: elaboración propia)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- Matraces aforados
- Pipetas de 5 ml.
- 2 cubas de vidrio con tapa.
- Micropipetas.
- Papel Whatman N°1 o N°4.

Reactivos

- Muestra: solución de aminoácidos al 0,1%.
- Solvente: *n*-butanol, ácido acético glacial, H_2O (6:1:2).
- Revelador: solución de ninhidrina.



Consideraciones de seguridad sobre los reactivos a emplear en este practico

Butanol: es un producto combustible, líquido inflamable. Libera vapores inflamables. Nocivo en caso de ingestión, provoca irritación cutánea, lesiones oculares graves, puede irritar las vías respiratorias y puede provocar

somnolencia o vértigo. Consejo para su manipulación: mantener alejado del calor o fuentes de ignición, no respirar sus vapores, trabajar bajo campana, utilizar guantes y gafas. En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua y jabón. En caso de inhalación, transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. (Etiqueta en Figura 55).

Ácido Acético: Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave.



Figura 55: Etiqueta con información sobre el Butanol. (Fuente: elaboración propia)

Consejo: Manipular bajo campana, usando guantes. En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua (*Etiqueta en Figura 15, página 25*).

Ninhidrina: producto químico que es nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea e irritación ocular grave, y puede irritar las vías respiratorias. Consejos para su manipulación: utilizar guantes/gafas de protección, trabajar bajo campana. En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua y jabón. En caso de inhalación, transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. (Etiqueta de seguridad en Figura 56).



Figura 56: Etiqueta con información sobre la Ninhidrina. (Fuente: elaboración propia)

Procedimiento

Preparación del Cromatograma

Para el cromatograma se usa papel de filtro el cual se maneja por los bordes evitando tocarlo demasiado. Con un lápiz trazar una línea recta a 1,5 cm. del

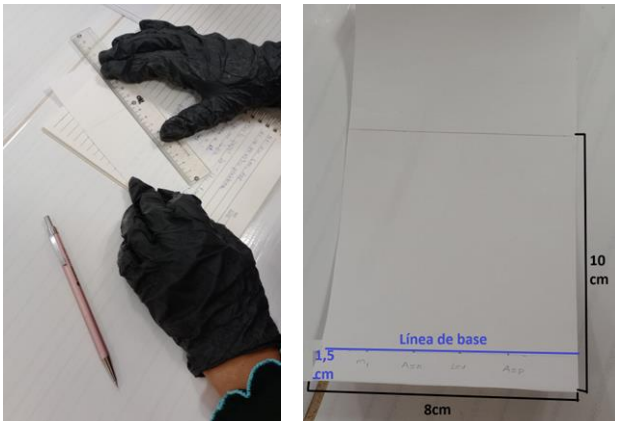


Figura 57: Preparación del Cromatograma. (Fuente: fotos propias)

borde. Esta línea representa la línea de base o punto de partida o línea de siembra del cromatograma. Sobre esta línea, dibujar a una cierta distancia, los puntos de siembra (Figura 57).

En cada uno de estos puntos, con una micropipeta o un capilar, colocar una pequeña gota de solución de cada aminoácido patrón y de la muestra problema que contiene dos aminoácidos desconocidos a separar e identificar. Dejar secar y repetir dos o tres veces la misma operación. Se puede ayudar usando secador de cabello (Figura 58).



Figura 58: Siembra de las muestras. (Fuente: fotos propias)

La tira de papel, o fase estacionaria, se suspende verticalmente en la cuba cromatográfica, un recipiente que contiene la fase móvil y está vestida interiormente con un papel de filtro humedecido con la fase móvil a fin de saturar

la cuba con vapores. Tapar y dejar ascender la fase móvil hasta que alcance una altura distante a 2 cm. del borde superior del papel (Figura 59).



Figura 59: Cromatograma en la Cuba Cromatográfica (Técnica Ascendente). (Fuente: fotos propias)

Una vez alcanzado la altura recomendada con respecto a la fase móvil, sacar el papel de la cuba y dejar secar a temperatura ambiente dentro de la campana de extracción. Cuando el papel está seco, rociar el cromatograma con el reactivo de ninhidrina, Figura 60. Dejar secar de nuevo y colocarlo en estufa a 80° C durante 5 min.

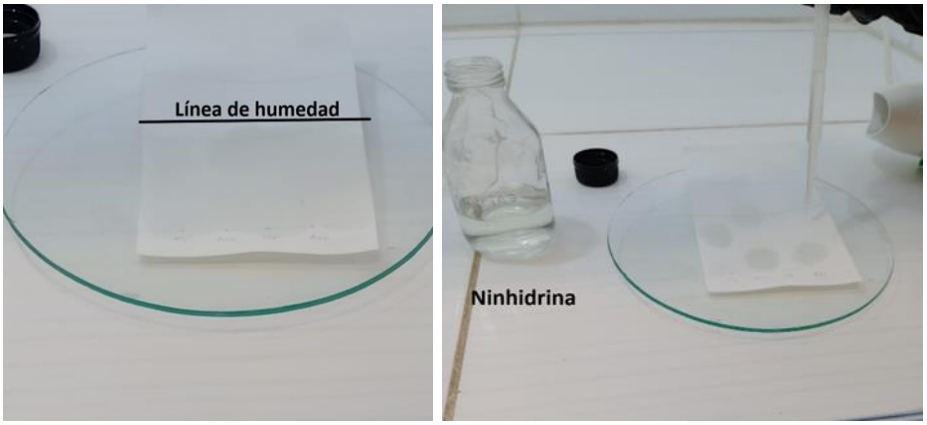


Figura 60: Secado del Cromatograma y agregado de Ninhidrina. (Fuente: fotos propias)

Cuando se calienta el papel cromatográfico en la estufa, se produce una reacción de descarboxilación oxidativa entre los aminoácidos que contiene y el revelador ninhidrina seguida por una condensación de la hidrindamina formada por una segunda molécula de ninhidrina. El aminoácido es oxidado a un aldehído que contiene un átomo de carbono menos. En los lugares a donde haya aminoácidos, el papel tomará color púrpura (Figura 61).

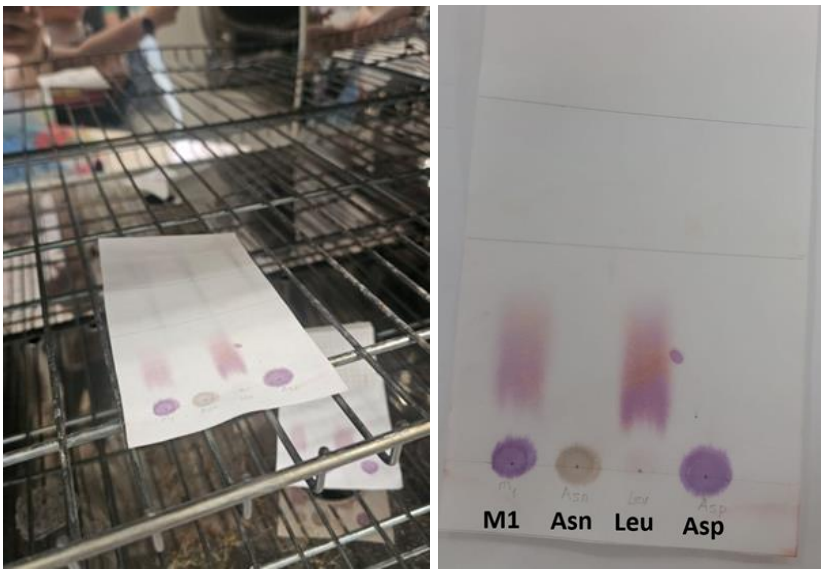


Figura 61: Revelado de las muestras en el Cromatograma. (Fuente: fotos propias)

Procedimiento

- Para el trabajo experimental formar grupos. A cada uno se le asigna cuatro soluciones: tres de aminoácidos conocidos (patrones) y una muestra problema desconocida (muestra problema).
- Cada grupo deberá seguir los pasos en la preparación de su cromatograma (como se detalló anteriormente) con los aminoácidos y la muestra problema que se les entrego.
- Observar los resultados obtenidos y elaborar conclusiones.

ACTIVIDADES

1. En base a los resultados obtenidos ¿dedujo cuáles eran los aminoácidos presentas en la muestra problema que les toco?
2. Calcule los R_f de cada uno de los aminoácidos y de la muestra problema. Compárelos y vea si existe similitud o diferencia entre ellos.
3. Busque y añada las estructuras de los aminoácidos que le toco.
4. ¿Cuál o cuáles fueron los aminoácidos que avanzaron mayor distancia? ¿A qué se debe este comportamiento?
5. ¿Cuál o cuáles fueron los aminoácidos que se mantuvieron en la línea de siembra? ¿A qué se debe este comportamiento?
6. ¿Cómo cree que le puede servir conocer esta técnica de laboratorio en su futura labor como profesional?

7. Finalmente, elaborar un informe sobre el trabajo realizado, respondiendo a las preguntas de las actividades y siguiendo el modelo de informe presentado por la cátedra. El mismo será uno por grupo y enviado al correo de la cátedra.



Lectura de Interés



https://www.mordorintelligence.ar/industry-reports/food-amino-acid-market



https://www.argentina.gob.ar/noticias/argentina-habilita-la-incorporacion-de-nutrientes-esenciales-en-bebidas-analcoholicas

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 5

Desnaturalización y Caracterización de Proteínas.

OBJETIVOS

- Conocer los efectos de los agentes desnaturalizantes sobre la estructura de las proteínas.
- Realizar e interpretar algunas reacciones de coloración que permiten estimar la composición de la proteína en cuestión.
- Efectuar reacciones de precipitación y coagulación y, explicar estos fenómenos desde la óptica de la conformación espacial proteica.
- Adquirir destreza en el manejo del instrumental y material de laboratorio, como así también en el armado de informe.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.
- Fomentar la participación, el dialogo, el respeto y la cooperación con el otro.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Las proteínas son polímeros formados por aminoácidos, monómeros que se unen sucesivamente entre sí a través de enlaces peptídicos o, desde el punto de vista de la química orgánica, un enlace de tipo amida, Figura 62. Una sustancia compuesta de aminoácidos así unidos se conoce como polipéptido, o simplemente péptido. Cuando un polipéptido está compuesto por 50 o más unidades de aminoácidos, se coloca en la categoría de proteína.

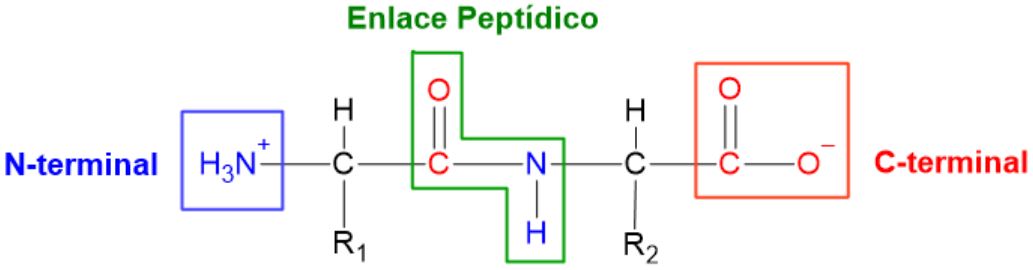


Figura 62: Estructura de un Dipéptido. N-terminal y C-terminal: grupos amino y carboxilo terminal. R_1, R_2: cadenas laterales de los aminoácidos. (Fuente: elaboración propia)

Teniendo en cuenta distintos criterios, las proteínas se pueden clasificar de distintas maneras, tal como se muestra en la Figura 63.

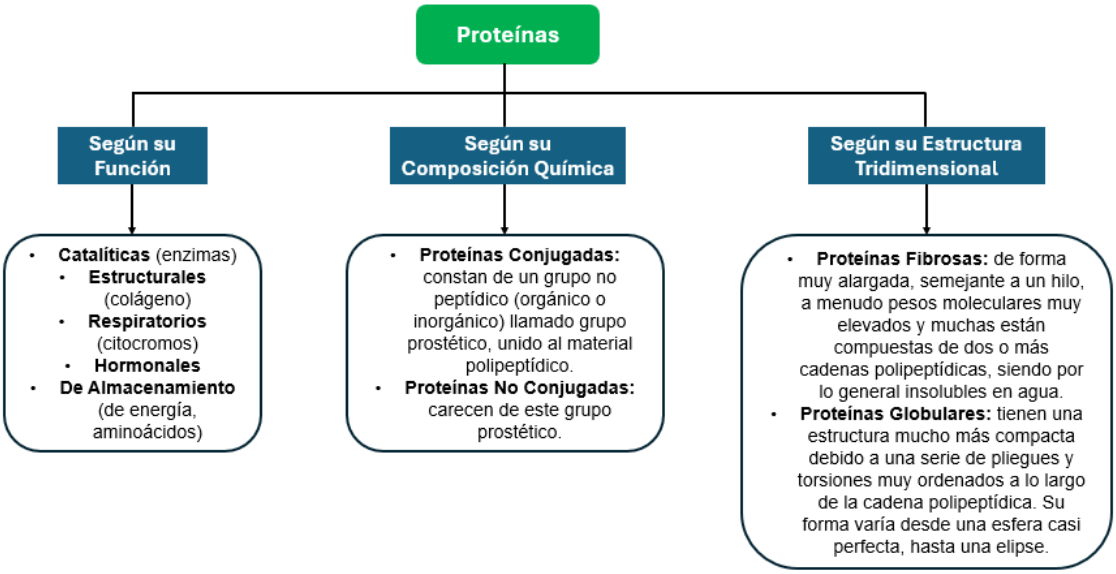


Figura 63: Clasificación de Proteínas. (Fuente: elaboración propia)

Niveles estructurales de las proteínas

Las proteínas existen en diferentes niveles de estructura, Figura 64. Comúnmente se definen cuatro niveles:

Estructura primaria: determinada por la identidad de los aminoácidos que la componen y por el orden concreto en que estos aminoácidos se disponen en la cadena, es decir, por su secuencia.

Estructura secundaria: disposición espacial de la cadena polipeptídica, usualmente en forma hélice α, lamina β o estructura al azar. Estas disposiciones se deben a las interacciones entre los residuos próximos en la secuencia de aminoácidos.

Estructura terciaria: arquitectura tridimensional de la proteína, incluyendo la orientación de cualquier grupo prostético. A diferencia de la estructura secundaria, la estructura terciaria de la mayor parte de las proteínas es específica de cada molécula, además, determina su función. Existen en general dos tipos de estructuras terciarias básicas: proteínas fibrosas y proteínas globulares.

Estructura cuaternaria: agregación no covalente de dos o más cadenas polipeptídicas.

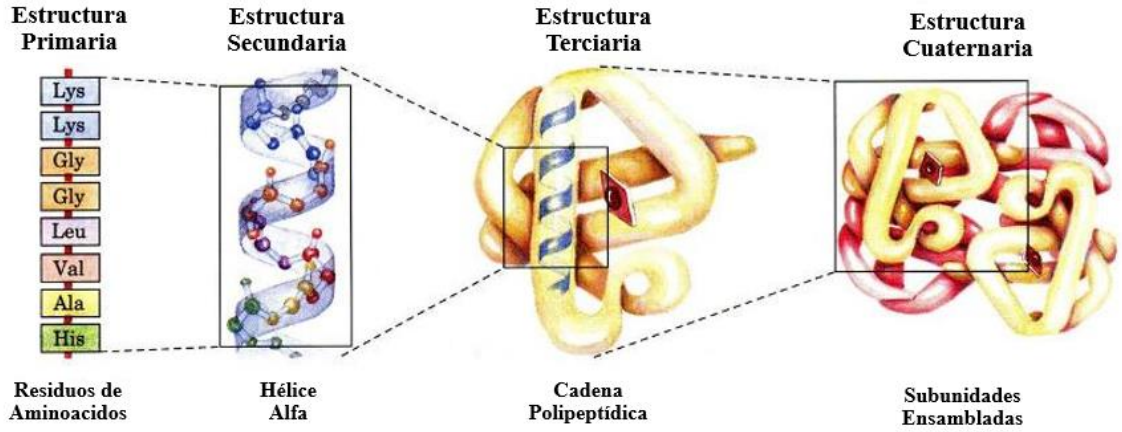


Figura 64: Niveles de estructuras de las proteínas. (Fuente: elaboración propia)

En las condiciones celulares, las proteínas se encuentran en unas conformaciones limitadas que son las más estables desde el punto de vista energético. Estas disposiciones espaciales, en las que son capaces de desempeñar su función, se denominan *conformaciones nativas* y manifiestan los cambios que se producen ante la unión de determinadas moléculas (corno, por ejemplo, la unión de una enzima a un sustrato). La pérdida de esta estructura tridimensional de la proteína que conlleva la pérdida de su función, se denomina *desnaturalización.*

Desnaturalización de las Proteínas

La desnaturalización de una proteína ocurre cuando hay una alteración de las interacciones entre los grupos R que estabilizan la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria. Sin embargo, los enlaces peptídicos de la estructura primaria no son afectados. Esta desnaturalización ocurre por la acción de *Agentes Desnaturalizantes*, que alteran las condiciones del medio como son: la temperatura, el pH, iones de metales pesados, ciertos compuestos orgánicos entre otros. (Figura 65).



Figura 65: Desnaturalización de las Proteínas. (Fuente: elaboración propia)

Las alteraciones que se observan, son disminución de la solubilidad y/o pérdida de la actividad biológica, como así también la floculación y la coagulación son manifestaciones visibles de la alteración estructural causada por agentes desnaturalizantes.

Caracterización de las Proteínas

La caracterización de proteínas es el proceso de analizar una proteína individual mediante su separación y detección. La proteína se identifica a partir de las características que definen su estructura y función. Para ello, los químicos deben aislar o extraer la proteína de las células circundantes utilizando diversas técnicas de purificación adecuadas.

La caracterización puede ser realizada por reacciones de coloración o de precipitación. Debido a la presencia de diferentes aminoácidos en las uniones peptídicas las proteínas reaccionan con una variedad de compuestos formando productos coloreados.

Existen reacciones de coloración que son específicas para aminoácidos de esas proteínas y son importantes tanto para la detección como para el dopaje de aminoácidos y proteínas. Como así también, existen reacciones generales porque sirven para caracterizar grupos comunes a todas las proteínas como grupos amino o uniones peptídicas (Ninhidrina y Biuret).

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- 2 vasos de precipitado de 250 ml.
- 1 vaso de precipitado de 1000 ml.
- Calentador eléctrico.
- Pinzas de madera.
- Pipetas Pasteur.
- Agua fría con hielo.
- Gradilla con 9 tubos de ensayos.
- 1 huevo.
- Alcohol Etílico 96°.

Reactivos

- Solución saturada de $(NH_4)_2SO_4$
- Ácido Acético al 20 % o Vinagre.
- HNO_3 concentrado.
- NaOH al 20 % y 40 %.
- Reactivo de Biuret.
- Acetato de Plomo al 5 %.



Consideraciones de seguridad sobre los reactivos a emplear en este practico

Ácido nítrico: Puede ser corrosivo para los metales. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Provoca irritación ocular grave. Nocivo en caso de ingestión. Puede agravar un incendio, comburente. Etiqueta de seguridad Figura 66.



Figura 66: Etiqueta de seguridad de ácido nítrico.
(Fuente: elaboración propia)

Acetato de plomo: Figura 67, puede dañar al feto. Se sospecha que perjudica a la fertilidad. Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.



Figura 67: Pictograma de seguridad de acetato de plomo.
Fuente: elaboración propia).

Hidróxido de Sodio: Los principales efectos adversos para la salud humana y para el medio ambiente son: corrosivo para metales. Produce corrosión cutánea, provocando una lesión irreversible en la piel, esto es, una necrosis visible a través de la epidermis que alcanza la dermis. También, provoca lesiones oculares graves. Consejo: Mantener el recipiente herméticamente cerrado.

Manipular bajo campana y utilizando guantes y gafas de protección (*Etiqueta en la Figura 51, página 55*)**.**

Ácido Acético: Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Consejo: Manipular bajo campana, usando guantes. En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua (*Etiqueta en la Figura 16, página 27*).

Experiencias

A. Preparación de la solución de albumina: en un vaso de precipitado, extraer la clara de un huevo y diluir en 200 ml de agua destilada. Agitar lentamente hasta lograr una solución homogénea.

B. Ensayos de desnaturalización de proteínas:

B.1. Acción del calor: colocar en un tubo de ensayo 5 ml de la solución de albumina y llevar a baño maría hirviendo por unos minutos. Observar lo sucedido.

B.2. Acción del alcohol: colocar 10 ml de alcohol etílico en un tubo de ensayo y añadir 2 ml de solución de albumina. Observe lo sucedido.

B.3. Precipitación por sales neutras: en un tubo de ensayo, colocar 3 ml de solución de albumina y añadir 3 ml de solución saturada de Sulfato de Amonio. Observar lo que sucede.

B.4. Acción de ácidos: colocar 3 ml de solución de albumina en un tubo de ensayo y añadir 5 gotas de ácido acético al 20 % o en lugar de ácido, añadir 10 gotas de vinagre. Observar lo que sucede.

Estas pruebas de desnaturalización para la proteína albumina se muestran en la Figura 68.

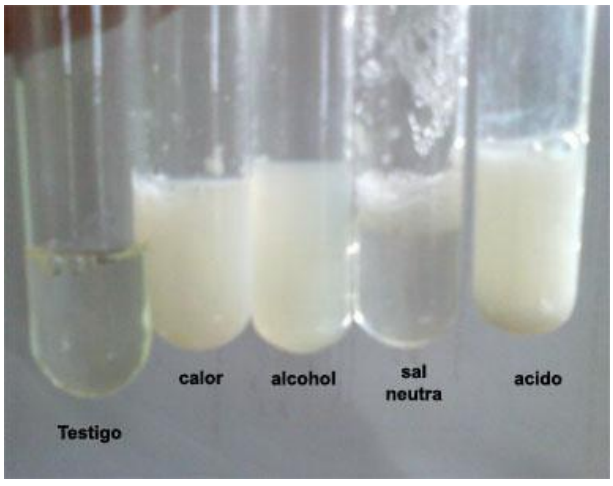


Figura 68: soluciones de albumina desnaturalizadas. (Fuente: foto propia)

C. Reacciones de coloración:

C.1. Reacción Xantoprotéica: esta reacción se debe a la formación de nitroderivados aromáticos por reacción del ácido nítrico sobre grupos bencénicos que poseen algunos aminoácidos como la fenilalanina, la tirosina y el triptófano. Por lo tanto, la dan positiva todas aquellas proteínas que tengan aminoácidos aromáticos en su molécula, ver Figura 69.

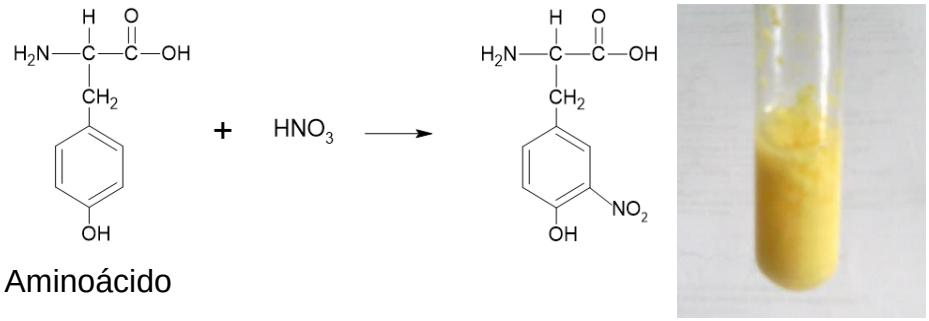


Figura 69: Reacción Xantoprotéica. Ecuación (izq.) y muestra coloreada (der.). (Fuente: elaboración propia)

Para ello, en un tubo de ensayo colocar 3 ml de solución de albumina, añadir 1 ml de HNO_3 concentrado y calentar a baño maría a 100 °C. Observar si se produce el cambio de color. Una vez realizada la prueba, se neutraliza con una base y vira a un color anaranjado. Para ello, se debe enfriar la muestra en agua fría y agregar gotas de NaOH al 40 %.

C.2. Reacción de Biuret: Se basa en la formación de un complejo de color violeta, entre el Cu^{2+} y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. Un ion de Cu^{2+} establece una interacción con los pares de electrones libres de 4 nitrógenos de los enlaces peptídicos, ilustración en Figura 70.

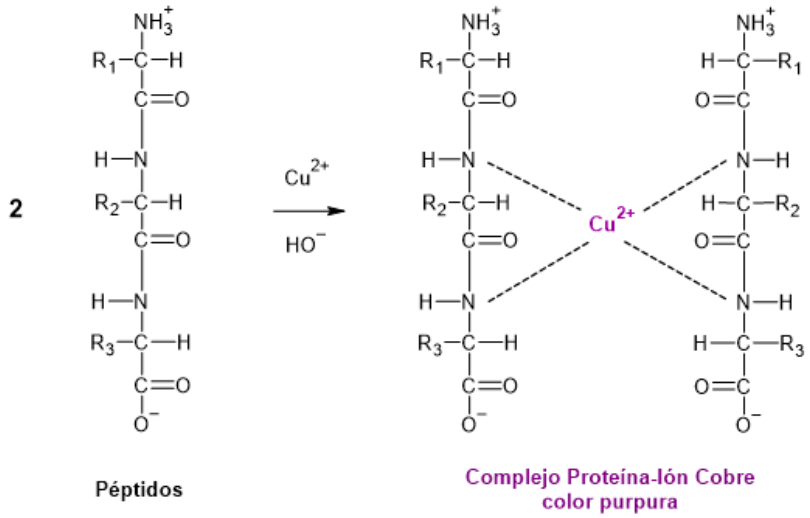


Figura 70: Ecuación de Reacción de Biuret. (Fuente: elaboración propia)

En un tubo de ensayo, colocar 3 ml de la solución de albumina de huevo, agregar 2 ml de NaOH al 20 % y a continuación, añadir 5 gotas de $CuSO_4$ al 1 %. En caso de tener el Reactivo de Biuret preparado, solo añadir 20 gotas de este. Observar si se produce el cambio de coloración como la Figura 71.



Figura 71: Coloración prueba de Biuret.
(Fuente: foto propia)

C.3. Reacción del acetato de plomo: Esta reacción es específica para aminoácidos que contengan azufre como la cisteína. Se produce la hidrólisis alcalina del grupo sulfhidrilo, formándose sulfuro de sodio. Posteriormente, el plomo desplaza al sodio, dando como resultado sulfuro de plomo, un precipitado de color gris o negro, como se muestra en la Figura 72.

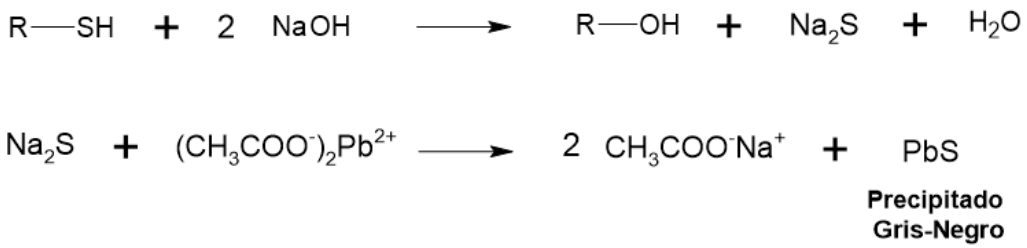


Figura 72: Ecuación de Reacción con el Acetato de Plomo. (Fuente: elaboración propia)

En un tubo de ensayo, colocar 3 ml de solución de albumina de huevo, agregar 2 ml de NaOH al 20 % y añadir 10 gotas de solución de acetato de plomo al 5 %. Luego, calentar en baño maría hasta ebullición por unos 30 segundos y observar la formación del precipitado (Figura 73).



Figura 73: Prueba con el Acetato de Plomo.
(Fuente: foto propia)

ACTIVIDADES

1. ¿Qué es la albumina? ¿Cuáles son sus características?
2. En base a los ensayos de desnaturalización de la proteína. ¿Qué cambios observaron cuando se la sometió a la acción de los diferentes agentes desnaturalizantes?
3. Averigüe y explique ¿Qué cambios estructurales experimento la proteína frente la acción de los agentes desnaturalizantes?
4. La proteína analizada ¿Qué características tiene? Tenga en cuenta los resultados obtenidos en las reacciones de coloración
5. ¿Estas pruebas se pueden utilizar para cuantificar el contenido de proteínas de una muestra?
6. Conocer estas técnicas de laboratorio ¿Cómo cree que le puede ayudar para su futura vida profesional?



Lecturas de interés



https://www.nature.com/articles/d41586-025-02472-3



https://www.un.org/es/cr%C3%B3nica-onu/bosques-y-alimentos-nutriendo-las-personas-sosteniendo-el-planeta

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 6

Espectroscopia de Pigmentos Vegetales.

OBJETIVOS

- Obtener los espectros de absorción de pigmentos vegetales.
- Comparar los colores de los pigmentos en relación a sus espectros.
- Conocer los principios básicos de la espectroscopia, como técnica de análisis en química orgánica.
- Familiarizarse con la utilización y manejo de un espectrómetro UV- visible.
- Adquirir destreza en el manejo del instrumental y material de laboratorio, como así también en el armado de informe.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.
- Fomentar la participación, el dialogo, el respeto y la cooperación con el otro.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

El estudio bioquímico de las biomoléculas requiere la utilización de técnicas analíticas que permitan su identificación, cuantificación y caracterización fisicoquímica y biológica. Entre las técnicas más sencillas, accesibles y ampliamente utilizadas se encuentra la *espectroscopía* y, en particular, la *espectroscopía de absorción ultravioleta-visible* (UV-visible), una herramienta fundamental para el análisis de numerosas moléculas de interés biológico.

La *espectroscopía* es el conjunto de técnicas que estudian la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. En la espectroscopía de absorción, se mide la cantidad de radiación electromagnética absorbida por una sustancia.

Radiación electromagnética

La *radiación electromagnética* es una forma de energía que se propaga en forma de ondas. Un ejemplo de radiación electromagnética es la **luz**. Además de la luz visible, existen otros tipos de radiación, como los rayos gamma, los rayos X, la radiación ultravioleta, la radiación infrarroja, las microondas y las ondas de radio. Todas ellas se diferencian por la cantidad de energía que transportan y por su *longitud de onda*.

La longitud de onda *(λ)* es la distancia entre dos puntos equivalentes de una onda, por ejemplo, entre dos crestas consecutivas, Figura 74. Se mide habitualmente en nanómetros (*nm*), 1 nm = $1x10^{-9}$ m, cuando se trabaja con luz. La longitud de onda determina el tipo de radiación electromagnética: las



Figura 74: Definición grafica de longitud de onda (λ). (Fuente: elaboración propia)

radiaciones con *longitudes de onda cortas* poseen *mayor energía*, mientras que aquellas con longitudes de onda largas tienen *menor energía*. En espectrofotometría, la longitud de onda es una propiedad fundamental, ya que *cada sustancia absorbe radiación de manera característica en determinadas longitudes de onda.*

Espectro electromagnético

El *espectro electromagnético*, Figura 75, es el conjunto de todas las radiaciones electromagnéticas, ordenadas según su longitud de onda. Comprende desde las radiaciones de mayor energía y menor longitud de onda, como los rayos gamma y los rayos X, pasando por la radiación ultravioleta, la luz visible (que ocupa solo una pequeña fracción del espectro), la radiación infrarroja, las microondas y,

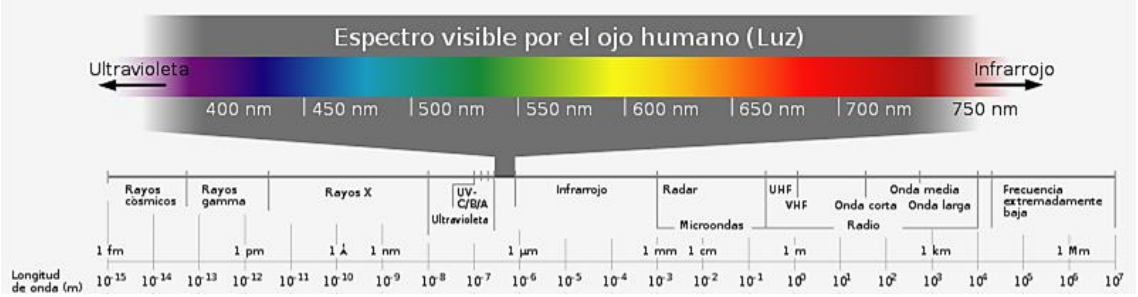


Figura 75: representación del espectro electromagnético. (Fuente: elaboración propia)

finalmente, las ondas de radio, que presentan mayor longitud de onda y menor energía.

Todas las ondas electromagnéticas se propagan en el vacío a la velocidad de la luz (≈ 3 × 10^8 m/s). La región visible del espectro electromagnético se encuentra aproximadamente entre 380 y 750 nm, intervalo en el que el ojo humano es capaz de percibir la radiación como diferentes colores.

Espectroscopia de absorción UV-Vis

En la *espectroscopía de absorción* se mide la cantidad de radiación que una sustancia absorbe en función de la longitud de onda de la radiación incidente o a una longitud de onda específica.

La *espectroscopía de absorción UV-visible* se basa en la capacidad de las moléculas para absorber radiación electromagnética en las regiones ultravioleta (UV) y visible (Vis) del espectro electromagnético. La absorción ocurre cuando la energía de la radiación incidente coincide con la diferencia de energía entre dos estados electrónicos de la molécula. Como consecuencia, uno o más electrones absorben esa energía y pasan de un estado de menor energía (estado fundamental) a otro de mayor energía (estado excitado).

No todas las moléculas absorben las mismas longitudes de onda. Estas dependen de su estructura electrónica y molecular, especialmente de la presencia de grupos funcionales o *cromóforos* capaces de absorber radiación UV-visible. Además, la intensidad y la posición de las bandas de absorción pueden verse afectadas por las condiciones del medio, como el p*H*, la temperatura, la fuerza iónica y la naturaleza del solvente (por ejemplo, su constante dieléctrica).

La capacidad de una sustancia para absorber radiación es la base de la espectrofotometría UV-visible, una de las técnicas más utilizadas en química y bioquímica.

En la región UV del espectro tienen su máxima absorbancia compuestos que presentan enlaces dobles aislados, enlaces triples, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos, por lo que ésta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos.

En la región visible del espectro absorben radiación aquellas sustancias que poseen cromóforos capaces de interactuar con longitudes de onda comprendidas entre aproximadamente 380 y 750 nm. Estas sustancias suelen presentar sistemas de dobles enlaces conjugados de gran extensión o formar complejos coloreados. Entre ellas se encuentran numerosos pigmentos naturales, como la clorofila, los carotenoides, Figura 76, y las antocianinas, además de diversos colorantes sintéticos y complejos metálicos.

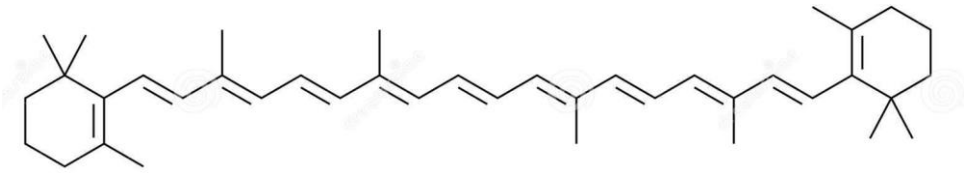


Figura 76: Estructura química del *β*-caroteno, pigmento de color naranja.
(Fuente: elaboración propia)

En conjunto, la espectroscopía UV-visible constituye una de las técnicas analíticas más utilizadas en química, bioquímica y ciencias biológicas, ya que permite identificar y cuantificar una amplia variedad de sustancias de manera rápida, sencilla y con alta sensibilidad. En el ámbito de las ciencias forestales y biológicas, esta técnica se emplea, entre otras aplicaciones, para determinar la concentración de proteínas, ácidos nucleicos, pigmentos fotosintéticos, compuestos fenólicos y la actividad de diversas enzimas.

Absorbancia y Transmitancia

Un método espectrofotométrico está basado en la medida directa de la absorción de radiación electromagnética por parte de una muestra, cuantificable a través de la absorbancia, y la correlación de esta variable con la concentración de la especie de interés en dicha muestra.

Cuando un rayo de luz de intensidad **(I_0)** incide perpendicularmente sobre una solución el compuesto contenido en ella absorberá una parte de la radiación incidente **(I_a)** y transmitirá el resto **(I_t)**. En este proceso, la radiación es transferida temporalmente a la molécula y, como consecuencia, disminuye la intensidad de la radiación incidente y se cumple que **($I_0 = I_a + I_t$)**. Dicha disminución, debida a la absorción experimentada por el analito, puede ser cuantificada utilizando diversas magnitudes, siendo la **absorbancia (*A*)**, la más comúnmente utilizada

en la espectrofotometría de UV-VIS. Dicha absorbancia se expresa según la ecuación que se muestra en la Figura 77.

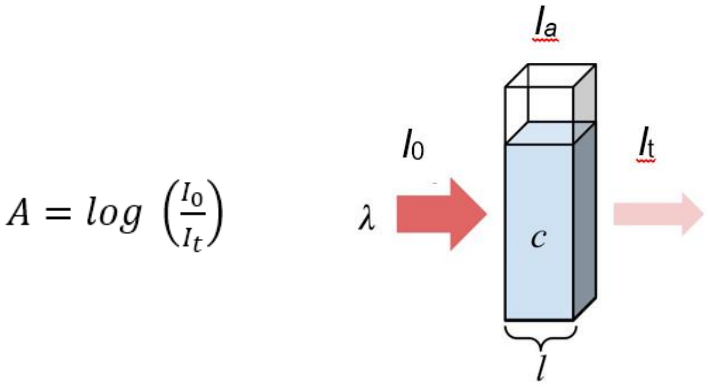


Figura 77: Ecuación para el cálculo de absorbancia *(A)* y su representación. I_0: radiación incidente, I_t: radicación transmitida. *c:* concentración. *l:* longitud recorrida por la radicación incidente. (Fuente: elaboración propia)

La cantidad de luz absorbida depende de la distancia ***l***, que ésta recorre dentro de la muestra, y de la **concentración** de la misma.

Ley de Lambert- Beer

Esta ley expresa la relación de la absorción de luz monocromática (de una longitud de onda única) con la concentración de un cromóforo en solución. Esta relación está dada por la ecuación 2:

$$A = log\left(\frac{I_0}{I_t}\right) = \epsilon . b . c$$

Ecuación 2: Ecuación de Lambert-Beer.
(Fuente: elaboración propia)

La absorbancia (*A*) de una solución es directamente proporcional a su concentración (*c*). A mayor número de moléculas, se genera una mayor interacción de la luz con ellas; por lo tanto, a mayor concentración, mayor es la absorbancia. Esta propiedad también depende de la distancia (*l*) que recorre la luz a través de la solución: a igual concentración, cuanto mayor es la distancia recorrida por la luz a través de la muestra, más moléculas encontrará. Por último, depende de una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción (ε), la cual es específica de cada cromóforo.

Como *A* es adimensional, las dimensiones de ε dependen de las de *c* y *l*. La segunda magnitud (*l*) se expresa siempre en cm mientras que la primera (*c*) se hace, siempre que sea posible, en concentración molar: *M*, con lo que las

dimensiones de ε resultan ser M^{-1} x cm^{-1}. Este coeficiente así expresado, en términos de unidades de concentración molar (o un submúltiplo apropiado), se denomina *coeficiente de extinción molar* (ε_M).

La ley de Lambert-Beer se cumple para soluciones diluidas. El límite general de concentración para que se cumpla la ley de Lambert-Beer es de 0.01 M. Por encima de este valor de concentración la relación lineal entre la absorbancia y la concentración se pierde (ocurre una desviación), principalmente debido a que las moléculas de soluto se encuentran tan próximas que comienzan a interactuar electrostáticamente entre sí, alterando su capacidad individual de absorción de luz. En términos de la escala de medición del espectrofotómetro, este límite físico suele corresponder a un rango de absorbancia óptimo entre 0.05 y 1.0. Cuando el valor de absorbancia supera el umbral de 1.0 o 1.5, la cantidad de luz que logra atravesar la muestra es tan pequeña que el detector del instrumento pierde precisión.

Espectrofotómetro UV-visible

La medición de la absorbancia de luz por parte de las moléculas se realiza mediante instrumentos denominados espectrofotómetros. Aunque pueden variar en diseño, todos los espectrofotómetros constan de:

- **Fuente de energía radiante**: Consta de una lámpara de deuterio, que actúa como fuente de radiación ultravioleta (UV), y una lámpara de tungsteno, que sirve como fuente de radiación visible (Vis).
- **Un monocromador:** Dispositivo encargado de seleccionar radiaciones de una longitud de onda específica a partir de un espectro continuo, utilizando elementos ópticos como filtros, prismas o redes de difracción.
- **Compartimento de muestra y portacubetas**: Cavidad diseñada para alojar el recipiente transparente (cubeta o tubo) que contiene la solución. Estos recipientes pueden ser de vidrio, cuarzo o plástico. Para mediciones en la región ultravioleta (UV), es indispensable utilizar cubetas de cuarzo o sílice fundido, ya que el vidrio convencional absorbe la radiación en este rango y no la transmite.
- **Detector y amplificador de señal**: Sistema encargado de captar la radiación electromagnética transmitida a través de la muestra y transformar dicha señal luminosa en una señal eléctrica cuantificable, la cual es posteriormente procesada por el software del equipo.

● **Sistema de lectura o registrador de datos**: Dispositivo final que recibe la señal eléctrica amplificada y la transforma en un valor digital legible, mostrando los resultados en unidades de absorbancia (A) o transmitancia (%T) a través de una pantalla o un software informático.

En la Figura 78 se muestra un esquema general de un espectrofotómetro UV-Vis.

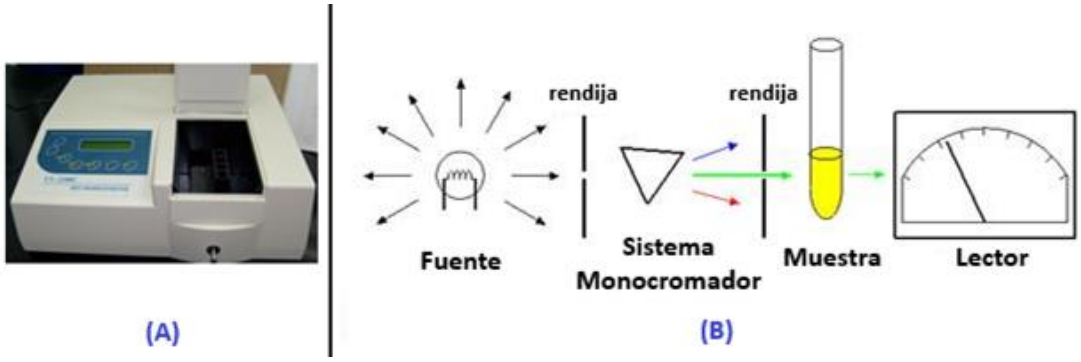


Figura 78: (A) Espectrofotómetro UV-Visible (B) Partes principales que componen un Espectrofotómetro. (Fuente: elaboración propia)

Desde el punto de vista operativo, el primer paso es seleccionar la fuente de luz y longitud de onda a la que se va a realizar la medida. Se mide primero la absorbancia del disolvente (conocido como blanco) y al que se le asigna el valor de cero mediante el ajuste del mando, de forma que la intensidad incidente y transmitida sean iguales ($I_0 = I_t$), y por tanto la absorbancia es cero. A continuación, se pone en la celdilla la cubeta con la muestra y se lee la absorbancia de ésta.

Obtención de un Espectro de Absorción

Un *espectro de absorción* es una representación gráfica (Absorbancia vs λ), que indica cantidad de luz absorbida (Absorbancia) a diferentes valores de longitud de onda (λ).

A partir de una solución diluida de un compuesto, cuya absorbancia máxima deberá estar entre el rango de 0,5 y 1, se registrará el valor de absorbancia a diferentes longitudes de onda frente a un blanco que contenga el disolvente de la solución de la muestra a caracterizar. Con estos valores representados en el eje cartesiano, se obtiene un espectro de absorción, como el que se muestra en la Figura 79. A partir del gráfico, se podrá observar el valor de λ al que el compuesto presenta la mayor absorbancia (λ_{max}). Dicho λ_{max} se utiliza en determinaciones cualitativas y cuantitativas del compuesto.

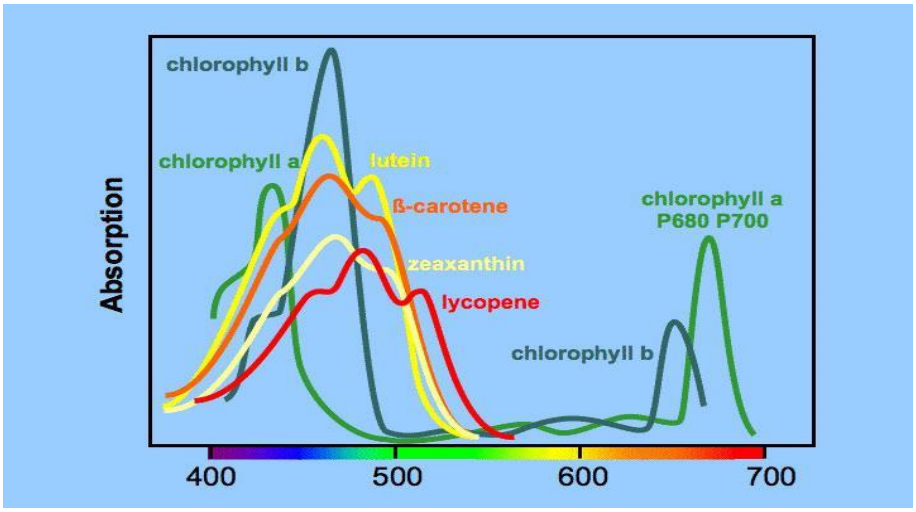


Figura 79: Espectros de absorción de algunos pigmentos vegetales. (Fuente: imagen tomada de Google Chrome)

El espectro de absorción de un cromóforo depende, fundamentalmente, de la estructura química de la molécula.

Curva de Calibración

Para obtener una curva de calibrado de un compuesto, como se muestra en la Figura 80, se preparan soluciones de diferentes concentraciones determinándose para cada una de ellas el valor de absorbancia a λ_{max}. Estos valores de absorbancia se representan en el eje de ordenadas (eje de y), y los valores de concentración en el eje de abscisas (eje de x). Se observará que, a bajas concentraciones, el aumento de concentración se corresponde con un incremento lineal en la absorbancia (zona de cumplimiento de la ley de Lambert-Beer). A concentraciones altas la linealidad se pierde y se observa que la línea se aplana, por lo que las medidas son poco fiables.

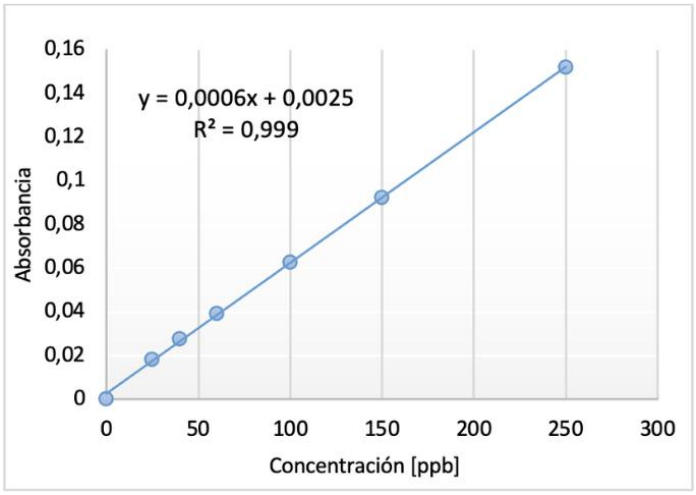


Figura 80: Ejemplo de Curva de Calibración. (Fuente: elaboración propia)

La representación de Lambert-Beer ($A = \varepsilon.c.l$), nos permitirá calcular el valor del coeficiente de extinción molar, que corresponde a la pendiente de la recta.

PARTE EXPERIMENTAL

En este práctico de laboratorio obtendremos los espectros de absorción de pigmentos vegetales.

Los pigmentos vegetales son las sustancias orgánicas producidas por las plantas y que determinan su color. Este color se debe a que partes específicas de las moléculas que forman los pigmentos, absorben selectivamente algunas longitudes de onda de la luz en la región del visible, mientras que reflejan otras. Por lo tanto, al ser los pigmentos moléculas cromóforas, podemos mediante técnicas de espectrofotometría obtener sus espectros de absorción.

Los espectros de absorción (A vs λ) son únicos para cada compuesto o pigmento y a menudo se utilizan como "huellas digitales" para identificarlos.

Existen varios pigmentos fotosintéticos. En general, se los clasifica según la longitud de onda de la luz que absorben, tal como se muestra en la tabla 2.

Pigmentos Fotosintéticos		
Familias	Clases	Región del Espectro donde absorben
Clorofilas	A, B, C, D y E	Rojo y Azul-violeta
Carotenoides	Carotenos y Xantofilas	Rojo y Azul
Ficobilinas	Ficocianinas y Ficoeritrina	Naranja, Verde y Azul

Tabla 2: Familias de pigmentos fotosintéticos y las regiones del espectro electromagnético a las que absorben. (Fuente: elaboración propia)

Una vez identificado un pigmento mediante su espectro de absorción, es posible, además, cuantificar su contenido en el vegetal mediante la construcción de una curva de calibración con un pigmento patrón y la aplicación de la ecuación de Lambert-Beer.

Materiales

- Cuchillo.
- Plato.
- Vegetales (acelga o espinaca, zanahoria o tomate, remolacha o repollo morado).
- H_2O destilada, Etanol 96°.
- 3 vasos de precipitado de 200 ml.
- 3 vasos de precipitado de 50 ml.
- 3 embudos.
- Papel de filtro.
- Espectrofotómetro UV-VIS.
- Celdas para espectrofotometría UV-Visible.

Procedimiento

Extracción del Pigmento

1. Trozar en partes pequeñas 50 g del vegetal. En el caso del repollo morado, colocar en un vaso precipitado de 200ml, agregar 100 ml de agua y calentar hasta hervor por 15 min, luego dejar enfriar. Para zanahoria, colocar en un erlenmeyer de 250 ml y agregar 100 ml de alcohol etílico 96°, dejar macerar por 30 min. Para acelga, se tomará una hoja, se cortará y se procederá de igual manera que para la zanahoria.
2. Filtrar. Recoger el extracto obtenido que contiene el pigmento vegetal y desechar las partículas sólidas del vegetal.

Medición de la Absorbancia

1. Preparar dos celdas para el espectrofotómetro. La primera cargar con la solución del extracto y la otra con el solvente utilizado en la solución, esta será el blanco.
2. Registrar los valores de absorbancia de los pigmentos entre 400 y 700 nm, midiendo la misma a intervalos de 10 nm.

ACTIVIDADES

1. Graficar en Excel Abs. vs λ (longitud de onda) y obtener el espectro de absorción de cada uno de los pigmentos.
2. Presentar mediante informe, los espectros de absorción obtenidos, con el análisis y las conclusiones.
3. ¿Cuáles son los principales picos de absorción observados en tu muestra? Identifica los pigmentos responsables (clorofilas, carotenoides, antocianinas) y explica sus funciones fisiológicas.
4. ¿Cómo se comportan los espectros entre 400–500 nm y entre 650–700 nm? ¿Qué pigmentos dominan en esas regiones?
5. Si la muestra de la planta analizada presenta estrés (hídrico, nutricional, lumínico), ¿qué cambios esperarías en su espectro de absorción?
6. ¿Cómo puede utilizarse la espectroscopía de pigmentos para evaluar el estado fisiológico de especies arbóreas en un vivero forestal o plantación o un bosque?

7. ¿De qué manera, los pigmentos responsables de los picos de absorción, afectan los índices espectrales usados en teledetección (como NDVI, PRI, EVI)?



Lecturas de interés



marine drugs — MDPI

Mar Drugs. 2025 13 de enero;23(1):39. doi: 10.3390/md23010039

Pigmentos derivados de actinomicetos: un camino hacia colorantes industriales sostenibles

Blanca Hey Díez [1, 2], Cristiana AV Torres [1, 2], Susana P Gaudêncio [1, 2, *]

Editora: Ipek Kurtboke

Información del autor · Notas del artículo · Información sobre derechos de autor y licencias

PMCID: PMC11766884 PMID: 39852541

Abstracto

La producción de pigmentos tiene un impacto negativo considerable en el medio ambiente, ya que la extracción de pigmentos naturales provoca la degradación de los ecosistemas, mientras que los pigmentos sintéticos, derivados de productos petroquímicos, generan subproductos tóxicos que se acumulan y persisten en los sistemas acuáticos debido a su resistencia a la biodegradación. A pesar de estos desafíos, los pigmentos siguen siendo esenciales en numerosas industrias, incluidas la cosmética, textil, alimentaria, automotriz, de

Citar
Colecciones
Enlace permanente

RECURSOS

Artículos similares +
Citado por otros artículos +
Enlaces a las bases de datos del NCBI +

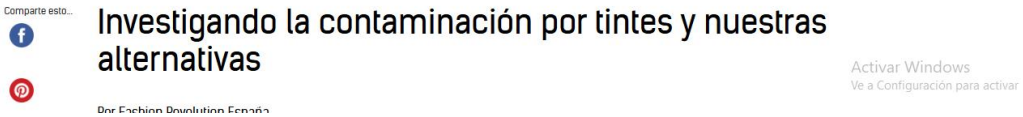
EN ESTA PÁGINA

Abstracto
1. Introducción
2. Pigmentos en las industrias modernas y tamaño del mercado.
3. Impacto ambiental de la producción de pigmentos
4. Toxicidad, seguridad y marcos regulatorios para los pigmentos

Activar Windows
Ve a Configuración para activar Windo

https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11766884/





https://www.fashionrevolution.org/investigando-la-contaminacion-por-tintes-y-nuestras-alternativas/

PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 7

Productos forestales no madereros: actividad Enzimática de extractos de semillas de *Neltuma alba* (Algarrobo blanco) con propiedades amilolíticas.

OBJETIVOS

Que el alumno adquiera la capacidad de:

- Relacionar los conceptos teóricos con los prácticos.
- Trabajar en equipo, unificar ideas y elaborar conclusiones.
- Organizar sus tareas dentro de un laboratorio.
- Manipular equipamiento y material de laboratorio con seguridad y precisión.
- Valorar los Productos Forestales No Madereros.

INTRODUCCION TEORICA

Los Productos Forestales No Madereros (PFNM) se definen como aquellos bienes de origen biológico (distintos de la madera, la leña y el carbón vegetal) y los servicios brindados por los bosques, otras áreas forestales y los árboles fuera de los bosques (FAO, 1999). Entre estos se incluyen medicinas, alimentos, fibras, materiales de construcción, resinas, etc. cuya importancia económica varía de un país a otro.

Su valor económico es imposible de calcular, pero es posible comenzar a valorizarlos en la medida que la comunidad a quien le pertenece los estudie y reconozca su importancia. En tanto que se genere este conocimiento, los PFNM serán estimados, aprovechados y utilizados de manera sustentable.

Los PFNM no solo tienen valor alimentario o medicinal, sino que también pueden ser fuentes de biomoléculas de interés biotecnológico, como las enzimas.

La extracción de biomoléculas a partir de PFNM permite agregar valor a especies forestales que muchas veces son poco aprovechados y que presentan grandes aplicaciones industriales que pueden transformar un recurso vegetal de bajo valor comercial en un producto de mayor valor agregado.

Dada la importancia del tema es que este trabajo es el segundo de esta serie dedicado al estudio de los PFNM de la provincia de Santiago del Estero, región

que a lo largo de su historia ha visto explotados sus bosques de manera no sustentable solo con el objeto de extraer la madera.

Enzimas

Las enzimas son “catalizadores biológicos” de naturaleza proteica. Su función es aumentar la velocidad de las reacciones bioquímicas disminuyendo la energía de activación de estas y permitiendo cambios que de otro modo se llevarían a cabo a velocidades extremadamente lentas. Pueden aumentar la velocidad en un orden de 10^3 a 10^{20} veces.

Como catalizadores, las enzimas actúan en pequeña cantidad y se recuperan indefinidamente. No llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables. No modifican el sentido de los equilibrios químicos, sino que aceleran su consecución, como se muestra en la Figura 81.

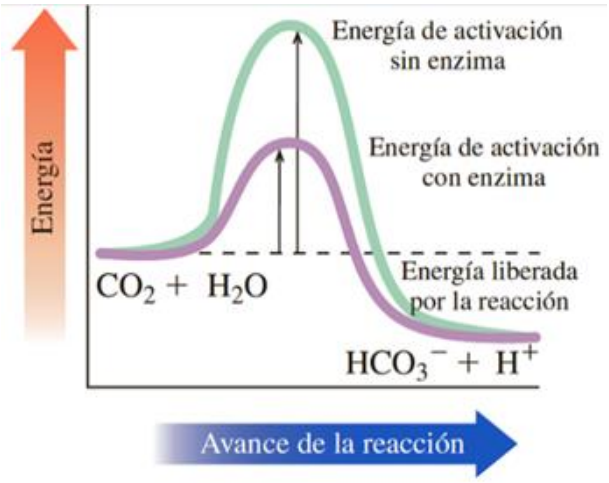


Figura 81: Cambio en la Energía de Activación por la acción enzimática**.** (Fuente: imagen de Google Chrome)

Estructura Enzimática

Las enzimas son proteínas globulares. Están plegadas formando un surco o bolsillo en el que encajan la molécula o las moléculas reactivas: el sustrato y donde tienen lugar las reacciones. Esta región de la enzima se conoce como sitio activo. El sustrato se une al sitio activo mediante interacciones débiles como puentes de hidrógeno, electrostáticas, hidrófobas. Tienen pesos moleculares que oscilan entre 12.000 y un millón.

Algunas enzimas son exclusivamente de naturaleza proteica (simples), mientras que otras necesitan de otro componente no proteico llamado cofactor para su actividad (conjugadas). Los cofactores se clasifican en:

- Inorgánicos: incluyen iones simples como Zn^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Cu^{2+}, K^+, Na^+.

● Orgánicos: denominados generalmente *coenzimas*, quienes tienen un significado especial en la nutrición de los mamíferos ya que, la mayoría son derivados de vitaminas o las mismas vitaminas.

El papel del cofactor es alterar la estructura tridimensional de la proteína o la unión con el substrato o ambas, y también puede participar en la reacción como otro sustrato (generalmente para coenzimas), su representación se muestra en la Figura 82.

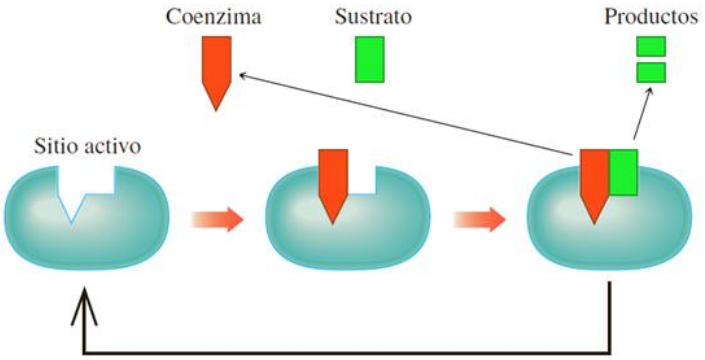


Figura 82: Acción de la enzima con la participación de un cofactor (Coenzima). (Fuente: imagen de Google Chrome)

Actividad Enzimática: factores que influyen sobre ella.

La *actividad enzimática* se define como la velocidad a la que una enzima cataliza una reacción química, es decir, qué tan rápido transforma un sustrato en productos. En términos simples, mide qué tan *activa* está una enzima en determinadas condiciones.

Las enzimas, por el hecho de ser proteínas, poseen una conformación tridimensional determinada, fundamental para su función. Si algún factor altera esta conformación, afectando la estructura del sitio activo o la conformación necesaria para la actividad enzimática, puede producirse un aumento o una disminución de la actividad catalítica.

Algunos de los factores que influyen de manera más directa sobre la actividad enzimática son:

Temperatura: En general, los aumentos de temperatura aceleran las reacciones químicas. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley general. Sin embargo, al ser proteínas, a partir de cierta temperatura, se empiezan a desnaturalizar por el calor. La temperatura a la cual la actividad catalítica es máxima se llama **temperatura óptima**. Por encima de esta temperatura, el aumento de velocidad de la reacción debido a la temperatura es contrarrestado

por la pérdida de actividad catalítica debida a la desnaturalización térmica, y la actividad enzimática decrece rápidamente hasta anularse.

pH: Las enzimas poseen grupos químicos ionizables (carboxilos-COOH; amino-NH_2; tiol-SH, etc.) en las cadenas laterales de sus aminoácidos. Según el pH del medio, estos grupos pueden tener carga eléctrica positiva, negativa o neutra. Como la conformación de las proteínas depende, en parte, de sus cargas eléctricas, habrá un pH en el cual la conformación será la más adecuada para la actividad catalítica. Este es el llamado **pH óptimo**. Como ligeros cambios del pH pueden provocar la desnaturalización de la proteína, los seres vivos han desarrollado sistemas más o menos complejos para mantener estable el pH intracelular: Los amortiguadores fisiológicos.

Enzima de Estudio

La enzima *α-amilasa*, Figura 83, se encuentra presente en casi todos los organismos vivos, desde células procariotas (bacterias del género *Bacillus, Escherichia*, etc.) y eucariotas (origen fúngico del género *Aspergillus, Saccharomyces,* etc.), hasta plantas superiores (maíz, trigo, cebada, etc.) artrópodos (Drosophila) y mamíferos (cerdos, ratones, humanos, etc.).

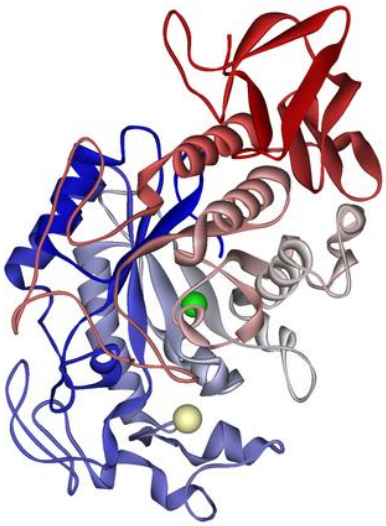


Figura 83: Modelo de representación de la α-amilasa. (Fuente: imagen de Google Chrome)

Esta enzima cataliza la hidrólisis de la cadena de amilosa y amilopectina del almidón, y otros polímeros α-glucosídicos, rompiendo enlaces α- (1,4) para dar

lugar a una mezcla de dextrinas, maltotriosa, maltosa y glucosa (Figura 84), a la actividad de esta enzima suele denominarse “amilolítica”.

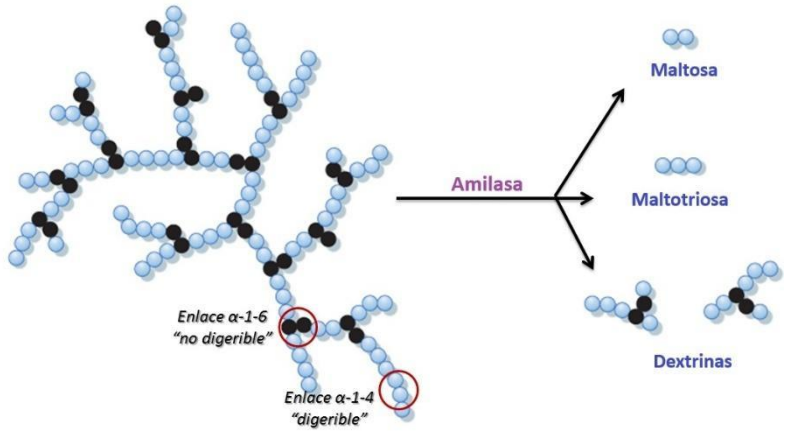


Figura 84: Degradación del almidón por acción de la α-amilasa. (Fuente: elaboración propia)

Su peso molecular es aproximadamente 50 kDa, y está conformada por 496 residuos de aminoácidos. Es una enzima conjugada, ya que requiere Ca^{2+} y Cl^- como estabilizadores y éste último además como activador. Es extremadamente estable dentro del rango de pH entre 5,00 y 8,00, posee un punto isoeléctrico de 4,20 y una temperatura óptima que puede variar entre 35°C y 80°C, según el organismo que la sintetice.

En las plantas la *α-amilasa* se encuentra concentrada principalmente en las semillas junto con el almidón y constituye una reserva a largo plazo para la germinación y el posterior crecimiento de las plantas cuando las condiciones ambientales activen el proceso.

En los seres humanos localizamos la enzima en la saliva y en el páncreas para ayudar a digerir los polisacáridos.

Si bien en este práctico se analizará un extracto crudo, que puede contener diferentes enzimas y otros componentes, se considerará la actividad amilolítica observada como indicadora de la capacidad del extracto para hidrolizar almidón. La *α-amilasa* constituye una de las principales enzimas involucradas en este proceso durante la germinación de las semillas.

Aplicaciones Industriales

El uso de amilasas en la hidrolisis del almidón data del siglo IX d.C. donde se empleaba malta para convertir el almidón de las raíces en edulcorante.

Actualmente, la *α-amilasa* es una enzima de gran importancia económica ya que es utilizada en numerosas aplicaciones industriales y en campos muy diversos.
La despolimerización del almidón llevada a cabo por *α-amilasa* de diferentes fuentes es la base de muchos procesos industriales tales como la preparación de sueros de glucosa, edulcorantes, cerveza, etanol, bebidas alcohólicas y panificaciones. También se emplea como aditivo en jabones, detergentes y en alimentos balanceados para animales. Es utilizada en la industria farmacéutica (dada su actividad antidispéptica y antiinflamatoria), en la industria papelera y en la textil para eliminar el encolado que recubre a los hilos.

PARTE EXPERIMENTAL

En este práctico se estudiará la actividad enzimática de un extracto crudo de semillas de la especie nativa Neltuma alba (algarrobo blanco) mediante una reacción de coloración con Lugol y su análisis por espectroscopía UV-Vis.
Para el análisis por espectroscopia UV-Vis se realizarán mediciones de absorbancia, para lo cual es necesario seleccionar la longitud de onda en la que la solución coloreada presenta su máxima absorbancia. El complejo formado entre el almidón y el Lugol presenta una absorbancia máxima a 570 nm, por lo tanto, esa será la longitud de onda de trabajo.
Reacción de coloración
Test de Lugol: este método fue descrito en el Practico de Laboratorio N° 2 “Identificación y diferenciación de carbohidratos en muestras de glúcidos y extractos acuosos de frutos del monte nativo”, sección Introducción Teórica.
Espectroscopia: los fundamentos de esta técnica se desarrollaron en el Practico de Laboratorio N° 6: Espectroscopia de pigmentos vegetal, sección Introducción Teórica.
La espectroscopía UV-Vis permite identificar y/o cuantificar una sustancia. En este práctico solo la utilizaremos para realizar una medición de variable ordinal (-, +, ++, +++).
Dado que la *absorbancia* de una solución es directamente proporcional a su concentración (ver Ley de Lambert-Beer desarrollado en el *Practico de Laboratorio N° 6: Espectroscopia de pigmentos vegetal, sección Introducción Teórica)*, **e**n este práctico:

- Un mayor valor de absorbancia significará una mayor cantidad de almidón y, por lo tanto, una **menor actividad catalítica del extracto crudo**.
- Un menor valor de absorbancia significará una menor cantidad de almidón, lo que indicará que el extracto crudo **catalizó la hidrólisis del almidón**, disminuyendo la cantidad de almidón disponible para formar el complejo coloreado con el I_2/KI. Por lo tanto, una menor absorbancia se asociará con una **mayor actividad catalítica del extracto**.

Materiales

- Vasos de precipitado**.**
- 13 tubos de ensayo.
- Gradillas
- Pipetas de 1 ml.
- Vortex.
- Espectrofotómetro.
- Celdas para espectrofotómetro.
- Centrífuga.
- Mortero.

Reactivos

- Solución de Lugol**.**
- Buffer fosfato 0,10M (pH 5,5)**.**
- Buffers pH 3, 7 y 9.
- Solución de Almidón soluble al 1%.
- 3 ml de saliva (no debe haber consumido alimentos, medicamentos o fumado por lo menos una hora previa al ensayo).
- Semillas de algarrobo (opcional con hojas senescentes de algarrobo)**.**
- Agua destilada.

Procedimiento

Experiencia N° 1: Actividad Enzimática del extracto crudo de semillas con actividad amilolítica

a. Obtención del extracto enzimático de las semillas de algarrobo blanco

1.a.1. Triturar 3 g semillas en 40 ml de buffer pH 5,5.

1.a.2. Filtrar el extracto y aforar con el mismo tampón a 50 ml.

1.a.3. Tomar una alícuota y centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos.

1.a.4. Recuperar el extracto enzimático.

b. Ensayo de actividad enzimática

1.b.1. Colocar en vaso de precipitado 20 ml de la solución de almidón provista por los docentes.

1.b.2. Rotular cinco tubos de ensayo y colocar 0,3 ml de solución de Lugol en cada uno.

1.b.3. En el tubo de ensayo N° 1 agregar 1 ml de sol. de almidón del *item b.1.*; este será el testigo ya que no contendrá la enzima y se considerará la reacción en *tiempo = 0*.

1.b.4. Al resto de la solución de almidón del *item b.1.*; agregar 1 ml de extracto de semilla, este ser la solución *almidón-extracto*. A partir de este momento se tomarán las alícuotas para los tubos restantes.

1.b.5. Transcurrido 1 minuto desde la preparación de la mezcla anterior, tomar 1 ml de la mezcla almidón-extracto y agregarlo al tubo de ensayo N.º 2.

1.b.6. Continuar de la misma manera que en el ítem anterior, esto es tomar cada 1 minuto una alícuota almidón-extracto y agregarlo a los tubos siguientes (tubos 3 al 5).

1.b.7. Agregar a cada tubo de ensayo 3,7 ml de H_2O destilada.

1.b.8. Repetir el ensayo, colocar 1 ml de saliva en lugar del extracto de semilla.

c. Medición de Absorbancia

1.c.1. Agitar los tubos en vortex para homogeneizar las muestras.

1.c.2. Medir la absorbancia de cada muestra a 570 nm.

1.c.3. Completar la siguiente tabla con los valores de absorbancia obtenidos:

Tubo N°	Solución de Lugol (ml)	Solución almidón-extracto (ml)	Tiempo de reacción (min)	Abs. 570 nm	Cantidad cuantitativa de almidón (-,+,++,+++)

1.c.4. Elaborar una gráfica absorbancia en función del tiempo de reacción.

1.c.5. Analizar en grupo y sacar conclusiones.

Experiencia Nº 2: Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática del extracto enzimático.

2.1. Rotular seis tubos de ensayo.

2.2. Agregar 1,0 ml de solución de almidón a cada tubo.

2.3. Acondicionar los tubos con la solución de almidón a las temperaturas de ensayo: 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C y 80 °C, respectivamente.

2.4. Llevar también el extracto enzimático a cada una de las temperaturas de ensayo.

2.5. Una vez que tanto la solución de almidón como el extracto enzimático hayan alcanzado la temperatura correspondiente, agregar 0,10 ml de extracto enzimático a cada tubo e iniciar el tiempo de reacción.

2.6. Incubar durante 5 minutos. Finalizado el tiempo de reacción, agregar 0,3 ml de solución de Lugol para revelar el almidón remanente.

2.7. Agregar 3,6 ml de agua destilada.

2.8. Homogeneizar las muestras en un vórtex y medir la absorbancia a 570 nm.

2.9. Completar la siguiente tabla con los valores de absorbancia obtenidos:

Tubo N°	Solución almidón (ml)	Temperatura De reacción (°C)	Extracto Enzimático (ml)	Lugol (ml)	H_2O (ml)	Abs. 570 nm	Cantidad cuantitativa de almidón (-,+,++,+++)

2.10. Elaborar una gráfica de absorbancia en función de la temperatura de reacción.

2.11. Analizar en grupo y sacar conclusiones.

Experiencia N° 3: Influencia del pH de reacción del extracto enzimático

3.1. Rotular 4 tubos de ensayo.

3.2. Agregar 1 ml de la solución de almidón a cada uno.

3.3. Colocar 0,5 ml de solución buffer 3, 5.5, 7 y 9 a los tubos respectivamente.

3.4. Agregar a cada tubo 0,10 ml de extracto enzimático de semilla.

3.5. Incubar durante 5 minutos. Finalizado el tiempo de reacción, agregar 0,3 ml de solución de Lugol para detener la reacción y revelar el almidón remanente

3.6. Agregar 3,6 ml de H_2O destilada.

3.7. Homogeneizar y medir absorbancia a 570 nm.

Tubo N°	Solución almidón (ml)	pH Buffer	Extracto Enzima (ml)	Lugol (ml)	H_2O (ml)	Abs. 570 nm	Cantidad cuantitativa de almidón

							(-,+,++,+++)

3.8. Elaborar una gráfica absorbancia en función del pH de la reacción.

3.9. Analizar en grupo y sacar conclusiones

ACTIVIDADES

1. Preguntas para reflexionar

a. Investigue acerca de cuáles son las enzimas que están presentes en semillas.

b. ¿Qué forma espera que presenten los gráficos de absorbancia en función del pH y de la temperatura? ¿Por qué la tendencia esperada podría diferir de la observada en un gráfico convencional de actividad enzimática?

c. ¿Es posible, mediante el método de Lugol, cuantificar la cantidad de almidón en la solución? Analice e investigue que modificaciones debería hacer en el práctico para poder realizarlo.

d. La demanda industrial de *α-amilasa* presenta a la enzima como una oportunidad económica. ¿Es factible la extracción de éste PFNM como un negocio rentable y sustentable?

2. En el sitio web MoleculARweb (utilizada en la unidad N°1) visualice la molécula de insulina. Investigue su naturaleza, estructura y función biológica. Presente un informe con la información e incluya imágenes obtenidas por captura de pantalla de la macromolécula en general, y de los tres enlaces puentes disulfuro. https://molecularweb.epfl.ch/



Lecturas de interés



Jefatura de Gabinete de Ministros / Turismo y Ambiente / Ambiente / Recursos Naturales / Bosques Nativos /

Comercialización

Unidad de Extensión Forestal

Productos forestales no madereros

- Un panorama del país
- Algunos productos forestales no madereros

Productos forestales no madereros

Compartir en redes sociales

Los productos forestales no madereros (PFNM) son bienes de origen biológico, tangibles y físicos, que se obtienen de los bosques y otras tierras boscosas, excluyendo la madera, la leña y el carbón vegetal.

https://www.argentina.gob.ar/ambiente/bosques/productos-forestales-no-madereros



https://www.fao.org/forestry/nwfp/es

PRACTICO DE LABORATORIO N° 8

Extracción y determinación de pureza de ADN de una muestra vegetal

OBJETIVOS

- Aprender los principios básicos de la técnica de extracción del ADN.
- Obtener una muestra de ADN del material biológico propuesto.
- Fortalecer los principios básicos de la espectroscopia, como técnica de análisis en química orgánica.
- Fortalecer el uso y manejo de un espectrofotómetro UV- visible.
- Promover el trabajo en equipo, la resolución de problemas y la elaboración de conclusiones.
- Fomentar la participación, el dialogo, el respeto y la cooperación con el otro.

INTRODUCCION TEORICA

El ADN o Ácido Desoxirribonucleico, es una biomolécula que forma parte de todas las células y almacena las “instrucciones” que dirigen el desarrollo y funcionamiento de cualquier organismo y de los virus. Descubierto en 1950 como la estructura que codifica la información genética, el ADN ha sido objeto de intensa investigación y comprensión en la biología molecular y la genética. Esta molécula polimérica compleja y altamente organizada, es esencial para la transmisión de información genética de una generación a otra, así como para la regulación y expresión de los caracteres hereditarios en todos los seres vivos. En los organismos eucariontes, el ADN está contenido en el núcleo celular y también en las mitocondrias; mientras que en los organismos Procariontes se encuentra disperso en el citoplasma celular.

El ADN es un tipo de ácido nucleico constituido por dos cadenas, cada una de ellas formada por numerosas subunidades denominadas “nucleótidos” los cuales se encuentran unidos entre sí de forma covalente por enlaces fosfodiéster. Un nucleótido, es la unidad básica de los ácidos nucleicos y está formado por tres componentes: una Pentosa (*β*-2-Desoxi-D-ribosa), una Base Nitrogenada (Adenina, Guanina, Citosina o Timina) y un Grupo Fosfato (Figura 85).

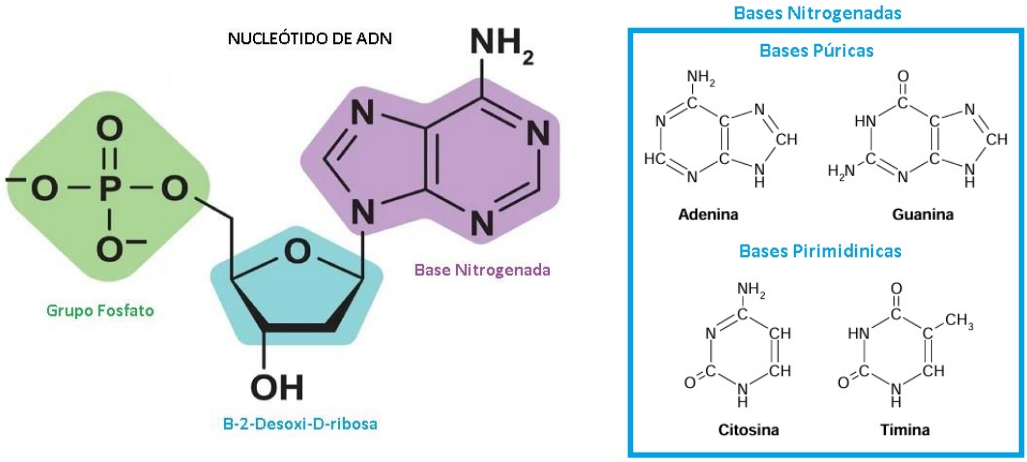


Figura 85: Estructura de un Nucleótido de ADN y las Bases Nitrogenadas que lo componen. (Fuente: elaboración propia)

Esta macromolécula se compone de dos cadenas complementarias antiparalelas, que se enrollan entre sí y adoptan una forma similar a la de una escalera en espiral, estructura denominada como de "doble hélice". Las cadenas se encuentran enfrentadas, estando la Adenina siempre apareada con Timina; y Citocina con Guanina. Adenina se une a Timina mediante 2 puentes de hidrógeno, y Citocina se une a Guanina mediante 3 puentes de hidrógeno, estas interacciones intermoleculares mantienen unidas ambas cadenas (Figura 86).

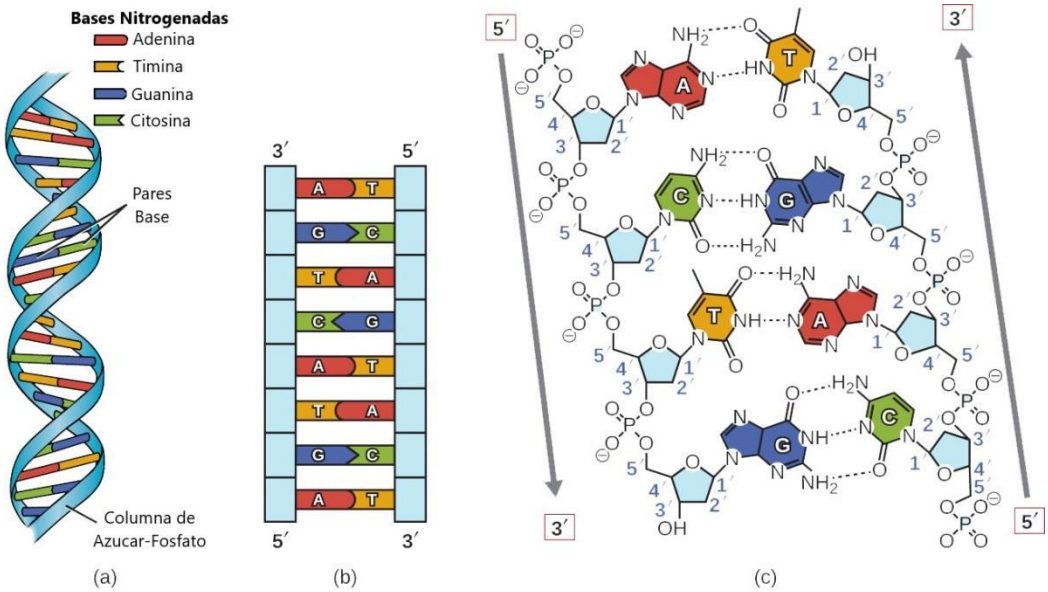


Figura 86: Estructura del ADN. a) Modelo molecular b) Apareamiento de Bases c) Complementariedad de cadenas y formación de puentes hidrogeno entre bases nitrogenadas. (Fuente: elaboración propia)

La disposición secuencial de estas cuatro bases a lo largo de la cadena (el ordenamiento de los cuatro tipos de nucleótidos) es lo que codifica la información genética.

Espectroscopia

Las moléculas de ADN absorben de manera característica la radiación electromagnética en la región ultravioleta (UV), presentando un máximo de absorción próximo a los **260 nm**. Esta propiedad permite utilizar la espectrofotometría UV para estimar la concentración y evaluar la pureza de las muestras de ADN.

La obtención de ADN purificado a partir de material biológico constituye un proceso complejo, debido a la presencia de otras biomoléculas y compuestos que pueden interferir en su análisis, como proteínas, ARN, polisacáridos, fenoles y otros compuestos orgánicos. Por ello, durante el proceso de extracción y purificación es necesario emplear diferentes procedimientos destinados a separar estos componentes del ADN.

La pureza de una muestra de ADN puede evaluarse mediante la relación entre las absorbancias medidas a **260 nm y 280 nm (A_{260}/A_{280})**. La absorbancia a 280 nm se relaciona principalmente con la presencia de proteínas, debido a la absorción de la radiación UV por aminoácidos aromáticos, particularmente triptófano y tirosina.

Para una preparación de **ADN de doble cadena relativamente pura**, se espera una relación A_{260}/A_{280} cercana a **1,8**. Valores significativamente inferiores pueden indicar la presencia de contaminantes que absorben a 280 nm, principalmente proteínas. Por otra parte, valores superiores a 1,8 no necesariamente indican una mayor pureza del ADN y pueden estar asociados con la presencia de otros contaminantes, ARN u otras características de la muestra. Por este motivo, la relación A_{260}/A_{280} debe interpretarse junto con otros parámetros de calidad y con las características del procedimiento de extracción.

Fundamento del práctico

La extracción de ADN a partir de células vegetales requiere una serie de etapas destinadas a romper las estructuras celulares, liberar el material genético, separarlo parcialmente de otros componentes celulares y finalmente precipitarlo. En las células vegetales, el ADN se encuentra principalmente en el núcleo, aunque también está presente en organelas como las mitocondrias y los cloroplastos. Para acceder a este material genético es necesario romper primero los tejidos y las células vegetales. La trituración mecánica facilita la ruptura de

los tejidos y de una parte de las estructuras celulares, mientras que un detergente permite solubilizar las membranas celulares y nucleares, favoreciendo la liberación del contenido celular.

Una vez liberado, el ADN se encuentra acompañado por numerosas sustancias celulares, entre ellas ARN, proteínas, polisacáridos, lípidos, pigmentos y otros compuestos orgánicos. Por este motivo, el procedimiento utilizado en este práctico permite obtener un extracto enriquecido en ADN, pero no un ADN completamente purificado.

En el práctico se realizarán las siguientes etapas:

• Ruptura de tejidos y membranas celulares

La extracción comienza con la trituración mecánica del material vegetal, mediante un mortero o, en su defecto, un plato y un tenedor. Este procedimiento rompe los tejidos y facilita la liberación del contenido celular.

Posteriormente, se incorpora detergente. Los detergentes interactúan con los componentes lipídicos de las membranas y favorecen su disgregación y solubilización. De esta manera, se facilita la ruptura de las membranas plasmáticas y nucleares y la liberación del ADN.

Como resultado, la fase acuosa contiene ADN junto con otras sustancias celulares, tales como ARN, proteínas, carbohidratos, pigmentos y otros compuestos.

• Separación de restos celulares y precipitación del ADN

La filtración permite separar principalmente los restos celulares y materiales insolubles de mayor tamaño presentes en el extracto.

Luego se incorpora una solución de cloruro de sodio (NaCl). Los iones Na^+ interactúan electrostáticamente con los grupos fosfato cargados negativamente del ADN, disminuyendo la repulsión entre las cadenas de la molécula y favoreciendo su agregación.

Finalmente, se agrega alcohol frío. Debido a que el ADN presenta una solubilidad mucho menor en alcohol que en agua, especialmente en presencia de sales, se favorece su precipitación, formando un material de aspecto blanquecino y filamentoso que puede observarse y recuperarse.

Es importante destacar que el precipitado obtenido no corresponde a ADN puro, ya que el procedimiento utilizado no incluye etapas específicas de purificación capaces de eliminar completamente otras biomoléculas presentes en el extracto.

• Evaluación de la calidad del extracto mediante espectrofotometría UV

Una vez recuperado el precipitado, se resuspende en una solución buffer y se determina su absorbancia a 260 y 280 nm mediante espectrofotometría UV.

Los ácidos nucleicos presentan un máximo de absorción próximo a 260 nm, mientras que la absorbancia alrededor de 280 nm se relaciona principalmente con la presencia de proteínas, debido a la absorción de los aminoácidos aromáticos, especialmente triptófano y tirosina.

A partir de ambas medidas se calcula la relación A_{260}/A_{280}, que permite realizar una estimación de la calidad y pureza relativa del extracto obtenido. En una preparación de ADN de doble cadena relativamente pura, esta relación suele encontrarse cercana a 1,8.

Dado que el procedimiento empleado en este práctico es un método sencillo y no contempla etapas de purificación avanzada, es esperable que el extracto contenga otras sustancias y que la relación A_{260}/A_{280} pueda diferir del valor esperado para ADN relativamente puro. Por lo tanto, este parámetro debe interpretarse como un indicador de la calidad relativa del extracto y no como una prueba definitiva de pureza.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

- Mortero o plato y tenedor.
- Embudo y papel de filtro.
- 4 vasos de precipitado.
- Varilla de vidrio.
- Probeta y piseta.
- Banana, acelga y tomate.
- Espectrofotómetro.
- Celdas de cuarzo o cubetas adecuadas para mediciones en la región UV.

Reactivos

- Solución acuosa de NaCl al 6 %.
- Solución acuosa de detergente al 25 %.
- Alcohol al 96 % frío.
- Solución buffer, pH: 8.

Procedimiento

1. Pesar 20 g de material vegetal y triturarlo cuidadosamente en un mortero. En caso de no disponer de mortero, utilizar un plato y un tenedor.
2. Agregar 50 ml de agua destilada y mezclar hasta obtener una suspensión homogénea.
3. Filtrar la preparación y separar los restos sólidos de la fase líquida.
4. Transferir 10 ml del filtrado a un vaso de precipitado.
5. Agregar 5 ml de solución de NaCl al 6 % y 5 ml de solución de detergente al 25 %.
6. Mezclar suavemente durante aproximadamente 5 minutos, evitando la formación de espuma.
7. Incorporar lentamente 20 ml de alcohol frío por las paredes del recipiente, procurando formar una capa sobre la fase acuosa. No agitar.
8. Dejar reposar durante aproximadamente 10 minutos y observar la formación de un material blanquecino y filamentoso en la interfase entre ambas fases.
9. Recuperar cuidadosamente el material precipitado utilizando una varilla, espátula o pipeta Pasteur.
10. Resuspender el material obtenido en 10 ml de solución buffer.
11. Medir la absorbancia de la muestra a 260 y 280 nm, utilizando el buffer como blanco.
12. Calcular la relación A260/A280 y analizar el resultado.
13. Elaborar una conclusión considerando el aspecto del precipitado obtenido y los resultados espectrofotométricos.

ACTIVIDADES

Las siguientes preguntas deberán ser respondidas en el informe:

1. ¿Por qué se puede afirmar que la banana, la acelga y el tomate contienen ADN? ¿Dónde se encuentra este ADN dentro de sus células?
2. ¿Qué otros tipos de sustancias pueden encontrarse en el material vegetal utilizado para la extracción?
3. ¿Cuál es la función del detergente, del NaCl y del alcohol en el procedimiento de extracción?

4. Al finalizar la experiencia se obtiene un material blanquecino y filamentoso. ¿Es correcto afirmar que este material corresponde exclusivamente a ADN? Fundamentar la respuesta.

5. ¿Es posible visualizar una molécula individual de ADN a simple vista? ¿Por qué?

6. Si las moléculas individuales de ADN no pueden observarse a simple vista, ¿qué representa entonces el material blanquecino y filamentoso obtenido durante la experiencia?

7. ¿Qué otros alimentos de origen vegetal podrían utilizarse para realizar una extracción de ADN? Mencionar al menos tres y justificar la elección.

8. ¿Se podría afirmar que al consumir alimentos de origen vegetal estamos consumiendo genes? Fundamentar la respuesta.

9. ¿Qué ocurre con el ADN presente en los alimentos una vez que ingresa al organismo?

10. ¿Por qué el ADN de los alimentos que consumimos no modifica nuestro ADN?

11. ¿Qué información aporta la relación A260/A280 sobre el extracto obtenido?

12. Si se obtiene una relación A260/A280 inferior a 1,8, ¿qué podría indicar este resultado? ¿Por qué no puede afirmarse únicamente a partir de este valor que el extracto contiene “ADN impuro”?

13. ¿Qué diferencias esperarían encontrar entre el ADN obtenido mediante este procedimiento sencillo y una muestra de ADN purificado mediante técnicas de laboratorio especializadas?

14. A partir de los resultados obtenidos, elaborar una conclusión que relacione:

- Las etapas de extracción realizadas;
- La función de cada reactivo;
- La formación del precipitado blanquecino;
- La composición probable del extracto obtenido;
- Los valores de absorbancia a 260 y 280 nm; y
- La relación a260/a280 obtenida.



Lecturas de interés

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

Español

Acerca de la FAO | Noticias | Multimedia | Temas principales | Estadísticas | Miembros | Publicaciones

FAO.org > Noticias > detail

La revolución genética puede apoyar la seguridad alimentaria, abordar la crisis climática y proteger la biodiversidad

En la ceremonia del Premio Mundial de la Alimentación de 2024, el Director General de la FAO defiende formas en que la ciencia y la innovación pueden contribuir a transformar los sistemas agroalimentarios y acercar personas y culturasQU Dongyu, Director General de la FAO, pronuncia un discurso principal en Des Moines, Iowa (Estados Unidos de América).



https://www.fao.org/newsroom/detail/the-genetic-revolution-can-support-food-security--tackle-the-climate-crisis-and-protect-biodiversity/es

¿Quiénes somos? Asóciate Participa Agenda FAQ

ecoloxistes n'aición

INICIO ÁREAS TERRITORIOS VELERO ECOLOJÓVENES PUBLICACIONES

INICIO > ÁREAS > AGROECOLOGÍA > TRANSGÉNICOS >

Transgénicos /

[Alimentos transgénicos] Efectos sobre el medio ambiente

10/10/2005 | Transgénicos

“

En lo que se refiere al medio ambiente, los OMG pueden tener efectos dañinos por las mismas

En lo que se refiere al medio ambiente, los OMG pueden tener efectos dañinos por las mismas razones citadas en relación con la salud. La toxicidad es una amenaza para la biodiversidad y la vida silvestre, de la misma manera que lo es para el ser humano. Los potenciales impactos negativos sobre el medio ambiente incluirían

Aparición de plantas invasoras

Deterioro del hábitat y pérdida de (...)

Acumulación de tóxicos en el suelo y (...)

https://www.ecologistasenaccion.org/3177/efectos-sobre-el-medio-ambiente/

Bibliografía

ARGUELLES, T.; CALLABA, A. R., 2004, Guía de Trabajos Prácticos Química Biológica Fisiología Vegetal Aspectos interdisciplinarios, Editorial Universitaria de Misiones.

BADAMI, P. A.; CORZO, A. G.; GONZALEZ E. A. Serie Didáctica N° 35. Segunda Edición: Guía de Teórico Practica de Problemas y Ejercicios y de Química Orgánica. Cátedra de Química Orgánica y Biológica. Facultad de Ciencias Forestales. UNSE. Marzo 2017. 77 pág. E-Book ISBN 978-987-1676-75-0.

BADAMI P. A.; GONZALEZ, E. A. Serie Didáctica N° 45. Química biológica: conceptos teóricos y ejercicios de aplicación: Cátedra de Química Orgánica y Biológica /. - 1a ed. - Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero - UNSE. Facultad de Ciencias Forestales, 2021. Libro digital, PDF Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-1676-95-8.

BARRAZA, J. D., 2023, *Análisis químico de extractos de Tessaria dodoneifolia de la provincia de Santiago del Estero, Argentina*, Trabajo Final de Graduación, Licenciatura en Ecología y Conservación del Ambiente, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero.

BLANCO, A. Química Biológica. Octava Edición. Editorial González Truccone. 2000.

BOHINSKY, R. Bioquímica. Addison Wesley. Iberoamericana S.A. Quinta Edición. 1991.

CORZO, A. G. Serie Didáctica N° 44: Técnicas de análisis en Química Orgánica. Cromatografía. Cátedra de Química Orgánica y Biológica. Facultad de Ciencias Forestales. UNSE. Mayo 2019. 55 pág. E-Book ISBN 978-987-1676-86-6.

CURTIS. H. Biología. Sexta Edición en Español. CD-ROM. Editorial Médica Panamericana. (*)

DÍAZ QUINTANILLA, M. C.; GELVES ABRIL, A. C., 2021. Estandarización del método de Lugol-carbohidrato para la evaluación de la actividad

enzimática de *α*-amilasa de *Zea mays L.,* Universidad Industrial de Santander, https://noesis.uis.edu.co/handle/20.500.14071/11259

FEDUCHI CANOSA, E.; BLASCO CASTIÑEYRA I.; ROMERO MAGDALENA, C.; YAÑEZ CONDE, E. Bioquímica: conceptos esenciales. Editorial Panamericana. ISBN 978-849835-357-0.

GONZALEZ, E. A.; CORZO, A. G. Serie Didáctica Nº 36: Guía teórico-práctica de Química Biológica. Cátedra de Química Orgánica y Biológica. Facultad de Ciencias Forestales. UNSE. 2010. Marzo 2009. E-Book ISBN 978-987-1676-50-7.

HART, H.; HART, D.; CRAINE, L. Química Orgánica. Decimosegunda Edición. Mc GrawHill. 2007.

HERNANDEZ GIL, R. Libro botánica on line. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes. Venezuela http://www.forest.ula.ve/~rubenhg

Hipertextos del área de la biología. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias. http://www.biologia.edu.ar/

HORTON, H. R.; MORAN, L. A.; OCHS, R.; RAWN, J. D.; SCRIMGEOUR, K. Bioquímica. Editorial Prentice-Hall Hispanoamericana. Cuarta edición. 2008.

LEHNINGER, A. Curso Breve de Bioquímica. Ediciones Omega. Quinta Edición. 2009.

LÓPEZ-RODRIGUEZ, D., MICÓ-VICENT, B., JÓRDAN-NÚÑEZ, J., & BELDA, A. (2024 119352). Extraction of natural pigments from Mediterranean environments plants. *Industrial Crops & Products 221*, 17p.

LLORENS MOLINA J. A. Ejercicios para la introducción a la química orgánica. Editorial Tébar, S.L., Madrid, año 2008. ISBN digital: 978-84-7360-439-0. Pearson Educación de México, S.A de C.V., México, 2013. ISBN: 978-607-32-20347.

PORFIRI, M. C., 2012. Desarrollo de metodologías alternativas de purificación y concentración de alfa-amilasa desde diversas fuentes naturales, Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario.

STRYER, L. Bioquímica. Sexta Edición. Editorial Reverté. 2008.

TIMBERLAKE K. C. Química. Una introducción a la química general, orgánica y biológica. Química general, orgánica y biológica. Estructuras de la vida. 4ª edición. Pearson Educación de México, S.A de C.V., México.

VILLAVERDE GUTIERREZ, C.; BLANCO GAITAN, M.; MENDOZA OLTRAS, C.; RAMIREZ RODRIGO, J. Fundamentos de bioquímica metabólica. Editorial alfaomega. 2005.

WADE, L. G. Jr. Química Orgánica. Séptima Edición. Prentice-Hall Hispanoamericana. 2011.

YAÑIQUEZ VEDIA, J. F., HUANCA LÓPEZ, S., 2019. Determinación de los parámetros temperatura, pH y concentración para la nueva enzima *α*-amilasa Mg, Revista Boliviana de Química, vol. 36, núm. 1, pp. 51-59, Universidad Mayor de San Andrés.

YURKANIS BRUICE, PAULA. Fundamentos de Química orgánica. Pearson Educación, México, 2007. ISBN: 978-970-26-1022-9.