

Laboratorio 4 Química de la célula

Capítulo 4. Campbell 6ta edición
Preparado por Prof. Antonio Ortiz-Vélez

Introducción

Una de las características de la vida discutidas en clase fue: gran organización a nivel molecular. Como recordaran, en la célula están presentes algunos de los elementos que encontramos en nuestro planeta. Pero estos se encuentran en un orden de abundancia que no corresponde a su abundancia en el universo. La mayor parte de la masa celular, por peso corresponde sólo a 6 elementos: **C, H, O, N, P y S**. Aunque más del 98% del peso seco de una célula generalmente corresponde a estos elementos, en la célula también podremos encontrar otros pocos elementos en cantidades menores (elementos de traza).

Los principales elementos presentes en todo tipo de célula se encuentran organizados en moléculas complejas que podemos clasificar en cuatro grandes grupos de importancia biológica. Estos grupos son: **los Hidratos de Carbono, lípidos o grasas, las proteínas y los ácidos nucleicos**. Cada grupo se caracteriza por unas propiedades bioquímicas particulares y la presencia de grupos de átomos en arreglos particulares llamados **grupos funcionales**. Estos grupos les brindan sus propiedades a las diferentes familias de moléculas.

Tabla 4.1

Tarea: Complete esta tabla antes de llegar al laboratorio. Utilice su libro de texto como referencia.

Grupo Funcional	Fórmula	Nombre de los Compuestos	Ejemplo de Estructura
Hidroxil	- OH	Alcoholes	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} $
Carbonil			
Carboxil			
Amino			
Sulfhidril			
Fosfato			

A. Hidratos de Carbono.

Los hidratos de carbono constituyen una familia de moléculas de carácter polar debido a la presencia de los grupos funcionales hidroxilo, cetónico y aldehídico. Estos le brindan la capacidad de formar puentes de hidrógeno en solución acuosa.

Los hidratos de carbono pueden clasificarse de acuerdo con su complejidad en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

También pueden formar parte de la composición de macromoléculas sumamente complejas como el peptidoglicán y la quitina. Estos son componentes importantes de las paredes celulares de las eubacterias y los hongos respectivamente.

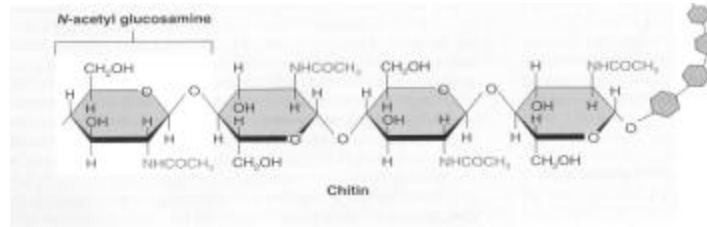


Figura 4. 1 Quitina

Los monosacáridos o azúcares simples tienen entre 3 y 7 carbonos y poseen una proporción definida de los elementos C, H y O según la fórmula $C_n (H_2O)_n$. Entre estos azúcares simples, discutiremos algunos ejemplos de pentosas y hexosas.

Dos pentosas de suma importancia son la Ribosa y la Desoxirribosa. La ribosa es un componente importante de algunas vitaminas que actúan como coenzimas en algunas reacciones del metabolismo celular y es un componente de los ribonucleótidos, monómeros constituyentes del ARN. La desoxirribosa forma parte de los nucleótidos que a su vez forman el ADN.

La **Glucosa** es tal vez la **hexosa** más conocida por el público general. La glucosa es central para muchos organismos como fuente inmediata de energía. El **catabolismo** de la glucosa libera la energía necesaria para la síntesis de **ATP** que a su vez actúa como la “moneda de energía” en las células. La glucosa además puede ser polimerizada para formar algunos polisacáridos de almacenaje o estructurales que discutiremos más adelante.

Otras hexosas importantes para muchos organismos son la fructosa y la galactosa. Ambas son isómeros de glucosa, estas difieren en el arreglo espacial de sus grupos funcionales (vea Figura 5.3 de su texto)..

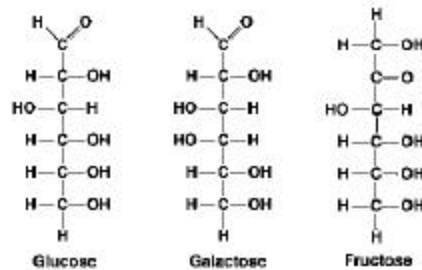


Figura 4. 2 Isómeros de Glucosa

Los monosacáridos pueden formar disacáridos enlazándose mediante una reacción de síntesis por deshidratación. En esta reacción, los monosacáridos se enlazan mediante un átomo de oxígeno y en adición se forma agua. Algunos disacáridos comunes que podemos mencionar son **sacarosa** (azúcar de caña), **lactosa** (presente en la leche) y **maltosa** (presente en muchas frutas).

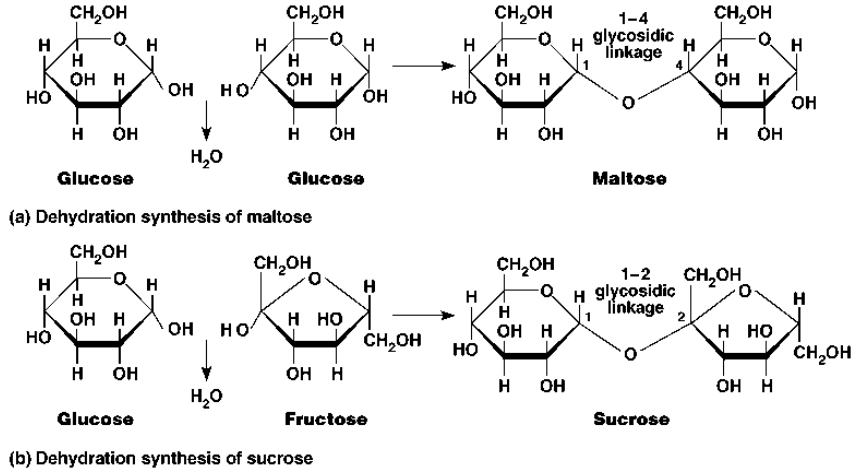


Figura 4. 3 Síntesis por deshidratación

Glucosa también puede formar algunos polímeros como el almidón y el glucógeno. El primero es un polímero de almacenaje en las células de las plantas y en algunos protistos. El glucógeno es utilizado con este propósito, en las células animales.

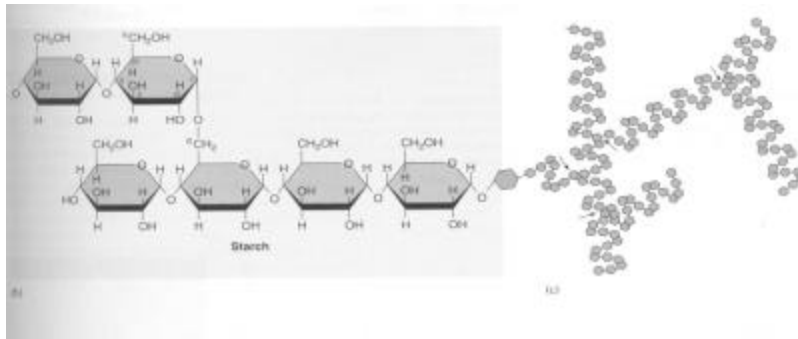
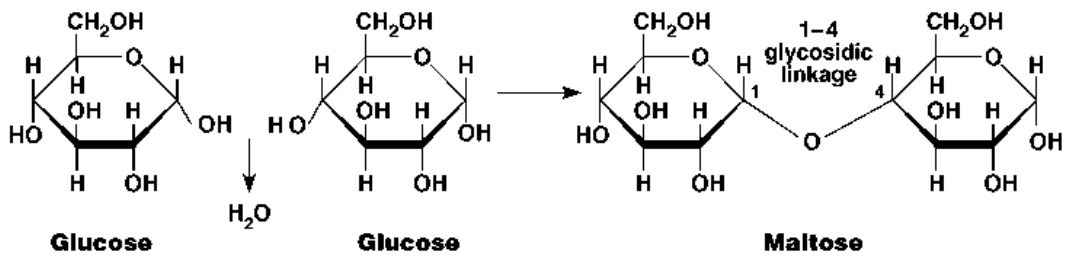
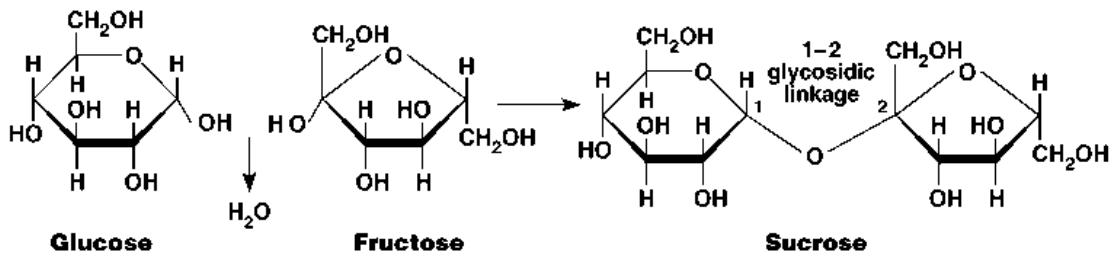


Figura 4. 4 Almidón

La celulosa es otro polímero de glucosa presente en las plantas. Este **no puede ser utilizado como fuente de energía** por la mayoría de los organismos, ya que la forma en que están enlazadas las glucosas es diferente. Sólo algunas bacterias, hongos y protistos poseen las enzimas necesarias para degradar la celulosa.



(a) Dehydration synthesis of maltose



(b) Dehydration synthesis of sucrose

Figura 4.5 Síntesis por deshidratación

B. Lípidos o Grasas

A diferencia de los azúcares los lípidos son moléculas **no polares** de naturaleza **hidrofóbica**. Los lípidos más sencillos son los **ácidos grasos**. Estos poseen cadenas de hidrocarburos que varían en longitud. Estas cadenas pueden ser saturadas o insaturadas. Los ácidos grasos son una buena fuente de energía y son utilizados en la célula como moléculas de reserva. La unión de tres ácidos grasos a una molécula de **glicerol** forma un **triglicérido**. Es en forma de triglicéridos que se almacenan lípidos en las células.

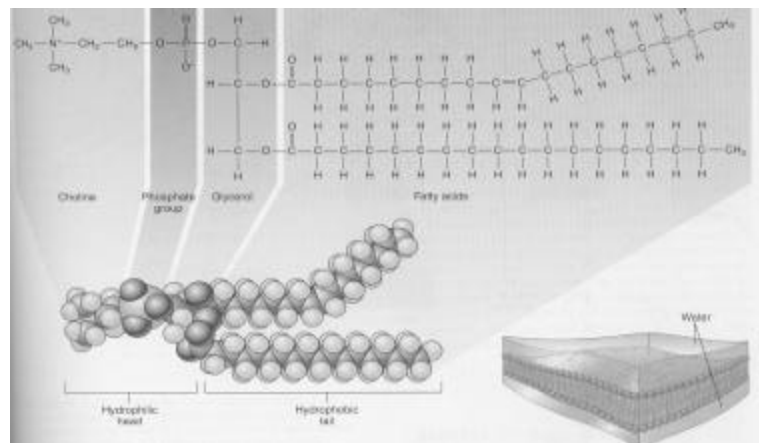


Figura 4.6 Fosfolípido

Otro grupo de lípidos están formados por **anillos de Carbono e Hidrógeno**. Entre estos podemos mencionar a los **esteroides**. Un esteroide de gran importancia para la célula animal es el colesterol. Este es un componente importante de las membranas celulares y es un precursor de las hormonas esteroideas en los humanos, entre estas, el **estrógeno** y la **testosterona**.

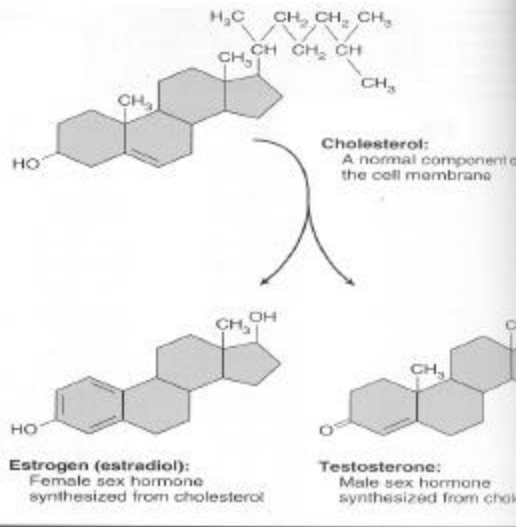


Figura 4.7 Esteroides

Los lípidos también pueden formar parte de moléculas complejas como los **fosfolípidos**. Estos son de naturaleza **anfipática** y forman parte de las membranas celulares en todos los eucarióticos y las eubacterias y en muchas de las arqueobacterias.

C. Proteínas

Las proteínas son polímeros formados por cadenas de **aminoácidos**. Estas cumplen con múltiples funciones en la célula y su **estructura primaria** está determinada genéticamente. La estructura primaria corresponde a la secuencia única de aminoácidos. Los aminoácidos se enlazan entre sí mediante **enlaces tipo peptídico- un enlace covalente formado entre el grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro.**

Los niveles de estructura más complejos dependen de la estructura primaria- para obtener su forma final. Existen 20 aminoácidos comúnmente presentes en las proteínas y los podemos dividir en familias dependiendo de las características de sus grupos **sustituyentes (R)**.

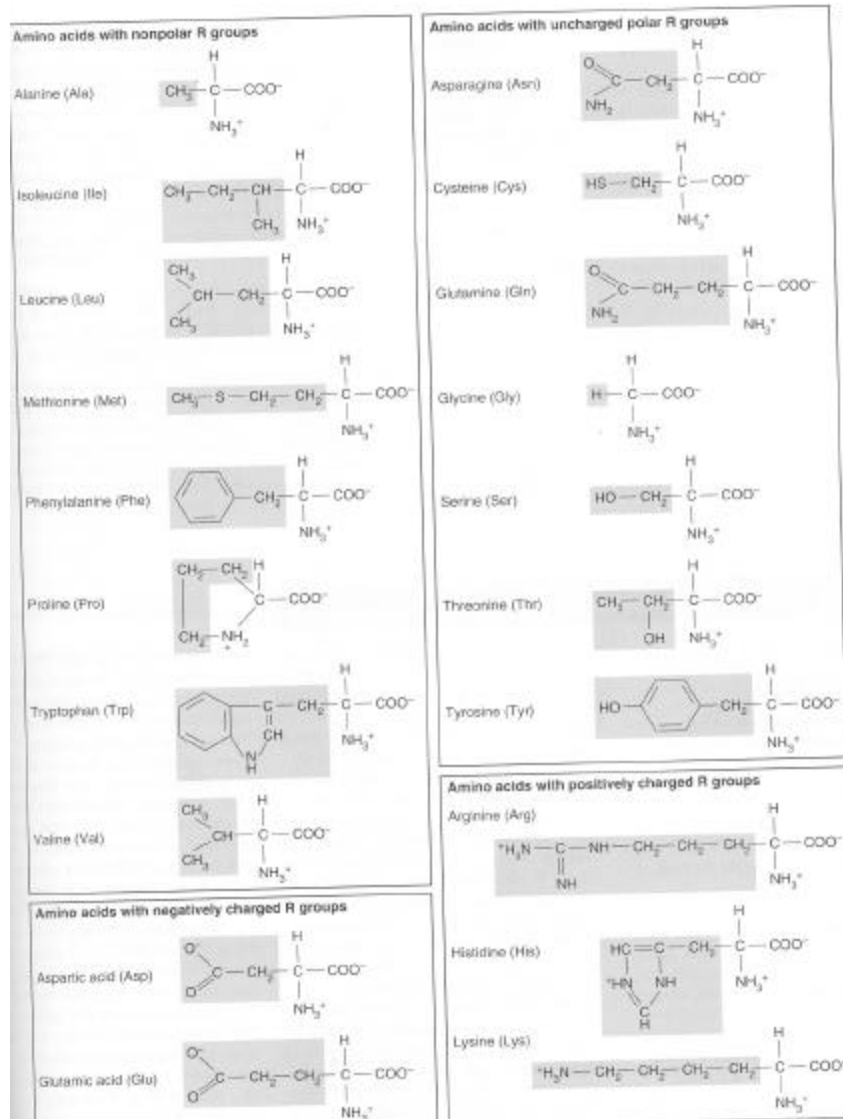


Figura 4.8 Grupos de Aminoácidos

La **estructura secundaria** depende de la formación de puentes de hidrógeno entre los aminoácidos. Podemos mencionar dos tipos de estructura secundaria, **la hélice alfa y la hoja o pliegues beta**. La hélice alfa es una estructura más flexible en comparación con la hoja beta la cual es rígida.

La **estructura terciaria** es **globular** y se mantiene por la formación de múltiples interacciones tales como puentes de hidrógeno, enlaces de tipo iónico, interacciones hidrofóbicas y puentes de bisulfuro (enlaces covalentes entre átomos de azufre).

La **estructura cuaternaria** se forma por la unión de **dos o más cadenas polipeptídicas** para formar una proteína funcional. Si la proteína tiene una sola cadena polipeptídica, la estructura biológicamente activa es la terciaria.

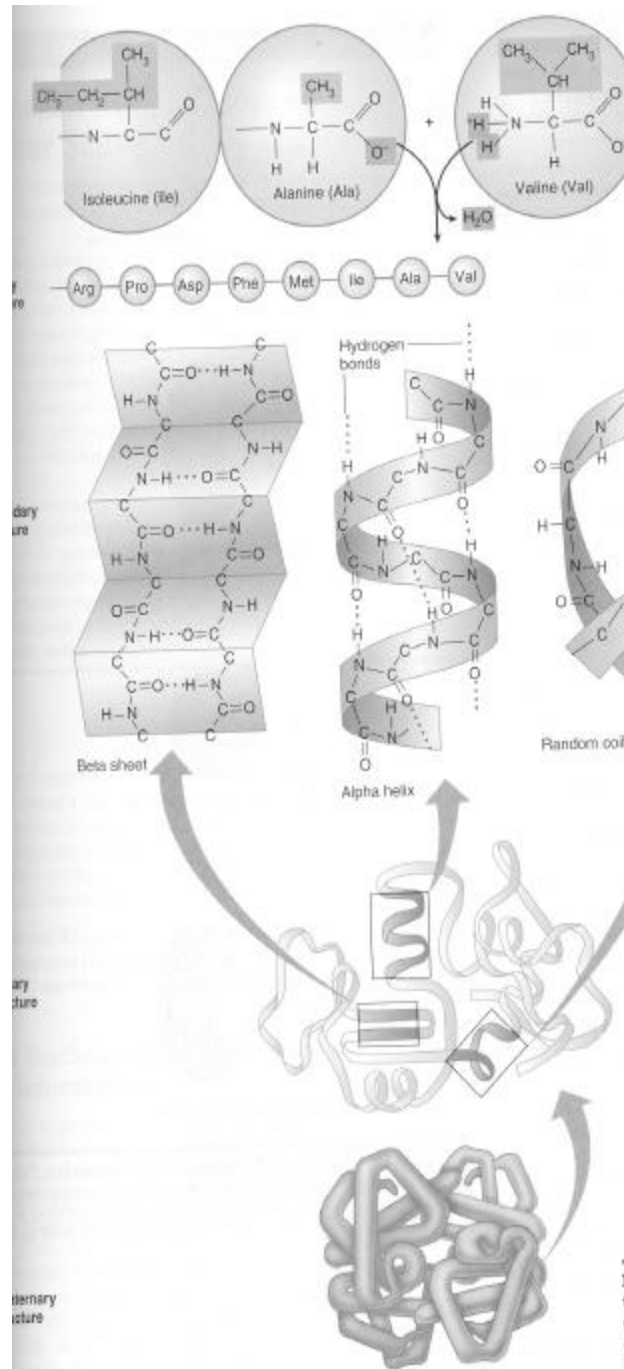


Figura 4.8 Estructuras de las Proteínas

D. Ácidos Nucleicos

Aunque se dedicará otro laboratorio a la estructura de ácidos nucleicos, discutiremos algunos aspectos generales sobre su estructura. Tanto el **ARN** como el **ADN** son polímeros formados por **cadena de nucleótidos**. Estas cadenas pueden adquirir una estructura secundaria por la formación de puentes de hidrógeno. Generalmente el ARN está formado por una cadena sencilla.

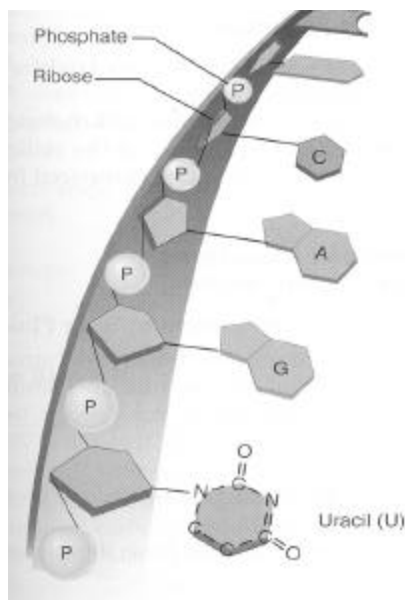


Figura 4.9 ARN (RNA)

Cada **nucleótido** está formado por un grupo **fosfato, una pentosa y una base nitrogenada** y se polimerizan entre sí por la formación de enlaces **fosfodiéster**. El azúcar presente en el ARN es **ribosa**. Las bases nitrogenadas presentes en el ARN son **Adenina, Uracilo, Guanina y Citosina**. **A diferencia del ADN, en el ARN no está presente la Timina y en su lugar hay Uracilo.**

El ADN está formado por dos cadenas de **polinucleótidos**. Estas cadenas son complementarias entre sí y que se mantendrán unidas por puentes de hidrógeno. **El azúcar presente es desoxirribosa en lugar de ribosa y la base Timina en lugar del Uracilo.**

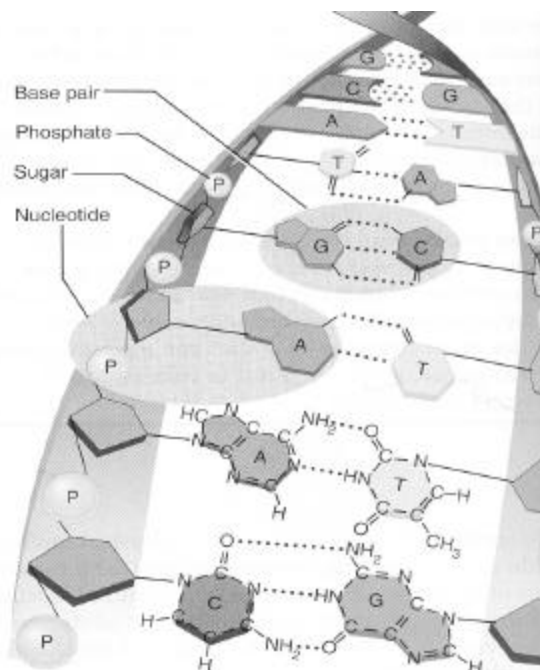


Figura 4.10 ADN (DNA)

El ADN es el material de herencia en todos los organismos celulares. **La secuencia de nucleótidos en el ADN dicta la estructura primaria de las proteínas.** El ADN en unión a proteínas forma los cromosomas. En eucarióticos los cromosomas se encuentran en el núcleo. **El cloroplasto y el mitocondria también poseen su propia molécula de ADN.**

En procarióticos hay un cromosoma único de naturaleza circular y se encuentra en el citoplasma celular. En algunas ocasiones podremos encontrar moléculas adicionales de ADN extracromosómicas, a estas se les llama plasmidio y poseen valor adaptativo.

El ARN se relaciona principalmente con la síntesis de proteínas. Tres tipos de ARN relacionadas a la síntesis de proteínas son el m-ARN (mensajero), t-ARN (transferencia) y r-ARN (ribosomal)

OBJETIVOS:

1. Al finalizar este laboratorio los estudiantes serán capaces de utilizar el equipo y materiales necesarios para realizar la **identificación de macromoléculas** adecuadamente.
2. Podrán reconocer al equipo utilizado por nombre y función
3. **Fortalecerán su entendimiento de las diferencias entre las diferentes macromoléculas y los grupos funcionales que poseen.**

MATERIALES:

- | | |
|---|------------------------|
| - gradillas | - vasos de precipitado |
| - tubos de ensayo | - hornillas |
| - soluciones de: | - goteros |
| Glucosa, lactosa, sacarosa, | - solución de Benedict |
| Extractos de papa, almidón y manzana | - reactivo de Biuret |
| - muestras con sustancias de lípidos | - lugol |
| - muestras con sustancias de no lípidos | - acetona |
| - papel secante | - agua destilada |
| - albúmina | - NaOH al 2.5% |
| - muestras con sustancia proteica | |

METODOS:

En este ejercicio los estudiantes realizarán varias pruebas de laboratorio sencillas. Estas pruebas le permitirán identificar muestras desconocidas de los grupos de macromoléculas. Las pruebas a utilizar indican la presencia o ausencia de algunos grupos funcionales característicos de estas macromoléculas.

I. Detección de Carbohidratos

A) Prueba de Benedict

Muchos azúcares simples poseen grupos aldehídicos o cetónicos libres. A estos le llamamos azúcares reductores porque son capaces de reducir a agentes oxidantes débiles. El reactivo utilizado en la prueba de Benedict es el **sulfato de cobre** que forma el ión cúprico (Cu^{+2}). Los grupos reductores en azúcares simples pueden reducir al ión cúprico en condiciones alcalinas a un óxido cuproso. El resultado es la formación de un óxido cuproso más un azúcar oxidado. **El color del óxido cuproso (dependiendo de la concentración en solución) fluctúa entre verde y rojo anaranjado.** Un color verde indica una cantidad pequeña de azúcares reductores y el color rojo-anaranjado indicaría la abundancia de estos.

1. Obtenga 6 tubos de ensayo limpios y rotúlelos con los números del 1 al 6.
2. En cada tubo coloque 1ml de la solución indicada en la Tabla 4.2 para ese tubo.
3. Añada a cada tubo 1ml de la solución de Benedict.
4. Anote la apariencia de cada mezcla en la Tabla 4.2.
5. Coloque cada tubo en un baño de María con agua hirviendo por tres minutos.
6. Luego remuévalos y colóquelos en una gradilla.

Anote la apariencia de cada mezcla en la Tabla 4.2. La presencia de los colores verde claro, amarillo, anaranjado ó rojo, indican la presencia de azúcares reductoras en solución en secuencia de menor a mayor. Por lo tanto, la concentración de estas azúcares será la mayor cuando se torna color rojo.

Tabla 4.2 Soluciones para la Prueba de Benedict

Tubo #	Soluciones de prueba	Antes de calentar	Después de calentar	Resultado + ó -
1	Glucosa			
2	Lactosa			
3	Sacarosa			
4	Extracto de papas			
5	Extracto de almidón			
6	Agua Destilada			

¿Qué significan estos resultados y por qué se obtuvieron?

Modifique y repita la prueba de Benedict para todas las soluciones que indicaron resultados negativos.

1. Obtenga la cantidad de tubos de ensayo limpios que sean necesarios y rotúlelos con números.
2. En cada tubo coloque 1ml de la solución de resultado negativo y anótela en la Tabla 4.3.
3. Añada a cada tubo 1ml de la solución de Benedict y 1 ml de HCl. Anote la apariencia de cada mezcla en la Tabla 4.3.

4. Añada a cada tubo 1ml de HCl
5. Coloque cada tubo en un baño de María con agua hirviendo por tres minutos.
6. Luego remuévalos y colóquelos en una gradilla. Anote la apariencia de cada mezcla en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Soluciones para la Prueba de Benedict Modificada

Tubo #	Soluciones de prueba	Antes del Benedict	Después del HCl y Benedict	Resultado + ó -
1				
2				
3				
4				

¿Qué significan estos resultados y por qué se obtuvieron? ¿Por que utilizar el HCl?

B) Prueba de Almidón

La prueba de almidón distingue los polisacáridos de los monosacáridos y también de los disacáridos. El almidón tiñe de color azul oscuro a negro cuando los iones de yoduro presentes en la solución de Lugol, interaccionan con las cadenas en espirales del almidón. Un color amarillo-marrón indica un resultado negativo a presencia de almidón. El glicógeno produce un color intermedio, no tan oscuro como el almidón.

1. Obtenga 6 tubos de ensayo limpios y rotúlelos con los números del 1 al 6.
2. En cada tubo coloque 1ml de la solución indicada en la Tabla 4.4 para ese tubo. (IMPORTANTE: antes de sacar la solución del envase, mueva la solución para homogeneizarla y no utilice instrumentos contaminados).
3. Añada a cada tubo 4 gotas de la solución de Lugol.
4. Anote la apariencia de cada mezcla antes y después de añadir el Lugol en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Soluciones para la Prueba de Lugol

Tubo #	Soluciones de prueba	Antes del Lugol	Después del Lugol	Resultado + ó -
1	Glucosa			
2	Lactosa			
3	Sacarosa			
4	Extracto de papas			
5	Extracto de almidón			
6	Agua destilada			

¿Qué significan estos resultados y por qué se obtuvieron? ¿Es útil teñir con lugol? ¿Por que? _____

II. Detección de Lípidos

Los lípidos son moléculas no polares insolubles en agua y en otros disolventes polares. Estos son solubles en disolventes no polares tales como la acetona y el cloroformo.

A) Prueba de solubilidad

1. Obtenga 3 tubos de ensayo limpios y rotúlelos con los números del 1 al 3.
2. A cada uno le añade 3ml de agua destilada y 5 gotas de uno de los desconocidos 1, 2 ó 3 y observe.
3. ¿Cuáles se disuelven? Anote en la Tabla 4.5

Tabla 4.5 Soluciones para la Prueba de Lípidos Desconocidos.

Tubo #	Sol. Desconocida	Resultado	+ ó -
1	1		
2	2		
3	3		

Repita el procedimiento con 3 tubos de ensayo limpios y rotúlelos con los números del 1 al 3. Añada 3ml de acetona y 5 gotas a cada uno de los desconocidos (1, 2 ó 3) y observe. ¿Cuáles se disuelven? Anote en la Tabla 4.6

Tabla 4.6 Soluciones para la Prueba de Lípidos Desconocidos más acetona.

Tubo #	Sol. Desconocida	Resultado	+ ó -
1	1		
2	2		
3	3		

¡Explique los resultados obtenidos en ambos procedimientos!

B) Prueba de la mancha

Sobre un pedazo de papel secante añada una gota de los desconocidos 1, 2 y 3 y una gota de agua destilada. Observe el comportamiento de las cuatro gotas a lo largo del tiempo y anote en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7 Soluciones para la Prueba de Lípidos Desconocidos en papel secante.

Gota #	Sol. Desconocida	Resultado	+ ó -
1	1		
2	2		
3	3		
4	Agua Destilada		

¡Explique los resultados obtenidos en este procedimiento!

III. Detección de Aminoácidos y Proteínas

A) Prueba de Biuret

La prueba de Biuret se utiliza para determinar presencia de Aminoácidos y Proteínas. El reactivo de Biuret es una solución de sulfato de cobre al 1%. Este reacciona con los enlaces peptídicos en un polipéptido y forma un **complejo color violeta**.

1. Obtenga 4 tubos de ensayo limpios y rotúelos con los números del 1 al 4.
2. En cada tubo coloque:
 - a. 2ml de la solución de Biuret
 - b. 2ml de la solución de NaOH al 2.5%
 - c. y 2ml de una de las soluciones según se indica en la Tabla 4.8.

Anote la apariencia de cada mezcla en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 Soluciones para la Prueba de Biuret.

Tubo #	Solución	Resultado	+ ó -
1	Agua destilada		
2	Albúmina		
3	Extracto de almidón		
4	Desconocido A		

¡Explique los resultados obtenidos en este procedimiento!

Referencias

Capmbell, N.A & J.B. Reece. 2002. *Biology*. Sexta Edición

Dolphin Warren D. *Biology Laboratory Manual*. 4th Ed. 1997

Mader Sylvia S. *Inquiry into life, Laboratory Manual* 9th Ed. 2000.

Vodopich & Moore. *Biology Laboratory Manual*. 6th Ed. 2002.

Referencias en Internet

www.salonhogar.com

Moléculas Orgánicas Simples y Sus grupos Funcionales

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/O/Organics.html>

Esta separata fue revisada, editada, ampliada y fueron cambiadas algunas figuras en Septiembre 2004. JGRR

Esta separata fue revisada y editada en febrero 2004 por el Prof. David Forestier.