



Consejo de Educación
Técnico Profesional
Universidad del Trabajo del Uruguay

Química Bio-Orgánica

Curso Práctico

Bachillerato de Química Industrial
ITS Paysandú
Prof. TQ. Marcelo Gurin

PRÁCTICO 1

Identificación de biomoléculas en muestras de alimentos

OBJETIVO

Realizar pruebas cualitativas para la identificación de lípidos, carbohidratos, aminoácidos y proteínas en muestras de alimentos

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué son las biomoléculas? Explique brevemente las características químicas de los lípidos, carbohidratos, aminoácidos y proteínas.
- 2) Explique los fundamentos de las pruebas cualitativas utilizadas en esta actividad para la identificación de lípidos, carbohidratos, aminoácidos y proteínas.
- 3) Resuma la composición nutricional de los alimentos utilizados como muestras en la actividad práctica.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos de ensayo
- Mortero
- Papel blanco
- Cuentagotas
- Varilla de vidrio
- Baño de hielo
- Baño de agua hirviendo
- Muestras: maní, papas fritas, miel, harina de trigo, salsa de soja.
- Acetona
- Reactivo de Molisch
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ninhidrina al 2% (en etanol)
- Hidróxido de sodio 1mol/L
- Reactivo de biuret

PROCEDIMIENTO

- **Prueba de manchas en matriz celulósica (identificación de grasas y aceites)**
Coloque una porción de aproximadamente 1g de cada muestra sólida (previamente triturada en un mortero) y diez gotas de cada muestra líquida en una serie de tubos de ensayo con tapa a rosca. Agregue 2mL de acetona a cada uno, tápelos, agítelos vigorosamente y déjelos reposar por cinco minutos. Con ayuda de una varilla de vidrio, transfiera una gota del sobrenadante de cada tubo a un papel blanco y deje evaporar el solvente (identifique en el papel a qué muestra corresponde cada gota). La presencia de manchas transparentes luego de que se evapore el solvente indica la presencia de grasas o aceites.
- **Ensayo de Molisch (identificación de carbohidratos)**
Coloque una porción de aproximadamente 1g de cada muestra sólida (previamente triturada en un mortero) y diez gotas de cada muestra líquida en una serie de tubos de ensayo. Agregue 5mL de agua hirviendo a cada uno, agítelos vigorosamente y déjelos reposar por cinco minutos. Decante el sobrenadante de los tubos correspondientes a las muestras sólidas, descarte los sólidos y enfríe los tubos en un baño de hielo. Divida cada solución de muestra en dos porciones (la segunda porción se utilizará para la identificación de aminoácidos). Agregue una o dos gotas de reactivo de Molisch a una de las

porciones de cada muestra y mezcle bien. Agregue aproximadamente 2mL de ácido sulfúrico concentrado con cuidado por la pared del tubo de ensayo de manera que se diferencien dos fases. Un ensayo positivo resulta en la formación de un anillo violeta donde se unen ambos líquidos.

- **Prueba de la ninhidrina (identificación de aminoácidos)**

Agregue una o dos gotas de ninhidrina al 2% a la segunda porción de cada solución de muestra en agua hirviendo. Mezcle bien. Coloque en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos y enfríe. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración violeta.

- **Ensayo de Biuret (identificación de péptidos)**

Coloque una porción de aproximadamente 1g de cada muestra sólida (previamente triturada en un mortero) y diez gotas de cada muestra líquida en una serie de tubos de ensayo. Agregue 5mL de solución caliente de NaOH 1mol/L a cada uno, agítelos vigorosamente y déjelos reposar por cinco minutos. Decante el sobrenadante de los tubos correspondientes a las muestras sólidas, descarte los sólidos y enfríe los tubos en un baño de hielo. Agregue 2mL de reactivo de Biuret a cada tubo. Agite vigorosamente. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración violeta.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Resuma los resultados obtenidos con cada prueba cualitativa en una tabla. ¿Son coherentes los resultados respecto a la composición teórica de la muestra? Justifique.
- 2) ¿De qué otra forma sería posible identificar cada una de las biomoléculas estudiadas en estas muestras?

PRÁCTICO 2

Análisis cualitativo de aminoácidos

OBJETIVO

Estudiar pruebas cualitativas para la identificación de aminoácidos.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué son los aminoácidos?
- 2) Indique propiedades fisicoquímicas de: glicina, cisteína, tirosina, triptófano y fenilalanina.
- 3) Indique los fundamentos de las siguientes técnicas de identificación de aminoácidos y cuáles de éstos responden en forma positiva a ellas: prueba de la ninhidrina, reacción xantoproteica, prueba de Millon, prueba de Hopkins-Cole-Adams, prueba del nitroprusiato de Mörner. Indique además la composición de los reactivos que se utilizan en cada una y las normas de seguridad requeridas para el trabajo con ellos.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos de ensayo
- Cuentagotas
- Pipetas graduadas de 5mL
- Baño de agua
- Muestras: soluciones stock de glicina, cisteína, tirosina, triptófano y fenilalanina
- Ninhidrina al 2% (en etanol)
- Hidróxido de sodio al 40%
- Ácido nítrico concentrado
- Reactivo de Millon
- Sulfato de mercurio (II) al 10% (en H₂SO₄ al 10%)
- Formaldehído al 0.2%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Nitroprusiato de sodio al 5%
- Amoníaco concentrado

PROCEDIMIENTO

Lleve a cabo las siguientes pruebas para las muestras que se indican.

- **Prueba de la ninhidrina (general para aminoácidos)**
Coloque 1mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele una o dos gotas de ninhidrina al 2%. Mezcle bien. Coloque en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos y enfríe. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración violeta.
Realizar para todas las muestras.
- **Reacción xantoproteica (específica para aminoácidos con anillos aromáticos)**
Coloque 1mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele 1mL de ácido nítrico concentrado. Caliente en baño de agua hirviendo durante 5 minutos y luego enfríe. Agregue hidróxido de sodio al 40% hasta alcalinizar el medio. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración amarilla luego del calentamiento que se vuelve naranja al alcalinizar.
Realizar para *glicina*, *tirosina*, *triptófano* y *fenilalanina*.

- **Prueba de Millon (específica para aminoácidos con anillos fenólicos)**
Coloque 1mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele dos o tres gotas de reactivo de Millon. Mezcle bien y caliente en baño de agua por un minuto (o hasta que se observe un cambio de coloración). Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración roja (en solución o en forma de precipitado). Realizar para *glicina* y *tirosina*.
- **Prueba de Hopkins-Cole-Adams (específica para aminoácidos con grupo indol)**
Coloque 1mL de muestra en un tubo de ensayo. Agréguele una gota de sulfato de mercurio (II) al 10% y una gota de formaldehído al 0.2%; mezcle bien. Agregue ácido sulfúrico concentrado con cuidado y por las paredes del tubo de manera que se diferencien dos fases. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración rojo-violeta en la interfase. Realizar para *glicina* y *triptófano*.
- **Prueba del nitroprusiato de Mörner (específica para aminoácidos con grupo sulfhidrilo)**
Coloque 1mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele cinco gotas de nitroprusiato de sodio al 5%. Mezcle bien y agregue dos o tres gotas de amoníaco concentrado. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración rojo-violeta. Realizar para *glicina* y *cisteína*.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Resuma los resultados obtenidos para cada test en una tabla. ¿Son éstos coherentes con la composición de cada muestra?
- 2) Escriba las ecuaciones igualadas para las siguientes reacciones químicas:
 - a) La reacción de identificación de la prueba de la ninhidrina para la glicina.
 - b) La reacción de la tirosina con el ácido nítrico (reacción xantoproteica).
- 3) Para todas las pruebas específicas se utilizó la solución de glicina como patrón de referencia, ya que se espera obtener con ella resultados negativos en todas las pruebas. ¿Existe alguna forma de identificar positivamente a la glicina en una solución de aminoácido?

PRÁCTICO 3

Identificación de aminoácidos mediante cromatografía en capa fina

OBJETIVO

Identificar la presencia de glicina, alanina, tirosina, fenilalanina y triptófano en una muestra de peptona de carne de uso microbiológico mediante cromatografía en capa fina (TLC).

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué es la peptona? ¿Cómo se produce? ¿Cuáles son sus usos?
- 2) ¿Cuál es el fundamento de las técnicas de cromatografía en capa fina?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Placa para TLC
- Cámara para TLC
- Tubos capilares
- Soluciones stock de glicina, alanina, tirosina, fenilalanina, triptófano
- Solución concentrada de peptona de carne
- Ninhidrina al 2% (en etanol)
- Mezcla n-butanol : ácido acético : agua (12:3:5)

PROCEDIMIENTO

Vierta la mezcla de n-butanol, ácido acético y agua en la cámara de TLC hasta una altura de 1cm desde el fondo y ciérrela. Manténgala cerrada entre 20 y 30 minutos.

Trace una línea a 2cm de la parte inferior de la placa de TLC (utilice lápiz, nunca lapicera). Marque sobre esta línea seis puntos equidistantes e identifíquelos con números del uno al seis. Éstos serán los puntos de siembra. Con la ayuda de un tubo capilar, coloque una gota de solución de glicina en el primer punto, una gota de alanina en el segundo, una gota de tirosina en el tercero, una gota de fenilalanina en el cuarto, una gota de triptófano en el quinto y una gota de solución de peptona en el sexto (utilice un capilar diferente para cada solución). Permita que la placa se seque al aire y repita el procedimiento nuevamente.

Coloque la placa en la cámara de TLC en forma lo más pareja posible dejándola descansar sobre una de sus caras. Cierre la cámara y deje desarrollar por aproximadamente una hora.

Remueva la placa de la cámara y marque con un lápiz el frente del solvente. Deje evaporar el solvente y luego cubra la placa con solución de ninhidrina (en forma de spray). Colóquela en estufa a 105°C por 5 minutos. Observe el desarrollo de color en la posición en que se encuentran los aminoácidos.

Deje enfriar la placa y marque el centro de cada mancha. Mida la distancia recorrida por cada aminoácido desde su punto de siembra y calcule el valor de R_f para cada uno según la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia desde el origen}}{\text{Distancia recorrida por el solvente desde el origen}}$$

Identifique la presencia de aminoácidos en la muestra problema a partir de la comparación de la altura de las manchas observadas con la de las soluciones stock. En caso de la identificación de alguno de ellos calcule su respectivo valor de R_f .

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** Presente el cromatograma obtenido y los valores de calculados para cada mancha de aminoácido identificada.
- 2)** ¿Qué aminoácidos pudo identificar en la solución de peptona? ¿Presume que hay más presentes?
¿Coincide esto con la composición teórica de la peptona de carne?

PRÁCTICO 4

Estructura de las proteínas

OBJETIVO

- Realizar pruebas cualitativas para la identificación de residuos de aminoácidos en una solución de ovoalbúmina.
- Estudiar el proceso de desnaturalización de las proteínas por la acción de agentes físicos y químicos.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Cuáles son los niveles estructurales de las proteínas? Describa brevemente cada uno.
- 2) ¿Qué es el reactivo de Biuret? ¿Cuál es su composición? ¿Para qué se utiliza?
- 3) ¿En qué consiste el proceso de desnaturalización de una proteína? ¿Qué agentes pueden provocarla? ¿Cómo afecta a las funciones de la proteína?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Vaso de Bohemia de 250mL
- Tubos de ensayo
- Cuentagotas
- Pipetas graduadas de 5mL y 10mL
- Baño de agua hirviendo
- Clara de huevo
- Reactivo de Biuret
- Ácido nítrico concentrado
- Hidróxido de sodio al 40%
- Reactivo de Millon
- Ácido clorhídrico concentrado
- Etanol al 95%
- Nitrato de plomo (II) al 5%
- Nitrato de mercurio (II) al 5%

PROCEDIMIENTO

- **Preparación de la solución de ovoalbúmina**
En un vaso de Bohemia de 250mL coloque 100mL de agua destilada. Agréguele una clara de huevo y agite suavemente hasta homogeneizar.
- **Ensayo de Biuret (identificación de enlaces peptídicos)**
En un tubo de ensayo coloque 2mL de solución de ovoalbúmina y agréguele 2mL de reactivo de Biuret. Agite vigorosamente. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración violeta.
- **Ensayo de Millon (identificación de residuos de tirosina)**
En un tubo de ensayo coloque 2mL de solución de ovoalbúmina y agréguele 2 gotas de reactivo de Millon. Agite vigorosamente y caliente en baño de agua por un minuto. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración roja.
- **Reacción xantoproteica (identificación de residuos de aminoácidos aromáticos)**
En un tubo de ensayo coloque 2mL de solución de ovoalbúmina y agréguele 5 gotas de ácido nítrico concentrado. Agite vigorosamente y coloque en un baño de agua por 5 minutos. Enfríe el contenido del tubo y agregue hidróxido de sodio al 40% hasta alcalinizar el medio. Un ensayo positivo resulta en la aparición de una coloración amarilla al calentar, que se torna anaranjada al alcalinizar el medio.

- **Desnaturalización de una proteína**

Coloque 2mL de solución de ovoalbúmina en cinco tubos de ensayo numerados del 1 al 5.

Coloque el tubo número 1 en un baño de agua hirviendo. Registre observaciones.

Agregue 1mL de ácido clorhídrico concentrado al tubo número 2. Registre observaciones.

Agregue 4mL de etanol al 95% al tubo número 3. Registre observaciones.

Agregue 5 gotas de nitrato de plomo (II) al 5% al tubo número 4. Registre observaciones.

Agregue 5 gotas de nitrato de mercurio (II) al 5% al tubo número 5. Registre observaciones.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** ¿Cuál es la composición de aminoácidos aproximada de la ovoalbúmina?
- 2)** Resuma los resultados obtenidos en el ensayo de Biuret, la reacción xantoproteica y el ensayo de Millon en una tabla. ¿Son coherentes los resultados obtenidos? Justifique.
- 3)** Resuma los resultados obtenidos en los ensayos de desnaturalización en una tabla. ¿Cuál de los agentes utilizados parece tener el efecto desnaturalizante más fuerte en la solución de ovoalbúmina? Justifique.
- 4)** Indique qué ocurre a nivel estructural en la ovoalbúmina en cada caso:
 - a)** Al calentar.
 - b)** Al agregar HCl.
 - c)** Al agregar etanol.
 - d)** Al agregar Pb^{2+} o Hg^{2+} .

PRÁCTICO 5

Determinación del contenido de proteínas en leche en polvo

OBJETIVO

Utilizar la reacción de Biuret para cuantificar el contenido de proteínas en una muestra de leche en polvo descremada mediante un método espectrofotométrico.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué métodos cuantitativos pueden utilizarse para la cuantificación del contenido de proteínas en alimentos? Explique brevemente el fundamento de cada uno.
- 2) ¿Cuál es el contenido proteico normal de la leche? Considere el producto en sus diferentes variantes (leche entera, descremada, en polvo, etc.).

MATERIALES Y REACTIVOS

- Balanza analítica
- Vaso de Bohemia de 100mL
- Matraz Erlenmeyer de 250mL
- Matraces aforados de 25 y 50mL
- Pipeta aforada de 5mL
- Buretas de 10mL
- Espectrofotómetro
- Cubetas de vidrio de 1cm
- Muestra: leche en polvo descremada
- Albúmina de suero bovino (BSA)
- Hidróxido de sodio 0,1M
- Hidróxido de sodio (sólido)
- Sulfato de cobre (II) pentahidratado
- Tartrato de sodio y potasio

PROCEDIMIENTO

• Preparación del patrón de albúmina y de la muestra

Disuelva 0,5g de BSA (medidos por diferencia de masas) en un matraz aforado de 50mL utilizando solución de hidróxido de sodio 0,1M como disolvente. Se obtendrá así un patrón de albúmina de 10g/L. Para preparar la muestra siga el mismo procedimiento anterior, pero utilizando leche en polvo descremada en lugar de BAS.

• Preparación del reactivo de Biuret

Prepare 60mL de una solución de hidróxido de sodio al 10% en un vaso de Bohemia de 100mL. Por otro lado, coloque 0,3g de sulfato de cobre (II) pentahidratado, 1,2g de tartrato de sodio y potasio en un matraz Erlenmeyer de 250mL y disuélvalos en 100mL de agua destilada con la ayuda de un agitador magnético. Con agitación constante agregue la solución de hidróxido de sodio al 10% al matraz y lleve a 200mL con agua destilada.

- **Determinación espectrofotométrica**

Llene una bureta de 10mL con hidróxido de sodio 0,1M y otra con el patrón de albúmina. Coloque los siguientes volúmenes de cada una en matraces aforados de 25mL:

	Blanco	2 g/L	4 g/L	6 g/L	8 g/L	10 g/L
Patrón (mL)	0	1	2	3	4	5
NaOH (mL)	5	4	3	2	1	0

Enrase cada matraz con reactivo de Biuret. Prepare además otro matraz aforado de 25mL con 5mL de solución de la muestra y enráselo también con reactivo de Biuret.

Deje reaccionar por 15 minutos y luego mida la absorbancia de las soluciones de cada matraz a 550nm contra la solución correspondiente al blanco. Cuide de que la superficie de la cubeta esté perfectamente limpia antes de realizar las mediciones.

Grafique en un diagrama de dispersión la concentración contra la absorbancia y determine la ecuación de la recta de mejor ajuste a los puntos mediante el método de mínimos cuadrados. A partir de la absorbancia obtenida para el matraz de la muestra interpole en la ecuación anterior para obtener su concentración de proteínas (expresada como g/L de BSA), y a partir de ella calcule el porcentaje de proteínas en la leche en polvo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Presente la tabla y la gráfica correspondiente a la curva de calibración del método con su recta de mínimos cuadrados acompañada por su ecuación.
- 2) A partir de los datos obtenidos experimentalmente, ¿cuál es el porcentaje de proteínas (como BSA) en la muestra problema?
- 3) ¿Considera que este método sería aplicable en la determinación de proteínas en cualquier muestra alimentaria? Justifique su respuesta.

PRÁCTICO 6

Factores que afectan la actividad enzimática

OBJETIVO

Estudiar la influencia de la temperatura, el pH y la concentración de enzima en el poder de la catalasa para descomponer el peróxido de hidrógeno.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué es una enzima? ¿En qué forma actúan?
- 2) ¿Qué factores afectan la actividad enzimática? Explique cada uno.
- 3) ¿Qué es la catalasa? ¿Cuál es su importancia en el organismo?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Probetas de 25mL y 100mL
- Pipetas graduadas de 5mL y 10mL
- Baños de agua a diferentes temperaturas
- Balanza
- Cronómetro
- Peróxido de hidrógeno de 30vol
- Homogeneizado de papa (fuente de catalasa)
- Soluciones buffer de pH 4, 7 y 10
- Ácido clorhídrico 0,5M
- Hidróxido de sodio 0,5M

PROCEDIMIENTO

• Efecto de la temperatura

Coloque 5mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100mL. Agréguele 5mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezcle el preparado.

En una probeta de 25mL mida 10mL de peróxido de hidrógeno de 30vol. Coloque junto con la probeta de 100mL en un baño de agua a 30°C y deje reposar por cinco minutos. Luego de los cinco minutos vierta rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa. Registre el volumen de espuma producido en dos minutos.

Repita el procedimiento a temperaturas de 0°C, 15°C, 45°C y 60°C.

• Efecto del pH

Coloque 5mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100mL. Agréguele 5mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezcle el preparado.

En una probeta de 25mL mida 10mL de peróxido de hidrógeno de 30vol. Vierta rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa. Registre el volumen de espuma producido en dos minutos.

Repita el procedimiento utilizando 5mL de HCl 0,5M (pH final aproximado de 1), 5mL de buffer de pH 4, 5mL de buffer de pH 10 y 5mL de NaOH 0,5M (pH final aproximado de 13) en lugar de la solución buffer de pH 7.

- **Efecto de la concentración de enzima**

Coloque 5mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100mL. Agréguele 5mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezcle el preparado.

En una probeta de 25mL mida 10mL de peróxido de hidrógeno de 30vol. Vierta rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa. Registre el volumen de espuma producido en dos minutos.

Repita el procedimiento con 1mL de homogeneizado y 9mL de buffer, con 2mL de homogeneizado y 8mL de buffer, con 3mL de homogeneizado y 7mL de buffer y con 4mL de homogeneizado y 6mL de buffer.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Presente los resultados de volumen de espuma producido en las diferentes condiciones en una tabla de datos. Grafique dichos valores en tres gráficos: temperatura vs. volumen, pH vs. volumen y concentración de enzima vs. volumen.
- 2) ¿Qué conclusiones puede extraer acerca del efecto que tiene cada factor estudiado sobre la actividad enzimática de la catalasa? ¿A qué valores se dan los resultados óptimos?

PRÁCTICO 7

Análisis cualitativo de carbohidratos

OBJETIVO

Estudiar pruebas cualitativas para la identificación de carbohidratos.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué son los carbohidratos?
- 2) Defina: monosacárido, disacárido, polisacárido, aldosa, cetosa, azúcar reductor.
- 3) Indique propiedades fisicoquímicas de: glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y almidón.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos de ensayo
- Cuentagotas
- Pipetas graduadas de 5mL
- Baño de agua
- Muestras problema: soluciones al 2% de cloruro de sodio, glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y almidón
- Reactivo de Molisch
- Solución de Lugol
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Barfoed
- Reactivo de Seliwanoff
- Ácido sulfúrico concentrado

PROCEDIMIENTO

Se entregarán las soluciones problema sin identificar (codificadas de la A a la F). Realice las pruebas necesarias entre las que se detallan a continuación de manera de identificar las soluciones problema.

- **Ensayo de Molisch (general para carbohidratos)**
Coloque 2mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele una o dos gotas de reactivo de Molisch. Mezcle bien. Agregue aproximadamente 2mL de ácido sulfúrico concentrado con cuidado por la pared del tubo de ensayo de manera que se diferencien dos fases. Un ensayo positivo resulta en la formación de un anillo violeta donde se unen ambos líquidos.
- **Ensayo del yodo (específico para almidón)**
Coloque 2mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele dos o tres gotas de solución de Lugol. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración azul violeta.
- **Ensayo de Benedict (específico para azúcares reductores)**
Coloque 2mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele 2mL de reactivo de Benedict. Mezcle bien y caliente en baño de agua por cinco minutos. Un ensayo positivo resulta en la aparición de un precipitado de color rojo ladrillo.

- **Ensayo de Barfoed (específico para monosacáridos)**

Coloque 2mL de muestra en un tubo de ensayo y agréguele 2mL de reactivo de Barfoed. Mezcle bien. Caliente la mezcla en baño de agua por uno a dos minutos. Un ensayo positivo resulta en la formación de un precipitado de color rojo ladrillo (registre el tiempo que demora en formarse el precipitado).

- **Ensayo de Seliwanoff (específico para cetoheptosas)**

Coloque 1mL de reactivo de Seliwanoff en un tubo de ensayo y agréguele cinco gotas de muestra. Mezcle bien y caliente en baño de agua por 30 segundos. Un ensayo positivo resulta en la aparición de coloración roja.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Resuma las pruebas realizadas para cada solución y los resultados obtenidos en cada una, indicando cuál o cuáles de ellas se identifican en cada caso.
- 2) Indique la composición de cada uno de los reactivos utilizados. ¿En qué forma permiten identificar los compuestos de interés?
- 3) Escriba las siguientes reacciones químicas:
 - a) La reacción de identificación de la prueba de Molisch para la fructosa.
 - b) La reacción de identificación de la prueba de Benedict para la glucosa.
 - c) La reacción de identificación de la prueba de Seliwanoff para la fructosa.

PRÁCTICO 8

Determinación del contenido de azúcares reductores totales en miel

OBJETIVO

Utilizar el reactivo de Fehling para cuantificar el contenido de azúcares reductores totales en una muestra de miel de abeja mediante un método espectrofotométrico indirecto.

MARCO TEÓRICO

- 1) Defina azúcar reductor e indique qué azúcares reductores pueden encontrarse en los alimentos (en forma natural o como aditivos alimentarios).
- 2) ¿Qué métodos cuantitativos existen para la determinación de azúcares reductores totales? Explíquelos.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Matraces aforados de 25, 50 y 250mL
- Bureta de 10mL
- Pipeta graduada de 5mL
- Vaso de bohemia de 50mL
- Balanza analítica
- Baño de hielo
- Baño de agua hirviendo
- Tubos de centrífuga
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Cubetas de vidrio de 1cm
- Muestra: miel de abeja
- Glucosa anhidra
- Soluciones de Fehling A y B
- Ácido nítrico concentrado
- Amoníaco concentrado

PROCEDIMIENTO

- **Preparación del patrón de glucosa**
Disuelva 125mg de glucosa (medidos por diferencia de masas) en agua destilada en un matraz aforado de 50mL. Se obtendrá así un patrón de glucosa de 2500ppm.
- **Preparación de la muestra**
Mase 0.5g de miel (con balanza analítica) en un vaso de bohemia de 50mL. Disuelva la miel en aproximadamente 20mL de agua destilada caliente. Enfríe la solución en un baño de hielo y transfírela cuantitativamente a un matraz aforado de 250mL, enrasando con agua destilada.
- **Determinación espectrofotométrica**
Llene una bureta de 10mL con la solución patrón de glucosa y transfiera los siguientes volúmenes de la misma a una serie de tubos de centrífuga:

	Blanco	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm
Patrón (mL)	0	0.5	1	1.5	2

Prepare además otro tubo con 1mL de solución de la muestra. Agregue agua destilada a cada tubo de manera de alcanzar aproximadamente los 2mL de líquido en cada uno.

Por otra parte, prepare 20mL de reactivo de Fehling mezclando partes iguales de solución A y B. Agregue a cada tubo 2mL de reactivo y colóquelos en un baño de agua hirviendo por cinco minutos (se deberá observar la formación de un precipitado de color rojo).

Centrifugue los tubos a 2500rpm por cinco minutos. Descarte el sobrenadante y resuspenda el precipitado de cada tubo en agua destilada. Verifique que el volumen de líquido sea aproximadamente el mismo en cada tubo y centrifugue nuevamente a 2500rpm por cinco minutos. Descarte el sobrenadante.

Coloque los tubos en una gradilla y agregue a cada uno dos gotas de ácido nítrico concentrado, de manera que se disuelva el precipitado. Diluya con agua destilada y transfiera cuantitativamente el contenido de cada tubo a una serie de matraces aforados de 25mL. Agregue a cada uno 2mL de amoníaco concentrado y enrase con agua destilada.

Mida la absorbancia de las soluciones de cada matraz a 610nm contra la solución correspondiente al blanco. Cuide de que la superficie de la cubeta esté perfectamente limpia antes de realizar las mediciones.

Grafique en un diagrama de dispersión la concentración de glucosa contra la absorbancia y determine la ecuación de la recta de mejor ajuste a los puntos mediante el método de mínimos cuadrados. Para determinar la concentración de glucosa en cada dilución utilice el volumen de solución patrón transferido a cada tubo de centrifuga, en un volumen final de 25mL.

A partir de la absorbancia obtenida para el matraz de la muestra interpole en la ecuación anterior para obtener su concentración de azúcares reductores totales (expresada como ppm de glucosa), y a partir de ella calcule el porcentaje de azúcares reductores en la miel.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** Presente las ecuaciones para las reacciones químicas involucradas en esta determinación. ¿Por qué se indica que este método es indirecto?
- 2)** Presente la tabla y la gráfica correspondiente a la curva de calibración del método con su recta de mínimos cuadrados acompañada por su ecuación.
- 3)** A partir de los datos obtenidos experimentalmente, ¿cuál es el porcentaje de azúcares reductores totales (como glucosa) en la muestra problema?
- 4)** ¿Considera que este método sería aplicable en la determinación de azúcares reductores totales en cualquier muestra alimentaria? Justifique su respuesta.

PRÁCTICO 9

Hidrólisis de la sacarosa

OBJETIVOS

- Llevar a cabo la hidrólisis ácida y enzimática de la sacarosa.
- Comprobar la presencia de los productos de reacción.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué son los disacáridos? Indique ejemplos.
- 2) Mencione propiedades físicas y químicas de la sacarosa.
- 3) Compare los procesos de hidrólisis ácida y enzimática de los disacáridos.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Matrazes Erlenmeyer de 100mL
- Plancha calefactora con agitador
- Probeta de 50mL
- Pipetas graduadas de 5mL y 10mL
- Tubos de ensayo
- Cuentagotas
- Baño de agua
- Sacarosa al 5%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Carbonato de sodio sólido
- Extracto crudo de invertasa (preparado a partir de levadura de panificación)
- Reactivo de Benedict

PROCEDIMIENTO

• Hidrólisis ácida

Coloque 50mL de solución de sacarosa al 5% en un matraz Erlenmeyer de 100mL. Agregue 1mL de ácido clorhídrico concentrado y coloque sobre una plancha calefactora con agitación. Caliente a una temperatura entre 60°C y 70°C por 15 minutos. Neutralice la solución con carbonato de sodio sólido hasta no observar desprendimiento de gas.

• Hidrólisis enzimática

Coloque 50mL de solución de sacarosa al 5% en un matraz Erlenmeyer de 100mL. Agregue 10mL de extracto crudo de invertasa. Caliente en baño de agua a una temperatura de 30°C a 35°C por 35 minutos.

• Detección de productos de hidrólisis (Prueba de Benedict)

Coloque 3mL de reactivo de Benedict en tres tubos de ensayo. A uno de ellos agregue 1mL de solución de sacarosa al 5% (solución inicial) y a los restantes agregue 1mL de cada producto de hidrólisis. Caliente en baño de agua hirviendo y registre observaciones.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** Escriba la ecuación para la hidrólisis de la sacarosa.
- 2)** ¿Se encontraron indicios de la presencia de los productos de la reacción anterior en alguna de las muestras analizadas?
- 3)** ¿Podría haberse detectado la presencia de dichos productos utilizando alguna otra prueba cualitativa? Indique cuáles, fundamentando su respuesta.

PRÁCTICO 10

Hidrólisis del almidón

OBJETIVOS

- Llevar a cabo la hidrólisis ácida y enzimática del almidón.
- Comprobar la presencia de monosacáridos en los productos de reacción.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué son los polisacáridos? Mencione propiedades físicas y químicas del almidón.
- 2) Explique la importancia biológica del almidón, glucógeno y celulosa. Indique diferencia en la estructura química de estos compuestos.
- 3) Explique el procedimiento de hidrólisis del almidón.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Matrazes Erlenmeyer de 100mL y 250mL
- Plancha calefactora con agitador
- Balanza
- Pipeta graduada de 5mL
- Tubos de ensayo
- Cuentagotas
- Baño de hielo
- Baño de agua
- Almidón de maíz
- Ácido clorhídrico concentrado
- Carbonato de sodio sólido
- Solución de Lugol
- Extracto crudo de amilasa
- Reactivo de Barfoed
- Agua destilada

PROCEDIMIENTO

• Hidrólisis ácida

Coloque 150mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 250mL y caliéntela a ebullición en una plancha calefactora con agitación. Cuando esté hirviendo, agréguele una suspensión de 1g de almidón en 2mL de agua y mantenga la ebullición durante 5 minutos. Retire 50mL de solución de almidón, colóquela en un matraz Erlenmeyer de 100mL y enfríela hasta aproximadamente 40°C en baño de hielo (se utilizará en la hidrólisis enzimática).

Extraiga 1mL de la solución de almidón restante, colóquela en un tubo de ensayo y reserve. Extraiga otros 2mL de solución, colóquela en un tubo de ensayo en un baño de hielo hasta que enfríe y realice el ensayo de Lugol (agregue tres gotas de reactivo y observe la aparición de una coloración azulada).

Agregue 4mL de ácido clorhídrico concentrado a la solución en el matraz y mantenga la ebullición. A intervalos de tiempo de un minuto desde el agregado del ácido, tome 2mL de solución, colóquela en un tubo de ensayo, enfríela en un baño de hielo y realice el ensayo con solución de Lugol. Registre la coloración obtenida en cada ensayo (deje un tubo testigo preparado a partir de 2mL de agua destilada y tres gotas de solución de Lugol). Cuando el ensayo con solución de Lugol dé negativo retire el matraz de la plancha y enfríelo en el baño de hielo. Neutralice con carbonato de sodio sólido hasta que no se observe desprendimiento de gas.

- **Hidrólisis enzimática**

A los 50mL de solución de almidón reservada al inicio de la práctica agréguele 20mL de extracto crudo de amilasa. Colóquela en un baño de agua a una temperatura de entre 35°C y 40°C por 20 minutos. Extraiga 2mL de solución, colóquela en un tubo de ensayo y realice el ensayo con solución de Lugol. Si se observa una coloración azulada continúe el proceso de hidrólisis otros 20 minutos y repita entonces el ensayo.

- **Detección de monosacáridos (Prueba de Barfoed)**

Agregue 3mL de reactivo de Barfoed al tubo de ensayo conteniendo 1mL de solución de almidón reservado al principio del procedimiento anterior. Realice lo mismo pero con 1mL del producto de la hidrólisis ácida y 1mL del producto de la hidrólisis enzimática. Caliente los tubos en baño de agua hirviendo y registre el tiempo en que aparece el primer indicio de un precipitado rojizo (si aparece). En caso de no observarse un resultado positivo de la prueba, realice el ensayo de identificación de azúcares reductores con el reactivo de Fehling o de Benedict.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Resuma los resultados obtenidos en los ensayos realizados en una tabla.
- 2) ¿Se encontraron indicios de la presencia de los productos de la reacción de hidrólisis en alguna de las muestras analizadas? Explique
- 3) En el procedimiento se aclara que es posible que la reacción con reactivo de Barfoed a la solución luego de la hidrólisis puede llegar a resultar negativa, en cuyo caso se debe realizar la prueba para azúcares reductores. ¿A qué se debe esto?

PRÁCTICO 11

Propiedades de los lípidos

OBJETIVOS

- Estudiar propiedades de los lípidos: solubilidad, grado de insaturación.
- Identificar la presencia de glicéridos en diferentes muestras.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué es un lípido?
- 2) Defina e indique principales características de: ácidos grasos, ceras y triacilglicéridos.
- 3) Indique aspectos beneficiosos y perjudiciales para la salud de la ingesta de lípidos.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos de ensayo (con gradilla)
- Cuentagotas
- Espátula
- Pipetas graduadas de 5mL
- Mechero
- Varillas de vidrio
- Balanza
- Muestras: aceite de girasol, aceite de coco, manteca, cera de abeja, grasa vacuna.
- Agua destilada
- Hexano
- Solución de bromo en cloroformo
- Sulfato de sodio anhidro.
- Glicerol

PROCEDIMIENTO

• Estudio de solubilidad

Coloque cinco gotas de cada una de las muestras líquidas y una punta de espátula de cada una de las muestras sólidas en diferentes tubos de ensayo por duplicado. Agregue 2mL de agua a uno de los duplicados y 2mL de hexano al otro. Agite vigorosamente los tubos por 15 segundos. Espere 2 minutos. Registre observaciones.

• Prueba de insaturación

Utilice los tubos del estudio de solubilidad en hexano del aceite de girasol, del aceite de coco, de la manteca y de la grasa vacuna, y prepare un tubo de control con 2mL de hexano. En campana, agregue a cada uno 5 gotas de solución de bromo en cloroformo y agite para mezclarlos. Registre el color de cada tubo luego de 10, 30 y 60 segundos, comparándolos con el tubo de control.

• Prueba de la acroleína (presencia de glicerol - glicéridos)

Coloque 1g de sulfato de sodio anhidro en cuatro tubos de ensayo. Coloque dos gotas de glicerol en uno de ellos (tubo control), una punta de espátula de manteca en otro, otra de grasa vacuna en el tercero y un trozo pequeño de cera de abeja en el restante. Caliente cuidadosamente cada tubo, uno a la vez, sobre la llama de un mechero, agitando continuamente hasta que la mezcla se funda y oscurezca. Huela cuidadosamente. Un olor pungente similar a carne quemada indica presencia de glicerol. Registre observaciones.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** Resuma los resultados de cada estudio realizado en un cuadro.
- 2)** ¿Cómo fundamenta los resultados obtenidos en el estudio de solubilidad?
- 3)** ¿Por qué el uso de un reactivo con bromo permite la identificación de insaturaciones? Ejemplifique a partir de la reacción del bromo con el ácido oleico.
- 4)** La identificación del glicerol puede realizarse gracias a la producción de acroleína, a la que se debe el olor pungente detectado en la prueba. ¿Cuál es la estructura de la molécula de acroleína? Indique la reacción de producción de acroleína a partir de glicerol.
- 5)** Indique qué lípidos están presentes en las muestras estudiadas. ¿Es coherente con los resultados obtenidos?

PRÁCTICO 12

Obtención y propiedades de los jabones

OBJETIVOS

- Preparar jabones simples a partir de grasas y aceites.
- Estudiar algunas propiedades de los jabones.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué es un jabón? ¿Qué es la saponificación?
- 2) ¿A qué se debe la acción limpiadora del jabón?
- 3) ¿Qué diferencia existe entre un jabón y un detergente? ¿Qué ventajas tiene el uso de uno frente al otro?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Matraz Erlenmeyer de 250mL
- Vaso de bohemia de 50mL
- Plancha calefactora
- Balanza
- Probetas de 50mL y de 200mL
- Tren de filtración
- Tubos de ensayo (con gradilla)
- Cuentagotas
- Papel pH
- Lípidos saponificables
- Etanol al 95%
- Hidróxido de sodio al 25%
- Solución saturada de cloruro de sodio
- Agua destilada
- Aceite mineral
- Cloruro de calcio al 5%
- Cloruro de magnesio al 5%
- Cloruro de hierro (III) al 5%

PROCEDIMIENTO

• Preparación de un jabón

Coloque 25g de materia grasa en un matraz Erlenmeyer de 250mL. Agregue 20mL de etanol y 20mL de solución de hidróxido de sodio al 25%. Mientras mezcla continuamente la mezcla con la ayuda de un agitador magnético caliente el matraz en una plancha calefactora (cuidando que no sobrepase los 80°C) por aproximadamente 20 minutos. Luego de este tiempo se observará la formación de una masa pastosa que contiene una mezcla de jabón, glicerol y el exceso de hidróxido de sodio. Enfríe el matraz y su contenido en un baño de hielo. Agregue 150mL de solución saturada de cloruro de sodio a la mezcla de jabón y agite vigorosamente. El jabón flotará sobre la solución acuosa resultante. Filtre el preparado obtenido y lávelo con agua helada.

• Propiedades del jabón

• *Propiedades emulsificantes:*

En un tubo de ensayo coloque 5mL de agua destilada y 5 gotas de aceite mineral. Agite y registre observaciones. Repita el procedimiento anterior, pero esta vez agregue además una punta de espátula del jabón preparado anteriormente. Registre observaciones.

Agite ambos tubos al mismo tiempo y compare la apariencia y estabilidad relativa de ambas emulsiones.

- *Reacciones con iones metálicos:*

Coloque aproximadamente un tercio de una espátula del jabón en un vaso de bohemia de 50mL que contiene 25mL de agua. Caliéntelo para disolver el jabón. Coloque 5mL de la solución de jabón en cada uno de cinco tubos de ensayo numerados. Agregue los siguientes reactivos:

- Tubo 1: dos gotas de solución de cloruro de calcio al 5%.
- Tubo 2: dos gotas de solución de cloruro de magnesio al 5%.
- Tubo 3: dos gotas de solución de cloruro de hierro (III) al 5%.
- Tubo 4: dos gotas de agua destilada (este tubo servirá como blanco).
- El tubo 5 se reservará para realizar el estudio de alcalinidad.

Agite el contenido de los tubos y registre observaciones (compare con el blanco).

- *Alcalinidad:*

Coloque un trozo de papel pH en la solución jabonosa del tubo 5. Registre el pH aproximado.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Escriba las reacciones de saponificación para los siguientes lípidos:
 - a) Trilaurato de glicerilo (componente del aceite de coco).
 - b) Trilinoleato de glicerilo (componente del aceite de girasol).
 - c) Triestearato de glicerilo (componente de la grasa vacuna).
- 2) Resuma los resultados de cada estudio realizado en un cuadro.
- 3) ¿Qué es un agente emulsificante? ¿Cómo justifica los resultados obtenidos en el estudio de propiedades emulsificantes?
- 4) ¿Qué es el agua dura? ¿Cuál es el comportamiento de los jabones en el agua dura? A partir de esto comente los resultados obtenidos en las reacciones con iones metálicos.
- 5) ¿A qué atribuye el resultado obtenido en la prueba de alcalinidad? ¿Cuál es el comportamiento de los jabones en medio básico? ¿Y en medio ácido?

PRÁCTICO 13

Fosfolípidos y esteroides

OBJETIVOS

Identificar la presencia de fosfolípidos y esteroides en diferentes muestras.

MARCO TEÓRICO

- 1) Defina e indique principales características de los fosfolípidos y esteroides. Clasifíquelos.
- 2) ¿Qué son las lecitinas? ¿Cuál es su uso a nivel de la industria alimentaria?
- 3) ¿Qué es el colesterol? ¿Cuál es la importancia del control de la ingesta del colesterol?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Crisoles de porcelana
- Tubos de ensayo (con gradilla)
- Balanza
- Mechero Bunsen
- Equipo de filtración
- Plancha calefactora
- Pipetas graduadas de 5mL
- Lámpara UV
- Muestras: lecitina de soja, grasa porcina, monoestearato de glicerilo
- Carbonato de sodio anhidro
- Agua destilada
- Ácido nítrico concentrado
- Molibdato de amonio al 10%
- Cloroformo
- Ácido sulfúrico concentrado

PROCEDIMIENTO

• Identificación de fósforo

Separe dos crisoles de porcelana y numérelos. En el crisol 1 coloque 1g de lecitina de soja y 2g de carbonato de sodio anhidro, y en el 2 coloque 1g de monoestearato de glicerilo y 2g de carbonato de sodio anhidro. Calcine el contenido de ambos crisoles. Enfríe y agregue a cada uno 5mL de agua destilada y 5mL de ácido nítrico concentrado. Agite suavemente y filtre a un vaso de bohemia de 50mL. Agregue 5mL de solución de molibdato de amonio a cada vaso de bohemia y caliente a ebullición. La aparición de un precipitado amarillo indica la presencia de fósforo en la muestra.

• Identificación de esteroides (prueba de Salkowski)

Separe dos tubos de ensayo y numérelos. Agregue un trozo pequeño de grasa porcina al tubo 1 y uno de monoestearato de glicerilo al tubo 2. Agregue 2mL de cloroformo a cada uno y agite hasta la disolución total de las muestras. Con cuidado, agregue 2mL de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo. Agite suavemente. La aparición de una coloración roja en la fase orgánica, y amarilla (con fluorescencia en el UV) en el ácido sulfúrico indica la presencia de esteroides.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** Resuma los resultados de cada estudio realizado en un cuadro.
- 2)** ¿Cuál es la composición de las muestras analizadas? ¿Es esto coherente con los resultados obtenidos?
- 3)** ¿Cuál es la utilidad del paso de calcinación realizado al inicio de la identificación de fósforo?
- 4)** Escriba la reacción entre el fósforo y el molibdato de amonio que permite su identificación.
- 5)** ¿Cuál es el fundamento de la prueba de Salkowski para la identificación de esteroides? ¿En qué forma se podría identificar la presencia de colesterol en las muestras (en específico)?

PRÁCTICO 14

Extracción del ADN de frutas

OBJETIVO

- Aislar el ADN de diferentes muestras de frutas.
- Confirmar la presencia de ADN mediante la detección de desoxirribosa con la prueba de Dische.

MARCO TEÓRICO

- 1) ¿Qué es el ADN? ¿Cuál es su función en el organismo?
- 2) ¿Dónde y en qué forma se encuentra el ADN en los organismos vivos?
- 3) ¿Cuál es la composición del reactivo de Dische? ¿Cuál es el fundamento de la prueba de Dische para desoxirribosa?

MATERIALES Y REACTIVOS

- Vaso de Bohemia de 250mL
- Mortero
- Matraz Erlenmeyer de 100mL
- Baño de hielo
- Tren de filtración
- Pinzas
- Tubos de ensayo
- Pipetas graduadas de 2mL
- Baño de agua hirviendo
- Muestras de frutas (frutilla, kiwi, ciruela)
- Agua destilada
- Isopropanol al 99%
- Detergente
- Cloruro de sodio
- Reactivo de Dische

PROCEDIMIENTO

• Extracción del ADN

Coloque 100mL de isopropanol en un matraz Erlenmeyer de 100mL y colóquelo en un baño de hielo hasta que su temperatura sea de 0°C.

En un vaso de Bohemia de 250mL coloque 90mL de agua destilada, 10mL de detergente y 3g de cloruro de sodio. Mezcle bien hasta que el cloruro de sodio se disuelva totalmente.

Coloque la fruta en un mortero y macháquela hasta obtener un puré (registre la masa de fruta utilizada). Agregue este puré al vaso de bohemia con el detergente y agite vigorosamente por algunos minutos. Filtre el preparado y descarte el sólido. Agregue el isopropanol al filtrado y deje reposar. El ADN de la fruta deberá aparecer en forma de hilos en la superficie. Con la ayuda de pinzas separe las hebras de ADN y lávelas con isopropanol.

• Prueba de Dische (específica para desoxirribosa)

Suspenda una porción de las hebras de ADN obtenidas en 2mL de agua destilada. Agregue 1mL de reactivo de Dische y agite. Coloque el tubo anterior y un blanco preparado de igual forma pero sin las hebras de ADN en un baño de agua hirviendo por 10 minutos. La aparición de una coloración azulada indica la presencia de desoxirribosa, por lo que confirma la presencia de ADN.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1)** ¿Cuál es la función de cada uno de los componentes de la mezcla extractora? ¿Cuál es la función del isopropanol? ¿Por qué es importante que esté a baja temperatura?
- 2)** Registre las observaciones extraídas durante la práctica. ¿En cuál de las frutas pudo extraerse mayor cantidad de ADN? ¿A qué puede deberse?
- 3)** Resuma en una tabla los resultados para la prueba de Dsche y coméntelos.

ANEXO

Preparación de reactivos especiales

PRÁCTICO 1

Reactivo de Molisch

Disolver 1 g de 1-naftol en 25 mL de etanol. Preparar esta solución el mismo día de su uso.

Reactivo de Biuret

Preparar 60mL de una solución de hidróxido de sodio al 10% . Por otro lado, disolver 0,3g de sulfato de cobre (II) pentahidratado y 1,2g de tartrato de sodio y potasio en 100mL de agua destilada. Con agitación constante agregar la solución de hidróxido de sodio al 10% al matraz y llevar a 200mL con agua destilada.

PRÁCTICO 2

Reactivo de Millon

A 2mL de mercurio colocados en un matraz Erlenmeyer, agregar 20mL de ácido nítrico concentrado. Agitar el matraz en campana para deshacer el mercurio en glóbulos pequeños. Después de 10 minutos, agregar 35mL de agua y, si aparecen cristales o un precipitado, agregar suficiente ácido nítrico diluido (1:5) para disolver el sólido separado. Agregar, gota a gota, solución de hidróxido de sodio (1:10), mezclando muy bien, hasta que el precipitado grueso que se forma luego del agregado de cada gota ya no se redisuelve sino que se dispersa para formar una suspensión. Agregar 5mL más de ácido nítrico diluido y mezclar.

PRÁCTICO 4

Reactivo de Biuret

(ver Práctico 1)

PRÁCTICO 7

Reactivo de Molisch

(ver Práctico 1)

Solución de Lugol

Disolver 500mg de yodo y 1.5g de yoduro de potasio en 50mL de agua destilada.

Reactivo de Benedict

Con ayuda de calor, disolver 173g de citrato de sodio dihidratado y 117g de carbonato de sodio monohidratado en aproximadamente 700mL de agua y filtrar a través de papel, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. En un recipiente separado, disolver 17.3g de sulfato de cobre (II) en aproximadamente 100mL de agua y agregar lentamente esta solución, con agitación constante, a la primera solución. Enfriar la mezcla, agregar agua para obtener 1000mL y mezclar.

Reactivo de Barfoed

Disolver 13,3 g de acetato de cobre (II) en una mezcla de 195mL de agua y 5mL de ácido acético glacial.

Reactivo de Seliwanoff

Disolver 1g de resorcinol en ácido clorhídrico concentrado suficiente para obtener 100mL de solución.

PRÁCTICO 8

Solución de Fehling A

Disolver en agua 34.66g de cristales pequeños de sulfato de cobre (II), cuidadosamente seleccionados, que no presenten rastros de eflorescencia por humedad adherida, en agua suficiente para obtener 500mL de solución.

Solución de Fehling B

Disolver 173g de tartrato de sodio y potasio cristalizado y 50g de hidróxido de sodio en agua suficiente para obtener 500mL.

PRÁCTICO 9

Reactivo de Benedict

(ver Práctico 7)

PRÁCTICO 10

Solución de Lugol

(ver Práctico 7)

Reactivo de Barfoed

(ver Práctico 7)

PRÁCTICO 11

Solución de bromo en cloroformo

Disolver 1.5g de bromuro de potasio en 10mL de ácido clorhídrico 1M. Agregar 10mL de solución comercial de hipoclorito de sodio, tapar y dejar reaccionar. Agregar 20mL de cloroformo y agitar vigorosamente. Decantar el cloroformo y descartar la fase acuosa.

PRÁCTICO 14

Reactivo de Dische

Disolver 0.5g de difenilamina en una mezcla de 30mL de ácido acético glacial y 0.5mL de ácido sulfúrico concentrado. Agregar 0.3mL de etanol absoluto y agua suficiente para obtener 50mL de solución.