



Química Biológica
TP N° 2 GLÚCIDOS

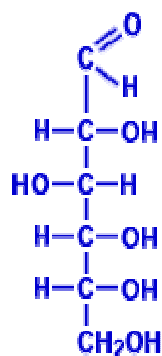
Introducción

Los Glúcidos también conocidos como hidratos de carbono o carbohidratos, son biomoléculas principalmente formadas por C, H y O, sin embargo en los glúcidos complejos podemos encontrar S y N. Desde el punto de vista químico son polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas y sus derivados. El nombre glúcido deriva del termino griego *glykis* que significa dulce, mientras que el termino hidratos de carbono hace referencia a que el O y el H se hallan en la misma proporción que en el agua.

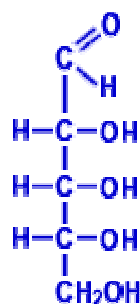
Los glúcidos se clasifican dependiendo del número de átomos de carbono que posee y la función aldehídica o cetónica, estas a su vez le confiere la base para la mayoría de las reacciones usadas para su identificación y cuantificación. Cuando el carbohidrato está formado por una sola molécula de carbohidrato, se denomina monosacárido, por dos, disacárido y por más de dos, polisacárido.

Los **monosacáridos** son sólidos, cristalinos, incoloros, solubles en agua y de sabor dulce. Responden a la fórmula empírica $(\text{CH}_2\text{O})_n$, en la que n tiene un valor igual o mayor que 3, siendo los más frecuentes los de 5 (pentosas) y 6 (hexosas) átomos de carbono. Presentan en todos sus carbonos un grupo hidroxilo (-OH), excepto en uno, en el cual lleva un grupo carbonilo. Si el grupo carbonilo se encuentra al final de la cadena, el monosacárido es un aldehído, y se denomina *aldosa*. Si se encuentra en un carbono secundario es una cetona, y se llama *cetosa*.

Aldosas

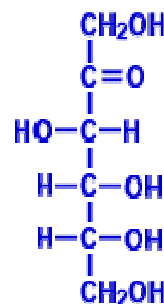


Glucosa



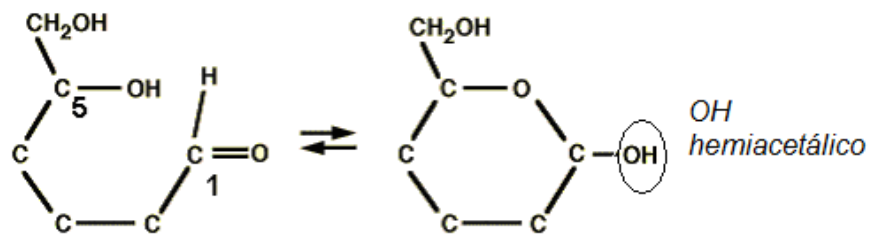
Ribosa

Cetosa



Fructosa

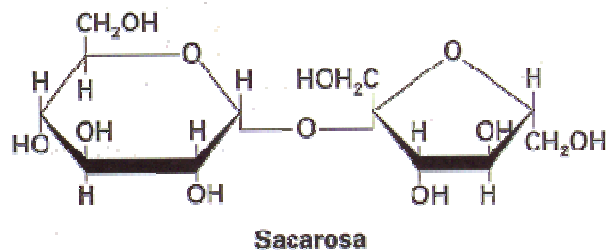
Los monosacáridos pueden usarse como agentes reductores. En solución acuosa los monosacáridos se ciclan formando anillos de 5 o 6 lados, furanos y piranos respectivamente:



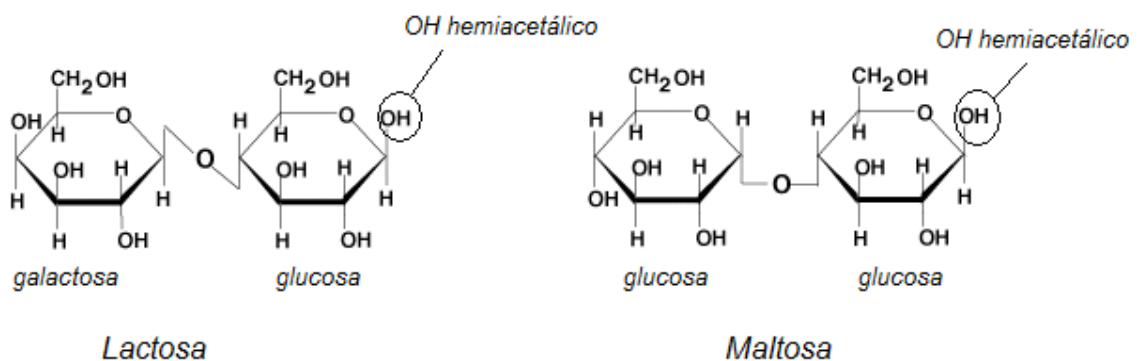
El grupo carbonilo del C1 queda próximo al C5 y entre ellos reaccionan sus radicales en una reacción intramolecular entre un grupo aldehído (el del C1) y un grupo alcohol (el del C5), formándose un hemiacetal. Ambos carbonos quedarán unidos mediante un átomo de oxígeno. El C1 se denomina Carbono anomérico y posee un grupo -OH llamado hemiacetálico, este -OH es responsable del carácter reductor de los monosacáridos

Los **disacáridos** son azúcares formados por la unión de dos monosacáridos mediante un enlace glucosídico. Si este enlace se efectúa entre dos carbonos anoméricos, el disacárido no tendrá el potencial aldehído o cetona libre, por lo tanto no dan positivas aquellas pruebas que involucren la participación de estos grupos, recibiendo el nombre de azúcar no reductor, la sacarosa y la trealosa son ejemplos de los disacáridos no reductores. Todos los disacáridos que posean un carbono anomérico libre, darán positivas estas reacciones, llamándose azúcares reductores, debido a que promueven la reducción del reactivo usado y ellos mismos se oxidan.

Disacárido no reductor



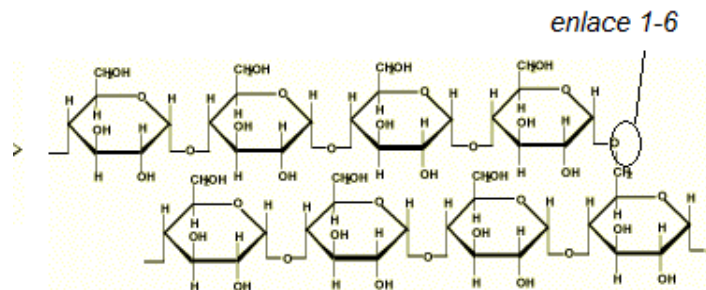
Disacáridos reductores



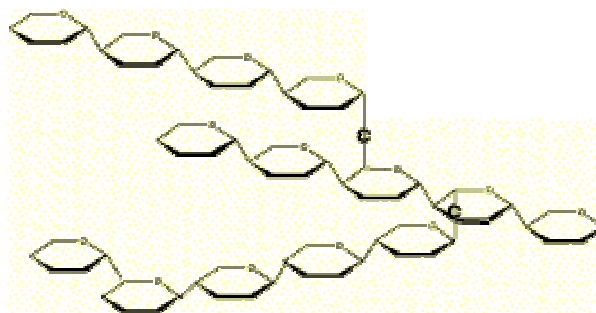


Los **polisacáridos** son polímeros resultantes de la unión de varios (hasta miles) de monosacáridos. Se denomina homopolisacáridos (almidón, quitina, celulosa) aquellos formados por un único monosacárido y heteropolisacáridos (ácido hialurónico, mucopolisacáridos) a aquellos compuestos por más de un monómero. Los homopolisacáridos desarrollan principalmente funciones estructurales o de reserva energética, entre los primeros encontramos a la celulosa y la quitina; en el segundo grupo hallamos el almidón y el glucógeno.

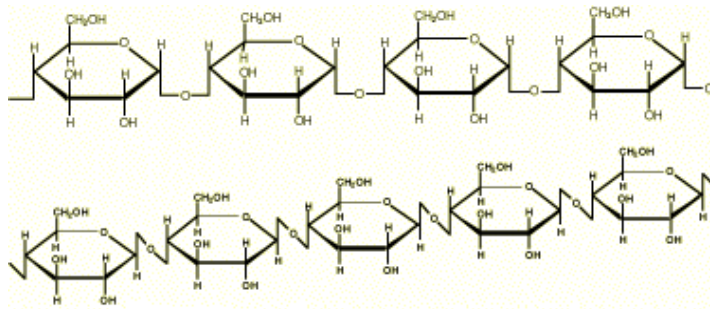
El almidón es el polisacárido de reserva propio de los vegetales, y está integrado por dos tipos de polímeros: la **amilosa**, formada por unidades de maltosa, unidas mediante enlaces α (1-4). Presenta estructura helicoidal y la **amilopectina**, formada también por unidades de maltosas unidas mediante enlaces α (1-4), con ramificaciones en posición α (1-6).



El glucógeno es el polisacárido de reserva de origen animal. Se encuentra abundantemente en el hígado y en los músculos. Molécula muy similar a la amilopectina; pero con mayor abundancia de ramificaciones.



Tanto la celulosa como el almidón son polímeros formados por moléculas de glucosa, la diferencia radica en el enlace α 1-4 del almidón (reserva de energía) y β 1-4 de la celulosa y otros polisacáridos estructurales. Esta pequeña diferencia da la posibilidad a la celulosa de formar fibras resistentes y ser inmune frente a las enzimas digestivas de muchos animales



Almidón (enlaces alfa 1-4)

Celulosa (enlaces beta 1-4)

Parte experimental

Objetivos

- Extraer y caracterizar polisacáridos de reserva energética.
- Hidrolizar polisacáridos de reserva.
- Reconocer glúcidos reductores y no reductores.

Actividades:

1. Extracción y caracterización de polisacáridos

Extracción de almidón

Tomar 20 g de papa rallada. Colocar el material en un vaso de precipitado y agregar 80 ml de agua. Agitar 5 min. y filtrar con gasa. Dejar sedimentar hasta observar el almidón extraído. Suspender el sedimento en 25 ml de agua.

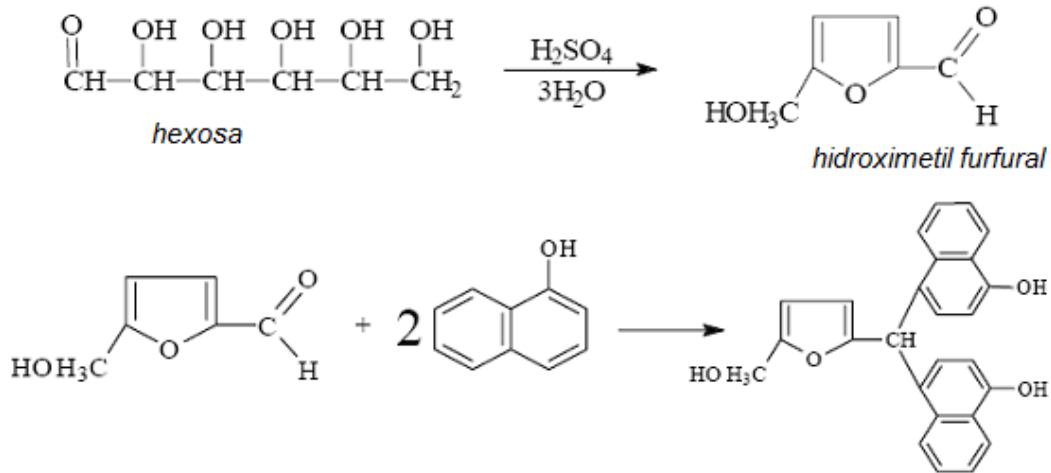
Hidrólisis del almidón

Colocar 8 ml de la suspensión en un tubo de ensayo y agregar 5 ml de HCl concentrado. Calentar a baño María por 30 minutos, neutralizar acidez.

Ensayos de caracterización del almidón

Ensayo de Molisch

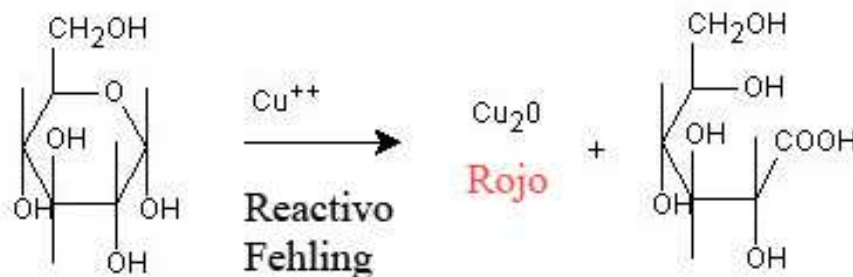
Consiste en la acción deshidratante de los ácidos minerales concentrados sobre los glúcidos dando furfural con las pentosas y 5-hidroximetilfurfural con las hexosas. Estos reaccionan con α -naftol dando un anillo violeta en la interfase.



Colocar 2 ml de la suspensión de almidón en un tubo de ensayo, añadir lentamente por la pared 1 ml de ácido sulfúrico y luego agregar 3 gotas del reactivo de Molisch (10% alfa-naftol en etanol p/v). Repetir con 2 ml del hidrolizado. Anotar e interpretar resultados

Ensayo de Fehling

El reactivo de Fehling está formado por la mezcla de una solución de la sal de Signette (tartrato doble de sodio y potasio) fuertemente alcalina, con otra solución de sulfato de cobre en medio ácido, el precipitado de hidróxido de cobre formado inicialmente se disuelve dando una solución de color azul intenso, que corresponde a un ion cúprico complejo, el cuprotartrato de sodio y potasio. El agente reactivo es el ion cúprico; cuando éste reacciona con un agente reductor, el ion cúprico pasa a cuproso, separándose como un precipitado rojo de óxido cuproso.



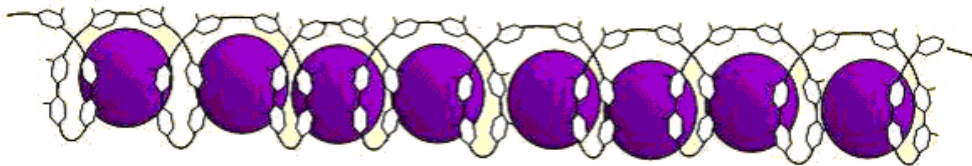


Preparar dos tubos de ensayo, uno con 2 ml de almidón hidrolizado y otro con 2 ml de almidón sin hidrolizar. Agregar a cada tubo 0,5 ml de Fehling A (3,5 gr de CuSO_4 , 0,5 ml de H_2SO_4 en un volumen final de 100 ml) y luego 0,5 ml de Fehling B (15 gr tartrato de sodio y potasio, 30 ml de NaOH al 40 % en un volumen final de 100 ml).

Calentar los tubos en mechero evitando salpicaduras. Anotar e interpretar resultados.

Reacción con Lugol

La amilosa posee una estructura helicoidal, que permite aceptar una molécula de yodo en el interior de la hélice, dando un complejo de color azul intenso. La amilopectina también “reacciona” dando un complejo de color variable desde púrpura a violeta. No se trata de una reacción química sino de una interacción entre las moléculas.



Preparar dos tubos de ensayo, uno con 2 ml de almidón hidrolizado y otro con 2 ml de almidón sin hidrolizar. A cada tubo agregar 1 gota de lugol. Anotar e interpretar resultados.

Extracción de glucógeno

Cortar 10 g de hígado fresco. Triturarlo en mortero con 60 ml de KOH 30% y calentar 30 min. a 100° C y enfriar en hielo. Centrifugar 10 min. a 3000 rpm en tubos plásticos de 50 ml de capacidad. Pasar el sobrenadante a tubos de centrifuga limpios y precipitar el glucógeno agregando 2 volúmenes de etanol. Centrifugar 10 min. a 3000 rpm y descartar el sobrenadante. Disolver el precipitado en agua destilada 3 ml por 1 g de hígado.

Hidrólisis química del glucógeno

Agregar 0,6 ml de HCl 2 M a 1 ml de la solución de glucógeno obtenida. Calentar a 100°C 30 min. Enfriar en hielo. Neutralizar con 1 ml de NaOH 1,2 M. Diluir con agua destilada 1/10.

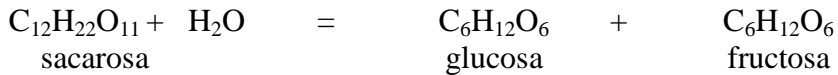
Ensayos de caracterización del glucógeno

Realizar los mismos ensayos que para el almidón



2. Carácter reductor de algunos glúcidos

La sacarosa es un disacárido de origen vegetal que puede ser fácilmente hidrolizada en sus monómeros constituyentes: glucosa y fructosa



Para realizar la hidrólisis, colocar 2ml de la solución de sacarosa 5 % p/v en un tubo y agregar lentamente 2 ml de ácido clorhídrico. Calentar suavemente. Anotar e interpretar los resultados

Colocar en un tubo 2ml de sacarosa sin hidrolizar y realizar los ensayos de Fehling y Molisch (respetando los volúmenes). Repetir con la sacarosa hidrolizada y los testigos de lactosa, glucosa y ribosa. Anotar e interpretar los resultados

Cuestionario

1. ¿Qué funciones desempeñan los glúcidos en los seres vivos?
2. ¿Los polisacáridos son reductores? ¿Por qué?
3. ¿Qué grupos funcionales participan en el enlace glucosídico?
4. ¿Qué productos se obtienen por la oxidación de la glucosa?
5. Escribe la estructura de tres monosacáridos y un disacárido reductor
6. La coloración del almidón con lugol al calentar el tubo desaparece. ¿Por qué sucede esto?
7. Escribe la estructura de un hidrato de carbono que contenga N.
8. Solo una pequeña parte de nuestras reservas energéticas se almacena como glucógeno. ¿Por qué no almacenamos solo glucógeno como reserva?
9. Indica diferencias entre los polisacáridos de reserva y los estructurales.
10. ¿Qué son los oligosacáridos? ¿Qué función biológica desempeñan?