

RECONOCIMIENTO DE PROTEÍNAS

PROVINCIA: Santiago del Estero

ESCUELA: Colegio René Favalaro

LOCALIDAD: Banda

DIRECTORA: Ángela Galván

NIVEL: secundario, 2° año

DOCENTE: Mónica Hazán

CIENTÍFICA: Natalia Mariel Argañaraz

ÁREA DISCIPLINAR: Química

TEMA: proteínas, reacción colorimétrica de Biuret, desnaturalización

OBJETIVOS GENERALES

Mediante esta práctica se pretende que los alumnos

- Puedan sentirse autor/a de la experiencia que se va a llevar a cabo y no que sigan simplemente una serie de instrucciones fijas sobre lo que deben hacer.
- Sentirse seguros al momento de trabajar con los materiales de laboratorios.
- Despertar curiosidad, a partir de la práctica experimental, de manera tal, que surjan en cada participante más interrogantes referidos al tema propuesto en base al conocimiento teórico y de laboratorio adquiridos.
- Que comprendan, que las reacciones químicas que permiten determinar proteínas en alimentos, se las evidencian por cambio de color, olor o una coagulación.
- Experimentar la desnaturalización de proteínas.

INTRODUCCIÓN

CONCEPTOS FUNDAMENTALES PREVIOS A LA EXPERIENCIA

Es muy importante que el docente, realice una breve introducción acerca de la importancia de las proteínas, dejando en claro el concepto de desnaturalización-coagulación.

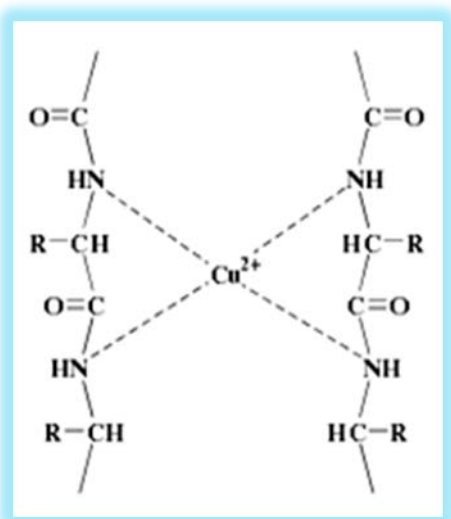
Las proteínas son elementos vitales para los organismos, encontrándose en plantas y animales en una proporción elevada. Hay una gran variedad de proteínas y cada una desempeña una función biológica específica que puede ser de reserva, de sostén, transporte, estructural, etc.

Químicamente las proteínas están constituidas por combinaciones complejas de carbono, hidrogeno, oxígeno, nitrógeno y otros elementos en menor proporción como son azufre cobre y fosforo, debido al gran tamaño de sus moléculas, forman con el agua soluciones coloidales que pueden precipitar, formándose **coágulos** al ser calentadas a temperaturas superiores a 70°C o al ser tratadas con soluciones salinas, ácidos, alcohol, etc. La coagulación de las proteínas es un proceso irreversible y se debe a su **desnaturalización** por los agentes indicados, que al actuar sobre la proteína la desorganizan, por destrucción de sus estructuras secundaria y terciaria. Esto trae como consecuencia la pérdida de la actividad biológica. Este método es utilizado para demostrar la presencia de proteínas: albúminas, globulinas, glutelinas y prolaminas etc. La positividad se manifiesta por la formación de un coágulo, no se conoce exactamente el mecanismo de reacción, se cree que ocurre cierta deshidratación de la molécula proteica, es por ello que la formación de este solido fácilmente observable, está asociada a la disminución de solubilidad de la proteína.

También se puede identificar proteínas mediante el uso de sustancias que al ponerse en contacto con ellas, producen una coloración específica, tal es el caso de la **Reacción de Biuret**.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE LA REACCIÓN EL BIURET

El reactivo de Biuret contiene CuSO_4 en solución acuosa alcalina (gracias a la presencia de NaOH). La reacción se basa en la formación de un compuesto de color violeta, debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones Cu^{2+} y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos, esto si la reacción da positiva. Cuando la reacción de biuret dá negativa, queda de color azul.



(Izq.: resultado negativo der.: positivo)

MATERIALES

QUE NECESITA EL DOCENTE

- Tarros de mermeladas(3)
- Soga de algodón (D=4 mm)
- CuSO_4
- NaOH
- Alcohol etílico (2litros)
- Recipientes para guardar solución tipo cuentagotas.

QUE PODRÍAN REQUERIR LOS ALUMNOS POR GRUPO

- Mecheros (3)
- Fósforos
- Pinzas de maderas
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Cepillo para limpiar los tubos.
- Vasos de precipitación.
- Termómetro
- Marcador para rotular los tubos
- Cucharas o varillas de vidrio

Sugerencia: todos los materiales podrían ubicarse en una mesada para que los alumnos retiren lo que se necesita.

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

Para la preparación de la soluciones, siempre es adecuado trabajar con los materiales volumétricos adecuados para tal fin. Elementos fundamentales son: Erlenmeyer, vasos de precipitación, vidrio de reloj, balanza granataria, espátulas, guantes etc. Los reactivos sólidos a usar se disponen en farmacia o ferreterías.

Preparación de solución de sulfato de cobre

Se requiere de una solución de CuSO_4 al 10% preparada en agua, almacenarla en lo posible en heladera, en frascos color ámbar.

Preparación de la solución de hidróxido de sodio

Se requiere de una solución de NaOH al 10% en agua destilada.

El hidróxido de sodio es cáustico .En contacto con la piel produce quemaduras. Usar espátula y no tocarlo con las manos. Lavarse las manos después de haber utilizado éste reactivo.

RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO CON LA CLARA DE HUEVO

ACCIÓN DEL CALOR

¿Qué ha sucedido?

Las cadenas de proteínas ovoalbúminas, que hay en la clara de huevo se encuentran enrolladas adoptando una forma esférica. Se denominan proteínas globulares. Al freír o en este caso cocer un huevo, el CALOR hace que las cadenas de proteína se desenrollen y se formen enlaces que unen unas cadenas con otras.

Este CAMBIO de estructura, da a la clara de huevo, la consistencia y color que se observa en un huevo cocinado, pasando de un color claro y plasmoso a un floculo de color blanco. Este proceso como se mencionó anteriormente con el nombre de desnaturalización se puede producir de diversas maneras: calentando (cocer o freír), batiendo las claras o por medio de agentes químicos como alcohol, sal, acetona, etc.

ACCIÓN DE REACTIVO QUÍMICO (ALCOHOL ETÍLICO)

¿Qué ha sucedido?

Al estar en contacto la proteína de la clara de huevo (ovoalbúmina), con un reactivo químico, como el alcohol etílico, cuyo pH es de aproximadamente 6, ligeramente ácido, este origina, al igual que el calor, un cambio de estructura en la clara de huevo, dando la consistencia y color que se observa en un huevo cocinado, pero al inicio es lento, observándose primero la formación de una capa de color blanco, en el punto del contacto.

El docente puede sugerir realizar un experimento similar, utilizando sal de cocina, si bien el resultado esperado será el mismo, la reacción es más lenta.

Finalmente observando ambos casos, se concluyó que la proteína se desnaturaliza más rápido al estar expuesto a altas temperaturas, y en ambos casos la desnaturalización es irreversible.

REACCIÓN DE BIURET

¿Qué ha sucedido?

Las cadenas de proteínas presentes en la clara de huevo cuando fueron sometidas al reactivo de Biuret, que en su composición tiene NaOH al 10% (el cual no participa de la reacción pero es de fundamental importancia su presencia ya que proporciona el medio básico necesario) junto con el CuSO_4 , se pudo apreciar que el sulfato cúprico reaccionó con la proteína presente en la solución de albúmina de huevo, y esta se torna de color violeta lo que nos indica que la reacción fue positiva.

El docente en la práctica, puede sugerir las siguientes actividades:

- Dibuja el tubo de ensayo e indica, sobre el dibujo, cuál es su contenido.
- ¿Qué color adquiere el líquido al añadir las 4 gotas de CuSO_4 ?
- ¿Cómo podrías comprobar que el cambio de color se debe a la presencia de albúmina y no a las propiedades de las disoluciones utilizadas? Diseña el experimento.

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO CON CARNE

ACCIÓN DEL CALOR

¿Qué ha sucedido?

Las proteínas hidrosolubles, presentes en la carne luego de filtrarlas y someterlas a calentamiento se observa la aparición de grumos. Por acción del calor las proteínas de la carne se desnaturalizan con formación de coágulos.

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO CON LECHE

En el ensayo de la leche, al calentar lo que se observa es la formación de una película en la superficie de la leche hervida, que denominamos **nata**, está formada por lactoalbuminas y lactoglobulinas (que son las proteínas que están presentes en la leche, coaguladas por el calor). Sin embargo, en la fase soluble de la leche, se encuentra

presente otra proteína denominada caseína, asociada con el calcio (fosfato de calcio) formando un complejo que se denomina caseinógeno, y presenta la característica de precipitar cuando se acidifica la leche a pH de 4,6. Al agregar el jugo de limón se consigue llegar a dicho PH observándose ,grumos blancos que son coágulos de caseína. Por ello, a la caseína se suele denominar proteína insoluble de la leche.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES FINALES

¿CÓMO SE MANIFIESTA LA DESNATURALIZACIÓN DE LA CLARA DE HUEVO?

La desnaturalización de proteínas, en la clara de los huevo, se evidencia por acción del calor formando una masa sólida intercomunicada. Esta misma desnaturalización puede producirse a través de solventes orgánicos, por ejemplo por acción de alcohol etílico en ambos casos, ocurre una desnaturalización irreversible, con formación de coágulos.

¿CÓMO PODRÍAMOS SABER QUE UNA SUSTANCIA DESCONOCIDA ES UNA PROTEÍNA?

Para saber si una sustancia desconocida, es una proteína se utiliza el reactivo de Biuret es aquel que detecta la presencia de proteínas, péptidos cortos y otros compuestos con dos o más enlaces peptídicos en sustancias de composición desconocida. Está hecho de hidróxido potásico (KOH) y sulfato cúprico (CuSO_4). El reactivo, de color azul, cambia a violeta en presencia de proteínas, y a rosa cuando se combina con polipéptidos de cadena corta.

¿QUÉ COLORACIÓN DA LA REACCIÓN DEL BIURET?

La coloración que presenta es el color violeta, indicando la presencia de proteínas.

¿UNA PROTEÍNA COAGULADA PODRÍA DAR LA REACCIÓN DE BIURET?

Una proteína coagulada, sí podría dar la reacción de Biuret, porque el reactivo reacciona con cualquier proteína, líquida o sólida, por ejemplo cuando se realiza una

cuantificación de proteínas en suero (líquida) o cuando se realiza una prueba cualitativa en huevos, carne, papas, etc.

¿EXISTEN DIFERENTES PROTEÍNAS EN LA LECHE?

La leche contiene cientos de tipos de proteínas, la mayoría de ellas en muy pequeñas cantidades. Estas pueden ser clasificadas de varias formas, de acuerdo a sus propiedades físicas o químicas, así como también a sus funciones biológicas. La antigua metodología consistió en agrupar a las proteínas de la leche en caseína, albúminas y globulinas (que forman parte de las proteínas del suero) y actualmente esta clasificación es adecuada.

¿POR QUÉ CREEN QUE LA LECHE QUITA LA SENSACIÓN DE HAMBRE?

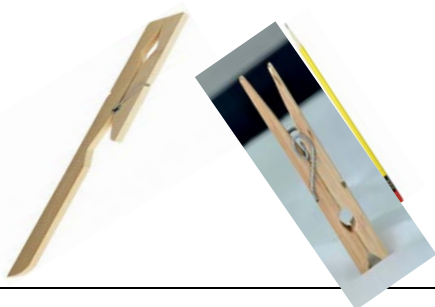
La leche quita la sensación de hambre porque al llegar al estómago, el ácido clorhídrico que hay en él, hace coagular la caseína. Estos coágulos, sólidos, ocupan lugar en el estómago, dando la sensación de estar satisfecho.


Guía N° 1: ¿Armamos un laboratorio en casa?

MATERIALES

- Broche de madera.
- Hilo de atar o alambre fino.
- Lápiz.
- Cepillos de dientes.
- 4 O más frascos de vidrios incoloros (de mermelada con tapa metálica a rosca.)
- Servilletas de papel, filtro de café o trozo de tela de algodón.
- ½ litro de alcohol de quemar.
- ½ metro de mecha para mechero de alcohol.
- Caja de fósforos.
- Cucharas.
- Cuenta gotas medicinales o pipetas de plásticos.
- Gradillas.
- Tubos de ensayos.
- Papel aluminio.
- Termómetro.
- Tapa de desodorante.

CONSTRUCCIÓN DE ELEMENTOS DE LABORATORIO CON MATERIALES COMUNES


Pinza de madera	
Ata una parte del broche con el alambre o el hilo al lápiz.	
Usos: Esta herramienta sirve para sujetar los tubos de ensayos, mientras estos se calientan o cuando se trabaja directamente con ellos.	

Mechero de alcohol	
Perfora la tapa metálica del frasco de vidrio. El orificio debe tener el tamaño adecuado para sostener, sin que se caiga, la mecha que por ahí deberás pasar. Colocar el resto de la mecha dentro del frasco (cortarla si es necesario) y ponerle alcohol de quemar. Colocar el mechero dentro de la lata y cubrirlo con arena, de modo que sobresalga la boca del frasco y la mecha para apagar el mechero, taparlo con una tapa de aerosol.	



Usos: Estos mecheros son de uso habitual en laboratorios de química o biología para el calentamiento de instrumentos de vidrio (tubos de ensayo, matraces, etc.) o la esterilización de material metálico.




¿Porque se apaga el mechero al taparlo?

<p>Como usar el mechero</p> <p>Para encender el mechero deberás acercar el fosforo a la mecha que sobresale de la tapa. No lo dejes encendido si no lo usas. Aléjalos de los papeles y de otros materiales combustibles.</p> <p>¡Úsalo con cuidado!</p>	
	<p>¿Qué deberías hacer si se enciende los papeles o trapos que tienes en tu mesa de trabajo?</p>

<p>Embudo</p> <p>Consigue un embudo de plástico o metal, o prepáralo cortando el extremo superior de una botella de plástico</p>	
<p>Usos: es un instrumento utilizado para traspasar líquidos de un recipiente a otro, evitando que se derrame la sustancia a tratar; también se emplea mucho para separar sólidos de líquidos a través del proceso de laboratorio llamado <u>filtración</u>.</p>	

<p>Gradillas</p> <p>Se pueden construir con cajas de zapatos haciendo perforaciones del diámetro de un tubo de ensayo.</p>	
<p>Usos: es una herramienta que sirve como accesorio para los tubos de ensayo, ya que servirá como base y sostenedor para colocarlos de forma segura.</p>	
<p>Vasos de precipitación</p> <p>Puede ser reemplazado por frascos de vidrios de mermeladas.</p>	
<p>Usos: para preparar o calentar sustancias y traspasar líquidos. Son cilíndricos con un fondo plano; se les encuentra de varias capacidades, desde 1 ml hasta de varios litros.</p>	

<p>Varillas de vidrio</p> <p>La podemos reemplazar por cucharas.</p>	
<p>Usos: Sirve para mezclar o agitar un sistema.</p>	

<p>Escobilla</p>	
-------------------------	--

<p>Puedes reemplazarla por un cepillo de diente.</p>	
<p>Usos: Se usa para limpiar el material.(Acostúmbrate a mantener todo el material limpio y en orden para evitar inconvenientes)</p>	

Productos químicos

Estos productos los encontraras en farmacia, droguerías o supermercados.

- Sulfato de cobre
- Alcohol común (alcohol etílico).
- Destapa cañería, contiene solución de hidróxido de sodio (soda caustica).

Guía N° 2: Aprendiendo de proteínas en el laboratorio.

OBJETIVOS

- Identificar la presencia de las proteínas en los alimentos.
- Clasificar los alimentos compuestos por proteínas.
- Valorar la importancia de las proteínas en los alimentos diarios.

1. REALIZA LA LECTURA DEL TEXTO ATENTAMENTE, MARCA LAS PALABRAS DESCONOCIDAS, EXTRÁELAS Y BUSCA SUS SIGNIFICADOS.

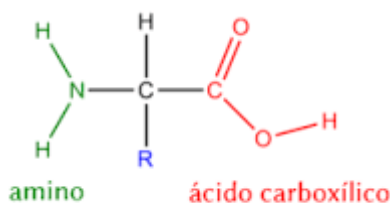
INTRODUCCIÓN

Las **proteínas**, son macromoléculas biológicas y constituyen el principal nutriente para la formación de los músculos del cuerpo. Presentan numerosas funciones, por ejemplo, son necesarias para construir y reparar tejidos y órganos, transportar algunas sustancias en la sangre, como lípidos (grasas) o minerales (hierro, principalmente), participan en el funcionamiento del sistema de defensas del organismo como así también, intervienen en la contracción muscular y ayudan a crear numerosas hormonas que regulan las funciones del organismo. Por todo ello **es importante consumir alimentos ricos en proteínas.**

ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas poseen una estructura química central, que consiste en una cadena lineal de **aminoácidos** plegada, de forma que muestra una estructura tridimensional, esto les permite a las proteínas realizar sus funciones. Es decir las proteínas están formadas por la unión de aproximadamente 300 aminoácidos.

La estructura general de un aminoácido se establece por, la presencia de un carbono central (**alfa**) unido a un grupo carboxilo (rojo en la figura), un grupo amino (verde), un hidrógeno (en negro) y la cadena lateral (azul):



Existen 20 aminoácidos diferentes que se combinan entre ellos de múltiples maneras para formar cada tipo de proteínas. Los aminoácidos pueden dividirse en 2 tipos: [Aminoácidos esenciales](#) que son 9 y que se obtienen de alimentos y [aminoácidos no esenciales](#) que son 11 y se producen en nuestro cuerpo.

En las células, **las moléculas orgánicas más abundantes que son las proteínas**, constituyen más del 50 % del peso seco de las mismas.

Las proteínas pueden ser de origen:

Animal: (también llamadas de alto valor biológico): se hallan en leche, queso, yogurt, carnes y huevo.

Vegetal: se encuentran en leguminosas (frijol, haba, lenteja y chícharo, entre otras).

2. LUEGO DE LA LECTURA DEL TEXTO LOS ALUMNOS PROCEDERÁN AL ARMADO DE LOS MATERIALES DE LABORATORIOS.

MATERIALES

- Broche de madera.
- Hilo de atar o alambre fino.
- Lápiz.
- Cepillo de dientes.
- 4 o más frascos de vidrios incoloros (de mermelada con tapa metálica a rosca).

- Servilletas de papel, filtro de café o trozo de tela de algodón.
- ½ litro de alcohol de quemar.
- ½ metro de mecha para mechero de alcohol
- Caja de fósforos.
- Cucharas.
- Cuenta gotas medicinales o pipetas de plásticos.
- Gradillas.
- Tubos de ensayos.
- Papel de aluminio.
- Termómetro
- Tapa de desodorante.
- Parte experimental
- ¿Reconocemos proteínas en la clara de huevo?

PARTE EXPERIMENTAL: ¿RECONOCEMOS PROTEÍNAS EN LA CLARA DE HUEVO?

PASO 1

Toma un huevo y separa la clara de la yema. Coloca la clara en el vaso de vidrio incoloro. Agita el sistema con una cucharita, pero no demasiado.

PASO 2

Rotula 4 tubos de ensayos con las letras **A, B, C**. Reparte la clara de huevo en cantidades semejantes en cada tubo.

PASO 3

Enciende el mechero de alcohol y tomando el tubo A con la pinza de madera acércalo a la llama. Observarás la formación de copos blancos.



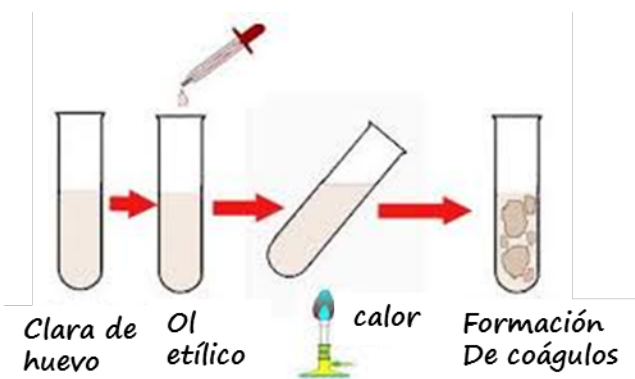
¿Qué ocurrió? Coaguló una de las proteínas de la clara del huevo, denominada ovo albúmina.

¡No olvides apagar correctamente el mechero!

PASO 4

Al tubo B, agregar con un cuentagotas alcohol (cantidades necesarias hasta visualizar algún cambio).

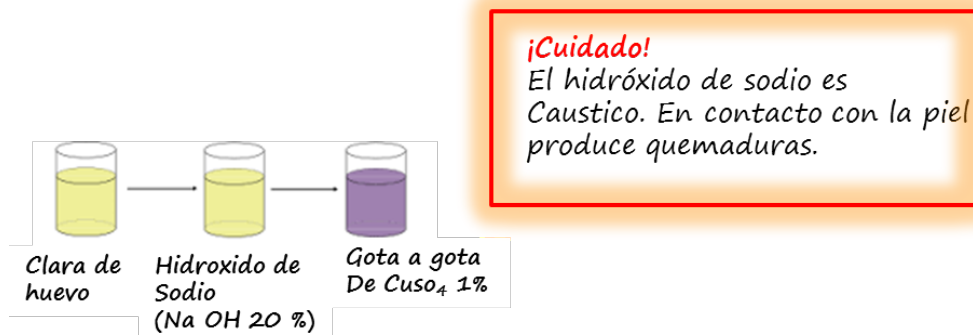
Al igual que en el ensayo anterior, la proteína coaguló, pero esta vez por acción de un reactivo químico.



PASO 5

Al **tubo C** agregarle con un cuentagotas, solución de hidróxido de sodio y luego solución de sulfato de cobre. Este ensayo se conoce como ensayo BIURET.

El tubo D queda como “**tubo testigo**”. El **tubo D** queda como tubos testigo para que puedas comparar.



REGISTRAR LO OBSERVADO

Tubos de ensayo	Observaciones
A	
B	
C	
D	

¿RECONOCEMOS PROTEÍNAS EN LA CARNE VACUNA?

PASO 1

Tomar un pequeño trocito de carne picada. Colócalo en un vaso de precipitación. Agregarle muy poca agua y desmenuzarlo con una cuchara.

PASO 2

Filtrar el sistema. Dividir en dos, las porciones que se colocarán en los tubos de ensayos A y B.

PASO 3

Al tubo A se colora sobre la llama del mechero. El tubo B servirá para comparar el cambio (“**tubo testigo**”).

REGISTRAR LO OBSERVADO

Tubos de ensayo	Observaciones
A	
B	

¿RECONOCEMOS PROTEÍNAS EN LA LECHE?

PASO 1

En un vaso de precipitación, colocar al fuego $\frac{1}{4}$ litro (250 cm³) de leche entera.

PASO 2

Calentar sobre el mechero, sin que llegue a hervir.

PASO 3

Retirar del fuego y agregarle el jugo de medio limón. Se observará la aparición de grumos blancos, debido a la coagulación de una de las proteínas de la leche “caseína”.

PASO 4

Separa este solido del líquido (suero), utilizando un dispositivo de filtración.



¿Sabías que la película que se forma en la superficie de la leche hervida la denominamos nata y, está formada por lacto albúminas y lacto globulinas (que son las proteínas de la leche coaguladas por el calor)?

PASO 5

Dividir el suero en dos porciones, una de las cuales quedará como testigo.

PASO 6

Colocar la otra porción en un vaso de precipitación y colocarla en el mechero hasta que hierva unos 5 -10 min.

Observarás la precipitación (coagulación) de otras proteínas presentes en la leche: lacto albúminas y lacto globulinas.

REGISTRAR LO OBSERVADO

Vasos de precipitación	Observaciones
A Jugo de limón	
B Suero (testigo)	
C Suero	

CONCLUSIÓN/REFLEXIÓN

¿De qué dos formas coagulaste las proteínas de la clara de huevo?

¿Cómo podríamos saber si una sustancia desconocida es una proteína?

¿Qué coloración da la reacción de Biuret?

¿Una proteína coagulada, podría dar la reacción de Biuret?

¿En la leche, existen diferentes proteínas?

¿Porque creen que la leche, quita la sensación de hambre?