

FUNDAMENTO

Los carbohidratos -también llamados glúcidos, azúcares o hidratos de carbono- son, junto con las proteínas y las grasas, uno de los tres grupos de productos químicos que forman parte de la materia orgánica de origen biológico, y son constituyentes principales de los alimentos de origen vegetal. Son los compuestos orgánicos más abundantes de la biosfera y se pueden encontrar tanto como moléculas simples (monosacáridos) como en forma de polímeros (polisacáridos).

Para la detección de los carbohidratos en los alimentos vamos a utilizar dos reactivos diferentes:

- el reactivo de Fehling para detectar monosacáridos (también detecta disacáridos reductores)
- el reactivo de Lugol que detecta polisacáridos

La reacción de Fehling se basa en la capacidad que tiene el carbono anomérico de los azúcares (grupo carbonilo) para reducir los iones cúpricos (Cu^{++} ; de color azul claro) a iones cuprosos (Cu^{+} ; de color rojo ladrillo). Cuando el carbono anomérico de un monosacárido está formando parte de un enlace glicosídico pierde su capacidad reductora.

El almidón es un polisacárido (polímero de glucosa) en el que cada molécula de almidón puede llegar a contener hasta 500.000 moléculas de glucosa. Cuando las cadenas de almidón están intactas sus enlaces glicosídicos forman un complejo de color azul-violeta con átomos de iodo del reactivo de Lugol. Este complejo es inestable al calor y se descompone al calentar la muestra perdiendo el color.

MATERIALES:

- | | | |
|-------------------|---------------|-------------------------------|
| - Azucar de mesa, | - Salchichas, | - Papel de filtro, |
| - Glucosa, | - Refresco, | - Tubos de ensayo |
| - Manzana, | - Baño-maría, | - Pipetas Pasteur de plástico |
| - Patata, | - Embudo, | - Rotulador indeleble |

REACTIVOS:

Reactivo Fehling A.- 7 g de sulfato de cobre (II) penta-hidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en 100 ml de agua.

Reactivo Fehling B.- 35g de tartrato sódico-potásico ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) y 12,5 g de hidróxido sódico ($NaOH$) en 100 ml de agua.

Ácido clorhídrico al 5%.- A 64 ml de agua se le añaden 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (el ácido clorhídrico concentrado comercial es una disolución al 37%)

Reactivo de Lugol.- 1 gr de yodo molecular (I_2) y 2 gr yoduro potásico (KI) en 300 ml agua. Disolver y filtrar.

Solución de sacarosa.- 2 g de sacarosa (azúcar de mesa) en 100 ml de agua. Agitar hasta disolución.

Solución de glucosa.- 1 g de glucosa en 100 ml de agua. Agitar hasta disolución.

Solución de almidón de patata.- cortar varias rebanadas finas (aprox. 50 gramos) de patata y triturarlas en un mortero. Añadir 100 ml de agua y remover bien con la espátula. Pasarlo por un colador. Guardar.

Solución de refresco normal.- diluir 20 ml de refresco normal con 20 ml de agua.

Solución de refresco "cero".- diluir 20 ml de refresco "cero" con 20 ml de agua.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL (La práctica se desarrollará en dos partes)

Primera parte

En esta primera parte detectaremos la presencia de monosacáridos, mediante la determinación de su capacidad reductora con el “Licor de Fehling”, en distintas muestras.

Procedimiento:

- Marcar (rotular) seis tubos de ensayo del 1 al 6.
- Añadir a cada tubo 3 ml de las siguientes soluciones:
 - Tubo 1 – Agua
 - Tubo 2 – Sacarosa
 - Tubo 3 – Sacarosa con cinco gotas de ácido clorhídrico
 - Tubo 4 – Glucosa
 - Tubo 5 – Refresco normal
 - Tubo 6 – Refresco “cero”
- Calentar los tubos al baño maría durante 10 min.
- Añadir a cada tubo 1 ml de la solución de Fehling A.
- Añadir a cada tubo 1 ml de la solución de Fehling B.
- Agitar suavemente y calentar al baño maría.

Observar el color que aparece en cada tubo e indicar el carácter (reductor – no reductor) de las sustancias disueltas en los tubos.

Cuestiones:

¿Cuál es la explicación de los colores que se observan para cada uno de los tubos?

¿Hay monosacáridos en el refresco normal? ¿Y en el “cero”?

Segunda parte

En esta segunda parte de la práctica detectaremos la presencia de almidón en patata, manzana y salchicha, y comprobaremos cómo una enzima presente en la saliva (la amilasa) rompe los enlaces glicosídicos que mantienen unidas a las moléculas de glucosa del almidón, descomponiéndolo y transformándolo en glucosa que se libera dando reacción positiva con el reactivo de Fehling.

Procedimiento:

- Depositar aproximadamente 1 ml de saliva en un tubo de ensayo y marcarlo.
- Marcar (rotular) cuatro tubos de ensayo del 7 al 10.
- Añadir a cada tubo 3 ml de las siguientes disoluciones:
 - Tubo 7 – Almidón (de la patata)
 - Tubo 8 – Almidón
 - Tubo 9 – Almidón + 0'5 ml de saliva
 - Tubo 10 – Almidón + 0'5 ml de saliva
- Incubar los tubos a 37°C durante al menos 15 min.
- Añadir 6 gotas de reactivo Lugol a cada uno de los tubos 8 y 10. Agitar suavemente.
- Añadir 1 ml de reactivo Fehling A y 1 ml de reactivo Fehling B a cada uno de los tubos 7 y 9. Agitarlos suavemente y calentarlos al baño maría (60°C) durante 5 min.
- Mientras se incuban los tubos en el baño, cortar una rodaja de patata, otra de manzana y una tira (o rodaja oblícua) de salchicha, depositarlas sobre papel de filtro, añadirles 6-10 gotas de reactivo de Lugol y extender el Lugol por la superficie de la rodaja con una punta azul de pipeta. Esperar 5 min.
- Anotar los cambios observados en los tubos y en las rodajas de patata, manzana y salchicha.

Cuestiones:

¿Qué colores aparecen en los tubos 7 y 9? ¿A qué se debe esa diferencia?

¿Qué colores aparecen en los tubos 8 y 10? ¿A qué se debe esa diferencia?

¿Qué se observa en las rodajas de patata, manzana y salchicha? ¿Porqué?