

## Práctica 1: Observación de fenómenos osmóticos en epidermis de cebolla

### 1. ¿A qué se debe la gran extensión de la coloración de la célula tras la tinción con rojo neutro?

Al sumergir la epidermis en la disolución de rojo neutro (medio hipotónico en relación al jugo vacuolar), el agua con el colorante, pasa al interior de la vacuola provocando el aumento de su volumen con lo que el tonoplasto queda adherido a la membrana plasmática. El colorante difunde por todo el contenido vacuolar tiñéndolo en toda su extensión.

### 2. ¿Qué papel desempeñan las diferentes concentraciones de las disoluciones de tampón fosfato y de cloruro sódico sobre la del jugo vacuolar?

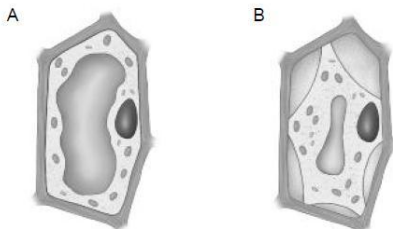
La disolución formada por el rojo neutro y el tampón fosfato es hipotónica con respecto al jugo vacuolar y produce el fenómeno de turgescencia.

La disolución de NaCl al 6% es hipertónica en relación con el jugo vacuolar por lo que el agua sale de la vacuola y esta se contrae, produciéndose el fenómeno de plasmólisis.

### 3. ¿A qué atribuye los cambios que se observa en la vacuola en cada caso?

A los fenómenos osmóticos descritos en la pregunta anterior.

### 4. Las figuras representan esquemáticamente la modificación que tiene lugar en las células vegetales según se introduzcan en una disolución tampón al 1% o en una disolución de NaCl al 6%.



#### a) ¿Qué figura representa cada caso?

A: Célula vegetal en disolución tampón al 1%

B: célula vegetal en disolución salina al 6%.

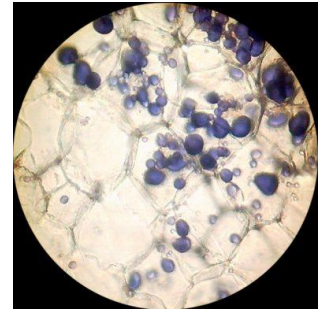
#### b) ¿A qué se deben los cambios que se aprecian en la vacuola?

La disolución salina al 6% es hipertónica respecto al interior celular lo que provoca la salida de agua del citoplasma y la vacuola, por ósmosis, y la consiguiente plasmólisis.

## Práctica 2: Observación y/o tinción de los granos de almidón de la patata con lugol

### 1. Conocer la forma de los grados de almidón obtenidos a partir de este material vegetal.

Los gránulos de almidón de patata tienen suelen ser de forma redondeada, pero también aparecen gránulos de forma alargada o más o menos irregular.

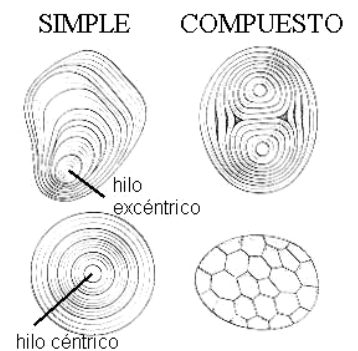
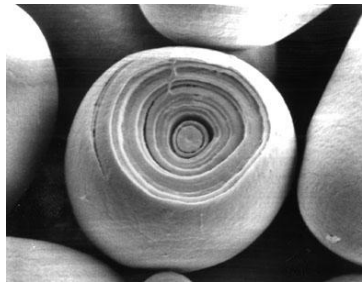


### 2. Relacionar el tamaño de los granos y el número de capas que se observan en ellos.

Comparados con los gránulos de almidón de otros vegetales, los de la patata están entre los más grandes.

En los gránulos de almidón (no están rodeados por ninguna envoltura), las moléculas de amilosa y de amilopectina se disponen en forma radial, formando una serie de capas concéntricas que rodean a una zona que recibe el nombre de hilio o hilo. Que puede estar en el centro del amiloplasto, posición céntrica, o estar en un lateral, posición excéntrica.

Estas capas son capas de crecimiento, por tanto cuanto más número de capas aparecerán en los mismos, mayor es el tamaño de los granos.

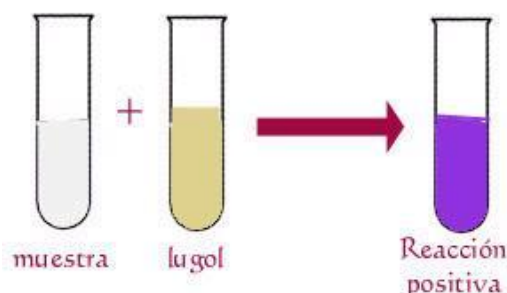


### 3. Conocer la posibilidad de utilizar el reactivo yodo-yoduro potásico (1%) para detectar la presencia de almidón en un medio.

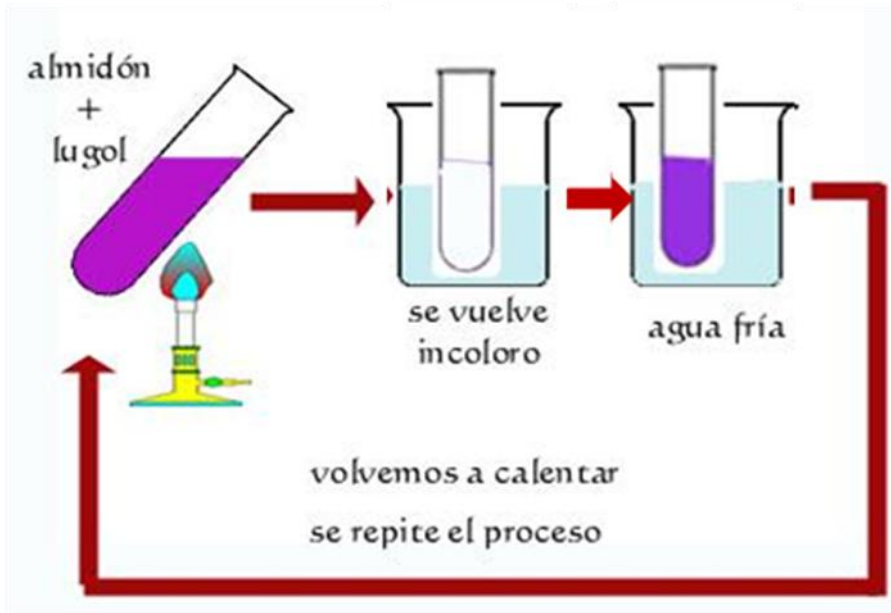
El lugol es una disolución acuosa de yodo y yoduro potásico que sirve para averiguar si, en una disolución de azúcares no reductores (reacción de Fehling negativa), existe el polisacárido almidón (prueba del lugol positiva). El lugol funciona como un indicador de la presencia de almidón. Cuando no está en contacto con el almidón, el lugol es amarillo, y si hay poco, no se aprecia. Cuando el lugol entra en contacto con el almidón, se vuelve azul-violeta.

### 4. Fundamento de la reacción de color y de los cambios con la temperatura.

Cuando el almidón se pone en contacto con unas gotas de lugol (reactivo que contiene yodo y yoduro potásico) toma un color azul-violeta característico (la amilosa se colorea de azul oscuro a negro y la amilopectina se colorea entre naranja y amarillo), lo cual sólo ocurre en frío.

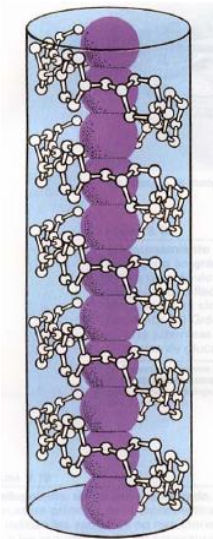


Se trata de una reacción no química, en la que se forma un compuesto de inclusión del yodo en el interior de las hélices de la amilosa. Esta inclusión es reversible y está condicionada por la temperatura.



Como los polisacáridos no tienen poder reductor, la reacción de Fehling da negativa.

## 5. Responde a las cuestiones:



### a) ¿Qué tipo de moléculas y proceso representa el dibujo?

Representa el complejo formado por una hélice de amilosa ocupada en su interior por iones yoduro, originado al mezclar la solución yodo-yodurada de lugol con almidón.

### b) ¿Cómo se comporta frente a la temperatura?

El complejo se separa al calentar la disolución, y se vuelve a formar al enfriarse.

### c) ¿Qué aspecto adquiere la disolución de almidón durante este proceso?

La formación del complejo da un color azul-violeta intenso, al separarse los iones yoduro pierde el color dando un aspecto blanquecino.

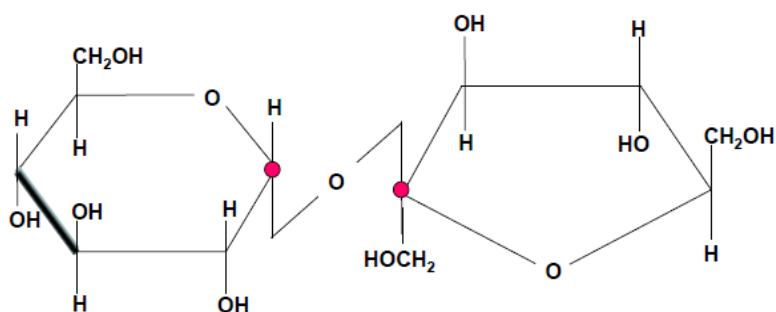
### Práctica 3: Determinación del poder reductor de azúcares.

1. Establecer a qué se deben las diferencias observadas entre los cuatro carbohidratos analizados (glucosa y fructosa dan positiva la reacción de Fehling, mientras que sacarosa y almidón no dan positiva la reacción).

Los monosacáridos y la mayoría de los disacáridos poseen poder reductor, que deben al grupo carbonilo que tienen en su molécula, concretamente al OH hemiacetálico libre, que hay en dicho grupo. El grupo carbonilo reduce fácilmente los compuestos de cobre (Fehling) y de plata oxidándose y pasando a grupo ácido.

Los glúcidos que tienen enlace dicarbonílico pierden su carácter reductor.

**Glucosa y fructosa** dan positivo porque son monosacáridos.



*Sacarosa: Formada por  $\alpha$ -D-glucosa y  $\beta$ -D-fructosa (enlace  $1\alpha\rightarrow 2\beta$ ), unidas por los OH de los carbonos anoméricos y por lo tanto no reductor. Es el azúcar de mesa. Se encuentra en la caña de azúcar y en la remolacha.*

Los **disacáridos** poseen poder reductor a excepción de aquellos cuyo C anomérico interviene en un enlace dicarbonílico. Este es el caso de la **sacarosa**, que forma un enlace dicarbonílico, no tiene ningún OH hemiacetálico (de los carbonos anoméricos) libres, y por lo tanto no es reductor.

Los **polisacáridos**, como el **almidón**, al tener un sólo -OH hemiacetálico por molécula libre, presentan un carácter reductor tan pequeño que se consideran como no reductores.

2. Analizar e interpretar los resultados obtenidos tras la hidrólisis de la sacarosa.

La **sacarosa** es un disacárido que carece de poder reductor porque en el enlace de los monosacáridos que forman parte de su molécula participan los carbonos anoméricos, por lo que la reacción con el reactivo de Fehling es negativa, tal y como ha quedado demostrado en la 1ª parte.

Sin embargo, en presencia de HCl y en caliente, la sacarosa se hidroliza y se descompone en los monosacáridos que la forman, glucosa y fructosa, que sí son reductores.

La prueba de que se ha verificado la hidrólisis se realiza con el reactivo de Fehling y, si el resultado es positivo, aparecerá un precipitado rojo (tras el calentamiento en baño maría a ebullición durante 10 min).

Si el resultado es negativo, la hidrólisis no se habrá realizado correctamente, y si en el resultado final aparece una coloración verde en el tubo de ensayo se debe a una hidrólisis parcial de la sacarosa.

### 3. Responde a las siguientes cuestiones:

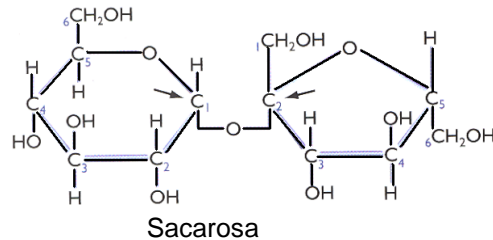
#### a) ¿Qué es y para qué se utiliza el reactivo de Fehling?

Es un reactivo que contiene compuestos de  $\text{Cu}^{+2}$ , oxidado y se utiliza para identificar compuestos reductores.

#### b) ¿Cuál es el fundamento de su uso?

Los compuestos reductores, como muchos azúcares, reducen el cobre pasándolo de  $\text{Cu}^{+2}$  a  $\text{Cu}^{+1}$  que se deposita en forma de  $\text{Cu}_2\text{O}$  de color rojo ladrillo

#### c) Identifica el siguiente compuesto.



#### d) ¿Cómo se comportaría en presencia de Fehling? ¿Por qué?

Da reacción negativa, porque en el enlace participan los dos carbonos reductores (carbonilo) de los monosacáridos integrantes de su molécula, por lo que no presenta poder reductor.

#### e) ¿Cómo se comportarían los monosacáridos constituyentes por separado? ¿Por qué?

Dan reacción positiva rojo ladrillo, por el carácter reductor de los carbonos carbonilos libres en ambos monosacáridos.

### 4. Sabiendo que el lugol da reacción positiva con el almidón, y el Fehling reacciona con azúcares reductores:

#### a) ¿Qué ocurre al añadir lugol a una solución de almidón? ¿A qué se debe el resultado?

La reacción positiva del lugol con el almidón provoca una coloración azul-violeta intensa. Esto se debe a los iones yoduro del lugol, que se disponen en el interior de la hélice de la amilosa formando un complejo coloreado.

#### b) ¿Cómo afectan los cambios de temperatura a los resultados?

Al calentar lentamente la solución el complejo se separa y al mismo tiempo desaparece la coloración, al enfriarse se forma de nuevo el complejo y vuelve la coloración

#### c) Al añadir unas gotas de ptialina (amilasa salivar) a la disolución anterior ¿Qué ocurre al añadir lugol al producto resultante?

La ptialina salivar es un tipo de amilasa que hidroliza el almidón separando unidades de glucosa y maltosa que no forman complejo con el yodo y darán negativo con el lugol

#### d) ¿Qué ocurre si añadimos Fehling? ¿A qué se debe el resultado?

Al añadir Fehling, que reacciona positivamente con azúcares reductores, en la disolución hidrolizada de almidón, dará positivo con los productos de la hidrólisis produciendo un color rojo ladrillo

## **Práctica 4: Extracción y aislamiento de ADN**

### **1. ¿Para qué se utiliza el detergente y el NaCl en la extracción?**

Romper o lisar con detergentes la pared celular, la membrana plasmática y la membrana nuclear para dejar libre el ADN.

### **2. ¿Qué componente aporta el zumo de piña o de papaya y cuál es su utilidad?**

El zumo de piña o el de papaya contienen un enzima, la papaína, que elimina las proteínas que pueden contaminar el ADN.

### **3. ¿Por qué se incorpora finalmente el etanol muy frío al medio?**

El ADN es soluble en agua e insoluble en alcohol, de modo que al añadirlo lentamente a la disolución se produce la precipitación de las hebras de ADN en la interfase agua-alcohol.

## Práctica 5: Estudio de la respiración. Fermentación alcohólica llevada a cabo por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1. Razonamiento sobre los procesos que están ocurriendo en cada uno de los 5 tubos (Análisis e interpretación de los resultados).

**Tubo 1: levadura + agua destilada.** Es un tubo control o testigo en el que no cabe esperar que suceda nada, ya que las levaduras no tienen nutrientes para utilizar como combustible metabólico. Es posible que aparezca una cantidad de gas casi inapreciable, desprendido de la degradación de las mínimas reservas que pueden tener las células.

**Tubo 2: levadura + agua destilada + glucosa.** En este tubo, las levaduras disponen de glucosa como nutriente por lo que como resultado de la respiración se desprenderá una cantidad muy apreciable de gas.

**Tubo 3: levadura + glucosa + NaF.** La presencia de un fluoruro en el medio celular provoca la inhibición del proceso, al formarse un complejo ( $MgF_2$ ) con el flúor y con iones  $Mg^{++}$  que intervienen como cofactores de enzimas glucolíticas (la enolasa que cataliza el paso de 2-Fosfoglicerato a Fosfoenolpiruvato, necesita la presencia de iones  $Mg^{2+}$  para poder actuar). En la realidad se observa un desprendimiento inicial de gas, pero a continuación se estabiliza y no se sigue desprendiendo.

**Tubos 4 y 5: levadura + glucosa + concentraciones crecientes de NaF.** La presencia de una elevada proporción del inhibidor debe reducir el desprendimiento inicial de gas.

### 2. ¿Cuál es la función del tubo 1?

Es un tubo control o testigo

### 3. ¿Por qué se añade glucosa a los tubos 2, 3, 4 y 5?

Como nutriente para que se lleve a cabo la fermentación alcohólica y se desprenda  $CO_2$

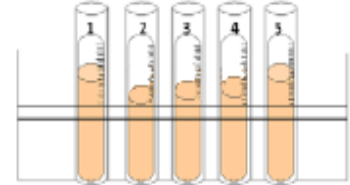
### 4. Diferencias observadas en los tubos 3, 4 y 5 (inhibición parcial o total dependiendo de la concentración del inhibidor).

La diferencia radica en las diferentes concentraciones del inhibidor de la glucólisis (NaF) presentes en los tubos 3, 4 y 5, menores concentraciones (tubos 3 y 4) inhiben parcialmente el proceso lo que se demuestra por la presencia de cantidades decrecientes de  $CO_2$ , que comprimen cada vez menos al líquido contenido en el tubo. A mayores concentraciones (tubo 5) no se aprecia desprendimiento de gas (el líquido se sitúa a la misma altura que en el tubo control).

5. Se preparan 5 tubos invertidos como indica la tabla para el estudio de la fermentación con levaduras:



Nº Tubo	Suspensión de levadura	Agua destilada	Solución de glucosa 10%	NaF
1	5 ml	10 ml		
2	5 ml	5 ml	5 ml	
3	5 ml		5 ml	5 ml (0,01M)
4	5 ml		5 ml	5 ml (0,05M)
5	5 ml		5 ml	5 ml (0,1M)



a) Explica las diferencias en el desprendimiento de  $CO_2$  en los tubos 2 y 3.

**Razónalo**

En los tubos 2 y 3 se produce desprendimiento de  $CO_2$  producto de la fermentación alcohólica de la glucosa, pero en el 3, se produce un desprendimiento de  $CO_2$  menor, debido a la presencia de  $F^-$  que inhibe la acción del  $Mg^{++}$ , cofactor de un enzima enolasa, en una de las etapas finales de la glucólisis. La inhibición es leve por encontrarse en muy baja proporción

b) Explica las diferencias en el desprendimiento de  $CO_2$  en los tubos 1 y 5.

**Razónalo**

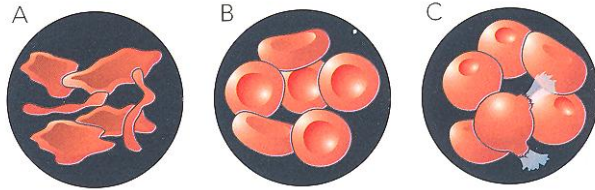
En el tubo 1 no hay desprendimiento de  $CO_2$  pues no contiene el sustrato de glucosa necesario para que se produzca la fermentación, y en el tubo 5, tampoco hay desprendimiento de  $CO_2$ , pues aunque presenta la glucosa necesaria, la proporción de inhibidor,  $F^-$ , que contiene impide que termine la glucólisis y por tanto que se culmine la fermentación



**Pregunta de fenómenos osmóticos:**

➤ El esquema representa células en diferente situación:

a) ¿Qué tipo de células aparecen representadas?



Eritrocitos o glóbulos rojos

b) ¿Qué proceso físico-químico está afectando a las células?

Ósmosis

c) ¿Qué tipo de medio extracelular provocaría las situaciones A, B, y C?

A sería provocada por un medio hipertónico. Crenación

B sería provocada por un medio Isotónico. Equilibrio

C sería provocada por un medio hipotónico. Hemólisis