

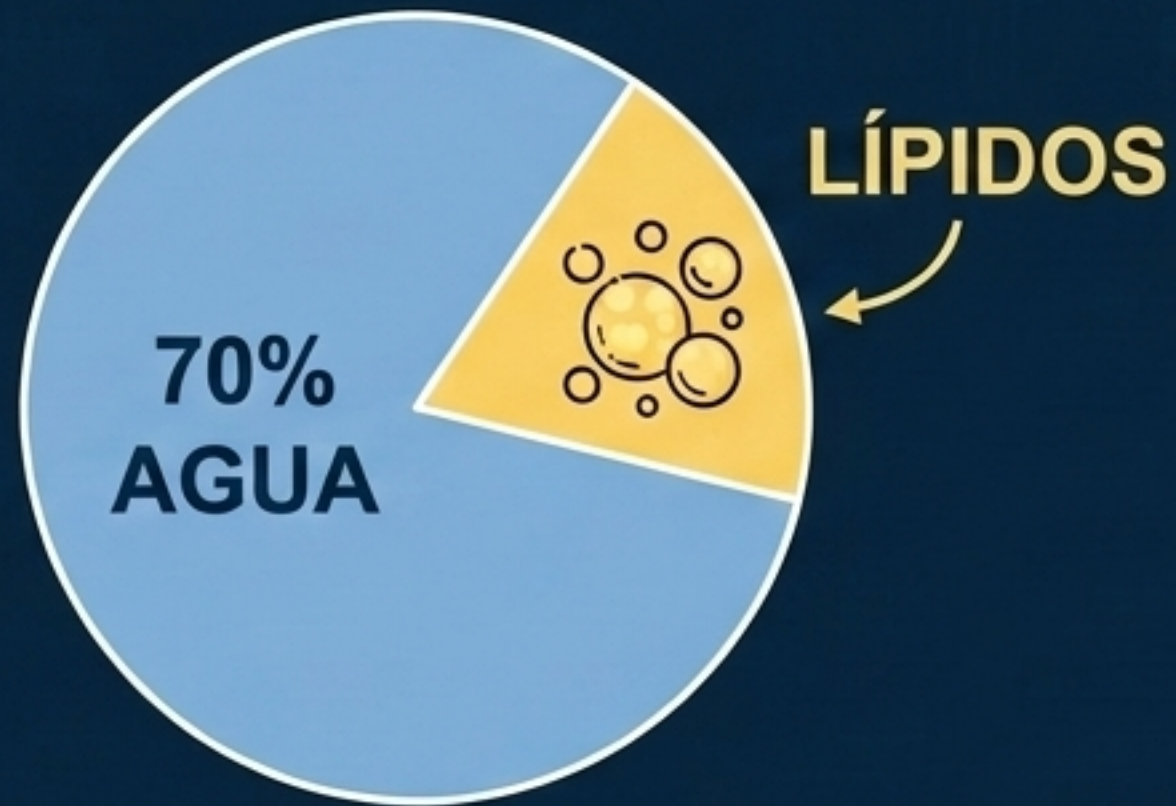
Práctica 13. Extracción y solubilidad de los lípidos

Rompiendo la barrera del agua: Técnicas de aislamiento y análisis hidrofóbico

M.C. Carlos Montejo Dávila

The Molecular Blueprint

El Reto Bioquímico

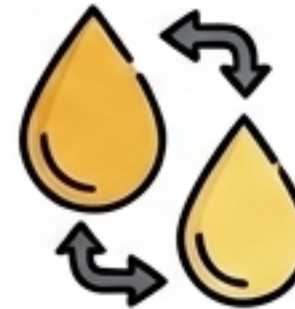


Las células son 70% agua, pero los lípidos le “huyen” (efecto hidrofóbico). Para estudiarlos, primero debemos obligarlos a separarse del resto del citoplasma.

Nuestros Objetivos Hoy



Fuerza Física: Aislar lípidos por diferencia de densidad (Floculación).



Química de Solventes: Ejecutar extracciones fraccionadas (Acetona y Hexano).



Regla Termodinámica: Comprobar visualmente que “Lo similar disuelve a lo similar”.



Nuestro Material Biológico (Las Muestras)



**Modelo Vegetal
(Membranas)**



Muestra: 10 g de semillas de calabaza (sin cáscara).

Blanco Bioquímico: Nivel alto de fosfolípidos estructurales.



**Modelo Animal
(Esteroles)**



Muestra: La yema de 1 huevo de gallina.

Blanco Bioquímico: Nuestra mina de oro para la extracción de colesterol puro.



**Modelos de Prueba
(Sólido vs Líquido)**



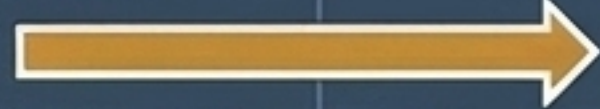
Muestra: 50 mL de aceite de olivo y 1 g de mantequilla.

Blanco Bioquímico: Contraste físico (insaturado vs. saturado) para pruebas de solubilidad.

Actividad 1 - Aislamiento por Floculación (Fuerza Bruta) ⚙️



[👉] Triturar semillas



[👉] Suspender en amortiguador acuoso (PBS)



[👉] Centrifugar a 14,000 rpm x 5 min (o 3,000 rpm x 10 min)

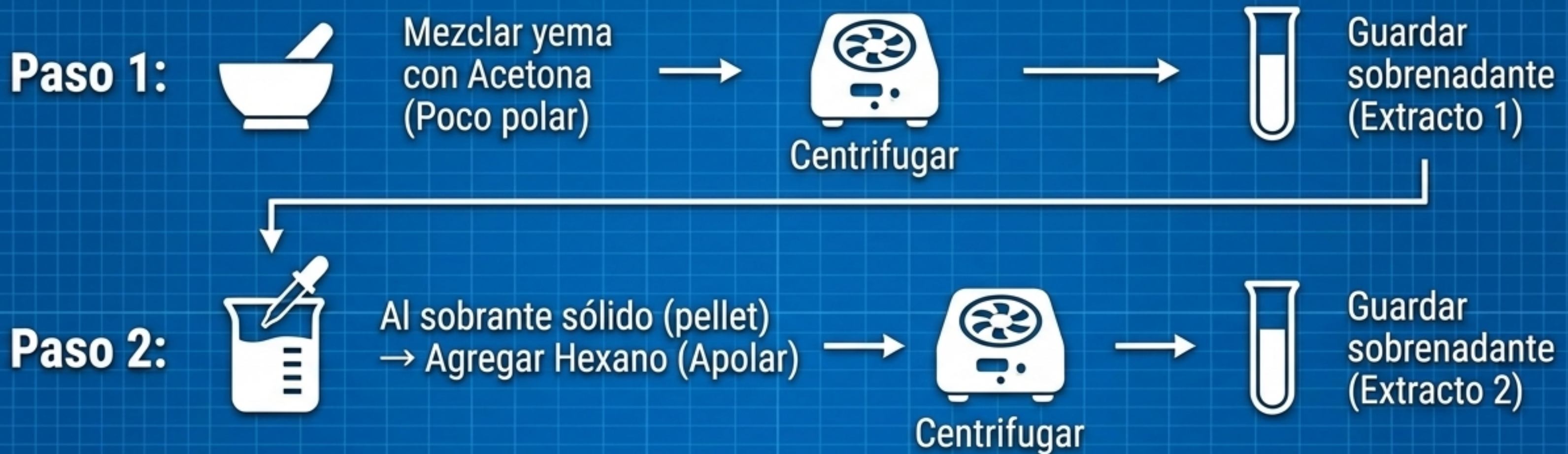


Capa Floculante: ¡Nuestros Lípidos!
Flotando por baja densidad y repulsión absoluta al agua.

Fase Acuosa: PBS con azúcares y proteínas solubles.

Fondo (Pellet): Restos celulares pesados e insolubles.

Actividad 2 y 3 - Extracción y Detección de Colesterol



Revelado


Agregar reactivo de Boehringer-Mannheim al residuo seco. Este reactivo contiene enzimas que oxidan el colesterol, produciendo un compuesto coloreado (quinona) cuya intensidad es proporcional a la cantidad de colesterol extraído.



Actividad 4 - El Reto de Solubilidad

Los Solventes

Los Lípidos

| | |  | | |
|---|---|--|--|--------------------------------------|
| | | Agua Destilada (Polar) | Acetona (Poco polar) | Hexano (Totalmente apolar) |
| Aceite de Olivo (Líquido a temp. ambiente) | Insoluble. Forma 2 fases, gotas en superficie. | Parcialmente soluble. Turbidez. | Soluble. Solución homogénea. | |
| Mantequilla (Sólido a temp. ambiente) | Insoluble. Se funde, forma 2 fases en superficie. | Parcialmente soluble. Turbidez, sedimento. | Soluble. Solución translúcida, poco sedimento. | |
| Extracto de Semillas (Líquido viscoso) | Insoluble. Forma 2 fases, gotas en superficie. | Parcialmente soluble. Turbidez. | Soluble. Solución homogénea. | |
| Extracto de Yema de Huevo (Líquido viscoso/pasta) | Insoluble. Forma 2 fases. | Parcialmente soluble. Turbidez. | Soluble. Solución homogénea. | |

Condición: Incubar a 37°C por 20 minutos.

PROTOCOLO DE SEGURIDAD ESTRICTO



Hexano y Acetona: Son altamente volátiles y flamables.
Riesgo grave de ignición y neurotoxicidad por inhalación.



Cero Fuego: Queda **STRICTAMENTE PROHIBIDO** el uso de mecheros de llama abierta en las mesas durante esta sesión. Todo calentamiento debe realizarse exclusivamente en **baño maría eléctrico** o **platina controlada**.



Contención de Vapores: Inhalación peligrosa. Mantener los tubos herméticamente tapados inmediatamente después del aforo con solventes.



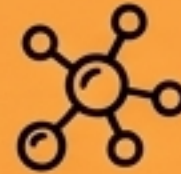
CÓDIGO DE SEGURIDAD ACTIVO: Uso activo de Acetona y Hexano.

Análisis de Resultados (Para la Bitácora)



Discusión 1 (Termodinámica Física):

La floculación ocurre porque los lípidos son menos densos que el agua y altamente hidrofóbicos. Al calentar y centrifugar en medio acuoso, las gotas de grasa coalescen y flotan a la superficie, formando una fase separada (flóculo) que permite su extracción física inicial sin necesidad de solventes orgánicos agresivos.



Discusión 2 (Afinidad Química):

El hexano (totalmente apolar) es un mejor solvente para el colesterol que la acetona (poco polar) debido al principio de "lo semejante disuelve a lo semejante". La estructura predominantemente apolar del colesterol interactúa más favorablemente con las moléculas apolares del hexano mediante fuerzas de Van der Waals, resultando en una mayor extracción.



Discusión 3 (Transición de Fase):

A 37°C, la mantequilla (sólida a temp. ambiente por sus ácidos grasos saturados) se funde. Esta **transición de fase a líquido aumenta la energía cinética y el desorden molecular**, permitiendo que los solventes **penetren y solubilicen las grasas más eficazmente**, comportándose de manera similar al aceite de oliva (líquido e insaturado).