

Detección de lípidos en alimentos

La característica más importante de los lípidos, desde el punto de vista físico, es su insolubilidad en agua. Gracias a ella pueden formar las membranas que permiten la existencia de las células y se pueden almacenar de forma compacta, ocupando poco espacio, para ser utilizados como reserva energética. Sin embargo es precisamente esa insolubilidad la que hace difícil su análisis y trabajar con ellos. De hecho, es necesario utilizar detergentes o disolventes orgánicos apolares para poder extraerlos de los tejidos biológicos.

El contenido en lípidos de los alimentos es muy variado y es importante conocerlo porque en determinadas situaciones tiene una relación directa con nuestra salud. Así, un excesivo consumo de grasas saturadas o colesterol puede provocar obesidad y alteraciones cardiovasculares, mientras que una deficiencia en la ingesta de determinados ácidos grasos (poliinsaturados) puede provocar falta de vitaminas y retrasos en el desarrollo, entre otras afecciones.

En la práctica se van a realizar dos ensayos. Uno para la detección de lípidos totales (prueba del *Sudan III*) y otro para la detección del colesterol (reacción de *Salkowski*) presentes en algunos alimentos.

Reactivos:

- Cloroformo
- Reactivo de Sudán III
- Ácido sulfúrico concentrado
- Agua destilada
- Pipetas Pasteur de plástico
- Pipetas Pasteur de vidrio
- Pipetas de vidrio (5 ml)
- Pipeteadores manuales
- Tubos de ensayo de vidrio

Procedimiento

a) Lípidos en general (reacción del Sudan III)

El colorante *Sudan III* es muy soluble en disolventes orgánicos y tiñe los lípidos porque se disuelve en ellos, con más afinidad que en disolventes polares como el agua.

Preparación de las muestras: Marcar 4 tubos con los números 1 al 4 y añadirles:

- Tubo 1.- 2 ml de agua
- Tubo 2.- 2 ml de aceite de oliva
- Tubo 3.- 2 ml de leche desnatada
- Tubo 4.- 2 ml de leche entera

Añadir a cada uno de los tubos 5 gotas de reactivo Sudán III. Agitar los tubos y dejarlos reposar unos minutos. Observar y anotar el aspecto de cada tubo.

b) Colesterol (reacción de Salkowski)

La mayoría de los lípidos son insolubles en agua pero son solubles en disolventes orgánicos apolares o poco polares como el cloroformo. El tratamiento con cloroformo de una muestra hace que los lípidos se disuelvan en él y de esta manera pueden ser separados del resto de la muestra. Uno de los lípidos que se disuelven muy bien en el cloroformo es el colesterol.

El Ácido sulfúrico concentrado reacciona con el colesterol dando un compuesto de color marrón

Preparación de las muestras: Cada pareja de alumnos, en cada lado de mesa, trabajará con dos de los tubos Marcar 4 tubos con las letras **C, H, L.D.** y **L.E.**

- **Tubo C.**- Control (C): mezclar 1 ml de agua con 2 ml de cloroformo
- **Tubo H.**- Yema de huevo (H): diluir 0'5 ml de yema de huevo con 1 ml de agua. Añadir 2 ml de cloroformo
- **Tubo L.D.**- Leche desnatada (L.D.): mezclar 1 ml de leche desnatada con 2 ml de cloroformo
- **Tubo L.E.**- Leche entera (L.E.): mezclar 1 ml de leche entera con 2 ml de cloroformo

Procedimiento

Agitar los tubos durante 1 minuto y dejar reposar durante 5 min (alternativamente se pueden centrifugar los tubos a máxima velocidad durante 1-2 minutos). Como el cloroformo es inmisible con el agua pero más denso que ella, la mezcla resultante de la extracción de lípidos formará dos capas (o fases) estando el cloroformo con los lípidos disueltos en la fase inferior.

Con pipetas Pasteur de vidrio, extraer 1'5 ml de la fase inferior de cada tubo y trasvasarlo a otro tubo previamente marcado con las mismas letras que en el caso anterior.

Con el tubo inclinado añadir, a cada uno de los tubos, **muy despacio y dejando resbalar** por la pared del tubo, 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Agitar. Anotar los cambios de color que se producen

Cuestiones:

¿Cuáles son las diferencias entre el control de agua y las otras muestras con el colorante *Sudan III*?

¿Qué muestras tienen lípidos con la tinción de *Sudan III*?

¿Qué muestras dan color con el ácido sulfúrico?

¿Qué muestras tienen más colesterol? Establece una escala

¿Porqué no se puede utilizar el reactivo *Sudan III* con las muestras de cloroformo?