

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	1 de 1

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA

NORMAS DE SEGURIDAD

La realización de prácticas de laboratorio, requiere atención a una serie de detalles que pueden evitar consecuencias desagradables. Las normas de seguridad en el laboratorio han sido elaboradas a partir de innumerables experiencias a lo largo y ancho de los laboratorios de bioquímica que funcionan en el mundo conocido. No son consecuencia del capricho de los profesores. Han sido propuestas para minimizar accidentes y proporcionar el mayor grado de seguridad posible a las personas que se dedican a la práctica de esta interesante disciplina.

Recuerde que el laboratorio es un lugar serio de trabajo. Las prácticas de laboratorio serán realizadas en grupo y cada grupo se ubicará en un determinado espacio de la mesa de trabajo, del cual debe hacerse responsable y mantenerlo limpio y en orden. El estudiante debe proveerse de un pedazo de tela para la limpieza de su lugar de trabajo.

1. Antes de llegar a realizar cada una de las prácticas, **LEA CUIDADOSAMENTE** la guía correspondiente, preparando un diagrama de flujo de la misma.
2. Para ingresar al laboratorio de Bioquímica, es requisito indispensable:
 - 2.1 *El uso de bata de laboratorio.* La misma debe ser de tela blanca no inflamable, manga larga y debe cubrir desde los hombros y el cuello hasta la rodilla. Igualmente, debe presentar al menos un bolsillo a la altura del pecho y dos más en la parte inferior. La bata de laboratorio debe permanecer abotonada. Por su seguridad, la bata de laboratorio debe poder ser retirada con facilidad en caso de accidente, por lo mismo se recomienda el uso de botones para cerrar la misma.
 - 2.2 *El uso de gafas de seguridad.* Las gafas de seguridad para el laboratorio de bioquímica, deben ser de material transparente resistente al impacto. Deben cubrir totalmente los ojos desde el inicio de la cuenca ocular en el borde exterior del cráneo, hasta el borde externo de la nariz. Igualmente, debe cubrir desde la parte superior de las cejas hasta la parte inferior de la cuenca ocular. Por su seguridad, el estudiante debe permanecer con ellas permanentemente puestas el tiempo que dure la práctica. No está permitido el uso de lentes de contacto durante las prácticas de laboratorio de bioquímica. La presencia de sustancias irritantes y contaminantes puede comprometer seriamente su visión de forma permanente al penetrar entre el lente y la superficie del ojo.
 - 2.3 *El uso de indumentaria adecuada.* No debe ingresar al laboratorio vistiendo ropas que dejen al descubierto el abdomen, las piernas o los pies.
 - 2.4 *Permanecer con el cabello recogido:* No está permitido el uso de gorras, sombreros, turbantes o dispositivos semejantes, para aquellas personas que tiene el cabello de longitud apreciable, puede ser amarrado mediante un dispositivo adecuado.
 - 2.5 *Presentar el diagrama de flujo de la práctica a realizar.* El diagrama de flujo debe presentarse en el cuaderno de laboratorio. El diagrama de flujo de la práctica es de carácter eminentemente individual.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	2 de 1

3. Al ingresar al laboratorio asegúrese de conocer la ubicación de extintores de incendio, llaves de gas, duchas y salidas de emergencia.
4. En el laboratorio está terminantemente prohibido el uso de celulares, audífonos o cualquier otro dispositivo que distraiga la atención del practicante o de sus compañeros.
5. Al realizar las prácticas, solo efectúe la señalada para ese día, siguiendo las correspondientes normas de seguridad.
6. Al recibir su material de manos del auxiliar de laboratorio, verifique que se encuentre en buen estado. **NO ACEPTE MATERIAL AVERIADO** pues todo material roto o extraviado durante la práctica será responsabilidad de los integrantes del grupo de trabajo.
7. No toque las sustancias ni los aparatos de los estantes sin autorización.
8. No desplace hasta su lugar de trabajo los diferentes reactivos en los frascos principales. Mida la cantidad indicada en el lugar en que estos se encuentran y luego, haciendo uso de un recipiente adecuado, desplácese hasta su lugar de trabajo, con el mismo.
9. No juegue con las llaves de agua, gas, entre otros, que se encuentran en las mesas.
10. Si deja caer sustancias químicas sobre la mesa, limpie inmediatamente.
11. En caso de accidente en el que se vierta sobre sí un ácido o cualquier sustancia corrosiva, lávese inmediatamente con abundante agua.
12. No toque directamente con las manos las sustancias químicas desconocidas.
13. Si desea conocer el olor de una sustancia, no acerque la cara directamente, abanique un poco de vapor a las fosas nasales, moviendo la mano sobre la sustancia o el recipiente que contiene la sustancia.
14. Compruebe cuidadosamente los rótulos de los frascos de reactivos antes de usar su contenido.
15. No devuelva los sobrantes de compuestos usados a los frascos originales, no introduzca objetos extraños dentro de ellos, no cambie las tapas de los frascos de reactivos por ningún motivo.
16. No transite por el laboratorio con líquidos en goteros o pipetas. Cuando deba medir líquidos, tenga siempre a mano el recipiente sobre el cual va a depositar el líquido medido.
17. Para medir líquidos en el laboratorio haciendo uso de goteros o pipetas, no pipetee succionando con la boca. Haga uso de las peras o de los dispositivos adecuados para cada sistema de medida.
18. No transite por el laboratorio con sólidos en espátulas. Cuando deba pesar un sólido, tenga siempre a mano el recipiente sobre el cual va a depositar el sólido pesado.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	3 de 1

19. No ingiera alimentos ni bebidas durante su permanencia en el laboratorio.
20. No fume dentro del laboratorio.
21. Al momento de encender el mechero, verifique que las llaves y manguera correspondan al respectivo mechero.
22. Antes y después del experimento, asegúrese de la limpieza de las mesas y aparatos usados, deje todo en su sitio.
23. Todo material roto o extraviado durante la práctica será de responsabilidad de todos los integrantes del grupo.


OPERACIONES PELIGROSAS

1. Nunca caliente un tubo de ensayo, dirigiendo éste hacia sí o hacia algún compañero, las sustancias que se calientan, generalmente líquidas, pueden proyectarse violentamente hacia afuera, provocando un accidente.
2. Nunca prenda un mechero, abriendo totalmente la llave de gas y manteniendo la cara sobre el mismo; la presión del gas produce una llama bastante larga que podría causarle quemaduras.
3. Tenga mucho cuidado al introducir un tubo o un termómetro a través de un tapón de corcho o de jebe. La presión, deberá ejercerse sobre el tubo en un punto próximo al tapón; si se presiona desde el extremo opuesto, se tendrá mayor facilidad, pero puede producirse una palanca que fácilmente lo rompa, es aconsejable cubrirse la mano con un guante de cuero grueso y humedecer en agua, aceite o álcali el tubo o termómetro.
4. Emplee siempre la pinza para coger los tubos, especialmente cuando está efectuando calentamiento. Recuerde que el tubo no siempre se pone rojo cuando está lo suficientemente caliente, como para producir dolorosas quemaduras.
5. Mantenga lejos de la cara, extendiendo bien los brazos, toda clase de reactivos cuando por primera vez se ha de verificar alguna reacción química. Muchas veces ésta desprende gran cantidad de calor, que puede proyectar violentamente los reactantes fuera del tubo.
6. Siempre que deba hacer soluciones acuosas de ácidos y bases fuertes, **VIERTA EL REACTIVO SOBRE EL AGUA** y no al contrario. El incumplimiento de esta norma puede causar salpicaduras, quemaduras graves e incluso explosiones.

EN CASO DE ACCIDENTE

En cualquier tipo de incendio, inmediatamente cerrar toda llave de salida de gas. Si la llama es pequeña, puede ser apagada con una toalla húmeda o con el extintor.

ÁCIDOS EN LA ROPA: Si cae algo de ácido en el vestido, aplicar inmediatamente solución de amoníaco. Si la cantidad derramada es muy grande, retire la ropa rápidamente y coloque al accidentado bajo la ducha de emergencia. Lave con abundante agua. En caso de accidente, el pudor debe ser dejado en segundo plano pues prima la seguridad y la salud.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	4 de 1

FUEGO EN LA ROPA: Inmediatamente cubrir con una manta o con una toalla. De ser necesario, retire la ropa rápidamente y coloque al accidentado bajo la ducha de emergencia. Lave con abundante agua. En caso de accidente, el pudor de be ser dejado en segundo plano pues prima la seguridad y la salud.

INCENDIO DE REACTIVOS: Cuando hay incendios en vasos o frascos de laboratorio, tapar inmediatamente la boquilla de éstos con una plancha de asbesto o con una toalla húmeda. Para incendios mayores usar el extintor.

CORTES: Producidos por roturas de tubos de vidrio o termómetros, deben ser lavados con agua, aplicar un antiséptico y luego una venda.

ÁCIDOS EN LOS OJOS: Lavar inmediatamente la parte afectada con bastante agua, luego con una solución saturada de ácido bórico o una solución de ácido acético al 1%; secar y poner dentro del ojo unas gotas de aceite de oliva.

ÁLCALI EN LOS OJOS: Lavar inmediatamente la parte afectada con bastante agua, luego con una solución saturada de ácido bórico.

QUEMADURAS PRODUCIDAS POR:

ÁCIDOS: Lavar con bastante agua, luego con una solución saturada de bicarbonato de sodio, volver a lavar con agua, secar con gasa y aplicar picrato de butesina.

FENOL: Lavar con alcohol al 50% con una solución de agua de bromo al 1%, secar y aplicar vaselina.

BROMO: Lavar con bastante agua, luego con una solución concentrada de bisulfito de sodio hasta eliminar el bromo lavar con agua, secar y aplicar vaselina.

FUEGO: Las quemaduras por fuego o por contacto con objetos calientes se alivian, aplicando a la parte afectada picrato de butesina.

ATENCIÓN:

EN CASOS GRAVES, SOLICITAR ATENCIÓN MEDICA.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	5 de 1

1. Título: RECONOCIMIENTO DEL MATERIAL DE LABORATORIO

2. Objetivos

- Identificar el uso del material de vidrio y de la balanza.
- Diferenciar los errores que se pueden cometer en un instrumento de medida conociendo su apreciación y/o error instrumental.

3. Marco Teórico

El fascinante mundo de la Bioquímica no se encuentra vedado para persona alguna. Aun siendo universalmente disponible, es necesario que el neófito comience por familiarizarse con los nombres y usos específicos de los materiales de uso cotidiano en el laboratorio. En esta práctica, se abrirán las puertas de la ciencia haciendo un reconocimiento de los diferentes materiales de laboratorio que serán usados por los estudiantes en el desarrollo de sus prácticas.

4. Materiales, Equipos e Insumos

Una (1) balanza de tres brazos	Una (1) espátula
Un (1) frasco lavador	Un (1) vidrio de reloj
Un (1) vaso de precipitados de 50 mL	Un (1) vaso de precipitados de 100 mL
Un (1) erlenmeyer de 250 mL	Un (1) balón de fondo redondo de 250 mL
Una (1) pipeta graduada de 10 mL	Un (1) erlenmeyer con desprendimiento lateral
Una (1) pipeta aforada de 10 mL	Una (1) probeta de 10 mL
Una (1) bureta de 25 mL	Un (1) balón aforado de 100 mL
Un (1) termómetro de -10 a 110 °C	Un (1) pipeteador
Una (1) cápsula de porcelana	Un (1) picnómetro de 10mL
Un (1) juego de pinzas de laboratorio	Un (1) mechero de gas
Un (1) mortero con pistilo	Un (1) juego de soporte, pinzas, aros, nuez y malla de asbesto
Un (1) agitador de vidrio	Un (1) crisol de porcelana
Un (1) embudo de vidrio	Un (1) churrusco

5. Reactivos

500 mL Agua destilada	10 g NaCl
-----------------------	-----------

6. Procedimiento

Antes de ingresar al laboratorio para realizar esta práctica, el estudiante deberá consultar la información correspondiente a cada uno de los instrumentos enumerados en la lista de materiales. Igualmente deberá consultar el significado de las siguientes expresiones:


- Aforado
- Volumétrico
- Menisco (referente a medidas de laboratorio con material volumétrico y graduado)
- Graduado (referente a material de laboratorio)

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	6 de 1

- Grado de precisión
- Grado de exactitud

El profesor de laboratorio presentará ante los estudiantes, todos y cada uno de los materiales solicitados en la lista. Describirá las principales características de los mismos y su uso particular. En el caso de los materiales graduados, el profesor indicará el grado de precisión y exactitud de los mismos, haciendo énfasis especialmente en los cuidados de su uso. Adicionalmente explicará el cuidado que se debe tener en la forma del menisco a la hora de hacer medidas volumétricas de líquidos.

1. Calibre la balanza de tres brazos, según las indicaciones de su profesor
2. Repita la acción anterior, previo desajuste intencional de la balanza
3. Haciendo uso de la espátula, mida cerca de un (1) gramo del material sólido disponible en el vaso de precipitados de 100 mL de capacidad
4. Coloque el vidrio de reloj sobre la bandeja de la balanza y pese el mismo. Escriba en su cuaderno de laboratorio el peso obtenido, con las cifras significativas correctas a la vez que indica la precisión de la medida realizada.
5. Repita tres (3) veces el procedimiento del numeral cuatro (4).
6. Sin retirar el vidrio de reloj de la balanza ni desajustar la última medida, vierta desde el vaso de precipitado el sólido que midió en el paso número tres (3). Tome nota del peso obtenido.
7. Retire el vidrio de reloj, junto con su contenido, de la balanza. Lleve a ceros (0) la misma.
8. Vuelva a pesar el conjunto vidrio de reloj-material sólido. Registre el resultado.
9. Repita los pasos siete (7) y ocho (8) tres (3) veces.
10. En su informe de laboratorio deberá presentar un análisis de los resultados obtenidos indicando precisión de la balanza usada y criterios de selección de los resultados, cuando esto sea necesario.
11. Pese un vaso de precipitados limpio y seco
12. Haciendo uso de la pipeta graduada de diez (10) mL, mida 10 mL de agua. Tenga especial cuidado con la forma y ubicación del menisco. Coloque el líquido medido, en el vaso de precipitados pesado en el paso anterior.
13. Pese el conjunto vaso-líquido. Registre este resultado en su cuaderno de laboratorio
14. Retire el vaso de precipitados, junto con su contenido, de la balanza. Lleve a ceros (0) la misma.
15. Vuelva a pesar el conjunto vaso-líquido. Registre el resultado en su cuaderno de laboratorio.
16. Repita los pasos catorce (14) y quince (15) tres (3) veces.
17. Usando el termómetro suministrado, mida la temperatura del agua. Registre el resultado en su cuaderno de laboratorio.
18. Espere un (1) minuto y repita la medida. Registre el resultado en su cuaderno de laboratorio.
19. Repita los pasos diecisiete (17) y dieciocho (18) tres (3) veces. Registre los resultados en su cuaderno de laboratorio.
20. Haciendo uso de una tabla de densidades del agua en función de la temperatura, determine el volumen de la misma usando los resultados de la pesada. Compare el resultado con las medidas de volumen realizadas con la pipeta graduada. Indique posibles fuentes de error o los motivos para las diferencias entre el resultado matemático y el obtenido experimentalmente.
21. Medir 10 mL de agua con una pipeta aforada.
22. Transferir esta cantidad de agua a la probeta 10mL y mida.
23. Medir 10 mL con la pipeta graduada

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	7 de 1

24. Transferir esta cantidad de agua a la probeta y mida.
25. Comparar y analizar los resultados respecto a precisión y exactitud
26. Compare precisión y exactitud entre las pipetas y la probeta.
27. Entregue los materiales limpios y secos antes de retirarse del laboratorio.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	8 de 1

1. Título: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

2. Objetivos:

- Adquirir destreza en la preparación de soluciones de ácidos, bases y sales.
- Familiarizar al estudiante con el uso del material volumétrico (probeta, pipeta, bureta y balón aforado).

3. Marco Teórico

Una solución es una mezcla homogénea de dos o más sustancias. La especie minoritaria de la solución se llama *soluta*, y la especie mayoritaria, *solvente*. En la mayoría de los casos se hace referencia a soluciones acuosas en las que el solvente es el agua. La concentración indica la cantidad de soluto que hay en determinada cantidad de solución. Existen diversas formas de expresar la concentración de una solución:

- **Porcentaje en peso (%p/p):** Expresa los gramos de soluto contenidos en 100 g de solución. Por ejemplo, una solución de NaCl al 5 % en peso contiene 5 g de NaCl y 95 g de agua por cada 100 g de solución.

$$\% \frac{p}{p} = \frac{g \text{ soluto}}{g \text{ solución}} \times 100$$

- **Molaridad (M):** Se define como el número de moles de soluto por litro de solución. Por ejemplo, un (1) litro de solución acuosa de NaCl 1M se puede preparar adicionando un (1) mol de NaCl (58.5 g) a un balón aforado de un litro y agregar agua hasta la marca de aforo.

$$M = \frac{\text{moles de soluto}}{L \text{ solución}}$$

- **Normalidad (N):** Se define como el número de equivalentes-gramo de soluto por litro de solución. Por ejemplo: Para preparar un litro de solución de H₂SO₄ 1N se debe agregar un equivalente-gramo de H₂SO₄ (49 g) a un balón aforado de un litro y adicionar agua hasta la marca de aforo.

$$N = \frac{\text{Equivalente - gramo de soluto}}{L \text{ solución}}$$

- **Dilución:** Con mucha frecuencia en el laboratorio se requiere preparar una solución a partir de otra solución de mayor concentración. Para diluir una solución, se debe agregar más solvente. El número de moles de soluto permanece constante antes y después de la disolución.

$$V_c \times C_c = V_d \times C_d$$

Donde:

V_c= Volumen de la solución concentrada

C_c= Concentración de la solución concentrada

V_d= Volumen de la solución diluida

C_d= Concentración de la solución diluida

4. Materiales, Equipos e Insumos

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	9 de 1

Una (1) balanza analítica	Una (1) espátula
Un (1) frasco lavador	Un (1) vidrio de reloj
Un (1) vaso de precipitados de 50 mL	Un (1) vaso de precipitados de 100 mL
Un (1) erlenmeyer de 250 mL	Un (1) agitador de vidrio
Una (1) pipeta graduada de 10 mL	Un (1) embudo de vidrio
Una (1) pipeta aforada de diez 10 mL	Una (1) probeta de 100 mL
Una (1) pipeta graduada de 10 mL	Dos (2) balones aforado de 100 mL
Una (1) pipeta aforada de diez 10 mL	
Un (1) churrusco	Un (1) pipeteador

5. Reactivos

Agua destilada	Cloruro de sodio (NaCl)
Hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas	Ácido clorhídrico (HCl) concentrado

6. Procedimiento

Parte I. preparación de 100 g de solución de NaCl al 10 %p/p:

Pese 10 g de NaCl en un vaso de precipitados de 150 mL. Mida 90 mL de agua destilada en una probeta (suponga que la densidad del agua es 1 g/mL) y cuidando de no perder agua agréguelos al vaso que contiene el NaCl. Agite suavemente con una varilla de vidrio hasta que se disuelva toda la sal. Seguidamente, rotule indicando la concentración, la fecha y su nombre.

Parte II. Preparación de 100 mL de solución 2M de NaCl:

Realice los cálculos necesarios para obtener la cantidad de NaCl necesarios para preparar 100 mL de solución de NaCl 2M, pese esta cantidad en un vaso de precipitados de 100 mL. Retire de la balanza el vaso de precipitados que contiene la sal y agregue aproximadamente 45 mL de agua destilada. Agite con cuidado hasta disolver toda la sal, transfiera esta solución con la ayuda de un embudo a un balón aforado de 100 mL. Enjuague varias veces las paredes del vaso utilizando un frasco lavador y agregue las aguas del lavado al balón aforado. Seguidamente afore hasta la marca de aforo. Tape el balón, agite y rotule.

Parte III. Preparación de 100 mL de solución 0.02M de NaCl:

Mediante cálculos determine el volumen que debe tomarse de la solución 2M para preparar esta solución, mézclalo en una pipeta y deposítelo en un balón aforado de 100 mL, el cual debe contener unos 20 mL de agua destilada previamente, afore hasta marca de aforo con agua destilada, agite y rotule.

Parte IV. Preparación de 100 mL de solución 0.1M de NaOH:

Siga las instrucciones de la parte III y prepare por dilución esta solución a partir de una solución de NaOH 1M. Rotule la solución.

Parte V. Preparación de 100 mL de solución 0.1N de HCl:

Mediante cálculos determine que volumen de ácido del 37% de pureza en peso y densidad 1,19 g/mL, debe tomarse para preparar 100 mL de solución 0.2N. Mida este volumen con una pipeta adecuada y transféralo a un balón aforado de 100 mL (el balón deberá contener unos 50 mL de agua para evitar que salpique), adicione agua destilada hasta la marca de aforo. Agite y rotule la solución.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	10 de 1

7. Resultados

- Muestre todos los cálculos que se requieren para preparar cada una de las soluciones anteriores.
- ¿Cuáles serían las posibles fuentes de error al preparar las anteriores soluciones?

8. Preguntas y Ejercicios

- ¿Por qué deben guardarse en recipientes tapados las soluciones de concentración conocida?
- ¿Cuántos gramos de NaOH se requieren para preparar 250 mL de solución 0.2M?
- Explique cada uno de los pasos requeridos para preparar:
 - a). 500 mL de solución 0.2M de HCl a partir de HCl concentrado (36% en peso de HCl y densidad 1.18 g/mL)
 - b). 2 L de NaOH 0.3M a partir de NaOH del 99.5 % de pureza en peso.
- ¿A qué volumen final deben diluirse 50 mL de NaOH 6M para obtener una solución 1M de NaOH? Explique.

9. Referencias

BRICEÑO, Carlos Omar y RODRIGUEZ, Lilia. Química. 1 ed., Bogotá: Editorial educativa, 1993. p. 409-415.

GARZON, Guillermo, Fundamentos de química general. 2 ed., Bogota: McGraw-Hill, 1989. P. 419-422.

RUSSELL, J. y LARENA, A. Química. 1 ed., México: Prentice-Hall hispanoamericana, 1989. P. 317-330.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	11 de 1

1. Título: DETERMINACIÓN DEL pH Y PREPARACIÓN DE SOLUCIONES AMORTIGUADORAS

2. Objetivo

Aprender el uso correcto del pH metro y preparar soluciones con diferentes valores de pH.

3. Marco Teórico

El pH de una solución acuosa se define como el logaritmo negativo de la concentración molar de hidrogeniones (H_3O^+). La determinación de pH es muy importante, ya que influencia de manera directa en la carga de la molécula y en su actividad biológica. El producto iónico del agua es la base de la escala del pH propuesta por Sørensen ($K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}$ $pH = -\log [H^+]$). La escala de pH permite expresar la concentración de iones hidronio (protón hidratado) comprendida entre 1M y $1 \times 10^{-14}M$, extremos que corresponden a pH 0 y 14, la neutralidad es igual a pH 7.0. La manera más conveniente y exacta de determinar el pH es usando un electrodo de vidrio. Este electrodo depende del intercambio de iones en las capas hidratadas formadas sobre la superficie del electrodo de vidrio. Generalmente se utiliza vidrio compuesto de aproximadamente 22% de Na_2O , 6% de CaO y 72% de SiO_2 . Este vidrio muestra una especificidad hacia los iones hidrógeno hasta un pH de cerca de 9; a valores mayores de pH, la membrana se vuelve sensible a iones sodio y otros iones alcalinos. Esto se evita empleando membranas construidas con vidrio en que el sodio se reemplaza por litio. El electrodo de vidrio debe mantenerse en agua destilada o en solución de KCl saturada para evitar el crecimiento de microorganismos. En el electrodo de vidrio está presente un electrodo de referencia interno de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) rodeado por un electrolito de HCl 0.1M. Este electrodo de referencia interno produce un potencial estacionario.

El electrodo de vidrio actúa como una batería cuyo voltaje depende de la actividad del H^+ de la solución en que está sumergida. En el pHmetro, el electrodo de vidrio y el electrodo de referencia de calomel, están diseñados para que a pH 7 dé un potencial cero. Antes de medirse el pH de una solución desconocida el pHmetro se estandariza con soluciones amortiguadoras de pH conocidos. El voltaje depende de la temperatura, por lo que los potenciómetros tienen un control de ajuste para la temperatura de la solución. Los electrodos de vidrio son frágiles y caros, por lo tanto deben manejarse con cuidado. Si se mide el pH de soluciones de proteínas, se puede formar una capa delgada en el electrodo; puede removerse sumergiendo en HCl 0.1N, y después limpiando con detergente diluido y enjuagando con agua. Por otro lado, las soluciones amortiguadoras ("buffers" o soluciones tampón), son aquellas capaces de mantener el pH dentro de un rango de variación mínima. Están formadas generalmente por un ácido débil y su base conjugada cuando se trabaja a pHs por debajo de 7. En el caso de pHs alcalinos se usa una base débil con su ácido conjugado respectivo. La eficiencia de una solución reguladora está regida por dos factores: (a) La concentración total del regulador (suma de las concentraciones del ácido débil y de la sal). Cuanto más concentrado sea un regulador, más tolerante será a la adición de ácidos o bases fuerte. (b) Por la relación

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	12 de 1

existente entre la base conjugada y el ácido. Cuando esta relación es igual a 1, la solución reguladora tiene su máxima eficiencia. Este valor se alcanza cuando el pH del regulador es igual al pKa de ácido. La E=ecuación de Henderson y Hasselbalch, es muy útil para la preparación de las soluciones amortiguadoras. ($\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{sal}]}{[\text{Ácido}]}$). El pH más adecuado para que una solución amortiguadora funcione eficientemente, es cuando se encuentra en un rango de pH igual a su pKa ± 1

4. Materiales, Equipos e Insumos

- 3 Matraces Erlenmeyer.
- Potenciómetro
- Pipetas Pasteur
- Probetas de 200 ml
- Vaso de precipitados de 250 ml,
- Piseta con agua, agitador magnéticas, espátula.

5. Reactivos

- Muestras para determinar pH: leche, jugo, etc. (*)
- KCl saturado
- Solución estándar pH 4, pH 7 y pH 10
- Solución de ácido bórico 0.1 M
- Solución de NaOH 10M
- HCl concentrado
- ácido acético
- acetato de sodio
- EDTA
- KH_2PO_4
- K_2HPO_4

***(*)proporcionado por el estudiante**

6. Procedimiento

Uso del pH metro y medición del pH

- El electrodo del pHmetro siempre debe estar sumergido en una solución de KCl o agua destilada. Enjuagar el electrodo con agua destilada y secar (Fig.1A).
- Ajustar el pHmetro primero a pH 7, después a 4 y finalmente a 10 con soluciones reguladoras comerciales. Entre cada pH enjuagar con agua destilada (Fig.2B).
- Determinar el pH de varias muestras como leche, jugos, refrescos, etc.

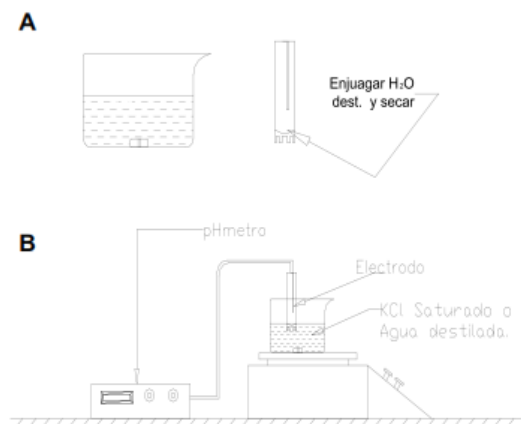


FIGURA 1. Representación esquemática de un pH-metro.

Preparación de diferentes soluciones

- Preparar 50 mL de una solución reguladora de acetato de sodio 50 mM, pH 5. Para realizar esto, primero debes calcular cuántos gramos de acetato de sodio se necesitan, disolverlos en menos de 50 ml de agua destilada (por ejemplo 30mL) y ajustar el pH a 5 con ácido acético. Usar la formula $M = (n/V) = (m/PM)/V$ (M = molaridad, m =masa en gr, $P.M.$ = peso molecular y V = volumen en litros) para hacerlos cálculos.
- Preparar 50 mL de una solución reguladora de fosfatos (de potasio) 100 mM, pH 6. El H_3PO_4 tiene tres constantes de ionización y por lo tanto tres valores de pK_a . Se toman las especies iónicas que tengan un valor de pK_a más cercano a pH 6 ($H_2PO_4^{-1} \rightarrow HPO_4^{-2}$)
- Usaremos la siguiente tabla para preparar la solución amortiguadora

Tabla 1. Preparación de solución reguladora de fosfato a pHs entre 5.8 y 6.2

pH	K_2HPO_4 1M (ml)	KH_2PO_4 1M (ml)
5.8	0.85	9.15
6.0	1.32	8.68
6.2	1.92	8.08

Hasta aquí se han preparado 10 ml de una solución 1M, utilizar fórmula $C_1V_1=C_2V_2$

(C =concentración, V =Volumen) para preparar 50mL a 100 mM

- **Preparar 50 ml de EDTA 0.5 M pH 8**

Calcular cuántos gramos de EDTA necesitas, poner en 30 ml, comenzar a disolver con

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	14 de 1

agitador magnético y tratar de ajustar el pH cercano a 8 (el EDTA comenzará a disolverse) y adicionar poco a poco más agua. Ajustar a pH 8 y aforar a 50 ml.

7. Nivel de Riesgo

Medio. No olvidar que la eficiencia y buenos resultados en la práctica de laboratorio, además de la seguridad del personal que ejecuta la práctica dependen del cumplimiento de ciertas normas, que aunque en su mayoría se derivan del sentido común, es necesario hacer nota para tenerlas presentes.

- No dejar botellas abiertas y sin marcar, limpiar cualquier derrame, disponer de los desechos químicos en las líneas de desecho apropiadas.
- Tener cuidado con el montaje.
- Dejar el sitio de trabajo completamente limpio y ordenado, arrojando los desechos en los sitios designados para ello.

8. Bibliografía

1. Wilson, K., and Walker, J. 2000. Principles and Techniques of practical Biochemistry. Fifth edition. Cambridge University Press.
2. Robert, JF., and White B.J. 1990. Biochemical techniques theory and practice. 1st edition. Waveland Press, Inc. USA.
3. Douglas A. Skoog and Donald M. West. 1971. Principles of Instrumental Analysis. Holt, Rinehart and Winston, Inc.
4. Rodney F. Boyer. 1986. Modern Experimental Biochemistry. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
5. Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning. A laboratory Manual. Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press

9. Anexos

1. ¿Porque el pH del potenciómetro se ajusta primero a pH 7 y no a 4 o 10?
2. ¿Porque el electrodo se tiene que mantener en una solución de KCl saturado? En caso de no contar en el laboratorio con KCl, ¿Que otros compuestos pueden usarse?
3. ¿Si quisieras preparar un buffer de fosfatos de potasio pH 11, que sales seleccionarías?
4. ¿El buffer de acetato de sodio que preparaste está a un pH que se puede considerar adecuado para servir como solución reguladora? .Explica tu respuesta.
5. En la preparación del acetato de sodio, cual es el ácido y cual la base conjugada.



1. Título: ENSAYOS PARA PROTEÍNAS

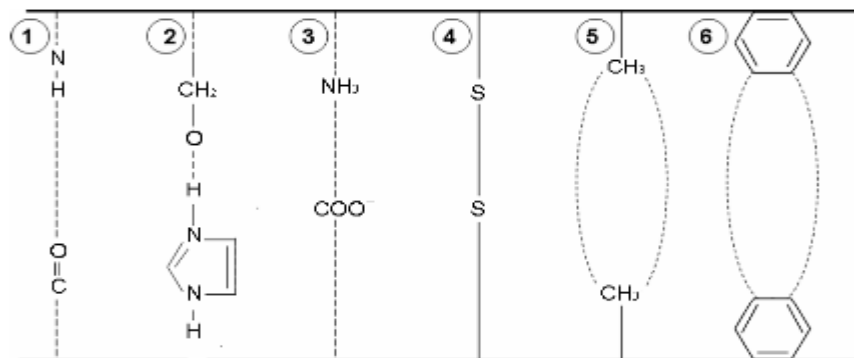
2. Objetivos

- Reconocer proteínas y aminoácidos mediante reactivos químicos específicos.
- Comprobar el efecto de algunos factores físicos y químicos sobre la estructura de las proteínas.

3. Marco Teórico

En las proteínas pueden reconocerse varios niveles de organización estructural. El primero de ellos es la estructura primaria, que consiste en arreglo aminoacídico en la molécula. Pauling y Corey basados en estudios de rayos X, sugirieron que la cadena peptídica puede existir en la forma de un resorte o hélice. Dichos investigadores consideraron un buen número de formas helicoidales, pero encontraron que solo la forma alfa-hélice llena los requisitos de máxima estabilidad. La otra forma secundaria se conoce como hoja plegada Beta, en la cual los puentes de hidrogeno se encuentran entre dos cadenas peptídicas paralelas cuyos átomos de N están orientados en la misma dirección o antiparalelos, donde solo las cadenas alternas están orientadas en la misma posición. La estructura terciaria es la disposición en el espacio de las hélices. O en otras palabras la forma tridimensional de la molécula de la proteína. Muchas de las moléculas de las proteínas se comportan como si fueran bastante compactas, y por lo tanto se conocen como proteínas globulares. Otras proteínas son más rígidas y forman hilos largos y se conocen como proteínas fibrosas. La estructura terciaria se mantiene por los enlaces que se muestran en la siguiente figura 1:

Figura 1. Tipos de interacciones químicas en las proteínas



1 y 2: Enlaces de hidrógeno

3: Enlace iónico

4: Enlace disulfuro

5 y 6: Enlaces hidrofóbicos

Algunas proteínas poseen subunidades de polipéptidos, que no están ligados por enlaces covalentes y la asociación de dichas subunidades para formar la molécula completa confiere una estructura cuaternaria a la proteína. Muchas proteínas de peso molecular por encima de 50.000 g/mol parecen tener estructura cuaternaria.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	16 de 1

Reacción de ninhidrina. La ninhidrina, un agente oxidante poderoso, reacciona con todos los alfa-aminoácidos un pH entre 4 y 8 para dar un compuesto de color púrpura. Reacción xantoproteica. Los aminoácidos que contienen un núcleo aromático forman derivados de color amarillo cuando se calientan con HNO₃ concentrado. Las sales de estos derivados son de color naranja. Reacción de Millón. Los compuestos que contienen el radical hidroxibenceno reaccionan con el reactivo de Millón formando compuestos rojos. Los únicos aminoácidos fenólicos es la tirosina y sus derivados y solamente ellos dan una reacción positiva. Prueba del nitroprusiato: Los grupos tioles reaccionan con nitroprusiato de sodio en presencia de amoníaco para dar un color rojo. Prueba de Biuret para enlaces peptídicos: El sulfato alcalino de cobre reacciona con compuestos que tengan dos o más enlaces peptídicos produciendo un complejo de coloración violeta. La intensidad del color obtenido es una medida de la cantidad de enlaces peptídicos presentes en la proteína. La reacción no es absolutamente específica para enlaces peptídicos, ya que cualquier compuesto que contenga dos grupos carbonilos unidos por un átomo de N o de C da un resultado positivo.

4. Materiales, Equipos e Insumos

- Potenciómetro (pH-metro)
- Pipeta graduada de 1 mL
- pipeta graduada de 5 mL
- vidrio reloj
- pipeteador
- beaker de 500 mL
- frasco lavador
- beaker de 50 mL
- termómetro
- espátula
- balón aforado de 50 mL
- Balanza analítica
- Bureta de mL
- Soporte universal con aro, malla y 2 pinzas para bureta
- Tubos de ensayo
- Gradilla

5. Reactivos

- NaOH en lentes
- HCl Concentrado
- KCl
- Etanol
- Cloroformo
- HNO₃ concentrado
- Ninhidrina 0.2 %
- Reactivo de Millon
- Nitrito de sodio 1% p/v

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	17 de 1

- Acido pícrico 2%
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Ácido tricloroacético 20%
- Nitroprusiato de sodio 2% p/v
- Hidróxido de amonio
- Solución de albumina (*)
- Soluciones buffer patrón

(*)proporcionado por el estudiante

*(La solución de albumina se prepara batiendo una clara de huevo durante un tiempo, y luego se mezcla con 5 veces su volumen con agua destilada. La mezcla se filtra con una tela y el filtrado es el que se utiliza para la realización de la práctica)

6. Procedimiento

Parte I. reacción de ninhidrina:

Colocar 1 mL de solución de aminoácido en un tubo de ensayo y ajustar el pH cercano a 7, agregar 5 gotas de la solución de ninhidrina y dejar hervir por 2 min.

Parte II. Reacción xantoproteica.

Agregar volúmenes iguales de ácido nítrico a aproximadamente 0.5 mL de solución de aminoácido, dejar enfriar y observar el cambio de color. Agregar suficiente hidróxido de sodio hasta que la solución alcance alcalinidad. El cambio de color amarillo en solución ácida a naranja brillante en solución básica, constituye un resultado positivo.

Parte III. Reacción de Millon.

A 1 mL de muestra agregar 5 gotas de reactivo de Millon y calentar en un baño de agua hirviendo por 10 min. Dejar enfriar a temperatura ambiente y agregar 5 gotas de nitrito de sodio al 1%. La aparición de un color ladrillo da un resultado positivo.

Parte IV. Prueba del nitroprusiato:

Mezclar 2 mL de la muestra con 0,5 mL de nitroprusiato de sodio al 1%. Adicionar 40 gotas de hidróxido de amonio. Observar.

Parte V. prueba de Biuret para enlaces peptídicos:

A 2 mL de muestra agregar 5 gotas de la solución de sulfato de cobre al 10% m/v y luego 2 mL de hidróxido de sodio 10 M; mezclar vigorosamente y observar.

Parte VI. Reactivo de Sakaguchi para la arginina.

Colocar 2 mL de una muestra de proteína en un tubo de ensayo adicionarle 1 mL de hidróxido de sodio 2 N, mezclar bien y luego agregarle 2 gotas de reactivo de Sakaguchi.

7. Nivel de Riesgo

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	18 de 1

Medio. No olvidar que la eficiencia y buenos resultados en la práctica de laboratorio, además de la seguridad del personal que ejecuta la práctica dependen del cumplimiento de ciertas normas, que aunque en su mayoría se derivan del sentido común, es necesario hacer nota para tenerlas presentes.

- No dejar botellas abiertas y sin marcar, limpiar cualquier derrame, disponer de los desechos químicos en las líneas de desecho apropiadas.
- Dejar el sitio de trabajo completamente limpio y ordenado, arrojando los desechos en los sitios designados para ello.

8. Bibliografía

H. Robert Horton, J. David Rawn, K. Gray Scrimgeour, Laurence A. Moran, Marc D. Perry. Principles of Biochemistry. 4 ed. Pearson Prentice Hall, 2006.p.107-110

9. Anexos

1. Haga la diferencia entre un L-aminoácido, un péptido y una proteína. Cite un ejemplo de cada uno.
2. Ilustre la formación de un enlace peptídico a partir de dos aminoácidos diferentes.
3. ¿Es la nucleoproteína una proteína conjugada? ¿Por Qué? Consulte la estructura.
4. Consulte la relación que existe entre las proteínas con el DNA, RNA.
5. Dibuje las distintas estructuras de las proteínas.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	19 de 1

1. REACCIONES ENZIMÁTICAS

2. Objetivos

- Reconocer a las enzimas como proteínas que aceleran y controlan las reacciones químicas en los seres vivos.
- Identificar la presencia de diversas clases de enzimas en tejidos animales y vegetales.
- Aplicar los componentes teóricos en las reacciones enzimáticas observadas.
- Discutir la presencia de inhibidores enzimáticos que pueden preservar algunos alimentos.

3. Marco Teórico

Un automóvil obtiene su energía de la oxidación del hidrocarburo gasolina a dióxido de carbono y agua en una explosión controlada dentro de un motor en el que los gases pueden alcanzar temperaturas de 2200 °C. En contraste, la célula viva obtiene energía oxidando el carbohidrato glucosa a dióxido de carbono y agua a una temperatura (en el ser humano) de 37°C.¹

El ingrediente secreto en los organismos vivos es la catálisis, un proceso llevado a cabo por enzimas proteínicas. Una reacción que requiere muchas horas para completarse no puede ser útil, desde el punto de vista metabólico, para una bacteria que ha de reproducirse en 20 minutos, o para una célula nerviosa humana que debe responder a un estímulo de forma instantánea.

De hecho la vida aprovecha hábilmente el hecho de que la mayoría de las reacciones deban estar catalizadas.

Un catalizador es una sustancia que aumenta la rapidez o la velocidad de la reacción química, sin verse alterada ella misma en el proceso global. La sustancia sobre la que actúa una enzima se denomina sustrato de esa enzima. Y lo que se obtiene es denominado producto de la reacción.

Podemos apreciar el poder de la catálisis enzimática con un ejemplo: la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno:



Esta reacción, aunque muy favorecida termodinámicamente, es muy lenta, a menos que sea catalizada. Se puede comprar una botella de una solución de H₂O₂ (agua oxigenada) y guardarla en un armario durante muchos meses antes de que se degrade. Sin embargo si añadiera un trocito de ión férrico, observaría que la velocidad de la reacción aumenta unas 1000 veces. La proteína hemoglobina que contienen hierro, es aun más eficaz para incrementar la velocidad de esta reacción. Si uno aplica la solución de peróxido de hidrógeno a un corte de un dedo, se observa un burbujeo inmediato del O₂ liberado: la reacción se está produciendo ahora aproximadamente un millón de veces más

¹ CAMPBELL, M. K, Farell, S. O. Bioquímica. 4ª Ed .México. Thomson. 2004. P. -134-135

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	20 de 1

rápidamente que el proceso sin catalizar. Pero pueden alcanzarse velocidades aún. La **catalasa** una enzima presente en muchas células, aumenta la velocidad de descomposición del H₂O₂ sin catalizar aproximadamente 1000 millones de veces. Algunas reacciones celulares producen peróxido de hidrógeno que es un oxidante peligroso, por lo que la **catalasa** se ha perfeccionado para defenderse de él. Este ejemplo muestra que la velocidad de una reacción favorable depende en gran medida, de que exista o no un catalizador y de la naturaleza del mismo.²

4. Materiales

Papa.
Cuchillo.
Manzana.
Mortero.
Cuchara o espátula.
Portaobjetos.
Pipeta Pasteur.
1 Vaso de precipitados 50 ml.

5. Reactivos

100 ml de peróxido de hidrógeno o “agua oxigenada” comercial.
1 Pastilla de vitamina C.

6. Procedimiento

A. Presencia de **polifenol oxidasa de manzana**

1. Moler una pastilla de vitamina C hasta que quede un polvo fino - Cortar una manzana por la mitad.
2. Colocar en una mitad de la manzana el polvo de la vitamina C, procurando que quede bien esparcido.
3. Dejar ambas mitades de manzana a temperatura ambiente durante 60 minutos y observar los cambios de coloración.

B. Presencia de **catalasa de papa**

1. Cortar una rebanada de papa y colocarla sobre un portaobjetos.
2. Agregar 3 gotas de agua oxigenada sobre la rebanada de papa.
3. Ver la actividad de la **catalasa** por el burbujeo de oxígeno que se desprende.
4. Observar el tiempo en el cual se llevan a cabo la reacción.

C. Interpretación de resultados

Después de efectuar todos los experimentos en cada caso:

1. ¿Cómo evidencia que se produjo una reacción enzimática?
 2. ¿A qué se debe la presencia del color marrón en la manzana que no tiene vitamina C?
 3. ¿Qué papel desempeña la vitamina C sobre la manzana expuesta al oxígeno?
 4. ¿A qué se debe la producción de burbujas en el experimento de la **catalasa**?
-

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	21 de 1

5. ¿Y cuando dejan de formarse?
6. ¿Qué es lo que estamos midiendo en ese caso?
7. ¿Cómo comprobar que el gas desprendido en el experimento con **catalasa** es oxígeno?

Cuestionario

1. Diseñe un experimento para averiguar cómo varía la velocidad de la reacción. Y así poder determinar que tan veloz y afín es la enzima por su sustrato en el caso de los experimentos realizados en clase. Realice un esquema.
2. ¿Cómo calculan la velocidad total de cada una de las reacciones realizadas en el laboratorio?
3. ¿Cuál es el efecto de agregar diferentes cantidades de sustrato sobre la velocidad de esta reacción? Justifiquen sus conclusiones.

7. Nivel de Riesgo:

- **Nivel 2: Riesgo Medio (Bata de Laboratorio, Guantes, Cofia, Tapabocas, Zapato Cerrado Bajo, Pantalón Largo)**

Manejo de residuos:

- **Línea 19**

8. Bibliografías

CAMPBELL, M. K, Farell, S. O. Bioquímica. 4ª Ed .México. Thomson. 2004. P. -134-135

MATHEWS, et al. Bioquímica. 3a. Editorial Mac Graw Hill. 2.000. P. 404-405

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	22 de 1

1. FACTORES QUE AFECTAN LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

2. Objetivos

- Reconocer que las reacciones enzimáticas dependen de factores como: temperatura, pH y la presencia de sales.
- Comprobar que el pH es un factor que altera o modifica la actividad enzimática.
- Reconocer que las enzimas son catalizadores orgánicos que sólo se encuentran en los seres vivos.

3. Marco Teórico

Las enzimas al ser proteínas contienen grupos ionizables, cuyo comportamiento depende del pH y de las moléculas con carga que se encuentran a su alrededor. Es bien sabido que la función biológica de las proteínas está directamente relacionada con su estructura y si tenemos en cuenta la influencia del medio externo sobre las proteínas es de pensar que es necesario mantenerlas en un ambiente adecuado para que su estructura no se modifique y por lo tanto pueden cumplir biológicamente su función.

Otra variable que influye también sobre la estructura de las proteínas, es la temperatura. Esta junto con el pH influyen como se describe a continuación:

Influencia de la temperatura:

La temperatura puede causar un incremento de la velocidad de la reacción o el efecto contrario así:

- **Incremento de la velocidad con la temperatura:** En general, la velocidad de la reacción se incrementa con la temperatura hasta que un punto máximo es alcanzado. Este incremento se debe a que aumenta el número de moléculas ricas en energía que pueden pasar la barrera energética de estado de transición, para formar a los productos.
- **Decremento de la velocidad con la temperatura:** la elevación excesiva de la temperatura del medio que contiene a las enzimas, resulta en un decremento de la velocidad como resultado de la desnaturalización, es decir, la pérdida de la estructura tridimensional de las enzimas.³ En este momento se rompen enlaces de tipo no covalente como los puentes de hidrógeno que estabilizan las estructuras secundarias e incluso terciarias.

La mayor parte de las enzimas presentan su actividad máxima en el intervalo de 30 a 40 °C y por encima de 45°C comienzan a desnaturalizarse. La desnaturalización de una proteína se ha definido como:

“Un cambio de importancia en la estructura original, sin rotura de ninguno de los enlaces

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	23 de 1

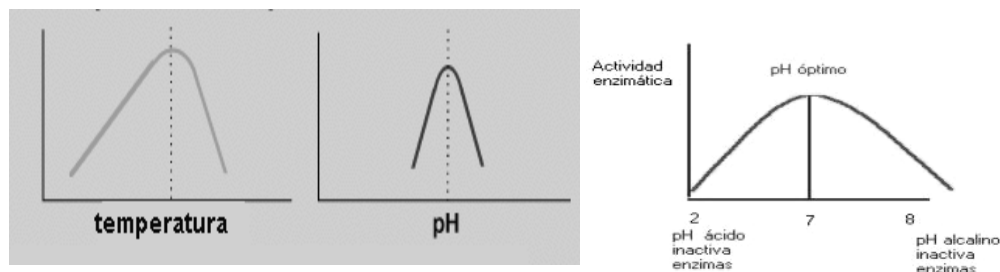
químicos primarios que unen entre sí a los aminoácidos⁴. Es decir solo hay rompimiento de los enlaces no covalente tipo puentes de hidrógeno.

El término inactivación de una enzima se refiere a la pérdida de la actividad. Las temperaturas de refrigeración, congelación, escaldado, blanqueado también inactivan a las enzimas.

Influencia del pH:

El sitio activo de la enzima puede contener aminoácidos ionizables, la concentración de H^+ afecta la velocidad de la reacción en muchas formas. Primero el proceso catalítico usualmente requiere que la enzima y el sustrato tengan grupos químicos en una forma iónica particular para poder interactuar. Por ejemplo la actividad catalítica puede necesitar a un grupo amino, por ejemplo de una lisina en estado protonado ($-NH_3^+$) o no ($-NH_2$), el pH modifica este estado y por tanto a la velocidad de la reacción.⁵ Esto puede causar efectos como:

- **Desnaturalización de la enzima:** pH extremos pueden ocasionar la desnaturalización de las enzimas, debido a que la estructura con estos cambios es posible modificar las interacciones iónicas que intervienen en la estabilidad de la enzima en su estado nativo.
- **El pH óptimo varía para las diferentes enzimas:** El pH al cual las enzimas adquieren su máxima actividad al que se le denomina "pH óptimo". es diferente para cada una de ellas y depende de la secuencia de aminoácidos que las conforman, por supuesto, también está relacionado con el microambiente celular en el cual desarrollan su catálisis. La mayor parte de las enzimas presentan su actividad máxima a pH entre (4,5 - 8). Pero existen enzimas como Por ejemplo la pepsina que es una enzima digestiva que actúa en el estómago, posee un pH óptimo de alrededor de 2 unidades, por el contrario otras enzimas que actúan a pH neutro, o la **arginasa** cuyo pH es de 10 otras se desnaturalizan a pH alcalino o ácido.



Al comprobar experimentalmente la influencia del pH y la temperatura en la velocidad de

⁴ Disponible en Internet:

<http://www.csgastronomia.edu.mx/profesores/calimentos/quimica2/Capitulo%20VI/enzimas%20siguiente.htm>.

⁵ Disponible en Internet:

<http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/velocidad%20reaccion%20enzimatica.html>

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	24 de 1

las reacciones enzimáticas se obtienen curvas que indican que los enzimas presentan un pH y una temperatura óptima de actividad. (Ver figura abajo).⁶

- **En general el pH puede afectar:**
- Al centro activo que puede contener aminoácidos con grupos ionizados que pueden variar con el pH.
- La ionización de aminoácidos que no están en el centro activo puede provocar modificaciones en la conformación de la enzima.
- El sustrato puede verse afectado por las variaciones del pH.

4. Materiales

Portaobjetos.

1 papa.

1 hoja de planta.

1 corazón de pollo.

Polvo de levadura.

1 champiñón.

Pinzas.

Vasos desechables.

Limón.

Cuchara.

Mechero.

Malla.

Trípode.

Equipos

Baño serológico.

5. Reactivos

100 ml de peróxido de hidrógeno.

HCl concentrado.

Papel de pH.

Azúcar.

Sal.


Limadura de hierro.

Hielo.

6. Procedimiento

A. Factores que afectan la *catalasa*

En una cuadrícula organiza dos portaobjetos con el material indicado, como se muestra en el dibujo:

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	25 de 1

Azúcar Sal Papa Hoja Corazón Levadura Champiñón Limadura

SR-sin reacción **L**-lento **R**-rápido **MR**-muy rápido

Un portaobjetos es para evidenciar la actividad enzimática sin agregarle HCl; y el otro para evidenciar la reacción enzimática agregando HCl:

1. Mida el pH de cada material sin agregar HCl con el papel indicador de pH.
2. Adicione una gota de peróxido de hidrógeno a cada material. Observe la presencia de burbujas.
3. Agregue una gotica de HCl y con el papel indicador vuelva a medir el pH agregue una gotica de peróxido de hidrógeno.
4. Observe y anote lo que ocurrió en cada uno de los portaobjetos, antes y después de agregar el peróxido de hidrógeno, marca la reacción a “ojo” de acuerdo al pH=5 y pH=1.

B. Factores que afectan de las enzimas del metabolismo de la levadura

1. Marcar los vasos con los siguientes títulos: control, caliente, frío, ácido y sal.
2. Colocar en 5 vasos desechables transparentes una cantidad igual del polvo de levadura, azúcar y 50 ml de agua tibia.
3. El vaso denominado **control** debe contener solo la mezcla anterior.
4. Mida el tiempo desde que le agregue el azúcar a la levadura y la aparición de burbujas en el vaso control.
5. Al vaso marcado como frío colocarlo sobre el hielo. Compare con el vaso control.
6. Al vaso marcado como caliente colocarlo sobre el baño serológico. Compare con el vaso control.
7. Al vaso marcado como ácido añadirle jugo de limón. Compare con el vaso control.
8. Al vaso marcado como sal añadirle una cucharada de sal.
9. Dejar todos los vasos durante 60 minutos y al final observar la actividad de las enzimas por la producción de bióxido de carbono que se ve en la formación de espuma.

C. Interpretación de los resultados

Con base en los siguientes parámetros.

SR-sin reacción **L**-lento **R**-rápido **MR**-muy rápido

Cuestionario

1. ¿Cómo la temperatura el pH y las sales afectan la estructura química de las enzimas?
2. ¿Cómo se verán afectados los parámetros cinéticos de las enzimas?
3. ¿Podrían esos factores ser inhibidores enzimáticos?

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	26 de 1

4. ¿Cuál de los materiales de la práctica se clasifican como vivos y no vivos? Justifique su respuesta
5. Identifique la o las enzimas con las cuales usted evidenció la reacción en cada tejido vivo. ¿En cual material de la práctica se encuentran estas enzimas?
- 6.Cuál es la reacción que efectúa cada enzima.
7. En la reacción bioquímica que describe cada proceso. Identifique sustrato, enzima producto coenzima.
8. ¿Cuáles factores afectaron el metabolismo de las células de cada tejido? Dé una explicación química.
9. ¿Qué indica el tiempo durante el cual salen burbujas? Consulte la actividad de una enzima de la levadura, en otras frutas o verduras.
10. ¿Por qué la limadura de hierro siendo un elemento sin vida se observa la presencia de burbujas?

7. Nivel de Riesgo:

- **Nivel 2: Riesgo Medio (Bata de Laboratorio, Guantes, Cofia, Tapabocas, Zapato Cerrado Bajo, Pantalón Largo)**

Manejo de residuos:

- **Línea 18**
- **Línea 1**

8. Bibliografías

Disponible en Internet:

<http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/velocidad%20reaccion%20enzimatica.html>

Disponible en Internet:

<http://www.csgastronomia.edu.mx/profesores/calimentos/quimica2/Capitulo%20VI/enzimas%20siguiente.htm>.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	27 de 1

1. Título: RECONOCIMIENTO Y DIFERENCIACIÓN DE CARBOHIDRATOS

2. Objetivo

- Reconocer los carbohidratos por medio de reacciones coloreadas de carácter cualitativo.
- Diferenciar Hexosas de pentosas
- Diferenciar e identificar azúcares reductores y no reductores
- Diferenciar monosacáridos, disacáridos y polisacáridos
- Diferenciar aldosas de cetosa

3. Marco Teórico

Los carbohidratos también llamados azúcares, osas o sacáridos, son polihidroxialdehidos o polihidroxicetonas o compuestos poliméricos que por hidrólisis producen polihidroxialdehidos y polihidroxicetonas.

Según el número de unidades de azúcares sencillos que posean se clasifican en:

MONOSACÁRIDOS o azúcares sencillos, que a su vez pueden ser **ALDOSAS** cuando contienen el grupo aldehído o **CETOSAS** cuando contienen el grupo cetona. Los monosacáridos naturales pertenecen a la serie D de los azúcares y pueden tener entre tres y hasta siete átomos de carbono.

DISACÁRIDOS que están formados por dos monosacáridos unidos entre sí por enlaces glucosídicos.

OLIGOSACÁRIDOS que tienen entre tres y diez monosacáridos unidos también por enlaces glucosídicos.

POLISACÁRIDOS que son polímeros naturales con varios miles de unidades de azúcar sencillo ligadas entre sí.

De acuerdo con lo anterior, además de reconocer si un compuesto pertenece a la familia de los carbohidratos, es necesario diferenciar si se trata de un monosacárido tipo aldosa o cetosa, si es fácilmente oxidable o no, es decir si es un **AZÚCAR REDUCTOR** o no lo es, si es de cinco átomos de carbono (pentosa) o de seis átomos de carbono (hexosa), si es disacárido o polisacárido.

Ensayo de Molisch: Este ensayo es un ensayo para reconocimiento general de carbohidratos en el que los polisacáridos y disacáridos se hidrolizan con ácido sulfúrico concentrado hasta monosacáridos y se convierten en derivados del furfural o 5-

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	28 de 1

hidroximetil furfural los cuales reaccionan con α -naftol formando un color púrpura violeta.

Ensayo de Benedict: El ensayo de Benedict permite el reconocimiento de carbohidratos reductores, al igual que el reactivo de Felhing, el de Benedict contiene ion cúprico en medio alcalino que se reduce hasta óxido cuproso en presencia de azúcares con el hidroxilo hemiacetálico libre.

Ensayo de Barfoed: Esta prueba permite diferenciar entre monosacáridos y disacáridos reductores, también contiene ion cúprico que se reduce hasta óxido cuproso más rápidamente con los monosacáridos que con los disacáridos.

Ensayo con Lugol: El reactivo de Lugol que contiene una mezcla de yodo y yoduro, permite reconocer polisacáridos, particularmente el almidón por la formación de una coloración azul violeta intensa y el glicógeno y las dextrinas por formación de coloración roja.

Ensayo de Seliwanoff: Este ensayo es específico para cetosas y se basa en la conversión de la cetosa en 5-hidro-metil-furfural y su posterior condensación con resorcinol formando así complejos coloreados

Ensayo de Vial: El reactivo de Vial contiene orcinol en ácido clorhídrico, el cual forma complejos de coloración sólo con las pentosas.

De otro lado una propiedad importante que permite identificar los carbohidratos, y determinar el grado de pureza de los mismos, particularmente monosacáridos es la rotación óptica ocasionada por la presencia de centros asimétricos o quirales en la estructura molecular, los cuales desvían el plano de luz polarizada. Esta propiedad no es exclusiva de los carbohidratos pues la presentan todas aquellas sustancias denominadas ópticamente activas, por tener en su estructura centros quirales.

Para la medición de la rotación óptica los factores importantes a tener en cuenta son: La longitud de onda de luz polarizada, la cantidad de material ópticamente activo, y la naturaleza del solvente cuando se usa. Los cambios en la temperatura ocasionan solo pequeñas variaciones en las medidas de la rotación.

TEMAS DE CONSULTA

Elabore el preinforme con las siguientes indicaciones:

- Fórmulas estructurales en proyección de FISHER y de HAWORTH de la glucosa, galactosa, fructosa, ribosa.
- Fórmula estructural en proyección de HAWORTH de la sacarosa.
- Breve descripción de los polisacáridos: almidón y glicógeno.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	29 de 1

- Reacciones de oxidación de monosacáridos reductores, ilustradas con la estructura en proyección de FISHER de la glucosa.
- Funciones e importancia biológica de los carbohidratos.
- Fundamentos de polarimetría que debe incluir: diferenciación entre luz monocromática y luz polarizada. Funcionamiento y partes del polarímetro.
- Extracción y refinamiento del azúcar de caña (sacarosa).
- Aplicaciones industriales de la celulosa.
- Construya las tablas de identificación y diferenciación de azúcares (Ver tabla 1)

Tabla N°1: Identificación de monosacáridos

Compuesto	Formula	Reactivo	Observaciones	Rxn Química

4. Materiales, Equipos e Insumos

- 16 tubos de ensayo
- Gradilla
- Una pipeta graduada de 1 ml
- Una pipeta graduada de 5 ml
- Un vaso de precipitados de 500ml
- Una varilla de vidrio
- Una gradilla para tubos de ensayo
- Una pinza metálica para tubo de ensayo
- Soporte, aro con nuez, malla y mechero.
- Una espátula
- Perlas de vidrio

5. Reactivos

- Alfa-naftol al 10%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido sulfúrico concentrado
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Reactivo de Tollens
- Reactivo de Seliwanoff
- Reactivo de Vial
- Lugol
- Soluciones acuosas al 1% de: almidón, glicógeno, sacarosa, maltosa, glucosa, galactosa,
- fructosa, ribosa, arabinosa.
- Solución de glucosa al 10%.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	30 de 1

- Solución de sacarosa al 10%.
- Solución fructosa al 10%.
- Solución de sacarosa al 10% en ácido clorhídrico 0.5M

6. Procedimiento

Realice los ensayos que se describen a continuación, en tubos de ensayo **LIMPIOS Y SECOS**, con las soluciones patrón de los carbohidratos que se indican en cada caso y la muestra problema.

Ensayo de Molisch:

Soluciones patrón de carbohidratos: ARABINOSA, GLUCOSA, FRUCTOSA, SACAROSA Y ALMIDÓN.

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 mL de la solución del carbohidrato y agregue 0.2 mL de α -naftol al 10%, mezcle bien y luego adicione **CUIDADOSAMENTE POR LAS PAREDES DEL TUBO**, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, la formación de un anillo violeta en la interfase es prueba positiva para carbohidratos.

Ensayo de Lugol:

Soluciones patrón de carbohidratos: ALMIDÓN Y RIBOSA.

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 ml de la solución del carbohidrato y agregue 0.2 ml de Lugol, mezcle y observe la formación de los colores rojo para glicógeno, azul-violeta para almidón como pruebas positivas.

Ensayo de Benedict:

Soluciones patrón de carbohidratos: GLUCOSA, MALTOSA Y SACAROSA.

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 ml de la solución del carbohidrato y agregue 0.1 ml del reactivo de Benedict, caliente al baño maría. La formación de un precipitado amarillo o rojizo, es prueba positiva para carbohidratos reductores.


Ensayo de Barfoed:

Soluciones patrón de carbohidratos: GLUCOSA, MALTOSA Y SACAROSA.

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 mL de la solución del carbohidrato y agregue 2 ml del reactivo de Barfoed, caliente en baño maría a ebullición. La formación de un precipitado rojo entre 5 y 7 minutos, es prueba positiva para **MONOSACÁRIDOS REDUCTORES**. Si el precipitado se forma entre 10 y 12 minutos, la prueba es positiva para **DISACÁRIDOS REDUCTORES**.

Ensayo de Seliwanoff:

Soluciones patrón de carbohidratos: FRUCTUOSA Y GLUCOSA.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	31 de 1

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 ml de la solución del carbohidrato y agregue 2 ml del reactivo de Seliwanoff, caliente en baño maría a ebullición por dos minutos. La formación de una coloración roja es prueba positiva para cetosas.

Ensayo de Vial:

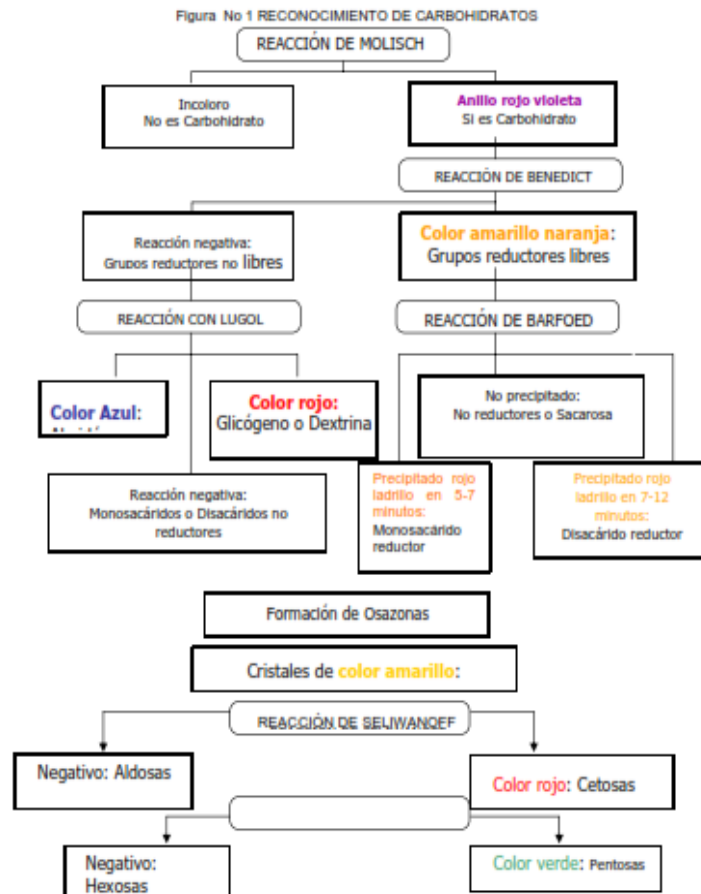
Soluciones patrón de carbohidratos: RIBOSA, ARABINOSA Y GLUCOSA.

Coloque en un tubo de ensayo 2.0 ml de la solución del carbohidrato y agregue 3 ml del reactivo de Vial, caliente en baño maría a ebullición y observe. La formación de una coloración verdosa es prueba positiva para pentosas.

Muestra problema

El profesor le asignará una muestra problema para identificar y clasificar.

En un papel escriba el número de la muestra problema, las reacciones que utilizó y los resultados que obtuvo, diga si el problema corresponde a: un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, un pentosa, una hexosa una cetosa una aldosa o una combinación de alguno de ellos y entréguelo antes de terminar el laboratorio.



	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	32 de 1

PARA EL INFORME

1. Elabore tablas con los resultados de los ensayos realizados.
2. Análisis de los resultados obtenidos en cada ensayo para la muestra problema, comparando con los resultados obtenidos para las soluciones patrón de carbohidrato correspondiente.
3. Con base en el análisis, caracterizar la sustancia problema; si es polisacárido, disacárido, monosacárido. En caso de ser disacárido o monosacárido si es o no reductor. Si se trata de un monosacárido indicar si es aldopentosa, cetopentosa, aldohexosa o cetohexosa.
4. Describa el análisis y las reacciones que siguió para identificar la muestra problema, si ya conoce el nombre del compuesto problema discuta los resultados reportados.

7. Nivel de Riesgo

Medio. No olvidar que la eficiencia y buenos resultados en la práctica de laboratorio, además de la seguridad del personal que ejecuta la práctica dependen del cumplimiento de ciertas normas, que aunque en su mayoría se derivan del sentido común, es necesario hacer nota para tenerlas presentes.

- No dejar botellas abiertas y sin marcar, limpiar cualquier derrame, disponer de los desechos químicos en las líneas de desecho apropiadas.
- Dejar el sitio de trabajo completamente limpio y ordenado, arrojando los desechos en los sitios designados para ello.

8. Bibliografía

1. Hart H., Craine L. y Hart. D. Química Orgánica. McGraw Hill. Novena edición. España. 1997.
2. McMurry, J. Química Orgánica. Quinta edición, Thomson editores, México, 2001
3. The Merck Index: an encyclopedia of chemical. Drugs and Biologicals. Budavari S. Guide for safety in the Chemical Laboratory.
4. Carey Francis A. Química Orgánica Mc Graw Hill , Tercera Edición . España. 2000

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	33 de 1

1. Título: RECONOCIMIENTO DE LIPIDOS

2. Objetivo

- Identifique algunos lípidos mediante el uso de algunas propiedades de los lípidos.
- Reconozca a los lípidos mediante sus propiedades fisicoquímicas
- Identifique cualitativamente a los lípidos mediante tinción con Sudan II.
- Elabore un jabón mediante la reacción de saponificación de una grasa.
- Obtenga colesterol a partir de tejido nervioso.
- Identifique el colesterol mediante pruebas colorimétricas cualitativas

3. Marco Teórico

Los lípidos, son un grupo de compuestos químicamente diversos, solubles en solventes orgánicos (como cloroformo, metanol o benceno), y casi insolubles en agua. La mayoría de los organismos, los utilizan como reservorios de moléculas fácilmente utilizables para producir energía (aceites y grasas). Los mamíferos, los acumulamos como grasas, y los peces como ceras; en las plantas se almacenan en forma de aceites protectores con aromas y sabores característicos. Los fosfolípidos y esteroides constituyen alrededor de la mitad de la masa de las membranas biológicas. Entre los lípidos también se encuentran cofactores de enzimas, acarreadores de electrones, pigmentos que absorben luz, agentes emulsificantes, algunas vitaminas y hormonas, mensajeros intracelulares y todos los componentes no proteícos de las membranas celulares.

Los lípidos, pueden ser separados fácilmente de otras biomoléculas por extracción con solventes orgánicos y pueden ser separados por técnicas experimentales como la cromatografía de adsorción, cromatografía de placa fina y cromatografía de fase reversa. La función biológica más importante de los lípidos es la de formar a las membranas celulares, que en mayor o menor grado, contienen lípidos en su estructura. En ciertas membranas, la presencia de lípidos específicos permite realizar funciones especializadas, como en las células nerviosas de los mamíferos. La mayoría de las funciones de los lípidos, se deben a sus propiedades de autoagregación, que permite también su interacción con otras biomoléculas. De hecho, los lípidos casi nunca se encuentran en estado libre, generalmente están unidos a otros compuestos como carbohidratos (formando glucolípidos) o a proteínas (formando lipoproteínas).

Estas importantes biomoléculas se clasifican generalmente en: Lípidos saponificables y no saponificables.

Además de los anteriores, existen lípidos anfipáticos en cuya molécula existe una región polar opuesta a otra apolar. Estos lípidos forman las bicapas lipídicas de las membranas celulares y estabilizan las emulsiones (líquido disperso en un líquido).

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	34 de 1

4. Materiales, Equipos e Insumos

- 10 Tubos de ensayo
- Gradilla
- Varillas de vidrio
- Mechero o parrilla
- Vasos de precipitados
- Pipetas
- Morteros de porcelana limpios y secos
- Espátula
- Placa de vidrio
- Embudos de vidrio
- Papel filtro

5. Reactivos

- Papel filtro
- Solución de NaOH al 20%
- Solución de Sudán III
- Tinta china roja (*)
- éter, cloroformo o acetona
- Aceite de oliva (*)
- 20 gramos de Yeso (*)
- 50 g de sesos de animal desmenuzados (*)
- Cloroformo
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido acético
- Anhídrido acético

**(*) PROPORCIONADO POR EL ESTUDIANTE
OJO: TRAER GUANTES Y TAPABOCAS**

6. Procedimiento

SAPONIFICACIÓN

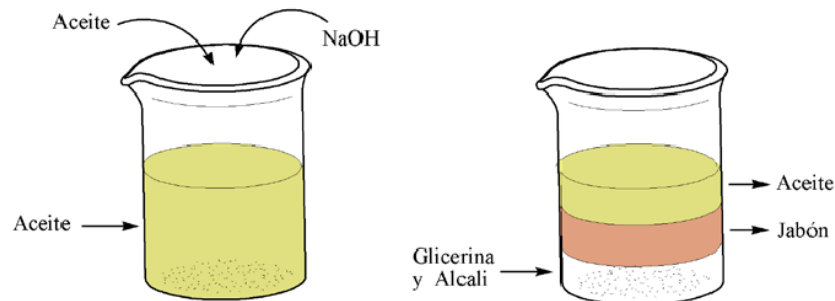
Las grasas reaccionan en caliente con el hidróxido sódico o potásico descomponiéndose en los dos elementos que las integran: glicerina y ácidos grasos. Éstos se combinan con los iones sodio o potasio del hidróxido para dar jabones, que son en consecuencia las sales sódicas o potásicas de los ácidos grasos. En los seres vivos, la hidrólisis de los triglicéridos se realiza mediante la acción de enzimas específicos (lipasas) que dan lugar a la formación de ácidos grasos y glicerina.

Técnica:

- a) Colocar en un tubo de ensayo 2ml de aceite y 2ml de NaOH al 20%.
 - Agitar enérgicamente y colocar el tubo al baño María de 20 a 30 minutos.
 - Pasado este tiempo, se pueden observar en el tubo 3 fases: una inferior clara que



contiene la solución de sosa sobrante junto con la glicerina formada, otra intermedia semisólida que es el jabón formado y una superior lipídica de aceite inalterado



TINCIÓN

Los lípidos se colorean selectivamente de rojo-anaranjado con el colorante Sudan III.

Técnica:

- Disponer en una gradilla 2 tubos de ensayo colocando en ambos 2ml de aceite.
- Añadir a uno de los tubos 4-5 gotas de solución alcohólica de Sudán III.
- Al otro tubo añadir 4-5 gotas de tinta roja.
- Agitar ambos tubos y dejar reposar
- Observar los resultados: en el tubo con Sudán III todo el aceite tiene que aparecer teñido, mientras que en el tubo con tinta, ésta se irá al fondo y el aceite no estará teñido.

SOLUBILIDAD

Los lípidos son insolubles en agua. Cuando se agitan fuertemente en ella se dividen en pequeñísimas gotas formando una emulsión de aspecto lechoso, que es transitoria, pues desaparece en reposo por reagrupación de las gotitas de grasa en una capa que, por su menor densidad, se sitúa sobre el agua.

Por el contrario, las grasas son solubles en disolventes orgánicos, como el éter, cloroformo, acetona, benceno, etc.

Técnica:

- Poner 2ml de aceite en dos tubos de ensayo.
- Añadir a uno de ellos 2ml de agua y al otro 2ml de éter u otro disolvente orgánico,
- Agitar fuertemente ambos tubos y dejar reposar.
- Observar los resultados: Se verá cómo el aceite se ha disuelto en el éter y, en cambio no lo hace en el agua y el aceite subirá debido a su menor densidad.

AISLAMIENTO DE COLESTEROL DEL TEJIDO NERVIOSO

Técnica:

- 3 gramos de cerebro desmenuzado se tritura cuidadosamente en un mortero con 6 g de yeso.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	36 de 1

- La masa espesa obtenida se aplica con ayuda de una espátula sobre la capsula de porcelana en forma de capa fina y luego llevar a 40°C en una mufla.
- La masa reseca se separa de la placa con un escarpelo en un mortero seco y se tritura convirtiéndola en polvo.
- El polvo se traslada a un tubo de ensayo, se le vierten 6 ml de cloroformo, se agita cuidadosamente durante 5 ml y se filtra.
- El filtrado obtenido se utiliza para las reacciones coloreadas de reconocimiento del colesterol.

REACCIONES COLOREADAS DEL COLESTEROL

El principio del método. Bajo la acción de los agentes deshidratantes el colesterol se transforma en un hidrocarburo con dobles enlaces conjugados: el colesterileno, que al interaccionar con el ácido sulfúrico y el anhídrido acético, da compuestos complejos intensamente coloreados. Reacciones semejantes son características también para otros esteroides.

REACCIÓN CON EL ACIDO SULFÚRICO.

Reacción de Schiff: en un tubo de ensayo seco se vierte 1 ml de extracto de colesterol en cloroformo y con cuidado, por la pared, se hace deslizar 1ml de ácido sulfúrico concentrado. En el contacto de los líquidos se observa la aparición de un anillo de color rojo.

Reacción de Salkovsky: En un tubo de ensayo seco se vierte 1ml de extracto de colesterol en cloroformo y 1ml de ácido sulfúrico. Los líquidos se mezclan agitando el tubo de ensayo. Al separarse las capas, el extracto superior de cloroformo resulta coloreado de rojo y el inferior de un color rojo amarillento con fluorescencia verde. Si al extracto inferior del líquido se le añade 1ml de ácido acético, aparece una coloración roja rosada, mientras que la fluorescencia se mantiene.

REACCIÓN CON ANHÍDRIDO ACÉTICO Y ÁCIDO SULFÚRICO

Reacción de Liebermann-Burkhardt: En un tubo de ensayo se vierten 2 ml de extracto de colesterol en cloroformo, se añaden gota a gota 10 ml de anhídrido acético, 2 gotas de ácido sulfúrico, y se mezcla todo cuidadosamente. El líquido adquiere primero una coloración roja, luego una violeta, azul y, por último, verde.

PARA EL INFORME

1. Reportar los resultados de todos y cada uno de los ensayos obtenidos.
2. Concluir en base a la experiencia adquirida en el laboratorio sobre el desarrollo de esta práctica si los objetivos se cumplieron.

7. Nivel de Riesgo

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	FLA-23 v.00
		Página	37 de 1

Medio. No olvidar que la eficiencia y buenos resultados en la práctica de laboratorio, además de la seguridad del personal que ejecuta la práctica dependen del cumplimiento de ciertas normas, que aunque en su mayoría se derivan del sentido común, es necesario hacer nota para tenerlas presentes.

- No dejar botellas abiertas y sin marcar, limpiar cualquier derrame, disponer de los desechos químicos en las líneas de desecho apropiadas.
- Tener cuidado con el montaje.
- Dejar el sitio de trabajo completamente limpio y ordenado, arrojando los desechos en los sitios designados para ello.

8. Bibliografía

1. V. Chechetkin, V.I. Voronianski, G.G. Pokusay, Practicas de Bioquímica del ganado y aves de corral, Editorial Mir-Moscu, 1994, paginas 128-149.
2. Vazquez-Contreras, Bioquímica y Biología Molecular en línea. Instituto de Química-UNAM. <http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/tipos%20lipidos.html>.

9. Anexos

1. ¿Qué son los jabones?
2. ¿Cómo se pueden obtener los jabones?
3. ¿Por qué en la saponificación del aceite la glicerina aparece en la fase acuosa?
4. ¿Qué enzima logra en el aparato digestivo la hidrólisis de las grasas?
5. Indica lo que ocurre con la mezcla aceite-Sudán III y aceite-tinta y explica a qué se debe la diferencia entre ambos resultados.
6. ¿Qué ocurre con la emulsión de agua en aceite transcurridos unos minutos de reposo?, ¿Y qué ocurre con la de benceno y aceite?