

**MANUAL DE PRACTICAS
DE
BIOQUIMICA**

4a. EDICION

Q.B.P. JUAN ANTONIO RODRIGUEZ ARZAVE



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

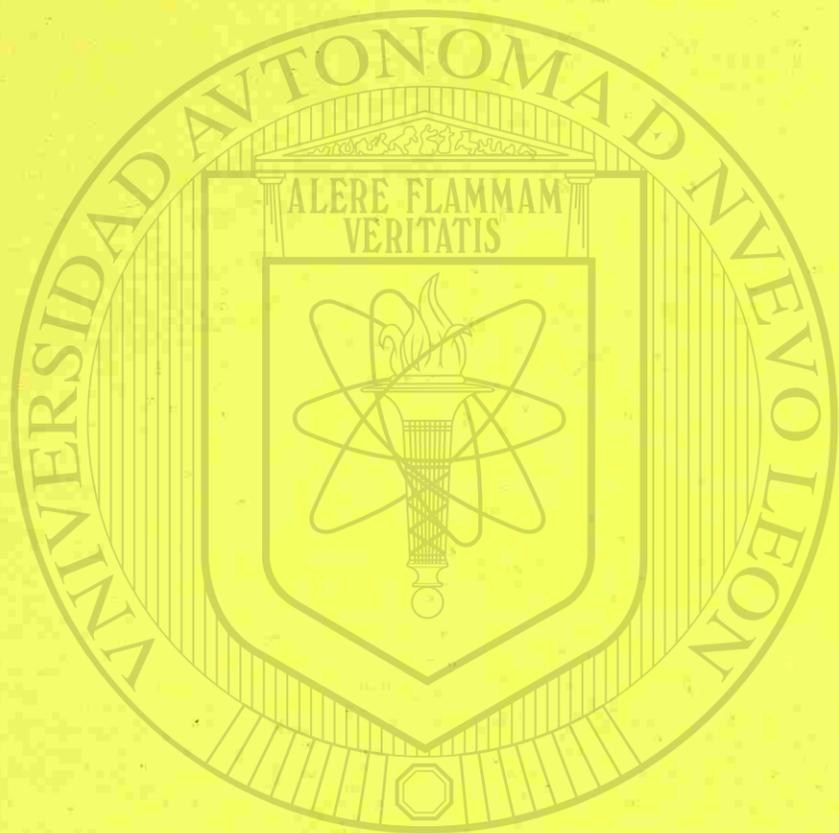
MÓNTERREY, N. L.

1987

QH324

.R6

1987



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Química biológica - Manuales de laboratorio

I.- DEDICATORIA	
II.- PREFACIO	
III.- PRÁCTICAS	
1.- Preparación de Soluciones	1
2.- Soluciones Regulares	19
3.- Capacidad Reguladora	18
4.- Pruebas Qualitativas	26
5.- Cronografía en papel	37
6.- Polarización	45
7.- Determinación de Azúcar	53
8.- Extracción de Lipidos	63
9.- Índice de Yodo	71
10.- Separación de Proteinas	82
11.- Reacciones de Proteinas	91
12.- Propiedades de Proteinas	103
13.- Obtención de Azúcar	113
14.- Obtención de Azúcar	

MANUAL DE PRACTICAS DE BIOQUIMICA

4a. EDICION

Q.B.P. JUAN ANTONIO RODRIGUEZ ARZAVE



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



MONTERREY, N. L.

1987

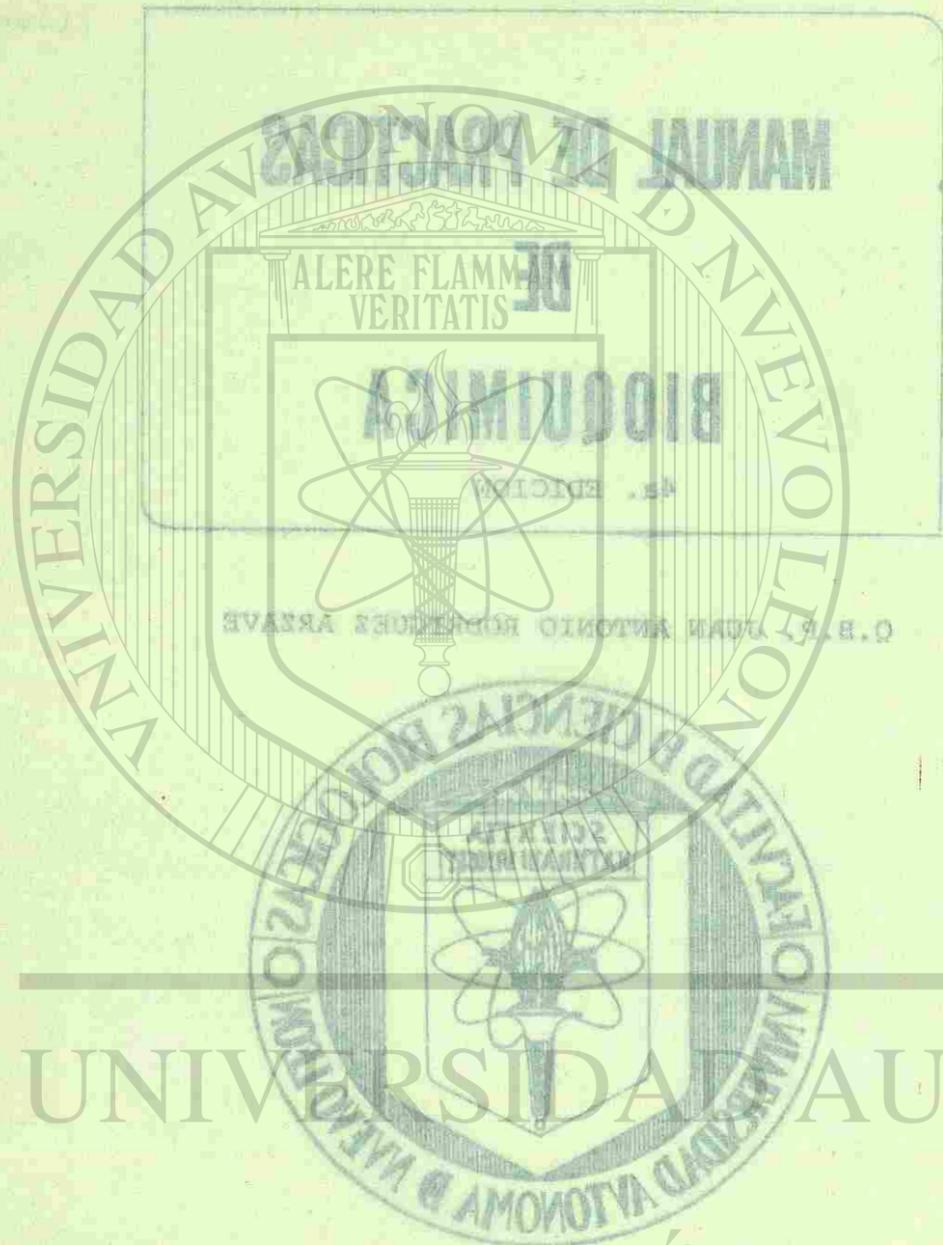
m

0149-26360

QH324

R6

L987



FONDO UNIVERSITARIO

1987

MONTERREY, N. L.

5-IX-01 J.N.

CONTENIDO

CALIFICACIÓN DE LOS REPORTES

I.- DEDICATORIA	
II.- PREFACIO	
III.- PRACTICAS	PAGINA
1.- Preparación de Soluciones Reguladoras.....	1
2.- Soluciones Reguladoras.....	10
3.- Capacidad Reguladora.....	18
4.- Pruebas Cualitativas para identificación de Carbohidratos.....	26
5.- Cromatografía en papel de Carbohidratos.....	37
6.- Polarimetría y Mutarrotación de carbohidratos.....	45
7.- Determinación de Azúcares Totales por el Método de Antrona.....	53
8.- Extracción de Lípidos.....	63
9.- Índice de Yodo e Índice de Saponificación de una Grasa.....	71
10.- Separación de Lípidos mediante Cromatografía en capa fina.....	82
11.- Reacciones de Identificación de aminoácidos y proteínas.....	91
12.- Propiedades de las proteínas (Diálisis, Desnaturalización y Equilibrio de Donnan.....)	103
13.- Obtención de Caseína a partir de leche.....	113
14.- Obtención de Ácidos Nucleicos a partir de Levadura.....	120



PAGINA

	I.- DEDICATORIA
	II.- PREFACIO
	III.- PRACTICAS
1	1.- Preparación de Soluciones Reguladoras
10	2.- Soluciones Reguladoras
18	3.- Capacidad Reguladora
26	4.- Pruebas Cualitativas para identificación de Carbohidratos
37	5.- Cromatografía en papel de Carbohidratos
42	6.- Polarimetría y Mutarrotación de carbohidratos
53	7.- Determinación de azúcares totales por el Método de Antrona
63	8.- Extracción de Lípidos
71	9.- Índice de Yodo e Índice de saponificación de una grasa
82	10.- Separación de lípidos mediante Cromatografía en capa fina
91	11.- Reacciones de identificación de aminoácidos y proteínas
103	12.- Propiedades de las proteínas (Dialisis, Desnaturalización y Equilibrio de Donnan)
113	13.- Obtención de Caseína a partir de leche
120	14.- Obtención de Ácidos Nucleicos a partir de Levadura

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CALIFICACIONES DE LOS REPORTES

Los experimentos presentados en este libro de prácticas, han sido seleccionados para ser realizados en el laboratorio de bioquímica, por lo que los estudiantes deben tener presente que los resultados obtenidos en los experimentos deben ser comparados con los resultados obtenidos en el laboratorio de bioquímica.

1.- Preparación de Soluciones Reguladoras.....	_____
2.- Soluciones Reguladoras.....	_____
3.- Capacidad Reguladora.....	_____
4.- Pruebas cualitativas para identificación de carbohidratos.....	_____
5.- Cromatografía en papel de carbohidratos.....	_____
6.- Polarimetría y Mutarrotación de carbohidratos.....	_____
7.- Determinación de azúcares totales por el Método de Antrona....	_____
8.- Extracción de Lípidos.....	_____
9.- Índice de Yodo e Índice de saponificación de una grasa.....	_____
10.- Separación de lípidos mediante cromatografía en capa fina.....	_____
11.- Reacciones de Identificación de aminoácidos y proteínas.....	_____
12.- Propiedades de las proteínas (Dialisis, Desnaturalización y Equilibrio de Donnan).....	_____
13.- Obtención de caseína a partir de la leche.....	_____
14.- Obtención de Ácidos Nucleicos a partir de Levadura.....	_____

También desde la Dirección General de Bibliotecas se usará en el transcurso del trabajo de laboratorio, los libros de texto de bioquímica que se encuentren en las bibliotecas de las facultades de medicina y de ciencias de la salud.

Parte importante de los reportes son las CONCLUSIONES a las que se llega al final del experimento, una vez hecha la DISCUSIÓN de los RESULTADOS ocurridos durante el trabajo. Las CONCLUSIONES deberán concordar con los OBJETIVOS planteados al inicio de la práctica.



P R E F A C I O

Los experimentos presentados en este Manual de Prácticas, han sido seleccionados partiendo de metodologías utilizadas por diferentes autores, los cuales son citados en la bibliografía que se acompaña al final de cada ensayo. Dichos experimentos se han modificado y adaptado al curso de Bioquímica para tratar de complementar los tópicos que serán cubiertos en la clase teórica.

Las diferentes secciones en que se encuentran divididos los experimentos son:

INTRODUCCION
OBJETIVO
FUNDAMENTO
MATERIAL Y REACTIVOS
PARTE EXPERIMENTAL
RESULTADOS
DISCUSION
CONCLUSIONES
SECCION DE PREGUNTAS
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

En la INTRODUCCION pretendemos poner en contacto al alumno con el tema a desarrollar, proporcionándole los antecedentes y la información necesaria para una comprensión amplia de los OBJETIVOS fijados al realizar el experimento.

El FUNDAMENTO de cada práctica ayudará a la interpretación correcta de los acontecimientos que están ocurriendo en cada uno de los pasos mencionados en la PARTE EXPERIMENTAL.

Para facilitar la rápida ejecución del experimento, este Departamento de Bioquímica, les proporcionará todos los REACTIVOS necesarios ya preparados, pero es menester que el alumno conozca los cálculos y procedimientos indispensables para la preparación de los mismos.

También damos la lista del MATERIAL que se usará en el transcurso del ensayo, tomando en cuenta que cada equipo de trabajo consistirá de cuatro alumnos.

Parte importante de este manual son las CONCLUSIONES a las que se llega al final del experimento, una vez hecha la DISCUSION de los RESULTADOS ocurridos durante el ensayo. Las CONCLUSIONES deberán concordar con los OBJETIVOS planteados al inicio de la práctica.

Los experimentos presentados en este manual de prácticas, han sido seleccionados partiendo de los conocimientos que el alumno debe tener al iniciar el curso de Bioquímica. Dichos experimentos se han seleccionado de cada ensayo. Dichos experimentos para estar en la clase teórica.

Las diferentes secciones de este manual de prácticas son: EXPERIMENTOS, FUNDAMENTO, MATERIAL Y REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, RESULTADOS, DISCUSION, CONCLUSIONES, SECCION DE REFERENCIAS, BIBLIOTECA CONSULTADA.

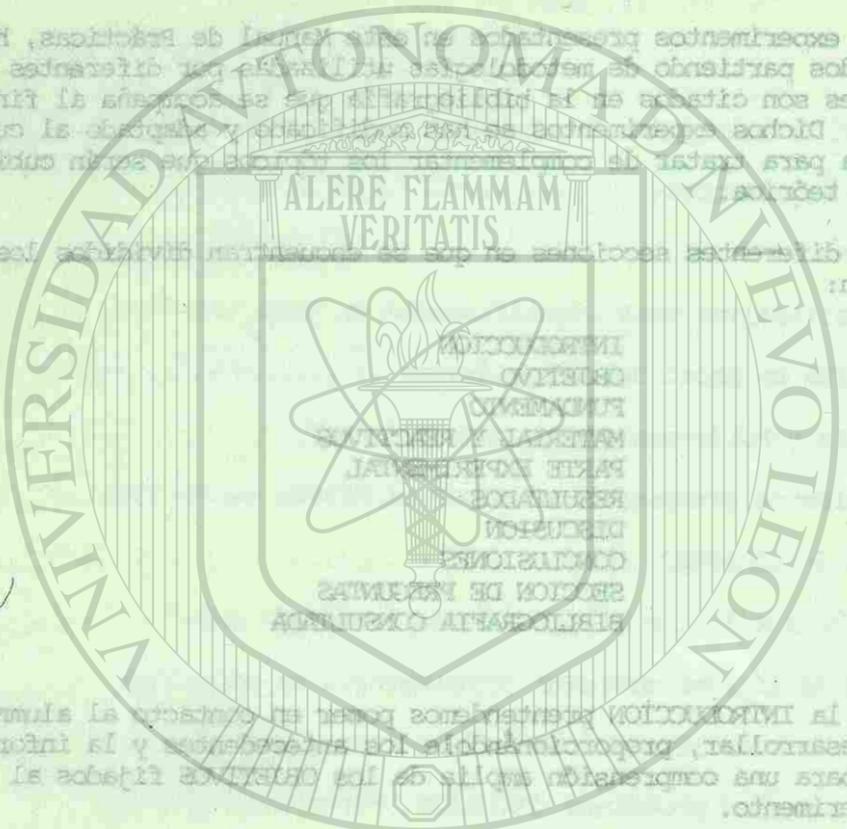
En la INTRODUCCION presentamos el curso de Bioquímica al alumno con el fin de desarrollar, proporcionar los conocimientos y la información necesaria para una comprensión amplia de los conceptos básicos al realizar el experimento.

El FUNDAMENTO de cada práctica ayuda a la comprensión correcta de los conocimientos que están contenidos en cada uno de los pasos mencionados en la PARTE EXPERIMENTAL.

Para facilitar la rápida comprensión de los conceptos de Bioquímica, las referencias de los experimentos se han colocado al principio de cada práctica, pero es necesario que el alumno consulte los artículos y procedimientos indispensables para la preparación de los mismos.

También damos la lista del MATERIAL que se usará en el curso de Bioquímica, cuando el alumno consulte el manual de prácticas.

Parte importante de este manual son las CONCLUSIONES a las que se llega al final del experimento, una vez hecha la DISCUSION de los RESULTADOS obtenidos durante el ensayo. Las CONCLUSIONES deberán concordar con los OBJETIVOS planteados al inicio de la práctica.



Incluiremos una SECCION DE REFERENCIAS sobre el tema de las prácticas referidas al procedimiento utilizado en los experimentos que se mencionan al final. Para contestar dichas referencias, se podrá consultar diferentes textos, mismos que deberá estar en el espacio de cada BIBLIOTECA CONSULTADA.

Al final de cada experimento hemos incluido una lista de fuentes bibliográficas revisadas para la elaboración de los experimentos que se presentan en este manual. Esperamos que esta lista sea de utilidad para consultar las preguntas que se le presenten.

Esperamos que el Manual contribuya al aprendizaje de la Bioquímica y estimule a los estudiantes a intervenir en ella.

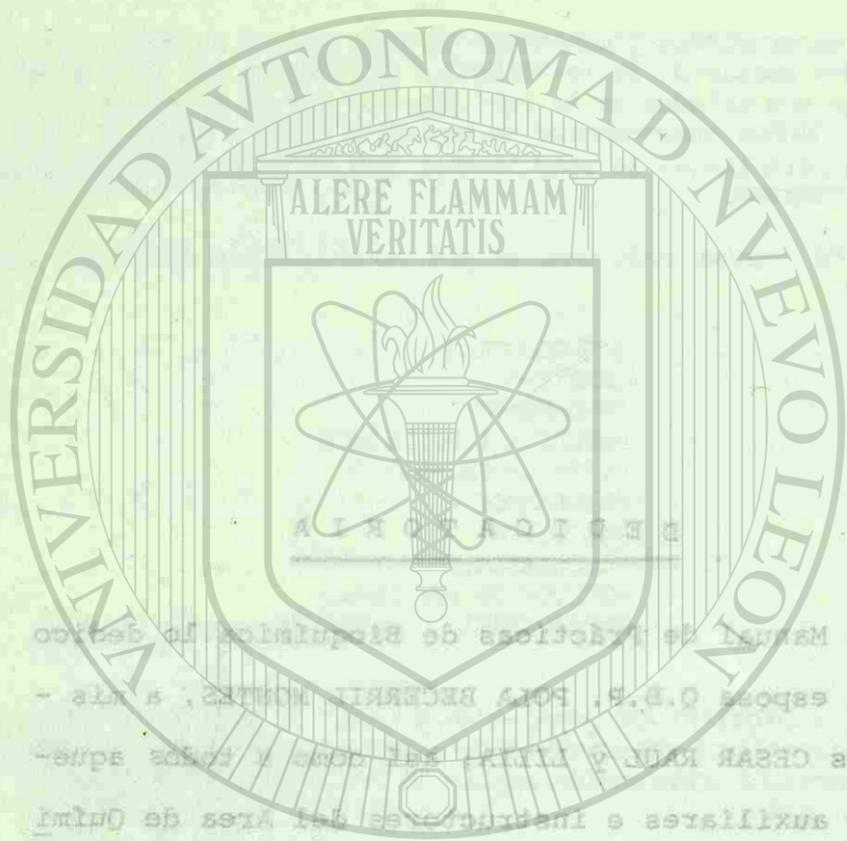
DEDICATORIA

Este Manual de Prácticas de Bioquímica lo dedico a mi esposa Q.B.P. POLA BECERRIL MONTES, a mis hijos CESAR RAUL y LILIA; así como a todos aquellos auxiliares e instructores del Area de Quimica como un reconocimiento a su labor.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

Incluimos una SECCION DE PREGUNTAS sobre el tema las cuales se referirán al procedimiento utilizado así como también serán complementarias al tema. Para contestar dichas interrogantes, se podrá consultar diferentes textos, mismos que deberá citar en el espacio denominado BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.

OBJETIVO

Al final de cada experimento hemos incluido una lista de fichas bibliográficas revisadas para la elaboración de cada uno de los experimentos que se presentan en este Manual, éstas le serán de utilidad para consultar las preguntas que se le planteen.

FUNDAMENTO

Esperamos que el Manual contribuya al mejor entendimiento de la Bioquímica y estimule a los estudiantes a interesarse en ella.

ATENTAMENTE

Q.B.P. JUAN ANTONIO RODRIGUEZ ARZAVE
Jefe del Laboratorio de Bioquímica

REGULADOR 1.1

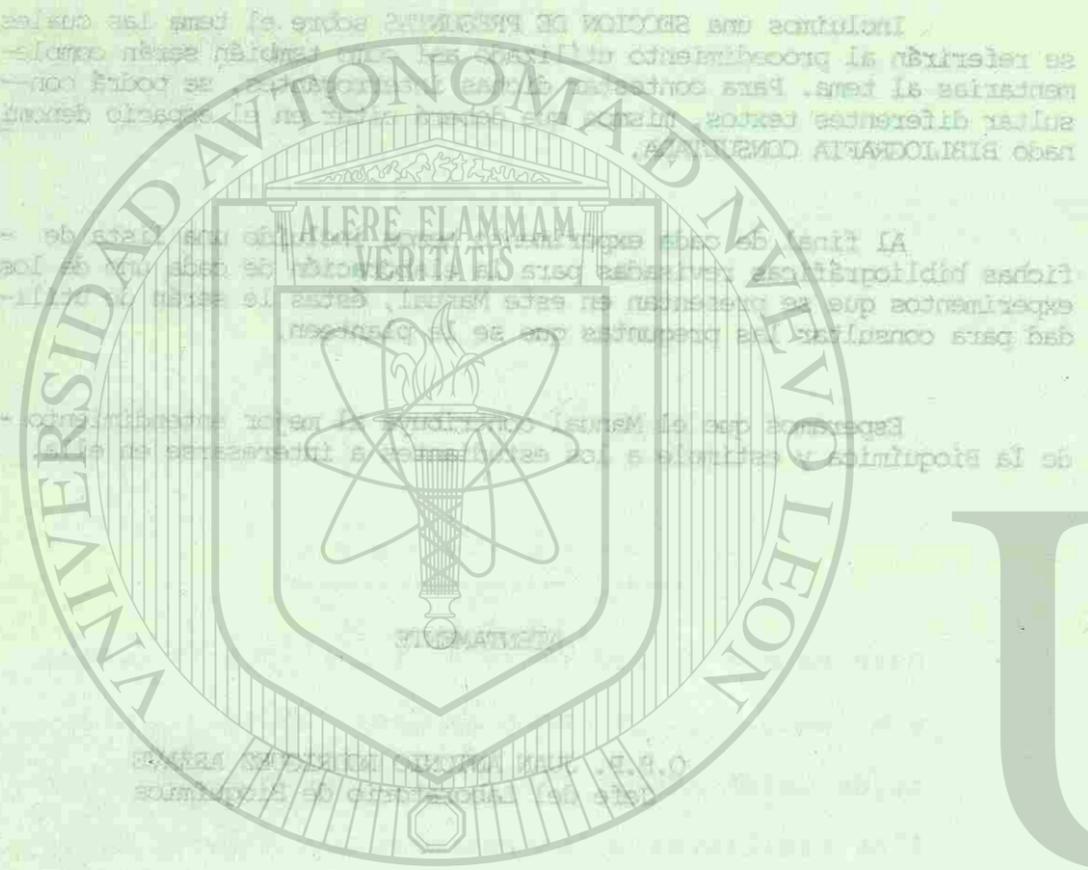
Preparar 100 ml de una solución de Sodio Benzoico (NaC₆H₅CO₂) y Benzoato de Sodio (C₆H₅COONa) en agua destilada. El pKa del Acido Benzoico es 4.18.

Los PASOS DETERMINAR LA RELACION K^+ / HA QUE EXISTE EN EL REGULADOR, aplicando para ello la Ecuación de Henderson-Hasselbalch.

$$pH - pK_a = \log \left[\frac{K^+}{HA} \right]$$
$$\left[\frac{K^+}{HA} \right] = \text{antilog} (pH - pK_a)$$

Antilog (5 - 4.18)

= antilog 0.82



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PREPARACION DE SOLUCIONES REGULADORAS

INTRODUCCION

Las soluciones reguladoras pueden definirse como una mezcla en equilibrio de un par ácido de Bronsted + Base Conjugada, la cual es capaz de resistir la adición de ácidos ó bases fuertes, manteniendo el pH constante ó con cambios muy ligeros.

OBJETIVO

En este experimento pretendemos preparar una solución reguladora de acuerdo a cálculos químicos previamente realizados, y verificar su pH en el potenciómetro.

FUNDAMENTO

La preparación de soluciones reguladoras a partir de sus materias primas, se puede hacer empleando cualquiera de los tres métodos siguientes:

- a) Pesar los gramos de HA y A⁻ separadamente y luego disolverlos en el volumen apropiado de agua.
- b) Mezclar los volúmenes necesarios de HA y A⁻, y aforar con agua destilada si se requiere.
- c) Pesar los gramos del compuesto que nos proporcionará tanto HA como A⁻, disolverlos en una pequeña cantidad de agua; agregar el volumen necesario de ácido fuerte ó de base fuerte y completar con agua destilada hasta el volumen deseado.

Los cálculos para la preparación de dichas soluciones reguladoras son sencillos si seguimos detenidamente los siguientes ejemplos:

REGULADOR TIPO 1

Preparar 800 ml de un Regulador de Benzoatos 0.1 M pH=5, a partir de Acido Benzoico sólido (P.M.= 122) y Benzoato de Sodio sólido (P.M.= 144). El pKa del Acido Benzoico es 4.18.

1er PASO: DETERMINAR LA RELACION A⁻ / HA QUE HABRA EN EL REGULADOR, aplicando para ello la Ecuación de Henderson-Hasselbach :

$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \frac{[A^-]}{[HA]} = \text{antilog} (5 - 4.18)$$

$$pH - pKa = \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \frac{[A^-]}{[HA]} = \text{antilog} 0.82$$

$$\frac{[A^-]}{[HA]} = \text{antilog} (pH - pKa) \quad \frac{[A^-]}{[HA]} = 6.6$$

2o. PASO: CALCULAR LOS % DE CADA COMPONENTE

Dado que en el regulador la relación $[A^-]/[HA] = 6.6$ entonces tendremos:

Para la preparación de un regulador del segundo tipo, por ejemplo:
 Preparar 800 ml de un Regulador de Benzoato de Sodio 0.1 M a partir de Acido Benzoico 0.1 M y Benzoato de Sodio 1 M + 6.60 partes de A^-
 al problema anterior que fueron: 1.00 partes de HA
 7.60 partes totales

Si 7.60 partes totales es el 100% de partes que constituyen al regulador, entonces los porcentajes de ambos componentes se pueden calcular directamente de la siguiente manera:

% DE $[A^-]$	% DE $[HA]$
7.60 partes totales --- 100%	7.60 partes totales --- 100%
6.60 partes de A^- --- X	1.00 partes de HA --- X
$X = \frac{(6.60 \text{ partes } A^-)}{(7.60 \text{ partes totales})} (100\%)$	$X = \frac{(1.00 \text{ parte HA})}{(7.60 \text{ partes totales})} (100\%)$
= 86.8 % de A^-	= 13.2 % de HA

3er PASO: TRANSFORMAR LOS % a moles/litro

Si sabemos que $[REGULADOR] = [HA] + [A^-]$, entonces la concentración del regulador se puede considerar como un 100%, y directamente podemos calcular los moles/l de cada especie, como sigue:

moles/l de A^-	moles/l de HA
0.1 moles/l --- 100%	0.1 moles/l --- 100%
X --- 86.8% de A^-	X --- 13.2% de HA
$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (86.8\%)}{(100\%)}$	$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (13.2\%)}{(100\%)}$

$= 0.0868 \text{ moles/l de } [A^-]$ $= 0.0132 \text{ moles/l de } [HA]$

4o. PASO: TRANSFORMAR LOS moles/l a GRAMOS.

Los gramos de cada componente se pueden calcular empleando la fórmula de Molaridad, como se ilustra enseguida:

$$g_{A^-} = (M_{A^-}) (P.M._{A^-}) (\text{litro}) = (0.0868 \text{ mol/l}) (144 \text{ g/mol}) (0.8 \text{ l}) = 9.9999 \text{ GRAMOS DE BENZOATO DE SODIO}$$

$$g_{HA} = (M_{HA}) (P.M._{HA}) (\text{litro}) = (0.0132 \text{ mol/l}) (122 \text{ g/mol}) (0.8 \text{ l}) = 1.2883 \text{ GRAMOS DE ACIDO BENZOICO}$$

5o. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR

En 100 ml de agua destilada disolver 9.9999 gramos de Benzoato de Sodio y 1.2883 gramos de Acido Benzoico, y aforar a 800 ml con agua destilada.

PREPARACION DE SOLUCIONES REGULADORAS

INTRODUCCION

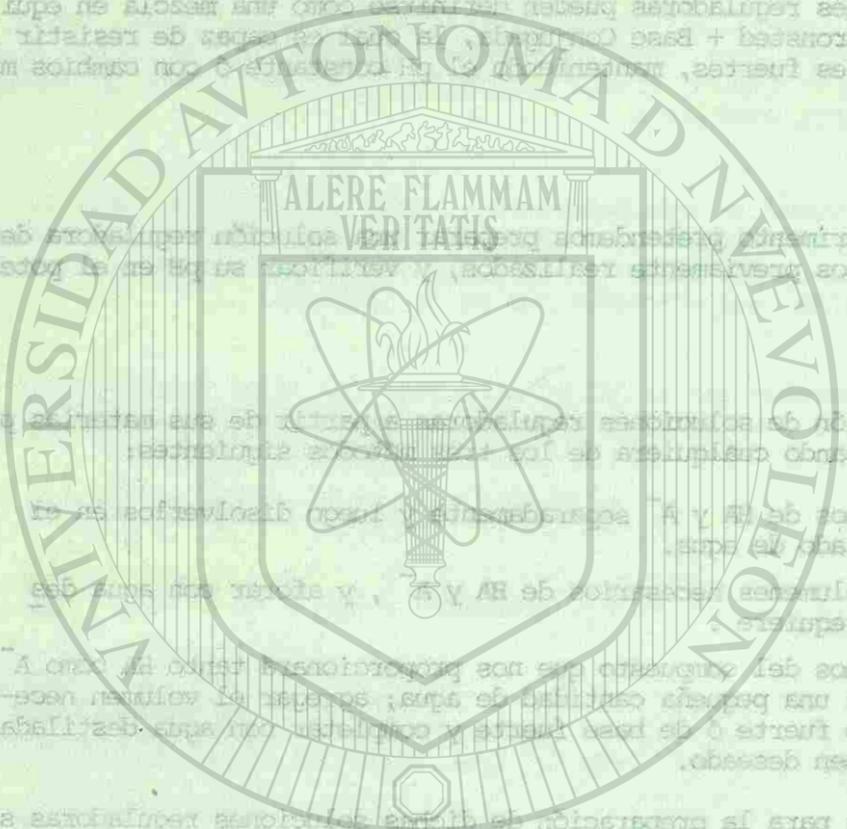
Las soluciones reguladoras pueden prepararse como una mezcla en equilibrio de un par ácido de Bronsted + Base Conjugada. En este caso de preparar la solución de ácidos débiles o bases fuertes, manteniendo un equilibrio con especies muy débiles.

OBJETIVO

El objetivo de este experimento es preparar una solución reguladora de ácido benzoico y benzoato de sodio, manteniendo un equilibrio con especies muy débiles.

FUNDAMENTO

La preparación de soluciones reguladoras requiere de un equilibrio entre las especies de un par ácido de Bronsted + Base Conjugada.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REGULADOR TIPO 2

Para la preparaci3n de un regulador del segundo tipo, por ejemplo: Preparar 800 ml de un Regulador de Benzoatos 0.1 M pH=5 a partir de Acido Benzoico 1 M y Benzoato de Sodio 1 M; se siguen los primeros tres pasos mencionados en el problema anterior que fueron:

- 1.-CALCULAR LA RELACION [A⁻]/[HA]
- 2.-CALCULAR LOS % DE A⁻ Y HA
- 3.-TRANSFORMAR LOS % A moles/l , y el

4o. PASO:CALCULAR LOS MILILITROS DE HA y A⁻, utilizando para ello la siguiente ecuaci3n:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

Si sabemos que en el regulador la [A⁻] = 0.0868 moles/l y la [HA] = 0.0132 moles/l, entonces los mililitros requeridos de cada componente se calculan sustituyendo en la ecuaci3n anterior de la siguiente manera:

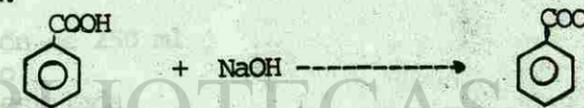
mililitros de A ⁻	mililitros de HA
(X ml) (1 M) = (800 ml) (0.0868 M)	(X ml) (1 M) = (800ml) (0.0132M)
X = $\frac{(800 \text{ ml}) (0.0868 \text{ M})}{(1 \text{ M})}$	X = $\frac{(800 \text{ ml}) (0.0132 \text{ M})}{(1 \text{ M})}$
= 69.44 ml de BENZOATO DE SODIO	= 10.56 ml DE ACIDO BENZOICO

5o. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR: Mezclar 69.44 ml de Benzoato de Sodio 1 M y 10.56 ml de Acido Benzoico 1M y aforar a 800 ml con agua destilada.

REGULADOR TIPO 3

Preparar 800 ml de un regulador de Benzoatos 0.1 M pH=5 si disponemos de Acido Benzoico cristalino, HCl 6M y NaOH 4M.

Dado que solamente disponemos del acido d3bil, la base conjugada la podemos formar agregando una base fuerte a la soluci3n de acido d3bil, de acuerdo a la siguiente reacci3n:



1er PASO:CALCULAR LOS GRAMOS DE ACIDO BENZOICO. Como el acido benzoico nos proporcionar3 tanto HA como A⁻, entonces REGULADOR = ACIDO BENZOICO, por lo que los gramos de acido benzoico se pueden conocer directamente a partir de la siguiente ecuaci3n:

$$g = (M) (P.M.) (\text{litro})$$

$$= (0.1M) (122g/mol) (0.8 \text{ l})$$

$$= 9.76 \text{ gramos de ACIDO BENZOICO}$$

2o. PASO: CALCULAR LOS % DE CADA COMPONENTE Dado que en el regulador la relaci3n [A⁻]/[HA] = 6.9, entonces tendremos:

$$\frac{6.90 \text{ partes de } A^-}{1.00 \text{ partes de } HA} = 7.90 \text{ partes totales}$$

Si 7.90 partes totales es el 100% de partes que constituyen al regulador, entonces los porcentajes de cada componente se pueden calcular directamente de la siguiente manera:

% DE [A⁻]

$$\frac{6.90 \text{ partes de } A^-}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 87.34\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$

2o. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR En 100 ml de agua destilada disolver 9.999 gramos de Benzoato de Sodio y 1.2883 gramos de Acido Benzoico, y aforar a 800 ml con agua destilada.

$$g_{A^-} = (M) (P.M.) (\text{litro})$$

$$g_{HA} = (M) (P.M.) (\text{litro})$$

$$= (0.0868 \text{ mol/l}) (144 \text{ g/mol}) (0.8 \text{ l}) = 9.999 \text{ gramos de BENZOATO DE SODIO}$$

$$= (0.0132 \text{ mol/l}) (122 \text{ g/mol}) (0.8 \text{ l}) = 1.2883 \text{ gramos de ACIDO BENZOICO}$$

3o. PASO: TRANSFORMAR LOS % A moles/litro Si sabemos que el regulador se puede considerar como un 100% y distribuirse de la siguiente manera:

$$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (88.8\%)}{(100\%)} = 0.0888 \text{ moles/l de } A^-$$

$$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (12.66\%)}{(100\%)} = 0.01266 \text{ moles/l de } HA$$

3er PASO: TRANSFORMAR LOS % A moles/litro Si sabemos que el regulador se puede considerar como un 100% y distribuirse de la siguiente manera:

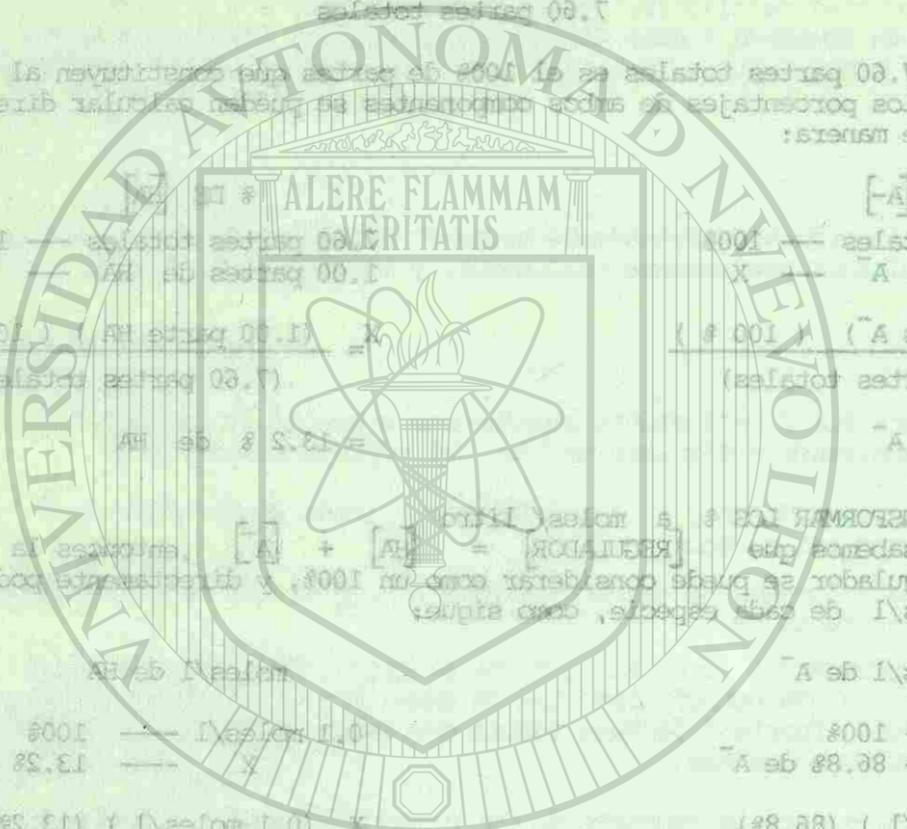
$$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (88.8\%)}{(100\%)} = 0.0888 \text{ moles/l de } A^-$$

$$X = \frac{(0.1 \text{ moles/l}) (12.66\%)}{(100\%)} = 0.01266 \text{ moles/l de } HA$$

Si 7.90 partes totales es el 100% de partes que constituyen al regulador, entonces los porcentajes de cada componente se pueden calcular directamente de la siguiente manera:

$$\frac{6.90 \text{ partes de } A^-}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 87.34\%$$

$$\frac{1.00 \text{ partes de } HA}{7.90 \text{ partes totales}} \times 100\% = 12.66\%$$



DIRECCI3N GENERAL DE BIBLIOTECAS

REGULADOR TIPO 2

Para la preparación de un regulador de un segundo tipo, por ejemplo: Preparar 800 ml de un regulador de Benzoato 0.1 M pH=5 a partir de Acido Benzoico...

- 1.-CALCULAR LA RELACION [A-] / [HA]
2.-CALCULAR EL % DE A-
3.-TRANSFORMAR EL % A- a moles/l DE A-

4o. PASO: CALCULAR LOS MILILITROS DE HA Y A- UTILIZANDO PARA ESTO LA SIGUIENTE ECUACION:

Si sabemos que en el regulador la [A-] = 0.0868 moles/l y [HA] = 0.0132 moles/l, entonces los mililitros requeridos de cada componente se calculan sustituyendo en la ecuacion anterior de la siguiente manera:

Equation: (X ml) (4 M) = (800 ml) (0.0868 M)
X = (800 ml) (0.0868 M) / (4 M)
X = 17.36 ml

5o. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR: Disolver 9.76 gramos de Acido Benzoico en 100 ml de agua destilada, añadir 17.36 ml de NaOH 4 M y aforar a 800 ml con agua destilada.

REGULADOR TIPO 3

Preparar 800 ml de un regulador de Benzoato 0.1 M pH=5 si disponemos de Acido Benzoico cristalizado, NaOH 4M y agua destilada.

Todo que solamente disponemos del acido débil, la base conjugada la podemos tomar preparando una base fuerte a la solución de acido débil, de acuerdo a la siguiente ecuación:



1er PASO: CALCULAR LOS GRAMOS DE ACIDO BENZOICO. Como el acido benzoico nos proporciona tanto HA como A-, entonces REGULADOR = ACIDO BENZOICO, por lo que los gramos de acido benzoico se pueden conocer directamente a partir de la siguiente ecuación:

Equation: 9.76 gramos de ACIDO BENZOICO = (0.1M) (17.36 ml) (0.81) = p (M) (P.M.) (litro)

2o. PASO: CALCULAR LOS MILILITROS DE BASE FUERTE

Como el volumen de NaOH dependerá directamente de la A- que se necesita en el regulador, entonces tenemos que calcular los moles/l de HA siguiendo los pasos anteriormente mencionados que fueron:

- 1.-DETERMINAR LA RELACION [A-] / [HA]
2.-CALCULAR EL % DE A-
3.-TRANSFORMAR EL % A- a moles/l DE A-

De acuerdo a estos pasos, la [A-] = 0.0868 moles/l. Para formar esta cantidad de [A-], deberán reaccionar estequiométricamente 0.0868 moles/l de Acido Benzoico con 0.0868 moles/l de NaOH

por lo que en el regulador, la concentración de NaOH será de 0.0868M. Los mililitros de NaOH 4M que se deberán tomar para preparar el regulador, se calcularán de acuerdo a la siguiente ecuación:

Equation: V1 C1 = V2 C2
(X ml) (4 M) = (800 ml) (0.0868 M)
X = (800 ml) (0.0868 M) / (4 M)
= 17.36 ml de NaOH 4 M.

3er. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR: Disolver 9.76 gramos de Acido Benzoico en 100 ml de agua destilada, añadir 17.36 ml de NaOH 4 M, y aforar a 800 ml con agua destilada.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 2 vasos de precipitados
1 probeta graduada
1 pipeta de 5 ml
1 matraz de aforación de 250 ml
1 agitador de vidrio
1 piceta con agua destilada

PARTE EXPERIMENTAL

1.-Cada equipo preparará 250 ml de una solución reguladora de acuerdo con las indicaciones dada por el instructor. Haga los cálculos necesarios en la siguiente hoja:

C A L C U L O S

... el botón de encendido... para...

... la siguiente tabla anota...

U A N L

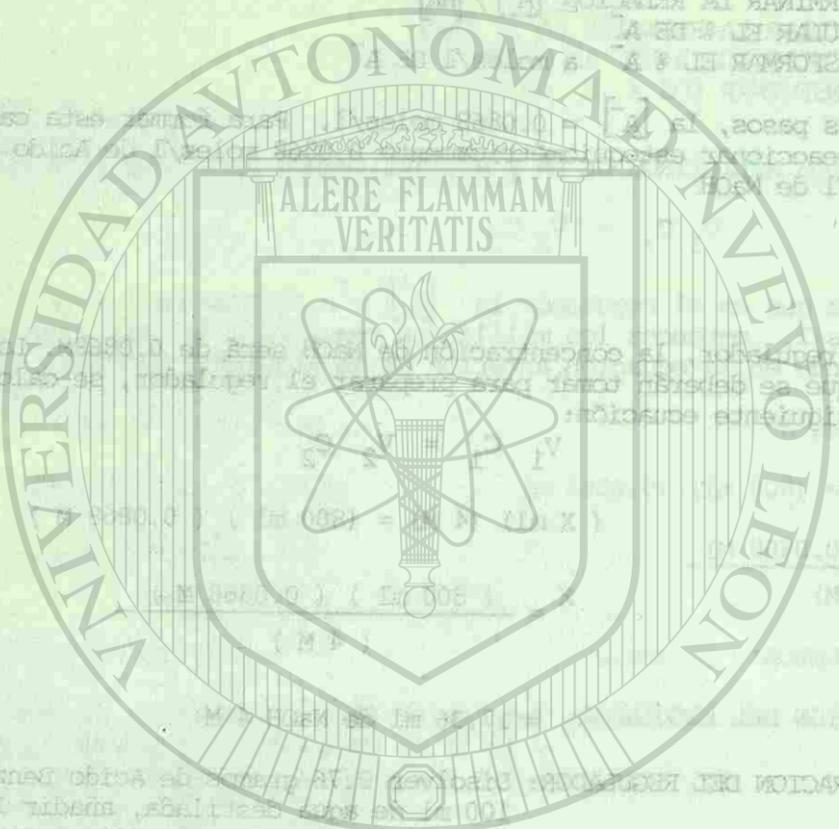
COMPONENTE B

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.-Prepare su solución reguladora de acuerdo a los resultados matemáticos obtenidos.



No. PASO: CALCULAR LOS MILLIEQUIVALES DE BASE FUERTE... Como el volumen de NaOH depende directamente de la...

1.- DETERMINAR LA RELACION A... 2.- CALCULAR EL... 3.- TRANSFORMAR EL...

De acuerdo a estos pasos... de A... deberán reaccionar...

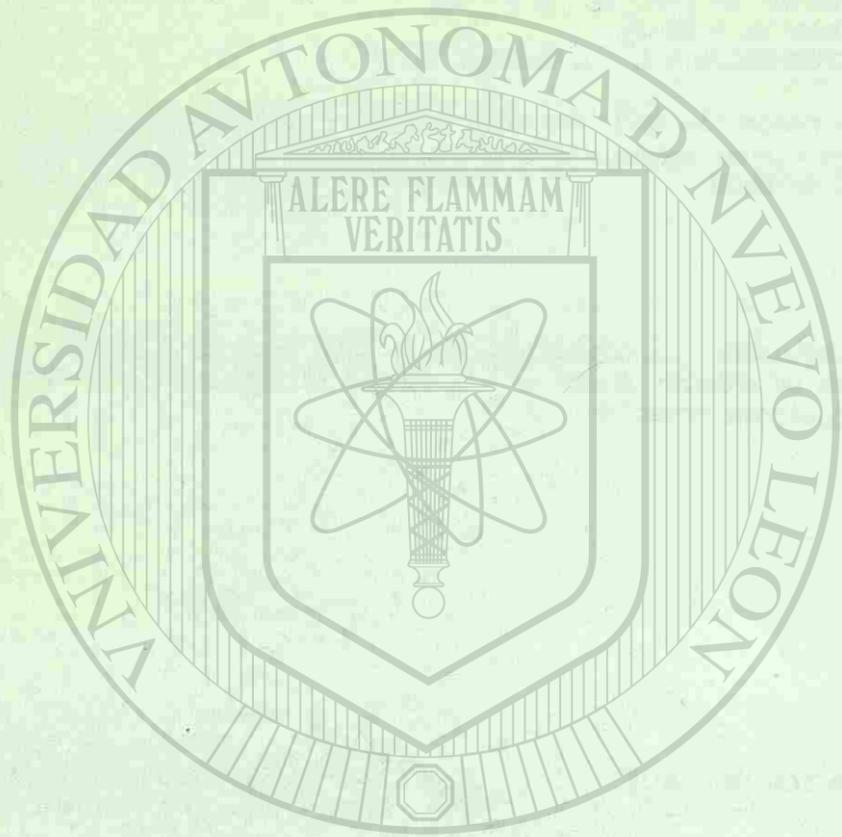
Por lo que en el punto... la concentración de NaOH en los mililitros...

3er. PASO: PREPARACION DEL REGULADOR... de NaOH 4 M y agregar a 500 ml de agua...

Preparar 500 ml de un regulador de NaOH... MATERIALES Y EQUIPO DE LABORATORIO...

1 pipeta de 5 ml
1 matraz de aforación de 250 ml
1 agitador de vidrio
2 pipetas con agua destilada

1.- Cada equipo preparará 250 ml de una solución reguladora de acuerdo con las indicaciones dadas por el instructor para los cálculos necesarios en la siguiente hoja:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.-Prepare su solución reguladora de acuerdo a los resultados obtenidos.

3.-CALIBRACION DEL POTENCIOMETRO: Conecte el potenciómetro, durante 10 minutos mantenga el botón de pH en la posición stand-by. Saque los electrodos de la solución donde se encuentran y lávelos con agua destilada. Séquelos e introdúzcalos en una solución reguladora de pH conocido; mueva el botón a pH , y con el botón de estandarizar lleve la aguja hasta el pH deseado. Regrese el botón a stand by. Lave los electrodos, séquelos y ; Ya están listos para usarse;

4.-Determine el pH de la Solución Reguladora que preparó.

RESULTADOS

En la siguiente tabla anote las cantidades de cada componente empleado en la - preparación del regulador.

COMPONENTE A	COMPONENTE B

Anote el pH de la solución reguladora determinado potenciométricamente:

DISCUSION DE LOS RESULTADOS



SECCION DE PREGUNTAS

CONCLUSIONES

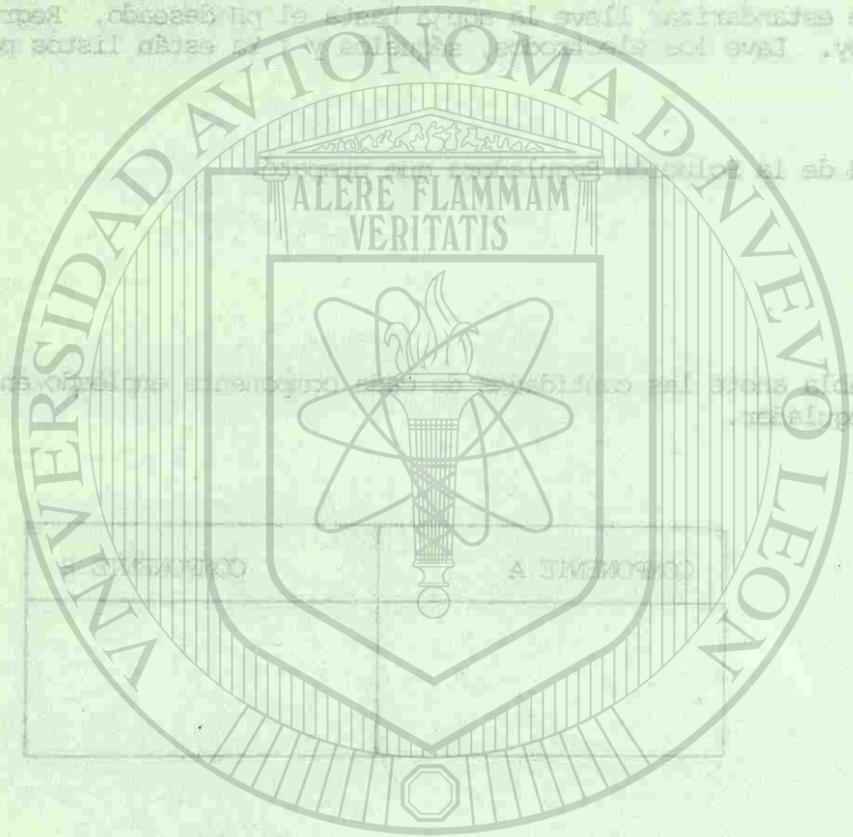
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



3.- CALIBRACION DEL POTENCIOMETRO: Consiste el potenciómetro, durante 10 minutos mantener el botón de pH en la posición estándar. Se debe lavar las electrodos de la solución donde se encuentran y lavados con agua destilada. Se deben lavar e introducir en una solución reguladora de pH conocido; mover el botón a pH 7. Y con el botón de estándar, lavar la solución reguladora. Repetir el proceso el botón a estándar. Lavar los electrodos y lavar los electrodos para

RESULTADOS

En la siguiente tabla anote los resultados obtenidos durante la preparación del regulador.

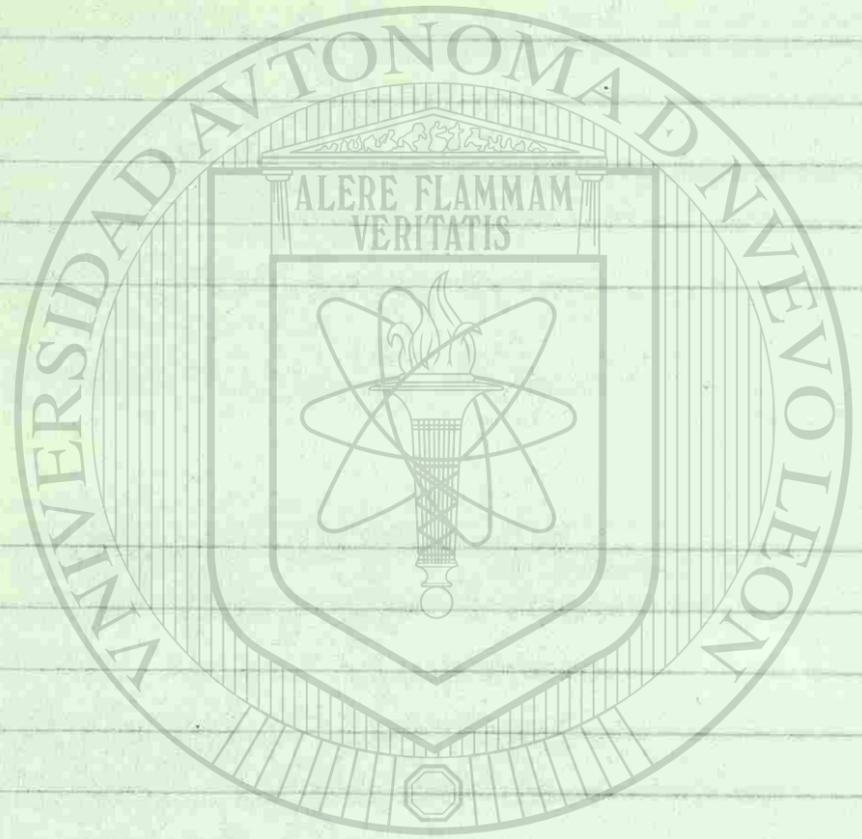


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DESCRIPCION DE LOS RESULTADOS

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS



COMISIONES

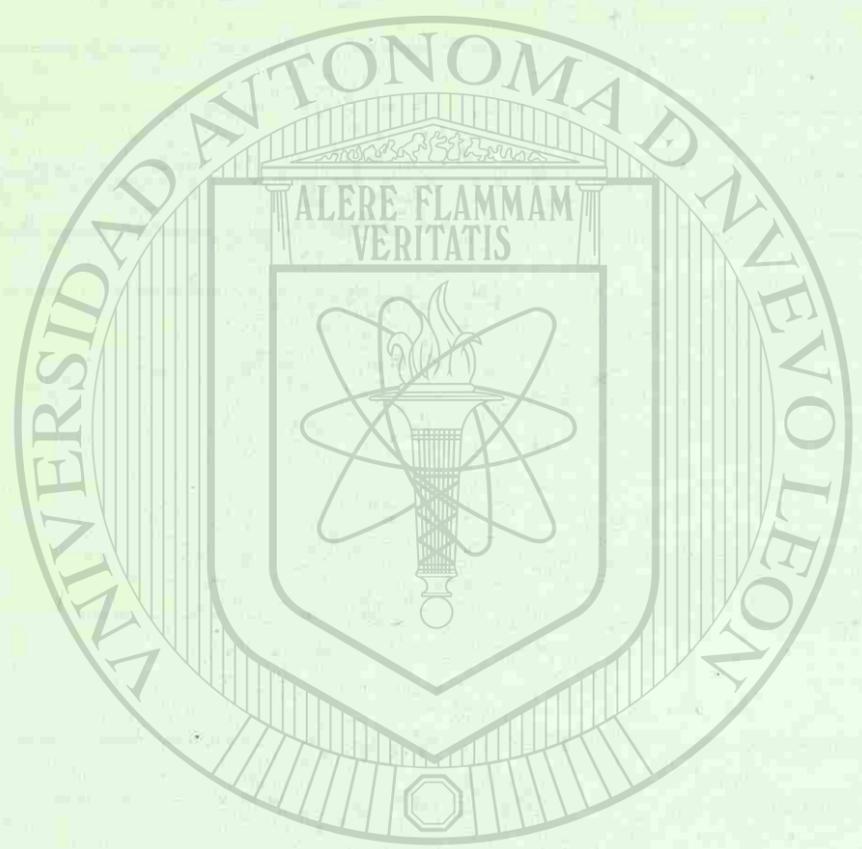
JUANIL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA CONSULTA



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



INTRODUCCION

El funcionamiento correcto de los sistemas biológicos requiere un control efectivo del pH, ya que los procesos metabólicos se ven afectados fuera de ciertos límites de acidez. El pH óptimo de las enzimas es el factor determinante para establecer el rango de pH que podría tener un organismo vivo o subcelular. Las células mantienen una concentración de iones H⁺ muy baja para evitar la producción de ácidos o bases internamente, y que el pH de estos sistemas pueda cambiar. Este control es efectuado por sistemas de amortiguamiento de pH denominados "buffers", "amortiguadores" o "Soluciones Regulatorias".

OBJETIVO

Determinar la actividad de los ácidos fuertes y bases fuertes, y además comparar el pH de una solución con una solución no amortiguadora.

BIBLIOGRAFIA

FUNDAMENTO

El par ácido-base fuerte y débil, pueden comportarse como un sistema de amortiguamiento como funciona dentro de una solución de un ácido fuerte y su base débil.

- 1.- Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. 1a Edición en español. Fondo Educativo Interamericano . pp 63 - 66
- 2.- Dawson, R.M.C. et al. 1972. Data for Biochemical Research. 2a. Edition. Oxford University Press, Ely House London W.I.
- 3.- Hamilton, L.F. y S.G. Simpson. 1968. Calculos de Química Analítica. Traducción de la 6a. Edición en Ingles. Ediciones Castilla, S.A.
- 4.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. Bogotá, Colombia.

AL AMORTIGUAR ACIDO:

H⁺ (del ácido fuerte)

AL AMORTIGUAR ALCALI:

OH⁻ (de la base fuerte)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SOLUCIONES REGULADORAS

INTRODUCCION

El funcionamiento correcto de los sistemas biológicos requiere un control efectivo del pH, ya que los procesos metabólicos se inactivan fuera de ciertos límites de acidez. El pH óptimo de las enzimas es un factor importante para establecer el rango de pH que podría tener un compartimiento intra ó extracelular. Las células mantienen una concentración de hidrógenos dada, aún cuando puedan ser producidos ácidos ó bases internamente, o que el pH del medio ambiente pueda cambiar. Este control es efectuado por sistemas amortiguadores de pH denominado "Buffers", "Amortiguadores" ó "Soluciones Reguladoras".

OBJETIVO

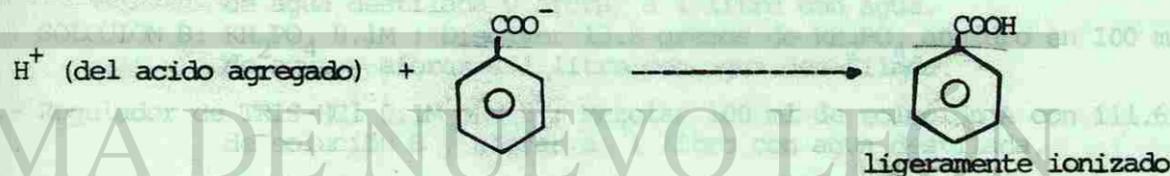
Determinar la actividad de las soluciones reguladoras frente a los ácidos fuertes y bases fuertes, y además probar su efectividad en el control del pH, comparándola con una solución no amortiguadora como el agua ó solución salina.

FUNDAMENTO

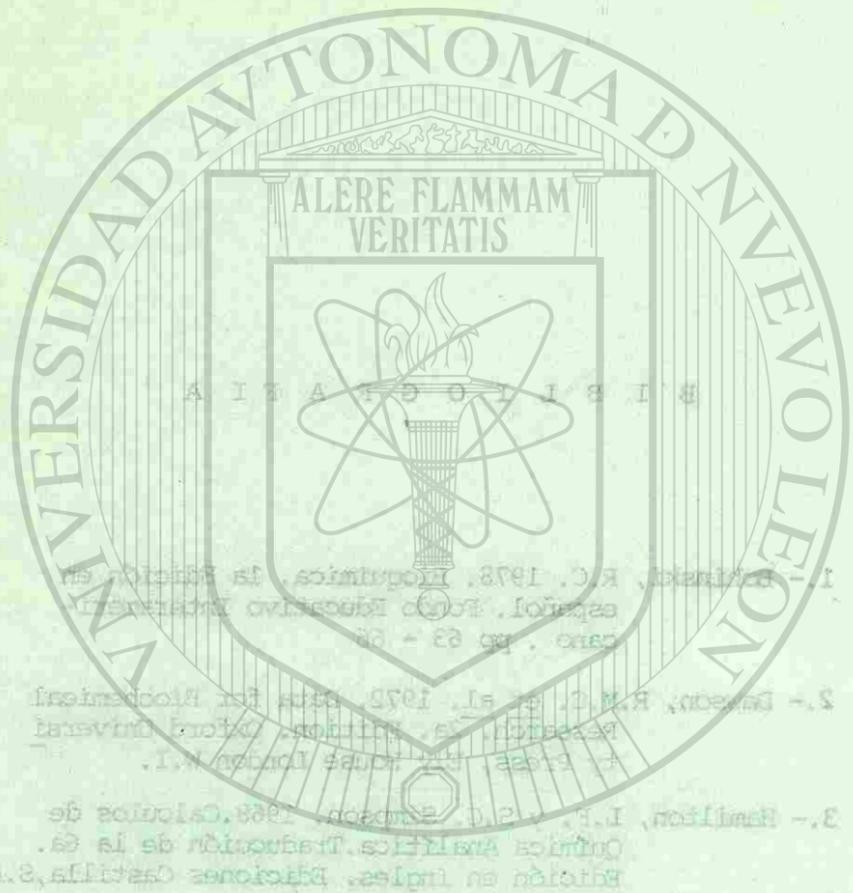
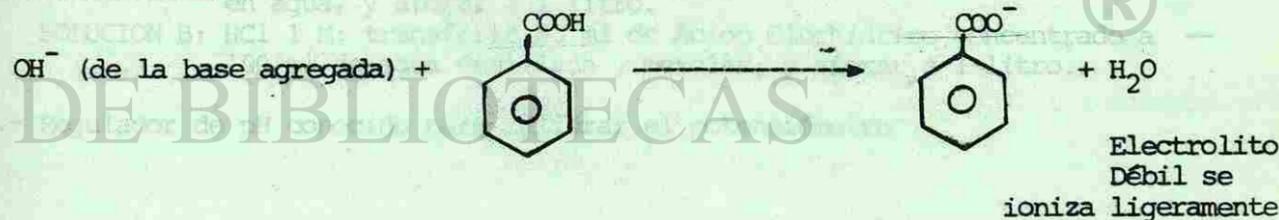
El par Acido de Bronsted + Base Conjugada que integran a una solución reguladora, pueden formarse con un ácido débil y su sal ó una base débil y su sal. El mecanismo como funciona dicha solución reguladora es el siguiente:

Una solución que contiene cantidades equimoleculares de benzoato de sodio y ácido benzoico, reaccionará con cualquier ácido ó base agregados de acuerdo a las siguientes ecuaciones químicas:

AL ADICIONAR ACIDO:



AL ADICIONAR ALCALI:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SOLUCIONES REGULADORAS

INTRODUCCIÓN

El funcionamiento correcto de los aparatos de medida de pH depende de la actividad de los iones H⁺ en la solución que se mide. La actividad de los iones H⁺ depende de la concentración de los iones H⁺ y de la fuerza iónica de la solución. Este control es efectuado por el uso de soluciones reguladoras de pH.

OBJETIVO

Determinar la actividad de los iones H⁺ en una solución de un ácido débil y en una solución de un ácido fuerte y pasar fuerzas y bases fuertes y débiles.

FUNDAMENTO

El pH de una solución de un ácido débil y de un ácido fuerte depende de la fuerza iónica de la solución. El mecanismo de acción de las soluciones reguladoras de pH es el siguiente:

Una solución que contiene un ácido débil y su base conjugada puede actuar como una solución reguladora de pH. El mecanismo de acción de estas soluciones reguladoras de pH es el siguiente:

AL ADICIONAR ACIDO:



AL ADICIONAR ALCALI:



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIAL POR EQUIPO DE 4 PERSONAS

- 4 vasos de precipitados de 250 ml
- 2 vasos de precipitados de 100 ml
- 1 probeta graduada de 100 ml
- 2 pipetas de 5 ml
- 1 piceta con agua destilada
- 1 agitador magnético
- 1 barra magnetica
- Kleenex

REACTIVOS

- 1.- NaOH 0.1M : Disolver con agitación 0.4 gramos de Hidróxido de Sodio en 50 ml de agua fría, y aforar a un volumen final de 100 ml con agua destilada fría.
- 2.- HCl 0.1 M : En 10 ml de agua destilada adicionar 0.83 ml de Acido Clorhídrico, mezclar., y aforar a 100 ml con agua destilada.
- 3.- Regulador de Acetatos 0.1 M pH= 4: Mezclar 580 ml de Solución B y 420 ml de Solución A, y ajustar el pH si es necesario.

SOLUCION A: Acetato de Sodio 0.1 M: Disolver 0.860 gramos de acetato de sodio en agua y aforar a 100 ml con agua destilada

SOLUCION B: Acido Acético 0.1 M : Transferir 5.8 ml de Acido Acético concentrado a 100 ml de agua destilada, mezclar, y aforar a 1 litro.

- 4.- Regulador de Fosfatos 0.1 M pH =7: Mezclar 386.9 ml de Solución A con 613.1ml de Solución B.

SOLUCION A: K₂HPO₄ 0.1 M: Disolver 17.4 gramos de K₂HPO₄ anhidro en 100 ml de agua destilada y aforar a 1 litro con agua.

SOLUCION B: KH₂PO₄ 0.1M : Disolver 13.8 gramos de KH₂PO₄ anhidro en 100 ml de agua y aforar a 1 litro con agua destilada.

- 5.- Regulador de TRIS-HCl 0.1M pH= 8 : Mezclar 100 ml de solución A con 111.6 ml de solución B y aforar a 1 litro con agua destilada.

SOLUCION A: Trishidroximetil-aminometano 2 M : Disolver 24.23 gramos de TRIS en agua, y aforar a 1 litro.

SOLUCION B: HCl 1 M: transferir 83 ml de Acido Clorhidrico concentrado a 100 ml de agua destilada , mezclar, y aforar a 1 litro.

- 6.- Regulador de pH conocido para calibrar el potenciómetro

PARTE EXPERIMENTAL

Cada equipo trabajará solamente con una solución amortiguadora, llevando a cabo los siguientes experimentos:

I.- SOLUCION REGULADORA + BASE FUERTE

- a) Transferir 100 ml del regulador indicado a un vaso de precipitados de 250ml y adicionar cuidadosamente la barra magnética.
- b) Coloque el vaso de precipitados sobre una base magnética cercana al potenciómetro, e introduzca los electrodos en la solución.
- c) Determine el pH de la solución, moviendo el botón de stand-by a la posición pH, registre este valor ya que es el pH inicial. Deje el botón en esa posición, y encienda la agitación en la base magnética ¡CUIDADO, PUEDE ROMPER LOS ELECTRODOS!
- d) Añada 5 ml de NaOH 0.1 M en alícuotas de 0.5 ml, determinando el pH de la solución después de cada adición de álcali, registre sus lecturas.
- e) Al finalizar el experimento, apague los aparatos, lave los electrodos nuevamente, séquelos y continúe con el siguiente experimento.

II.- SOLUCION REGULADORA + ACIDO FUERTE

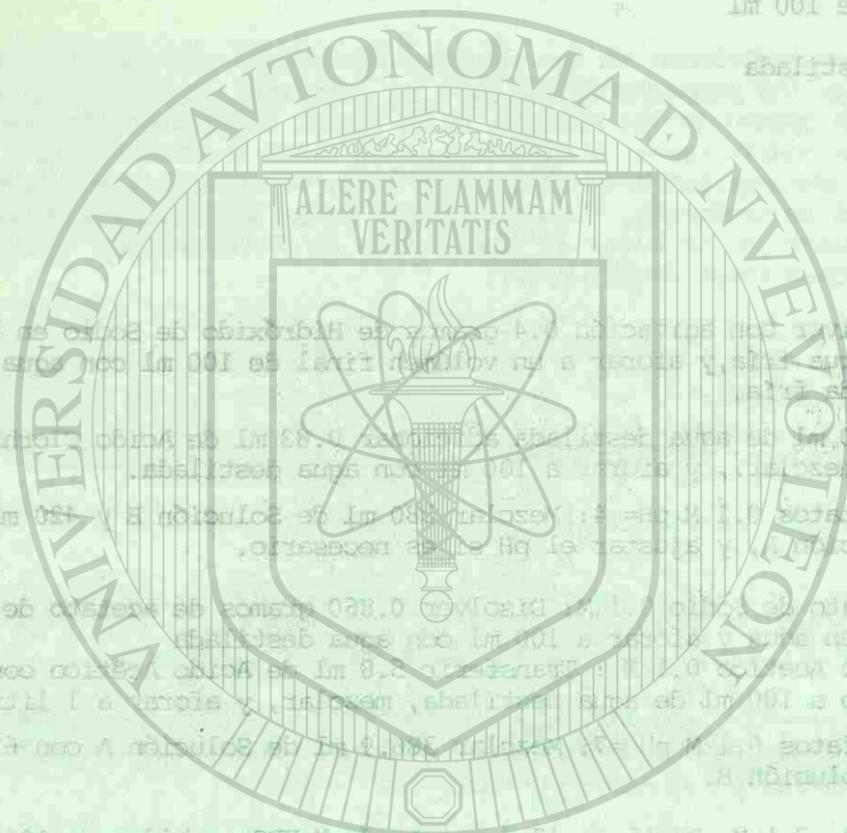
- a) Repita los pasos a, b y c anteriores
- d) Añada 5 ml de HCl 0.1 M en alícuotas de 0.5 ml, determinando el pH de la solución reguladora después de cada adición de ácido. Registre sus datos.
- e) Apague los aparatos, lave y seque los electrodos y prosiga con el siguiente ensayo.

III.- AGUA DESTILADA O SOLUCION SALINA + BASE FUERTE

- a) Transfiera 100 ml de agua destilada ó solución salina a un vaso de precipitados de 250 ml, y adicione cuidadosamente la barra magnética.
- b) Coloque el vaso de precipitados sobre la base magnética cercana al potenciómetro e introduzca los electrodos en la solución. Determine el pH inicial y regístrelo. Encienda la agitación en la base magnética y luego:
- c) Añada 5 ml de NaOH 0.1 M en alícuotas de 0.5 ml, determinando el pH tras cada adición. Anote los datos.
- d) Al terminar, lave y seque los electrodos y continúe con el último ensayo.

IV.- AGUA DESTILADA O SOLUCION SALINA + ACIDO FUERTE

- Repita los pasos a y b del experimento III
- c) Adicione 5 ml de HCl 0.1M en alícuotas de 0.5 ml haciendo determinaciones del pH tras cada adición. Anote sus valores. Al finalizar, apague los aparatos, lave y seque los electrodos, y sumergalos en agua destilada limpia.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESULTADOS

Tabule los datos obtenidos en sus experimentos

I.-

II.-

pH inicial	ml de NaOH 0.1 M añadidos	pH

pH inicial	ml de HCl 0.1 M añadidos	pH

III.-

IV.-

pH inicial	ml de NaOH 0.1 M añadidos	pH

pH inicial	ml de HCl 0.1 M añadidos	pH

Los resultados de las tablas anteriores expréselos en forma de 4 gráficas en el papel milimétrico de la hoja siguiente.

PORTE EXPERIMENTAL

Cada equipo trabajará solamente con una solución amortiguadora, llevando a cabo los siguientes experimentos:

I.- SOLUCION REGULADORA + BASE FUERTE

a) Transferir 100 ml del regulador regulador y adicionar cuidadosamente la base fuerte a un vaso de precipitados de 250 ml.

b) Coloque el vaso de precipitados sobre una base fuerte en un baño de agua a la posición c) Determine el pH de la solución y registre este valor en la tabla de datos. y encienda la solución en la base reguladora y registre los electrodos.

d) Añada 5 ml de NaOH 0.1 M en alícuotas de 0.2 ml en cada adición de la solución después de cada adición de la solución de la base reguladora.

e) Al finalizar el experimento, registre los valores de pH de la solución y registre los electrodos.

II.- SOLUCION REGULADORA + ACIDO FUERTE

a) Repita los pasos a) y b) anteriores.

b) Añada 5 ml de HCl 0.1 M en alícuotas de 0.2 ml en cada adición de la solución reguladora después de cada adición de la solución de la base reguladora.

c) Después de lavar y secar los electrodos, lave y secar los electrodos con el agua de ensayo.

III.- AGUA DESTILADA O SOLUCION SALINA + BASE FUERTE

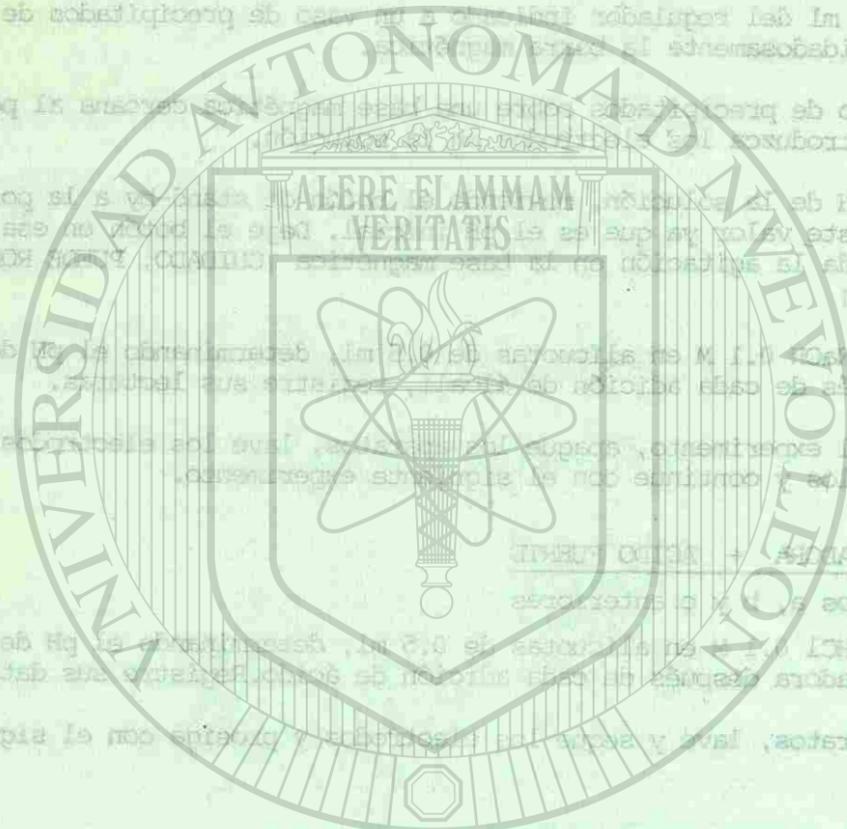
a) Transferir 100 ml de agua destilada o solución salina a un vaso de precipitados de 250 ml, y adicionar cuidadosamente la base fuerte.

b) Coloque el vaso de precipitados sobre una base fuerte en un baño de agua a la posición c) Determine el pH de la solución y registre este valor en la tabla de datos. y encienda la solución en la base reguladora y registre los electrodos.

IV.- AGUA DESTILADA O SOLUCION SALINA + ACIDO FUERTE

a) Repita los pasos a) y b) del experimento III.

c) Añade 5 ml de HCl 0.1 M en alícuotas de 0.2 ml haciendo determinaciones del pH tras cada adición. Anote los valores. Al finalizar, registre los valores de pH y registre los electrodos, y sumérjalos en agua destilada limpia.

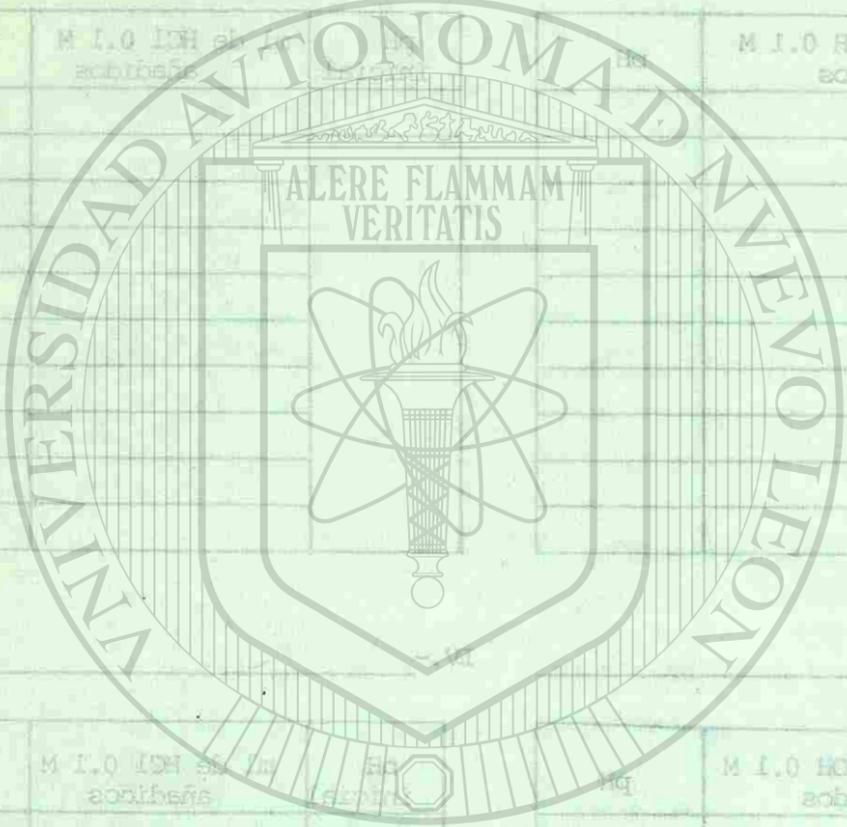


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESULTADOS
Tablas los datos obtenidos en sus experimentos

II-

H _g	M I.O. de NaOH 0.1 M añadidos	M I.O. de NaOH 0.1 M añadidos	H _g (atmosf)
----------------	----------------------------------	----------------------------------	----------------------------

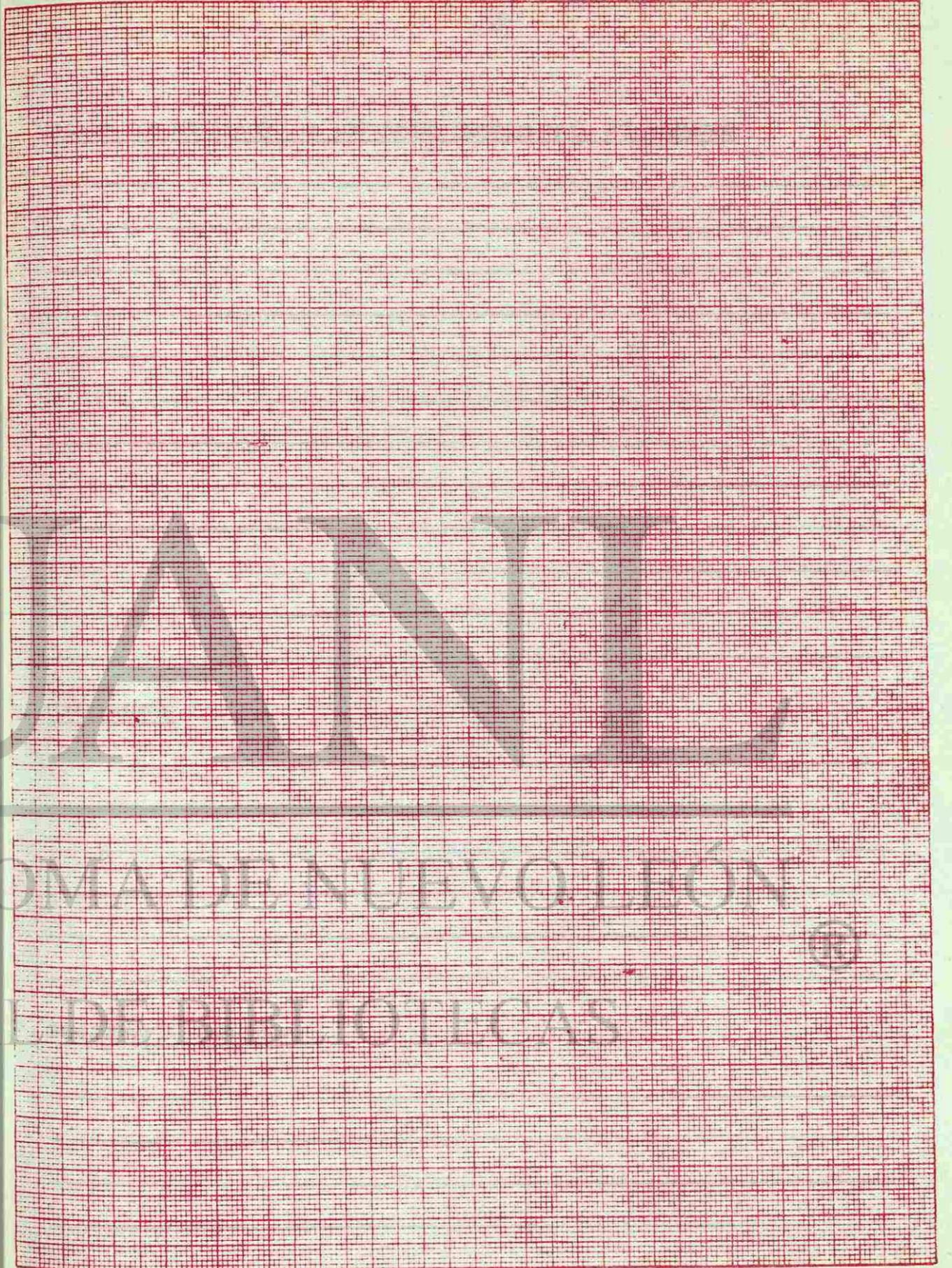


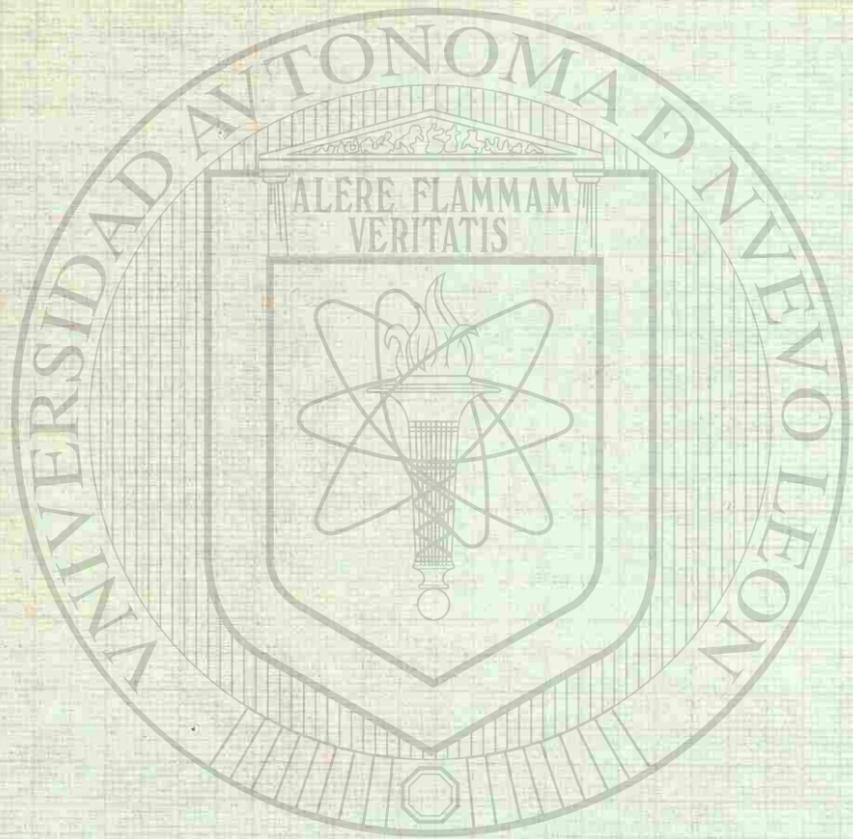
III-

H _g	M I.O. de NaOH 0.1 M añadidos	M I.O. de NaOH 0.1 M añadidos	H _g (atmosf)
----------------	----------------------------------	----------------------------------	----------------------------

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los resultados de las tablas anteriores expresados en forma de gráficas en el papel milimetrado de la hoja siguiente.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCIÓN DE PREGUNTAS

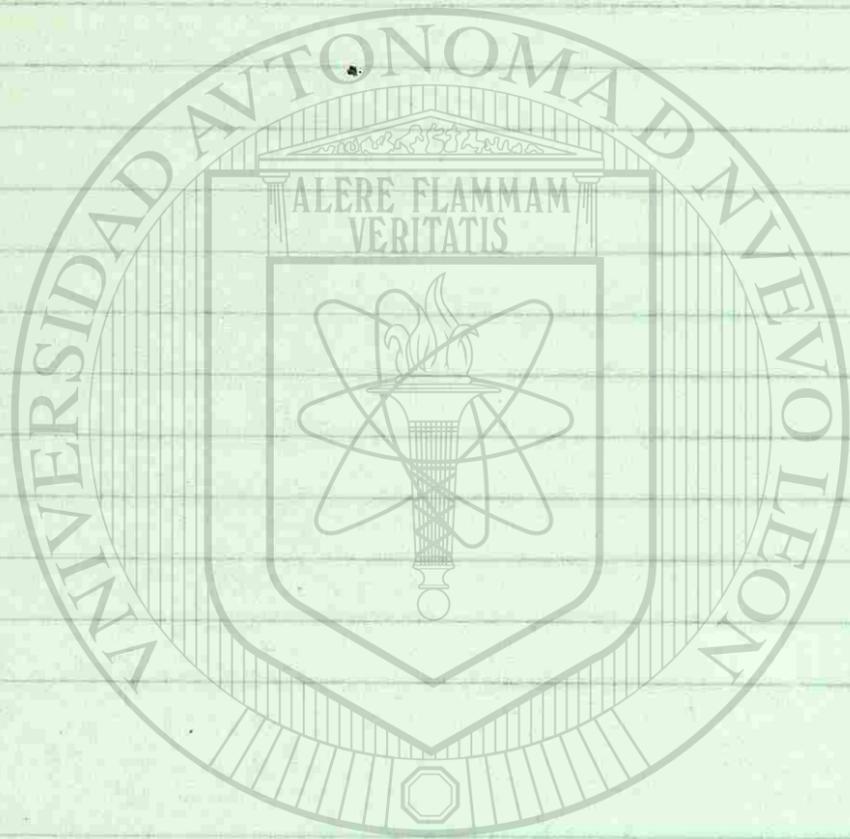
DISCUTA LOS RESULTADOS DE LOS CUATRO EXPERIMENTOS POR SEPARADO

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

SECCION DE PREGUNTAS

DISCUTA LOS RESULTADOS DE LOS CUATRO EXPERIMENTOS POR SEPARADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.- Baum, S.D. 1961. *Principios de Química Orgánica y Bioquímica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.

2.- Bohinski, R.C. 1961. *Química Orgánica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.

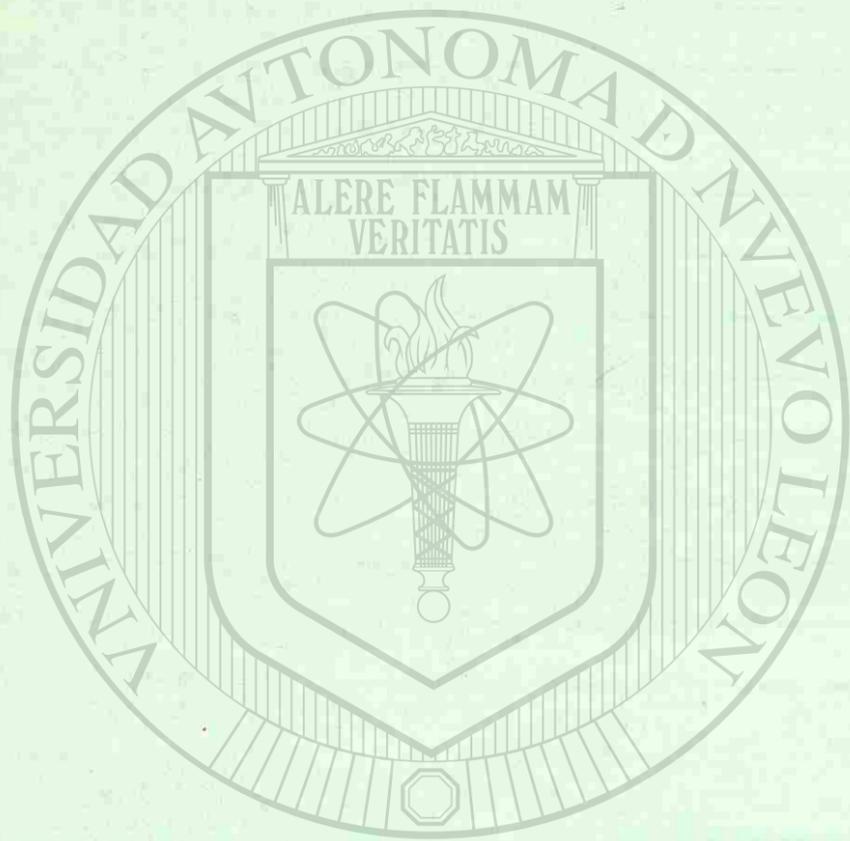
3.- Bruening, S. 1961. *Química Orgánica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.

4.- Corn, E.E. and P.H. 1961. *Principios de Bioquímica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.

5.- Hamilton, L.J. and S.H. 1961. *Principios de Química Orgánica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.

6.- Ransay Brock, J. 1961. *Principios de Química Orgánica*. McGraw-Hill, Nueva York, 1961. 511 p.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

Comentarios en la investigación biológica, se utilizan soluciones amortiguadoras para mantener un control estricto del pH; ya que las variaciones hacia uno u otro lado del pH deseado, afectarán grandemente la funcionalidad del sistema bajo estudio.

Generalmente, las soluciones amortiguadoras deben estar constituidas por un ácido de Brønsted débil y su base conjugada. El ácido debe ser débil, pero además, deben ser solubles en agua y no volátiles. La capacidad reguladora biológica, atóxicas, no formar complejos con iones en solución y no deben absorber luz en la zona del espectro visible.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A., México. 1a. Publicación. pp: 172-175, 531.
- 2.- Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. 1a Edición en español. Fondo Educativo Interamericano, pp:63-66.
- 3.- Bruening, G. and R. Criddle et al. 1970. Biochemical Experiments. John Wiley & Sons, Inc. 1a. Edition. pp: 31-70.
- 4.- Conn, E.E. and P.K. Stumpf. 1972. Outlines of Biochemistry. 3a. Edition. Willey International Edition. pp : 3-22.
- 5.- Hamilton, L.F. y S.G. Simpson. 1968. Cálculos de Química Analítica. Traducción de la 6a. Edición en inglés. Ediciones Castilla, S.A.
- 6.- Ramsey Bronk, J. 1980. Biología Química, una introducción a la bioquímica. 1a Edición en Español. Compañía Editorial Continental, S.A. pp:72-74.

OBJETIVO

Preferencia en el uso de soluciones amortiguadoras cuya eficiencia sea alta. Se debe tener en cuenta que una solución amortiguadora debe tener una capacidad reguladora bien definida para cuando se requiere un pH específico.

DEFINICIONES

La capacidad reguladora de una solución amortiguadora se considera como la cantidad de ácido fuerte o base fuerte que puede ser añadida a una solución amortiguadora sin que el pH cambie más de una unidad.

La eficiencia de una solución amortiguadora se define como la importancia de la concentración total del regulador; es decir, la suma de las concentraciones del ácido débil y de la base conjugada. Así, cuando más concentración sea un regulador más tolerante será a la adición de ácidos o bases fuertes.

La relación molar entre la base conjugada y el ácido débil en una solución amortiguadora es igual a 1, cuando la solución reguladora tiene su máxima eficiencia, y este valor se alcanza cuando el pH del regulador es igual al pKa del ácido de Brønsted. Bajo estas condiciones, la solución amortiguadora tolerará la adición de cantidades equivalentes de ácido fuerte o base fuerte para cambiar su pH en una unidad.

CAPACIDAD REGULADORA

INTRODUCCION

Comunmente en la investigación biológica, se utilizan soluciones amortiguadoras para mantener un control estricto del pH; ya que las variaciones hacia uno u otro lado del pH deseado, afectarán grandemente la funcionalidad del sistema bajo estudio.

Generalmente, las soluciones amortiguadoras deben estar constituidas por un ácido de Bronsted cuyo pKa sea cercano ó igual al pH deseado, pero además, deben ser solubles en agua, resistentes a la degradación química y biológica, atóxicas, no formar complejos con iones en solución y no deben absorber luz en la región del ultravioleta ó visible del espectro electromagnético.

Pero también, una de las características que deben presentar las soluciones reguladoras, es tener una buena eficiencia amortiguadora del pH, pues de ella va a depender la funcionalidad del regulador, puesto que una solución reguladora muy eficiente será aquella que tolere cantidades equivalentes de ácido fuerte y de base fuerte.

OBJETIVO

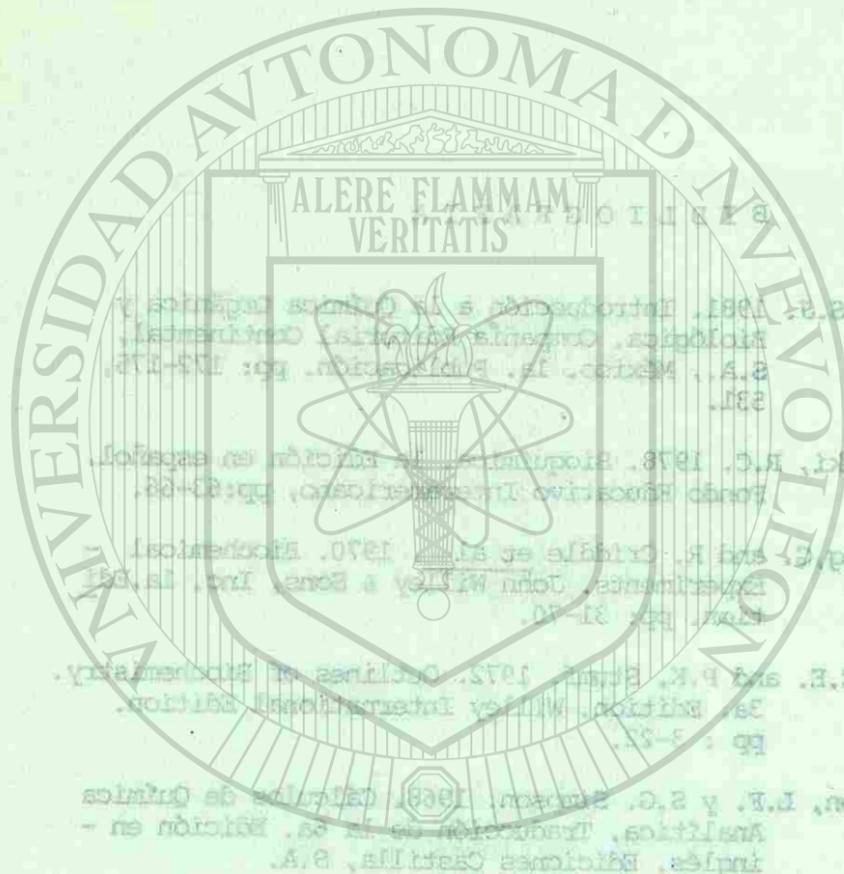
Pretendemos en este experimento, seleccionar aquel regulador cuya eficiencia amortiguadora sea máxima, aprendiendo así a tener un criterio bien definido para cuando sea necesario seleccionar un regulador adecuado.

FUNDAMENTO

La capacidad reguladora ó eficiencia amortiguadora se considera como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que debe ser adicionada a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento del pH en una unidad.

La eficiencia amortiguadora está regida por dos factores muy importantes que son:

- a) La concentración total del regulador : es decir, la suma de las concentraciones del ácido débil y de la base conjugada. Así, cuanto más concentrado sea un regulador más tolerante será a la adición de ácidos ó bases fuertes.
- b) La relación existente entre $[A^-] / [HA]$: Cuando esta relación es igual a 1, la solución reguladora tiene su máxima eficiencia, y este valor se alcanza cuando el pH del regulador es igual al pKa del ácido de Bronsted. Bajo estas condiciones, la solución amortiguadora tolerará la adición de cantidades equivalentes de ácido fuerte ó de base fuerte para cambiar su pH en una unidad.



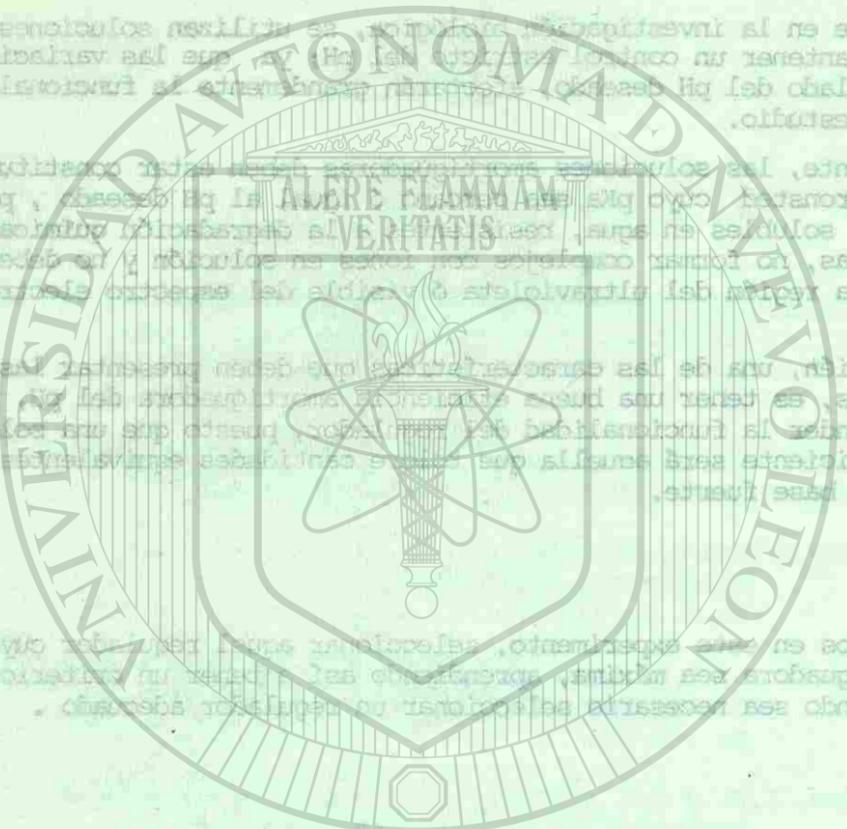
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCIÓN

Generalmente, las soluciones reguladoras se preparan a partir de un ácido débil y su base conjugada. Pero, también, se pueden preparar a partir de una base débil y su ácido conjugado. En este caso, el pH de la solución dependerá de la concentración de la base débil y de su ácido conjugado.

Para preparar una solución reguladora, se debe tener en cuenta la capacidad reguladora de la solución. Esta capacidad depende de la concentración de los componentes de la solución y de la constante de equilibrio de la reacción de ionización del ácido débil.

La capacidad reguladora de una solución se define como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que puede ser añadida a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento de pH en una unidad.



OBJETIVO

Preparar una solución reguladora de pH 7.0 a partir de ácido acético y acetato de sodio.

FUNDAMENTO

La capacidad reguladora de una solución depende de la concentración de los componentes de la solución y de la constante de equilibrio de la reacción de ionización del ácido débil.

La capacidad reguladora de una solución se define como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que puede ser añadida a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento de pH en una unidad.

La capacidad reguladora de una solución depende de la concentración de los componentes de la solución y de la constante de equilibrio de la reacción de ionización del ácido débil.

La capacidad reguladora de una solución se define como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que puede ser añadida a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento de pH en una unidad.

La capacidad reguladora de una solución depende de la concentración de los componentes de la solución y de la constante de equilibrio de la reacción de ionización del ácido débil.

La capacidad reguladora de una solución se define como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que puede ser añadida a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento de pH en una unidad.

La capacidad reguladora de una solución depende de la concentración de los componentes de la solución y de la constante de equilibrio de la reacción de ionización del ácido débil.

La capacidad reguladora de una solución se define como la cantidad de ácido fuerte o de base fuerte que puede ser añadida a una solución reguladora, para que ésta sufra un desplazamiento de pH en una unidad.

2.- HCl 0.1M : Transferir 0.83 ml de ácido clorhídrico concentrado a 50 ml de agua, mezclar y aforar hasta 100 ml con agua destilada.

Tomando la Ecuación de Henderson-Hasselbach:

4.- SOLUCIÓN B: ACIDO ACETICO 0.1 M : Tomar 5.9 ml de ácido acético concentrado y aforar a 100 ml con agua destilada.

$$pH = pKa + \log \frac{[BASE CONJUGADA]}{[ACIDO DEBIL]}$$

5.- Regulador de Acetatos 0.1 M pH=7: Mezclar Solución B con 20 ml de la Solución A.

Si BASE CONJUGADA = ACIDO DEBIL; entonces:

$$\frac{[BASE CONJUGADA]}{[ACIDO DEBIL]} = 1$$

7.- Regulador de Acetatos 0.1 M pH=7: Mezclar 100 ml de la Solución B con 100 ml de la Solución A.

8.- Regulador de Acetatos 0.1 M pH=7: Mezclar 500 ml de la Solución A con 370 ml de la Solución B.

Sustituyendo lo anterior en la ecuación de Henderson Hasselbach, tendremos:

9.- Regulador de Acetatos 0.1 M pH=7: Mezclar 940 ml de la Solución A con 60 ml de la Solución B.

$$pH = pKa + \log 1$$

Cuando el pH de la solución reguladora es mayor que el pKa del Acido de Bronsted, ésta solución será eficiente en amortiguar la adición de ácidos fuertes, pero muy poco eficiente en amortiguar la adición de bases fuertes, porque en solución habrá mayor cantidad de base conjugada que de ácido débil.

Por lo contrario, cuando el pH es menor que el pKa, la solución será muy eficiente en tolerar la adición de bases fuertes, pero muy poco eficiente en amortiguar la adición de ácidos fuertes, ya que en solución existe más ácido débil que base conjugada.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 2 vasos de precipitados de 400 ml
- 1 vaso de precipitados de 100 ml
- 1 Probeta graduada de 100 ml
- 1 Pipeta graduada de 10 ml
- 1 Pipeta graduada de 5 ml
- 1 Piceta con agua destilada
- 1 Agitador Magnetico
- 1 Barra magnetica Kleenex

REACTIVOS

- 1.- NaOH 0.1M : Disolver con agitación 0.4 gramos de Hidróxido de Sodio en 50 ml de agua destilada fría, y aforar a un volumen de 100 ml.
- 2.- HCl 0.1 M : Transferir 0.83 ml de HCl concentrado, a 50 ml de agua destilada, mezclar y aforar a 100 ml con agua.

- 2.- HCl 0.1M : Transferir 0.83 ml de acido clorhidrico concentrado a 50 ml - - de agua, mezclar y luego aforar hasta 100 ml con agua destilada.
- 3.-SOLUCION A: ACETATO DE SODIO 0.1M: Disolver 0.860 gramos de acetato de sodio en agua y aforar a 100 ml.
- 4.-SOLUCION B: ACIDO ACETICO 0.1 M : Tomar 5.8 ml de acido acético concentrado, y aforar a 1 litro con agua destilada.
- 5.-Regulador de Acetatos 0.1 M pH=3: Mezclar 980 ml de Solución B con 20 ml de la Solución A.
- 6.-Regulador de Acetatos 0.1M pH=4: Mezclar 850 ml de la Solución B con 150 ml de la solución A.
- 7.-Regulador de Acetatos 0.1M pH=4.76:Mezclar 500 ml de la Solución B CON 500 ml de la Solución A.
- 8.-Regulador de Acetatos 0.1M pH=5: Mezclar 630 ml de la Solución A con 370 ml de la Solución B.
- 9.-Regulador de Acetatos 0.1M pH=6 :Mezclar 940 ml de la Solución A con 60 ml - de la Solución B.

PARTE EXPERIMENTAL

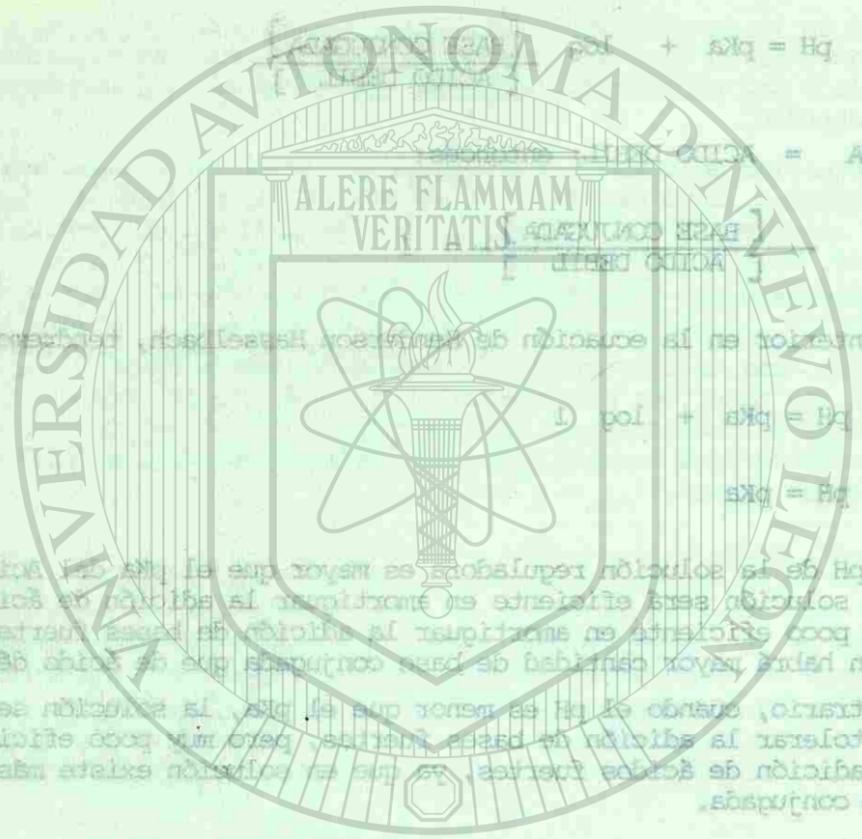
I.-ADICION DE HCl 0.1 M

- 1.-CADA EQUIPO TRABAJARA CON UNA SOLUCION REGULADORA. Primeramente calibre el - potenciómetro siguiendo las instrucciones dadas previamente.
- 2.-En un vaso de precipitados de 400 ml, coloque 100 ml del Regulador, y deter- mine el pH inicial. Anótelo.
- 3.-Adicione cuidadosamente la barra magnética, y coloque el vaso sobre una base magnética. Encienda la agitación.
- 4.-Introduzca cuidadosamente los electrodos del potenciómetro.
- 5.-Empiece a adicionar alícuotas de HCl 0.1M determinando el pH de la solución despues de cada adición. Dé por terminado el experimento cuando el pH de la solución haya descendido en una unidad. Anote el volumen de HCl 0.1M gastado exactamente en disminuir el pH en una unidad .

II.-ADICION DE NaOH 0.1 M

- 1.-Repita los pasos 1, 2 , 3 y 4 anteriores
- 2.-Ahora adicione alícuotas de NaOH 0.1M determinando el pH del regulador tras - cada adición, hasta que el pH del mismo se haya incrementado en una unidad. REGISTRE EL VOLUMEN EXACTO DE NaOH 0.1 M GASTADOS .

III.-Recabe los resultados obtenidos por sus compañeros y reportelos en la ta- bla siguiente.



Tomando la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$pH = pKa + \log \frac{[base conjugada]}{[acido debil]}$

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 1 Vaso de precipitados de 400 ml
- 1 Vaso de precipitados de 100 ml
- 1 Probeta graduada de 100 ml
- 1 Pipeta graduada de 10 ml
- 1 Pipeta graduada de 5 ml
- 1 Pipeta con agua destilada
- 1 Agitador magnético
- 1 Barra magnética

REACTIVOS

- 1.- NaOH 0.1M : Disolver con agitación 0.4 gramos de hidróxido de sodio en 20 ml de agua destilada fría, y aforar a un volumen de 100 ml.
- 2.- HCl 0.1 M : Transferir 0.83 ml de HCl concentrado, a 50 ml de agua desti- lada, mezclar y aforar a 100 ml con agua.

2.- HCl 0.1 M : Transferir 0.88 ml de ácido clorhídrico concentrado a 50 ml de agua, mezclar y luego agregar hasta 100 ml con agua destilada.

3.- SOLUCIÓN A: AGUATO DE SOBIO 0.1 M: Transferir 0.880 gramos de acetato de sodio en agua y diluir a 100 ml.

4.- SOLUCIÓN B: AGUATO ACETICO 0.1 M : Transferir 0.8 ml de ácido acético concentrado y agregar a 1 litro con agua destilada.

5.- Regulador de acetato 0.1 M: Transferir 0.1 M de la solución B con 20 ml de la solución A.

6.- Regulador de acetato 0.1 M: Transferir 0.1 M de la solución B con 150 ml de la solución A.

7.- Regulador de acetato 0.1 M: Transferir 0.1 M de la solución B con 200 ml de la solución A.

8.- Regulador de acetato 0.1 M: Transferir 0.1 M de la solución B con 370 ml de la solución A.

9.- Regulador de acetato 0.1 M: Transferir 0.1 M de la solución B con 60 ml de la solución A.



PARTICULARIDADES

1.- CALA EQUIPO TRABAJAR CON UNA SOLUCIÓN REGULADORA. Transferir a un matraz potenciométrico algunas instrucciones para prevenir.

2.- En un vaso de precipitados de 100 ml colocar 100 ml del regulador y agregar una gota de HCl 0.1 M.

3.- Añadir cuidadosamente la pasta magnética y colocar el vaso sobre una base magnética. Encender la sintonización.

4.- Introducir cuidadosamente los electrodos del potenciométrico.

5.- Preparar a adición algunas gotas de HCl 0.1 M determinando el pH de la solución después de cada adición. De por terminado el experimento cuando el pH de la solución haya descendido en una unidad. Anotar el volumen de HCl 0.1 M gastado.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

1.- Repetir los pasos 1, 2, 3 y 4 anteriores.

2.- Anotar algunos volúmenes de NaOH 0.1 M determinando el pH del regulador tras cada adición. Anotar el pH del mismo en una unidad.

III.- Repetir los resultados obtenidos por sus compañeros y reportarlos en la tabla siguiente.

IV.- Con los datos de la Tabla, construya una Gráfica, colocando en las - - abscisas el pH de los reguladores utilizados y en las ordenadas el volumen de HCl 0.1 M gastados, y el volumen de NaOH 0.1 M gastados.

V.- Una vez hecho la grafica anterior, elija el regulador mas eficiente.

RESULTADOS

Anote los datos obtenidos por usted y los de sus compañeros :

pH de la solución reguladora	ml de NaOH 0.1 M gastados	ml de HCl 0.1 M gastados

En la hoja de papel milimetrico grafique los datos anteriores

¿Cual fué el regulador mas eficiente?

DISCUSION DE SUS RESULTADOS

IV.- Con los datos de la Tabla, construya una gráfica, colocando en las abscisas el pH de los reguladores utilizados y en las ordenadas el volumen de HCl 0.1 M gastados, y el volumen de NaOH 0.1 M gastados.

V.- Una vez hecho la gráfica anterior, indique el regulador más eficiente.

RESULTADOS

Ante los datos obtenidos por usted y los de sus compañeros

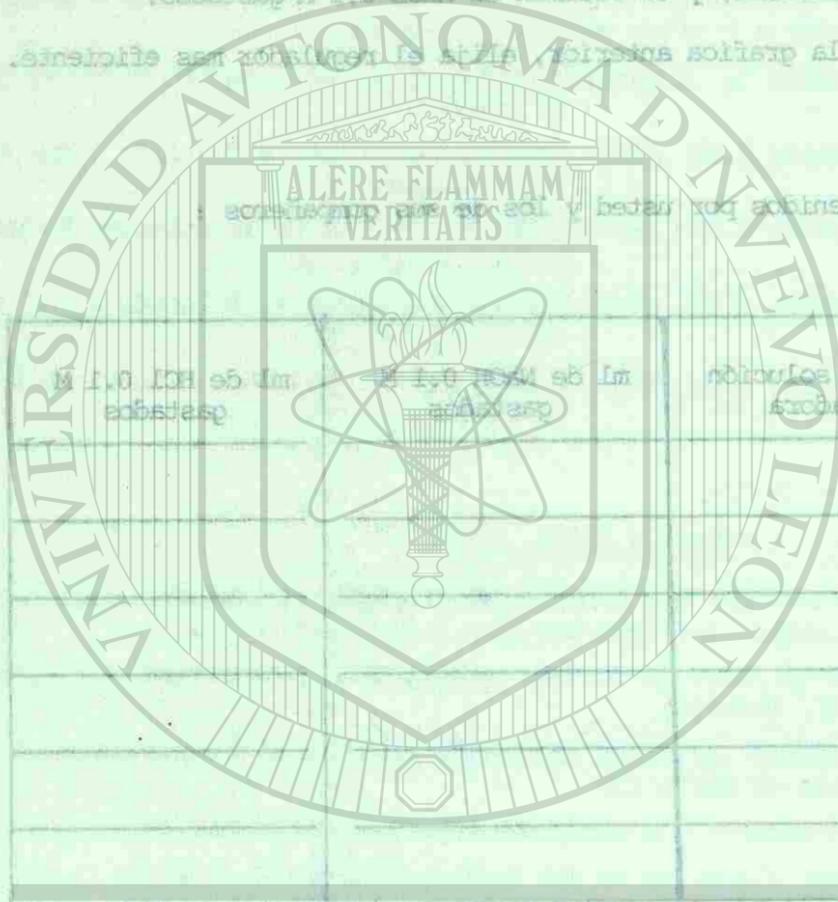


Table with 2 columns and 3 rows. The columns are labeled 'pH de la solución reguladora' and 'Volumen de HCl 0.1 M gastado'. The rows contain numerical data.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

CONCLUSIONES

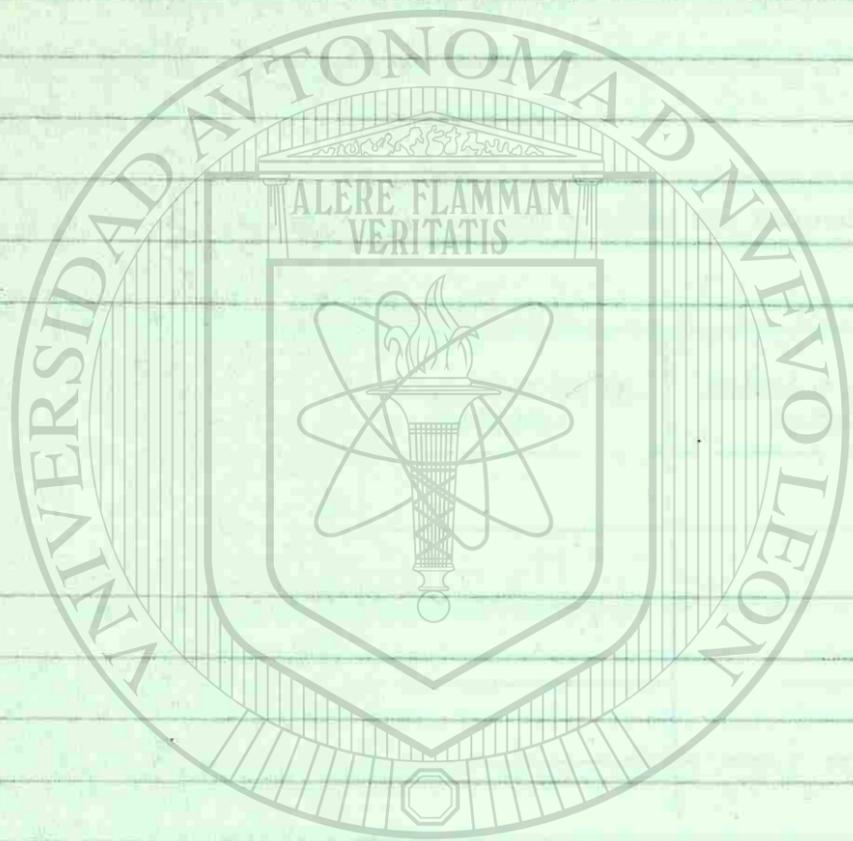
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Blank lined area for notes or results.

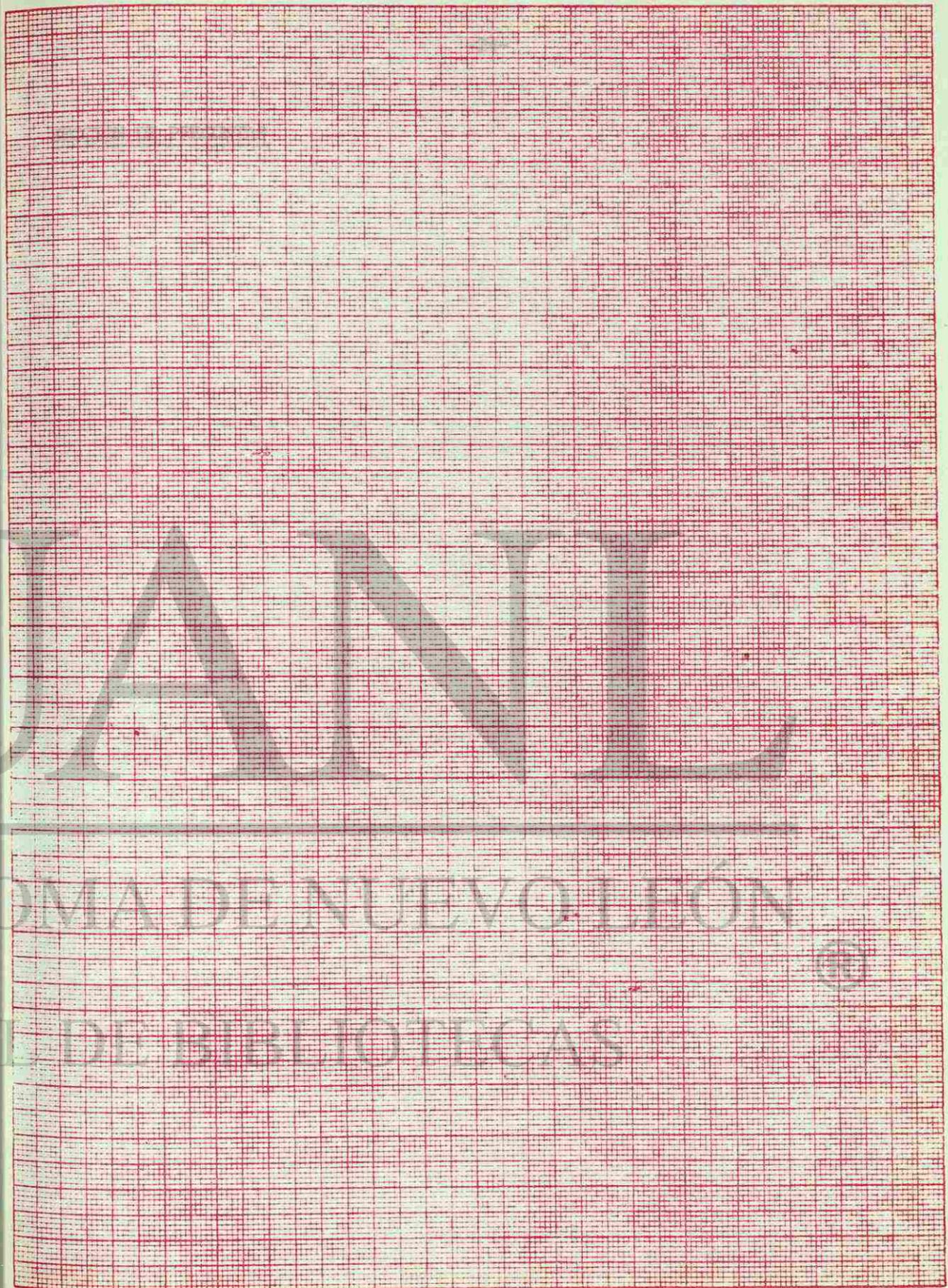
Blank lined area for conclusions.

Blank lined area for bibliography.

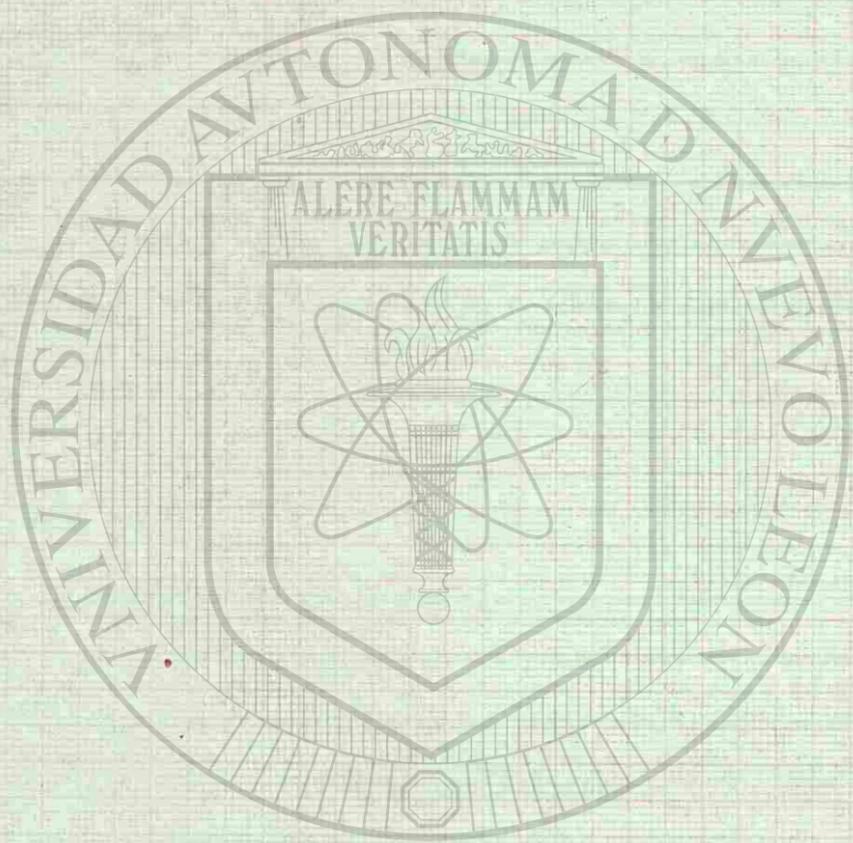


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



SECCION DE PREGUNTAS



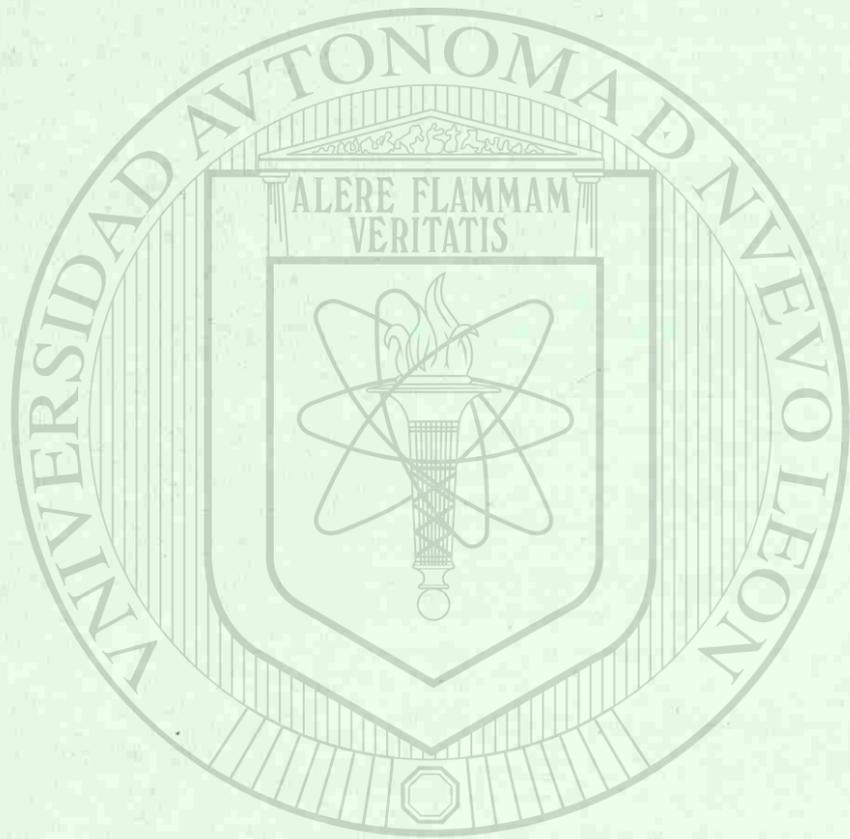
BIBLIOGRAFIA

- 1.- Adair, R. C. 1978. Bioquímica. La Edición en español. Fondo Educativo Interamericano, Inc.
- 2.- Jimenez Vargas, J. y J.M. Macrulla. 1975. Fisiología y Bioquímica. Editorial Interamericana. 4a. Edición. pp:175-198
- 3.- Lehninger, A. L. 1972. Bioquímica. 5a. Edición. Ediciones Omega, S.A. pp: 46-53.
- 4.- Plummer, D.T. 1961. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. Bogotá, Colombia.
- 5.- Skoog, D.A. y D.M. West. 1976. Introducción a la Química Analítica. Editorial Reverté, S.A. pp: 282-286.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

Los carbohidratos constituyen un grupo de compuestos que desempeñan papeles estructurales y funcionales, así como también son la principal fuente de carbono y energía para los organismos heterótrofos. Químicamente, son compuestos orgánicos con aldedos o derivados de ellos por reacciones de oxidación, reducción, esterificación, hidrólisis o polimerización.

BIBLIOGRAFIA

Existen diferentes tipos de reacciones químicas que nos permiten determinar cualitativamente la presencia de carbohidratos (monosacáridos, oligosacáridos o polisacáridos). Estas reacciones se basan en la reducción del oxígeno y así como ésta existe en la naturaleza química de un carbohidrato.

- 1.- Bohinski, R. C. 1978. Bioquímica. 1a Edición en español. Fondo Educativo Interamericana no.
- 2.- Jimenez Vargas, J. y J.M. Macarulla. 1975. Fisiología Fisiológica. Editorial Interamericana. 4a. Edición. pp:175-198
- 3.- Lehninger, A. L. 1972. Bioquímica. 5a. Reedición. Ediciones Omega, S.A. pp: 46-53.
- 4.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. Bogotá, Colombia.
- 5.- Skoog, D.A. y D.M. West. 1978. Introducción a la Química Analítica. Editorial Reverté, S.A pp: 282-286.

PRUEBA DE MELICHO: Esta prueba se utiliza para identificar azúcares en general. Se basa en la formación de un complejo con el Fe^{3+} y la acción del ácido sulfúrico concentrado. Se toma una muestra de la muestra y se le agrega el ácido sulfúrico concentrado. Se observa un color fuerte de color violeta. Esta prueba es para identificar azúcares en general.

PRUEBA DE URIL: Se basa en la formación de un complejo con el Fe^{3+} y la acción del ácido sulfúrico concentrado. Se toma una muestra de la muestra y se le agrega el ácido sulfúrico concentrado. Se observa un color fuerte de color violeta. Esta prueba es para identificar azúcares en general.

PRUEBA DE BARRON: Los azúcares disacáridos y polisacáridos de disacáridos. Los disacáridos reducen rápidamente en un tiempo de 2 minutos al Cu^{2+} del reactivo de Barfoed a Cu^{+} el cual precipita como Cu_2O de color rojo en solución ácida débil. En cambio, los disacáridos reducen el Cu^{2+} en un tiempo mayor, generalmente de 7 a 12 minutos.

PRUEBAS CUALITATIVAS PARA IDENTIFICACION DE CARBOHIDRATOS

PRUEBA DE SELLIDANOS: Es una reacción colorada que nos permite identificar -
INTRODUCCION En solución de 1% concentrada, las pentosas son deshidratadas -
que experimenta que las aldehidos produciendo derivados del furfural. Estas con
pentosas

Los carbohidratos constituyen un grupo de compuestos que desempeñan -
papeles estructurales y funcionales, así como también son la principal fuente
de carbono y energía para los organismos heterótrofos. Químicamente, son con
siderados como aldehidos ó cetonas polihidroxiladas ó productos derivados de
ellos por reacciones de oxidación, reducción, esterificación, sustitución ó -
polimerización.

Existen diferentes tipos de reacciones químicas que nos permiten de--
terminar cualitativamente la presencia de carbohidratos (monosacáridos, oligo
sacáridos ó polisacáridos). Estas reacciones se basan, por ejemplo, en la re-
ducción del cobre y la oxidación simultánea del azúcar con el Reactivo de Fe-
hling; y así como ésta existen variadas formas de identificar la naturaleza -
química de un carbohidrato.

OBJETIVO

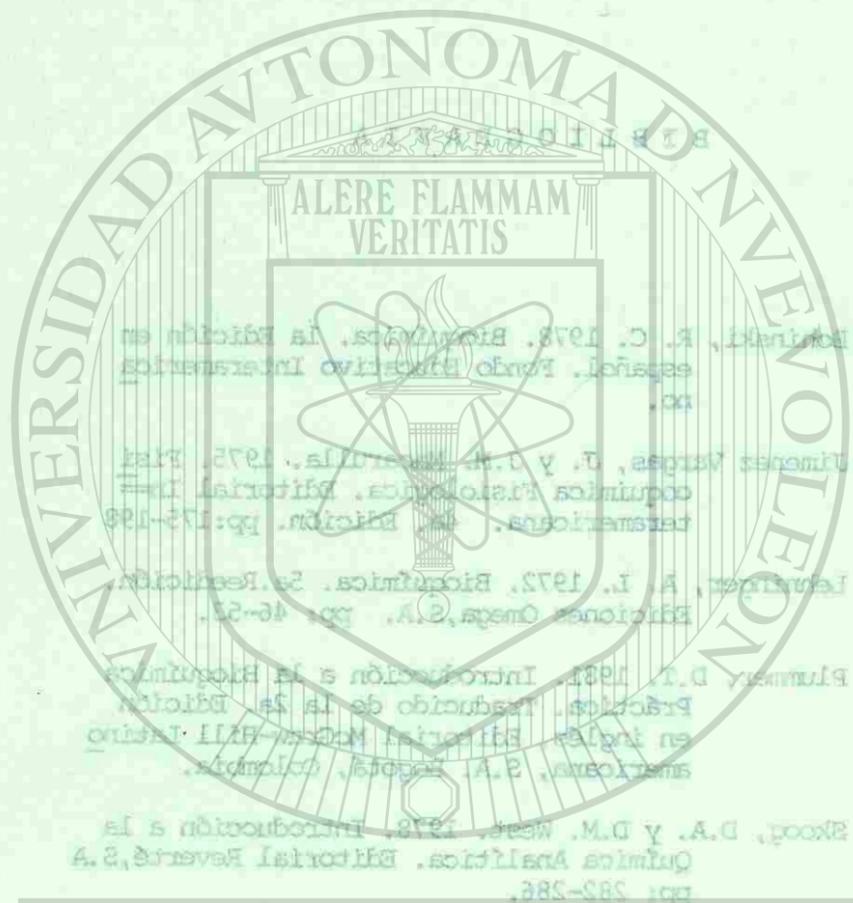
Observar el comportamiento de una serie de carbohidratos al someter--
los a varias pruebas cualitativas. Y basados en estas observaciones identifi-
car el o los carbohidratos presentes en una solución desconocida.

FUNDAMENTO

PRUEBA DE MOLISCH: Esta prueba se basa en la acción hidrolizante y deshidratan
te del ácido sulfúrico concentrado sobre los carbohidratos. En esta prueba el
ácido fuerte cataliza la hidrólisis de cualquier enlace glucosídico presente
en la muestra y la deshidratación de los monosacáridos resultantes para for-
mar furfural (pentosas) ó hidroximetilfurfural (hexosas). Estos furfurales -
se condensan con el alfa-naftol del Reactivo de Molisch, y originan un produc
to de color violeta. Esta prueba es para identificar azúcares en general.

PRUEBA DE LUGOL: Se basa en la formación de un complejo entre el ión I_3^- y la
molécula de amilosa del almidón; la cual tiene una conformación helicoidal. -
Al introducirse el I_3^- dentro de la hélice, nos forma un producto de condensa
ción color azul ó negra dependiendo de la concentración del azúcar. Otros po-
lisacáridos como la amilopectina producen un color púrpura rojizo, y el glucó
geno un color pardo rojizo.

PRUEBA DE BARFOED: Nos permite distinguir monosacáridos de disacáridos. Los
monosacáridos reducen rápidamente en un tiempo de 2 minutos al Cu^{+2} del reac
tivo de Barfoed a Cu^+ el cual precipita como Cu_2O de color rojo en solución -
ácido débil. En cambio, los disacáridos reducen el Cu^{+2} en un tiempo mayor,
generalmente de 7 a 12 minutos.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ALCOHA
PENTOHIDRACINA
PENTOHIDRACINA

PRUEBA DE SELLIWANOF: Es una reacción coloreada que nos permite identificar a las cetosas. En solución de HCl concentrado, las cetosas son deshidratadas - mas rápidamente que las aldosas produciendo derivados del furfural. Estos com- puestos forman complejos con el resorcinol presente en el reactivo de Selliwa- nof, produciendo un color rojo cereza.

En las condiciones en las que se efectúa el ensayo, todas las ceto- sas que puedan estar unidas por enlaces glucosídicos, quedarán en libertad y darán una reacción positiva como ocurre con el residuo de fructosa derivado - de la sacarosa.

PRUEBA DE BIAL: Es una reacción coloreada específica para pentosas y ciertos ácidos urónicos que se descomponen al calentarse con ácidos fuertes formando pentosas.

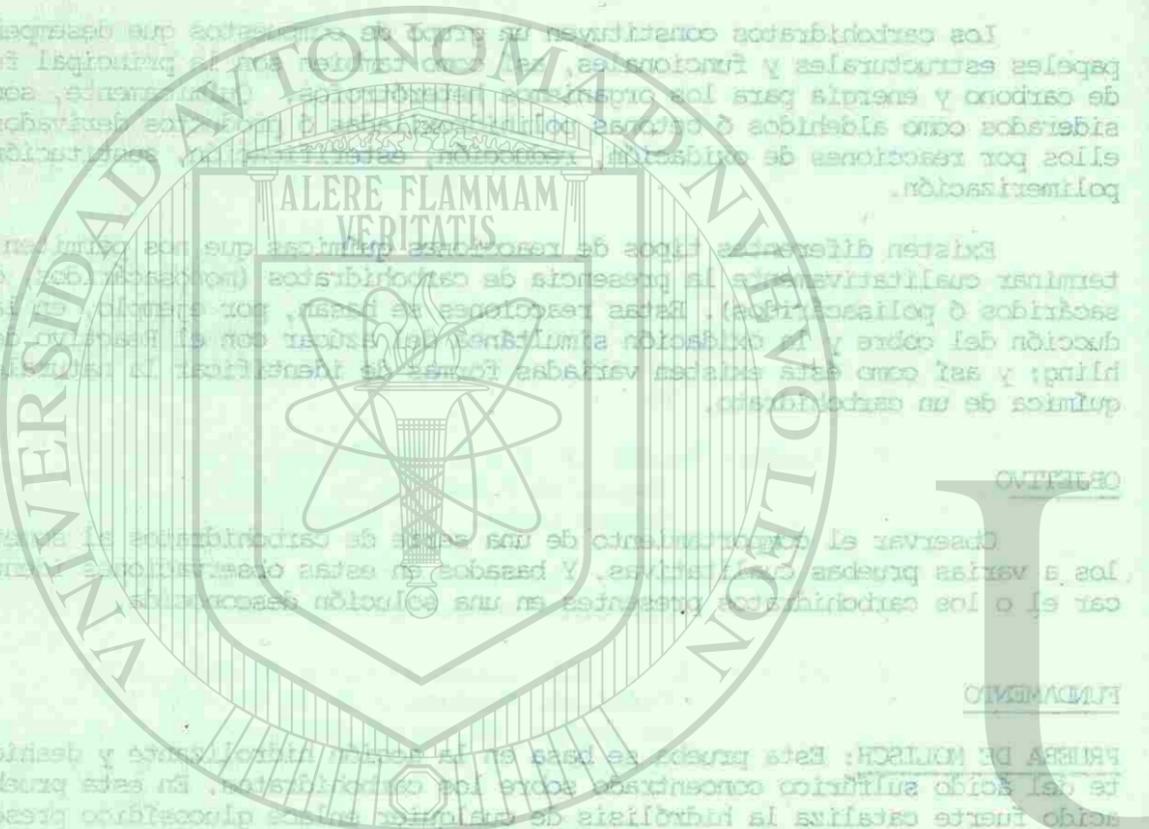
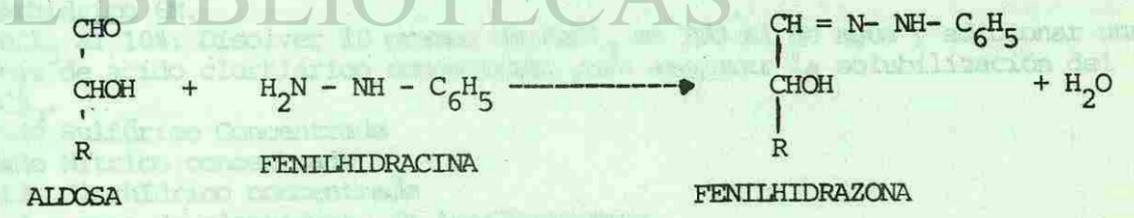
Bajo condiciones cuidadosamente controladas de temperatura, tiempo y concentración de HCl, las pentosas son rápidamente convertidas a furfural, mientras que el hidroximetilfurfural se genera a partir de las hexosas presen- tes. En presencia del ión férrico (Fe³⁺) y orcinol (5- metil resorcinol), - el furfural se condensa rápidamente para producir un complejo de color verde al calentar.

PRUEBA DEL ACIDO MUCICO : Esta prueba permite diferenciar la galactosa de las demás aldohexosas por formación de un ácido sacárico que es el ácido mícico.

El ácido sacárico cristalino es insoluble en ácido nítrico diluido.

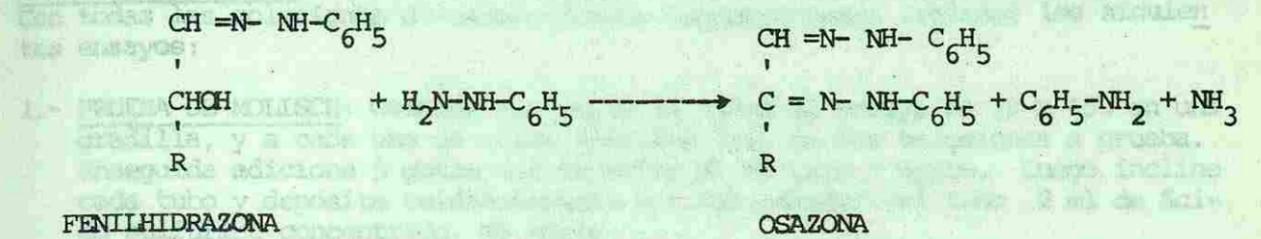
El ácido nítrico concentrado oxida los dos carbonos terminales de- las aldohexosas formando los correspondientes ácidos sacáricos. En general, - los ácidos sacáricos son solubles en ácido nítrico diluido, pero el ácido mícico es insoluble en estas condiciones, por lo que precipita como cristales - transparentes si la solución se enfría rápidamente.

PRUEBA DE LAS OSAZONAS: Este ensayo se basa en que los azúcares reductores se condensan con reactivos como- la fenilhidracina en frío formando una fenilhi- drazona. A 100°C y en presencia de un exceso de fenilhidracina, se lleva a - cabo otro tipo de reacción en donde participan los átomos de carbono 2 de las aldosas y los átomos del carbono 1 en las cetosas, dando lugar a la formación de una osazona como se ilustra enseguida:



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PARTE EXPERIMENTAL



Algunos cristales de osazona presentan una forma lo suficientemente diferenciada para identificar al carbohidrato del cual provienen. Asimismo, el tiempo de formación de la osazona es diferente para cada azúcar, y su punto de fusión es específico.

Los carbohidratos como la fructosa y la glucosa, forman la misma osazona debido a su arreglo espacial semejante. La manosa no forma osazonas en solución acuosa, pero en su lugar forma una fenilhidrazona insoluble.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 21 tubos de ensaye de 18 x 150
- 1 vaso de precipitados de 500 ml
- 2 gradillas, 1 mechero, 1 tripié y 1 tela de asbesto
- 1 agitador de vidrio
- 1 vidrio de reloj
- 2 pipetas de 10 ml
- 5 portobjetos
- 1 pinzas para tubos de ensaye
- 1 microscopio

REACTIVOS

- 1.-REACTIVO DE MOLISCH: Disolver 10 gramos de alfa-naftol en 100 ml de etanol al 95%
- 2.-REACTIVO DE LUGOL: Moler finamente en un mortero 50 gramos de yodo y 100 gramos de yoduro de potasio. Disolver con agua destilada y aforar a un litro.
- 3.-REACTIVO DE BARFOED: Disolver 13.3 gramos de acetato cúprico con 200 ml de agua y filtrar si es necesario. Añadir 1.9 ml de ácido acético concentrado.
- 4.-REACTIVO DE BIAL: Disolver 1.5 gramos de orcinol en 500 ml de HCl concentrado, y añadir de 20 a 30 gotas de una solución acuosa de FeCl₃ al 10%.
- 5.-REACTIVO DE SELLIWANOFF: Disolver 0.05 gramos de resorcinol en 100 ml de Acido Clorhídrico 6M.
- 6.- FeCl₃ al 10%: Disolver 10 gramos de FeCl₃ en 100 ml de agua y adicionar unas gotas de ácido clorhídrico concentrado para asegurar la solubilización del FeCl₃.
- 7.-Acido Sulfúrico Concentrado
- 8.-Acido Nítrico concentrado
- 9.-Acido Clorhídrico concentrado
- 10- 0.4 gramos de clorhidrato de fenilhidracina
- 11- 0.6 gramos de acetato de sodio
- 12.-Soluciones al 1% de los carbohidratos a prueba.

PRUEBA DE SELLIVANOFF: Es una reacción colorada que nos permite identificar las cetoosas. En solución de HCl concentrado, las cetoosas son deshidratadas y sus aldehídos reactivos derivados del furfural. Estos con estas forman complejos con el resorcinol, para dar lugar a la formación de un color rojo, producido en color rojo.

En las condiciones en las que se realizó el experimento, las cetoosas que se deshidratan y forman complejos con el resorcinol, para dar lugar a la formación de un color rojo, producido en color rojo.

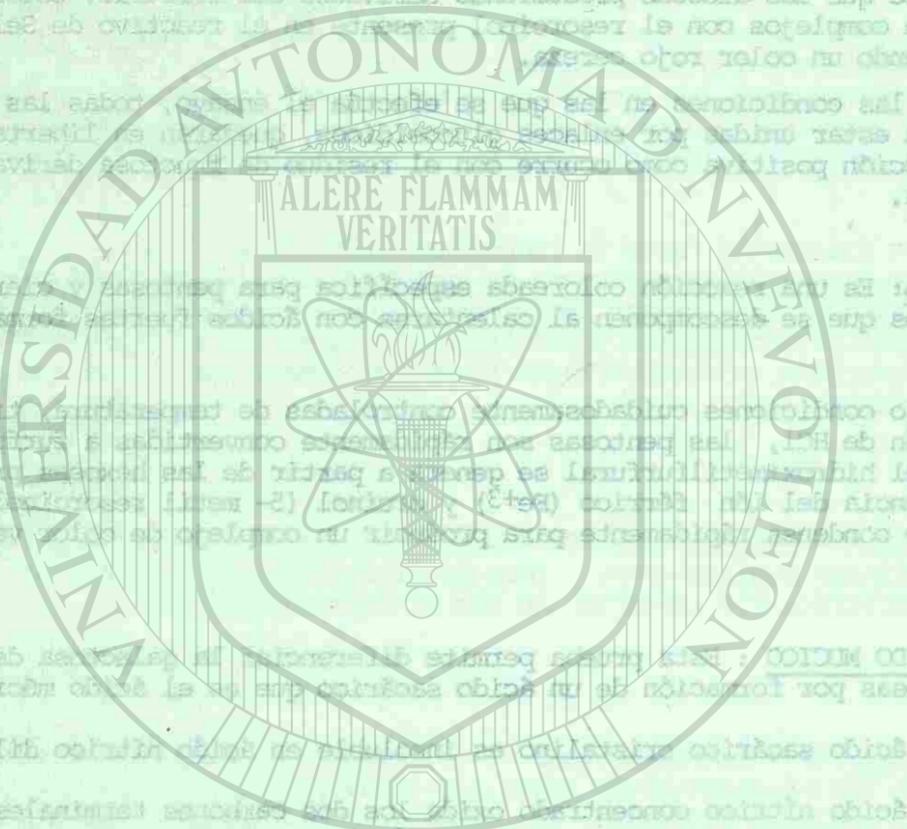
PRUEBA DE BIAL: Es una reacción colorada que nos permite identificar las pentosas. Al calentarse con ácido clorhídrico concentrado, las pentosas se deshidratan y forman complejos con el orcinol, para dar lugar a la formación de un color rojo, producido en color rojo.

Bajo condiciones cuidadosamente controladas de temperatura, tiempo y concentración de HCl, las pentosas son deshidratadas y forman complejos con el orcinol, para dar lugar a la formación de un color rojo, producido en color rojo.

PRUEBA DEL ACIDO MUCICO: Esta prueba permite identificar las cetoosas de las demás aldoosas por formación de un ácido mucico que es el ácido mucico.

El ácido mucico se trata de un ácido mucico.

El ácido mucico concentrado, cuando se calienta lentamente en las aldoosas forman los correspondientes ácidos mucicos. En general, las aldoosas son solubles en ácido mucico diluido, pero el ácido mucico es insoluble en estas condiciones, por lo que precipita como cristales transparentes si la solución es enfriada rápidamente.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



PARTE EXPERIMENTAL

Con todas las soluciones de carbohidratos proporcionadas realizar los siguientes ensayos:

1.- PRUEBA DE MOLLISCH: Coloque una serie de tubos de ensaye de 18 x 150 en una gradilla, y a cada uno de ellos añádales 2 ml de las soluciones a prueba. Enseguida adicione 5 gotas del Reactivo de Molisch y agite. Luego incline cada tubo y deposite cuidadosamente por las paredes del tubo 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. No agite.

OBSERVE SI HAY FORMACION DE UN ANILLO COLOREADO EN LA INTERFASE, Y DE SER ASI ANOTE EL COLOR DEL MISMO.

2.- PRUEBA DEL LUGOL: Transfiera 2 ml de cada una de las soluciones a prueba a una serie de tubos de ensaye de 18 x 150. Acidifique las muestras con 5 gotas de ácido clorhídrico 1M. Después de mezclar adicione 1 gota de lugol y agite.

OBSERVE Y ANOTE EL COLOR DESARROLLADO.

3.- PRUEBA DE BARFOED: Coloque 5 ml del Reactivo de Barfoed en una serie de tubos de ensaye, luego añada 1 ml de los carbohidratos a prueba a cada uno de ellos. Caliente los tubos en un baño de agua hirviendo durante 2 minutos. Saque sus tubos, déjelos reposar 3 minutos.

OBSERVE SI HAY FORMACION DE UN PRECIPITADO Y SU COLOR. ANOTE.

4.- PRUEBA DE BIAL: Prepare una serie de tubos de ensaye conteniendo 5 ml del Reactivo de Bial. Adicione 2 ml de la solución de carbohidrato, mezcle y caliente suavemente las soluciones en un mechero hasta que las primeras burbujas alcancen la superficie.

ANOTE EL COLOR QUE TOMA LA SOLUCION EN CADA CASO.

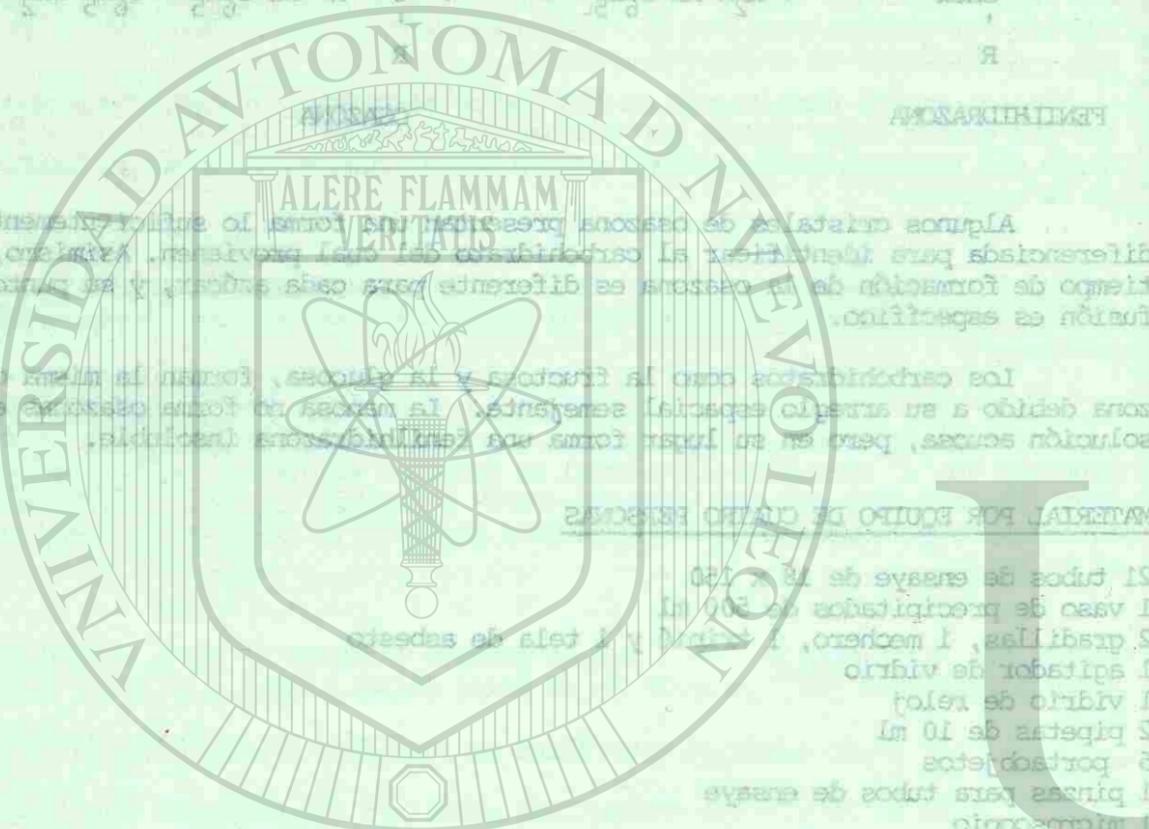
5.- PRUEBA DE SELLIWANOFF: En una serie de tubos de ensaye coloque 2 ml del Reactivo de Selliwanoff y adicione a cada uno 0.5 ml de las diferentes soluciones de azúcar. Mezcle bien. Introduzca los tubos en un baño de agua hirviendo durante 1 minuto.

REPORTE SUS OBSERVACIONES

6.- PREPARACION DE OSAZONAS: CADA EQUIPO TRABAJARA SOLAMENTE CON UNA SOLUCION DE AZUCAR, PERO DEBERA DIBUJAR LOS CRISTALES DE OSAZONAS OBTENIDOS POR SUS COMPAÑEROS.

Acidifique 5 ml de la solución de carbohidrato con 10 gotas de ácido acético glacial, y adicione 3 gotas de fenilhidracina (6 0.4 gramos de clorhidrato de fenilhidracina), y una pequeña porción de acetato de sodio sólido.

Disuelva con agitación y caliente en baño de agua hirviendo durante 5 minutos. Enfrie los tubos y observe los cristales formados al microscopio.



MATERIAL POR EQUIPO DE CINCO PERSONAS
1. microscopio
1. pinzas para tubos de ensayo
5. portapipetas
2. pipetas de 10 ml
1. vidrio de reloj
1. agitador de vidrio
2. gradillas, 1 mechero, 1 tubo de ensayo y 1 tela de sastre
2. tubos de ensayo de 18 x 150
1. vaso de precipitados de 500 ml
2. tubos de ensayo de 18 x 150
ALGUNAS CRISTALES DE OSAZONAS
Los carbohidratos como la fructosa y la glicosa, forman la misma osazona debido a su estructura espacial semejante. La osazona no forma cristales en solución acuosa, pero en su forma pura se cristaliza fácilmente.

7.- PRUEBA DEL ACIDO MUCICO; ESTA PRUEBA SE EFECTUARA SOLAMENTE CON SOLUCIONES DE GALACTOSA AL 3% Y LACTOSA AL 3%.

Coloque 5 ml de las soluciones mencionadas en dos tubos de ensaye de 18 x 150, agrégueles 2 ml de ácido nítrico concentrado, mezcle, y caliente los tubos en baño de agua hirviendo durante 60 a 90 minutos, con agitación ocasional para eliminar el gas amarillo generado. Finalmente, introduzca los tubos en baño de hielo induciendo la cristalización raspando las paredes internas de los tubos con una varilla de vidrio.

OBSERVE AL MICROSCOPIO LOS CRISTALES FORMADOS, Y DIBUJELOS.

RESULTADOS

1.- PRUEBA DE MOLISCH: En la siguiente tabla registre sus resultados

SOLUCION	REACCION			OBSERVACIONES
	(+)	ó	(-)	

PARTICULARIDADES EXPERIMENTALES

Con todas las soluciones de carbohidratos proporcionalmente realizar los siguientes ensayos:

1.- PRUEBA DE MOLISCH: Coloque una serie de tubos de ensaye de 18 x 150 en una gradilla, y a cada uno de ellos añada 2 ml de las soluciones a probar. Después añada 2 gotas del reactivo de Molisch y luego incline cada tubo y deposite cuidadosamente con las puntas del tubo 2 ml de ácido nítrico concentrado. Observe la formación de un anillo rojo en la interfase.

2.- PRUEBA DE LUGOL: Transfiera 2 ml de cada una de las soluciones a probar a una serie de tubos de ensaye de 18 x 150. Añada 1 gota de yodo y 1 gota de ácido clorhídrico 1M. Después de mezclar añada 1 gota de yodo y agite. Observe y anote el color de cada tubo.

3.- PRUEBA DE BARTHELEMY: Coloque 2 ml del reactivo de Barthelemy en una serie de tubos de ensaye. Luego añada 1 ml de las soluciones a probar a cada uno de ellos. Caliente los tubos en un baño de agua hirviendo durante 3 minutos. Saque los tubos, déjelos reposar 3 minutos y observe el color de cada tubo.

4.- PRUEBA DE BIAL: Prepare una serie de tubos de ensaye conteniendo 5 ml del reactivo de Bial. Añada 2 ml de la solución de carbohidrato, mezcle y caliente suavemente las soluciones en un baño de agua hirviendo para las primeras pruebas alcohólicas. Observe el color que toma la solución en cada caso.

5.- PRUEBA DE SELLMEYER: En una serie de tubos de ensaye coloque 2 ml del reactivo de Sellmeyer y añada a cada uno 0.2 ml de las diferentes soluciones de sacarosa. Mezcle bien. Introduzca los tubos en un baño de agua hirviendo durante 1 minuto. Observe los resultados.

6.- PREPARACION DE OSAZONAS: Cada botijo tratara solamente con una solución de azúcar. Pero deberá dibujar los cristales de osazonas obtenidos por sus comentarios.

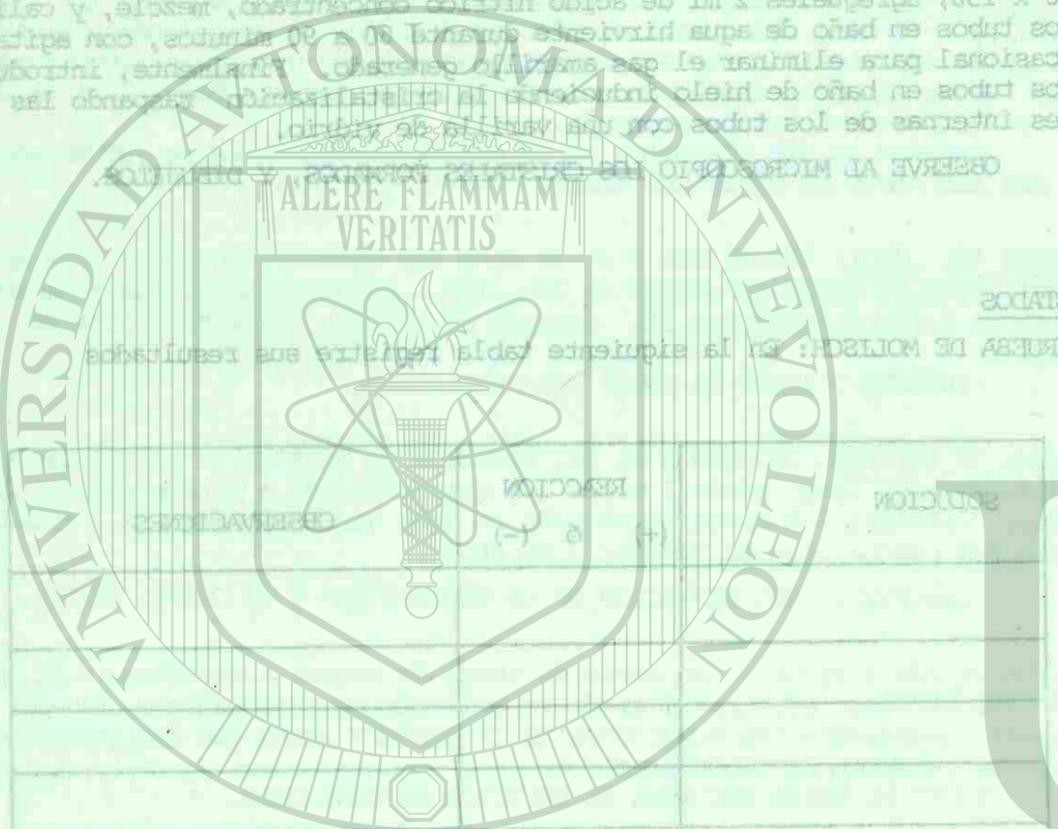
Disuelva con agitación y caliente en baño de agua hirviendo durante 5 minutos. Enfíale los tubos y observe las cristales formados al microscopio.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



7.- PRUEBA DEL ACIDO MUCICO; ESTA PRUEBA SE EFECTUA SOLAMENTE CON SOLUCIONES DE GALACTOSA AL 2% Y LACTOSA AL 2%.

Coloque 5 ml de las soluciones mencionadas en dos tubos de ensayo de 18 x 150, añádeles 2 ml de ácido nítrico concentrado, mezcle, y caliente los tubos en baño de agua hirviendo durante 10 a 15 minutos, con agitación ocasional para eliminar el gas amoníaco. Finalmente, introduzca los tubos en baño de hielo para observar la reacción. Cuando los gases internos de los tubos con las variaciones de temperatura...



RESULTADOS

1.- PRUEBA DE MUCOSA: En la siguiente tabla registre sus resultados

Table with 3 columns: SOLUCION, REACCION (+), (-), and OBSERVACIONES. The table is mostly blank with some faint text.

2.- PRUEBA DEL LUGOL: Anote sus observaciones

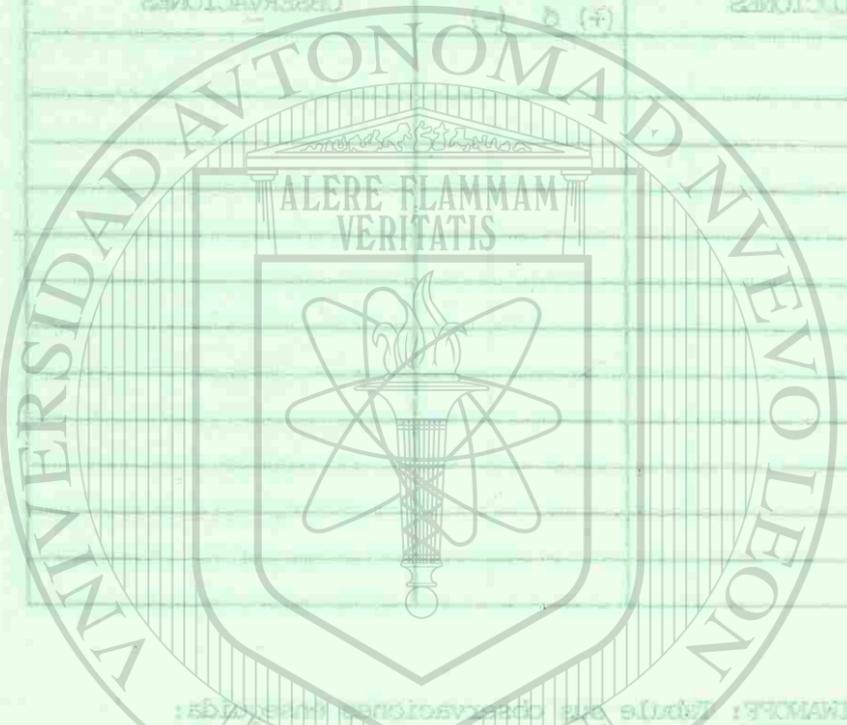
Table with 3 columns: SOLUCION, REACCION (+) o (-), and OBSERVACIONES. The table is mostly blank.

3.-PRUEBA DE BIAL: Registre sus resultados enseguida:

Table with 3 columns: SOLUCIONES, REACCION (+) o (-), and OBSERVACIONES. The table is mostly blank.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.- PRUEBA DE BARFORD: Escriba sus observaciones

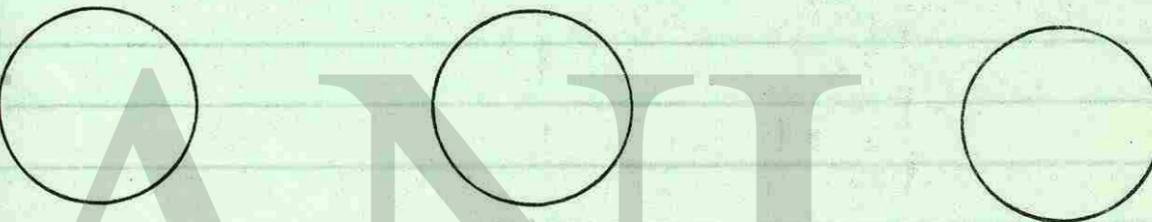
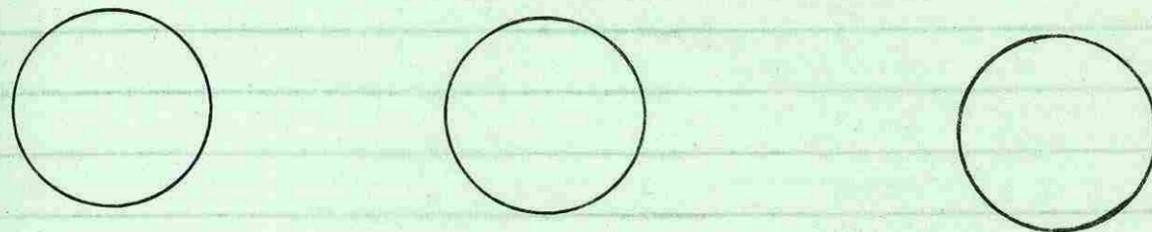
REACCIONES	REACCIONES (+)	SOLUCIONES			
					

5.- PRUEBA DE SELLWARTZ: Escriba sus observaciones hechas:

REACCIONES	REACCIONES (+) o (-)	SOLUCIONES

6.- PREPARACION DE OSAZONAS: Haga los dibujos respectivos de la osazona preparada por usted, así como las de sus compañeros

CAR PROBLEMA

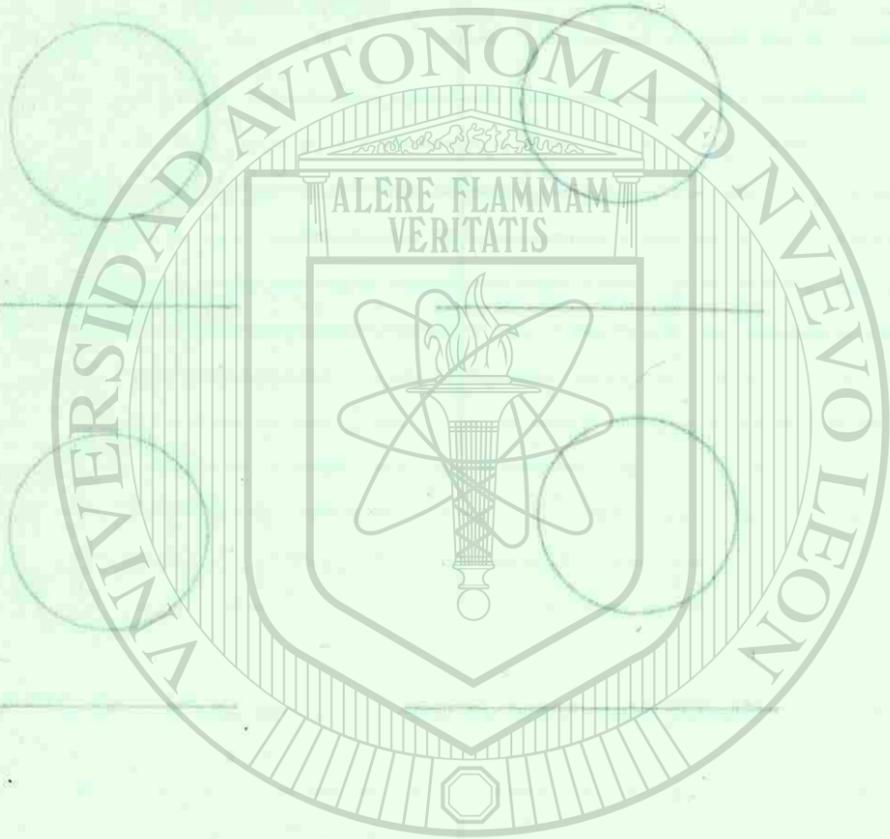


7.- PRUEBA DEL ACIDO MUCICO: Dibuje los cristales de los acidos sacaridos obtenidos a partir de galactosa y lactosa:



¿CUAL FUE EL CARBOHIDRATO PRESENTE EN SU SOLUCION PROBLEMA?

6.- PREPARACION DE OXAZONAS: Haga los dibujos respectivos de las osazonas pre-
paradas por usted, así como las de sus compuestos.



7.- PRUEBA DEL ACIDO MUCICO: Dibuje los cristales de los ácidos respectivos co-
nforme a la teoría de las ácidos mucicos y mucosínicos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSION: DISCUTA POR SEPARADO CADA UNA DE LAS PRUEBAS REALIZADAS TOMANDO EN-
CONSIDERACION LO OCURRIDO CON LAS SOLUCIONES A PRUEBA Y CON EL AZU-
CAR PROBLEMA.

Lined area for discussion.

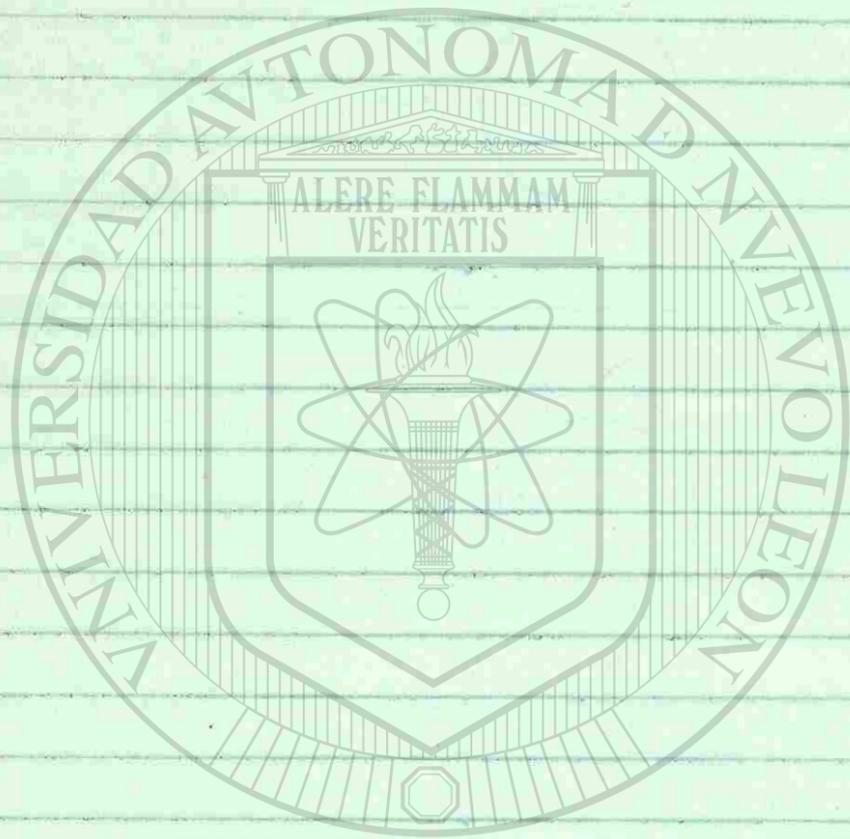
CONCLUSIONES

Lined area for conclusions.

¿CUAL FUE EL CARBOHIDRATO PRESENTE EN SU SOLUCION PROBLEMA?

Lined area for the carbohydrate question.

DISCUSION: DISCUTA POR SEPARADO CADA UNA DE LAS PRUEBAS REALIZADAS TOMANDO EN CONSIDERACION LO OCURRIDO CON LAS SOLUCIONES A PRUEBA Y CON EL AREA CAR PROBLEMA.



CONCLUSIONES

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

¿CUAL FUE EL CARBOHIDRATO PRESENTE EN SU SOLUCION PROBLEMA?

SECCION DE PREGUNTAS:

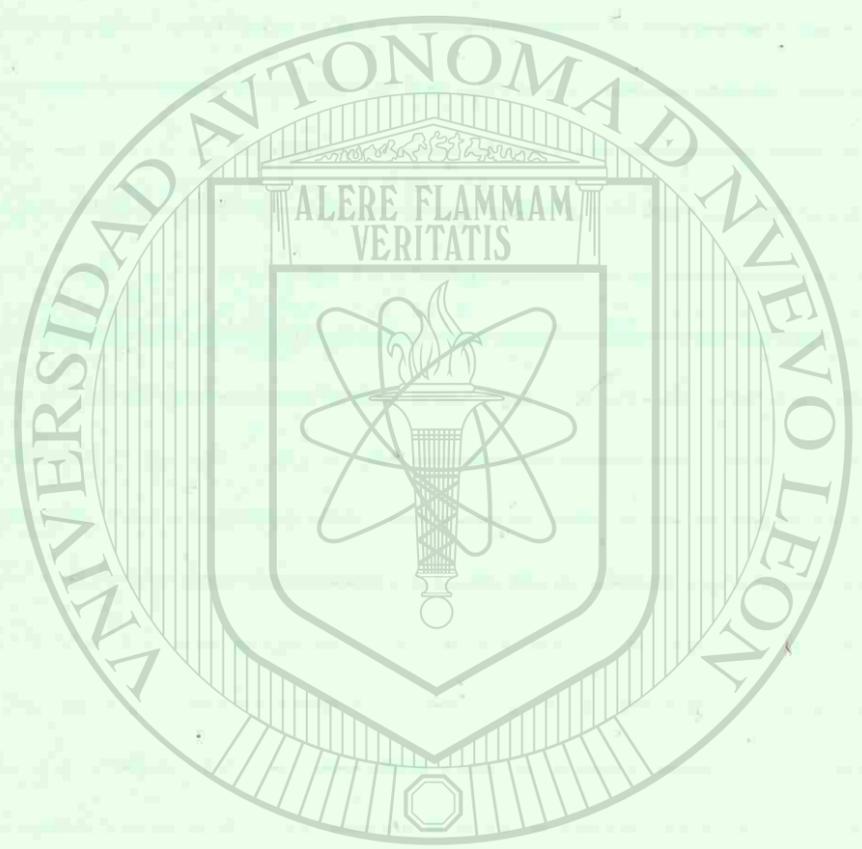
BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biología. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Publicación, pp: 313 - 317.
- 2.- Cantarow, A y B. Scheperis. 1989. Bioquímica. Editorial Interamericana, S.A. 4a. Edición, pp: 1 - 30.
- 3.- Clark, J.M. 1964. Experimental Biochemistry. W.H. Freeman and Company. 1a. Edición. pp: 1 - 22.
- 4.- Domínguez, Y.A. 1968. Experimentos de Química Orgánica. Editorial Libros W.Legros, Edición, pp: 88.
- 5.- Harper, H.A. 1960. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición, pp: 112 - 118.
- 6.- Harrow, B. y A. Matur. 1973. Bioquímica Básica. Editorial Interamericana. 1a Edición, pp: 227 - 245.
- 7.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 1a. Edición en inglés, Editorial McGraw-Hill Latinoamericana S.A. Bogotá pp: 154 - 170.
- 8.- Thorpe, W.V. et al. 1967. Bioquímica para estudiantes de medicina. Compañía Editorial Continental, S.A. 1a Edición, pp: 66 - 67.

- 9.- Winberg, A. y B. L. Crane. 1964. Química Orgánica y Biología. Harper & Row, Los Angeles, 1a. Edición de la 1a. Edición en inglés, pp: 147 - 147.



BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOTECA CONSULTIVA

INTRODUCCION

BIBLIOGRAFIA

Entre los métodos cualitativos y cuantitativos para determinar los carbohidratos, se encuentra la cronotopía. Esta técnica es de gran importancia para la separación de los papeles y para la identificación de un material por sus fibras o finamente por sus azúcares. La mezcla se separa en sus componentes.

- 1.- Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Publicación. pp: 313 - 317.
- 2.- Cantarow, A y B.Schepartz. 1969. Bioquímica. Editorial Interamericana, S.A. 4a. Edición. pp 1 -30.
- 3.- Clark, J.M., 1964. Experimental Biochemistry. W.H. Freeman and Company. 1a. Edition. pp 1 -22.
- 4.- Domínguez, X.A. 1968. Experimentos de Química Orgánica. Editorial Limusa Wiley. 1a. Edición. pp 88.
- 5.- Harper, H.A. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición. pp:112-118.
- 6.- Harrow, B. y A. Mazur. 1973. Bioquímica Básica. Editorial Interamericana. 10 Edición. pp:227-246.
- 7.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. Bogotá pp:164-170.
- 8.- Thorpe, W.V. et al. 1967. Bioquímica para estudiantes de medicina. Compañía Editorial Continental, S.A. 8a Edición. pp 66-87.
- 9.- Wingrove, A.S. y R. L. Caret. 1984. Química Orgánica. Editorial Harla, Harper & Row Latinoamericana. Traducción de la 1a. Edición en Inglés. pp: 1444- 1474.

OBJETIVO

La cronotopía consiste en la separación de la muestra (en este caso carbohidratos), en dos fases: la fase ascendente que es el papel y la fase móvil que es el eluyente. El agua del solvente hace complejos con las fibras de celulosa del papel; y a estos complejos se adhieren los azúcares mediante interacciones no covalentes como son los puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals ó interacción de iones.



CROMATOGRAFIA EN PAPEL DE CARBOHIDRATOS

INTRODUCCION

Entre los métodos cualitativos y cuantitativos para determinación de carbohidratos, se encuentra la cromatografía. Esta técnica es de considerable importancia ya que su efectividad radica en hacer separaciones de sustancias mucho muy semejantes entre sí estructuralmente, como son los isómeros y los estereoisómeros; así como separar sustancias diferentes.

La cromatografía se define como un método de análisis adecuado para la separación de los componentes de una muestra por percolación de un líquido sobre un material poroso (papel) ó finamente dividido (sílica gel), produciéndose así un intercambio entre las fases. De esta forma, los constituyentes de la mezcla se separarán debido a la diferencia en sus velocidades de migración.

Se conocen distintos tipos de cromatografía:

- a) DE ADSORCION: Equilibrio entre un sólido adsorbente y una solución
- b) DE PARTICION: Partición entre dos solventes ó entre un gas y un solvente
- c) DE INTERCAMBIO IONICO: Utilizando resinas intercambiadoras de cationes ó de aniones, y un eluente.

Para identificar las sustancias en el papel, se ha introducido una relación conocida como "Rf" ó Relación de Frentes, que es una relación entre la distancia recorrida por una sustancia y la distancia migrada por el solvente. El Rf es un valor característico de cada compuesto, y depende tanto del solvente utilizado como de las condiciones empleadas para la cromatografía.

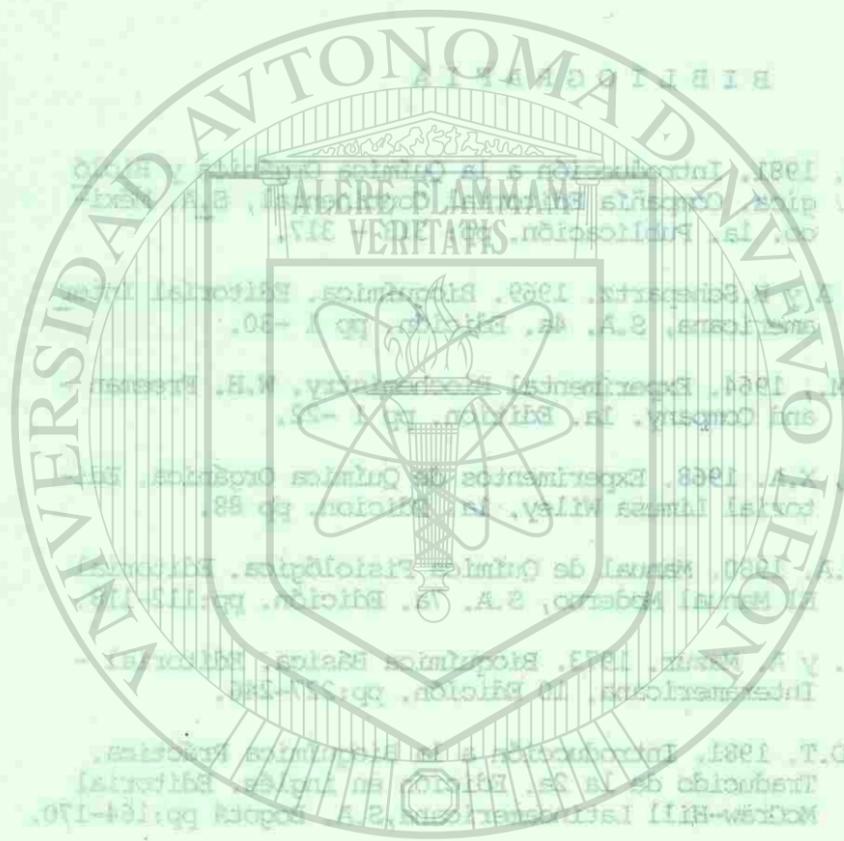
OBJETIVO

Pretendemos en este experimento aprender el procedimiento para trabajar la técnica de cromatografía en papel, y al mismo tiempo identificar él ó los azúcares presentes en una muestra que les será proporcionada. Se empleará la cromatografía descendente y ascendente para tal propósito.

FUNDAMENTO

La cromatografía consiste en efectuar una partición de la muestra (en este caso carbohidratos), en dos fases,; la fase estacionaria que es el papel y la fase móvil que es eluente donde se desarrolla el cromatograma.

El agua del solvente forma complejos con las fibras de celulosa del papel; y a estos complejos formados se pueden unir los azúcares mediante interacciones no covalentes como son los puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals ó intercambio de iones. A este proceso se le considera Adsorción,



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PARTE EXPERIMENTAL

por este motivo en la cromatografía en papel intervienen dos fenómenos, la adsorción y la partición.

La fase móvil migra por capilaridad sobre la fase estacionaria, separando los componentes de la muestra. Una vez que esto ha terminado, se utiliza un revelador apropiado, que reacciona específicamente con los azúcares poniéndolos de manifiesto en forma coloreada, obteniéndose de esta manera un cromatograma.

MATERIAL POR EQUIPO DE 4 PERSONAS

- 6 tubos de ensaye de 13 x 100
- 1 gradilla
- 6 tubos capilares etiquetados
- Cuba para cromatografía
- Atomizador
- Papel Whatman No. 1
- Lápiz, regla e Hilo
- Cinta Scotch

REACTIVOS

- 1.-SOLUCIONES al 1% DE DIFERENTES AZUCARES: Pesar 1 gramo del azúcar, y disolverlo en 100 ml de agua destilada.
- 2.-ELUENTES RECOMENDADOS: Mezcle las partes indicadas de los componentes:
 - a) Butanol: Acético: Agua (4: 1: 5)
 - b) Isopropanol: Acético: Agua (3: 1: 1)
 - c) Butanol: Piridina: Agua
 - d) Cloroformo: Acético: Agua (30: 35: 5)
- 3.-REVELADORES:
 - a) Disolver 0.1 ml de anilina (6 0.93 gramos), y 1.7 gramos de ácido ftálico en 100 ml de butanol. Calentar a 100°C por 10 minutos y dejar enfriar.
 - b) Mezclar 80 ml de solución I, y 20 ml de Solución II
 - SOLUCION I: NaIO₄ al 2% : Disolver 2 gramos de peryodato de sodio en 100 ml de agua
 - SOLUCION II: KMnO₄ al 1% en Na₂CO₃ al 2%: Disolver 1 gramo de permanganato de potasio en 100 ml de carbonato de sodio al 2% el cual previamente se preparó disolviendo 2 gramos de Na₂CO₃ en 100 ml de agua.

INTRODUCCION

Entre los métodos cualitativos para la identificación de los azúcares, se encuentra la cromatografía en papel, la cual es una técnica de gran importancia ya que su sencillez y rapidez permite la identificación de los azúcares y los esteroides; así como separar sustancias que se encuentran en una muestra.

La cromatografía en papel es un método de análisis que permite la separación de los componentes de una muestra en un papel que actúa como fase estacionaria y un solvente que actúa como fase móvil. Este método es muy sencillo y permite la identificación de los azúcares y los esteroides.

Se conocen dos tipos de cromatografía: a) DE ABSORCIÓN: En este tipo de cromatografía se utiliza un solvente que actúa como fase móvil y un sólido que actúa como fase estacionaria. b) DE PARTICIÓN: En este tipo de cromatografía se utiliza un solvente que actúa como fase móvil y un líquido que actúa como fase estacionaria.

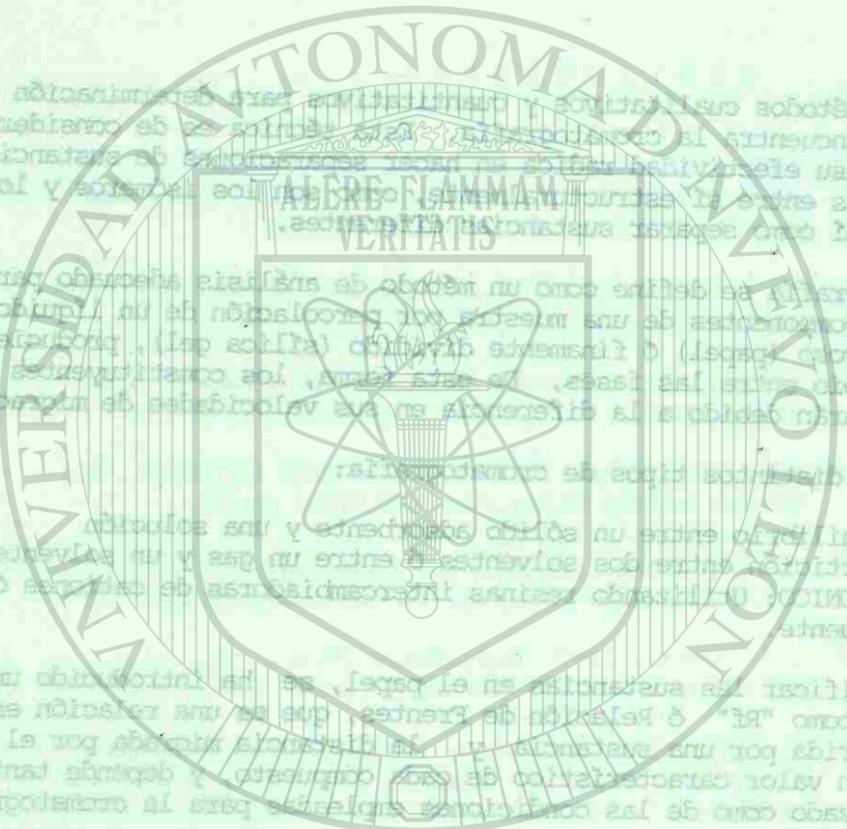
Para identificar los azúcares en el papel, se debe utilizar un método de análisis que permita la separación de los azúcares y los esteroides. Este método es muy sencillo y permite la identificación de los azúcares y los esteroides.

OBJETIVO

El objetivo de este experimento es demostrar la separación de los azúcares y los esteroides en un papel que actúa como fase estacionaria y un solvente que actúa como fase móvil.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El agua del solvente forma complejos con las fibras de celulosa del papel y a estos complejos formados se adhieren los azúcares y los esteroides. Este método es muy sencillo y permite la identificación de los azúcares y los esteroides.



PARTE EXPERIMENTAL

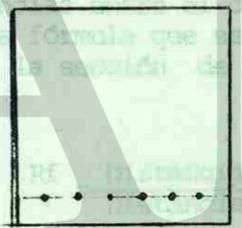
PARA LA CROMATOGRAFIA ASCENDENTE:

- 1.-Corte el papel Whatman no. 1 en un cuadro de 25 cm x 25 cm
- 2.-A 2.5 cm del margen de uno de los lados, trazar con el lápiz una delgada línea transversal, y marcar 6 puntos separados entre sí por una distancia de 3.5 cm.
- 3.-A 4 cm de la parte superior de la hoja, trace otra línea horizontal, la cual nos indicará la distancia hasta donde deberá migrar el solvente.

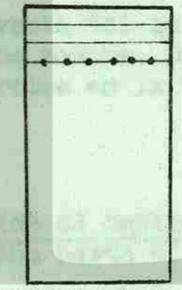
PARA LA CROMATOGRAFIA DESCENDENTE:

- 1.Corte la hoja de papel Whatman No. 1 en un rectángulo de 25 cm x 50 cm
- 2.- Con un lápiz trazar 3 líneas horizontales separadas por una distancia de 2.5 cm , y en la tercera línea colocar 6 puntos equidistantes.

UNA VEZ HECHO LO ANTERIOR, LOS CROMATOGRAMAS DEBERAN APARECER COMO SE MUESTRA EN LA SIGUIENTE FIGURA; Y LUEGO CONTINUE CON LOS SIGUIENTES PASOS PARA AMBOS CASOS.



CROMATOGRAFIA ASCENDENTE

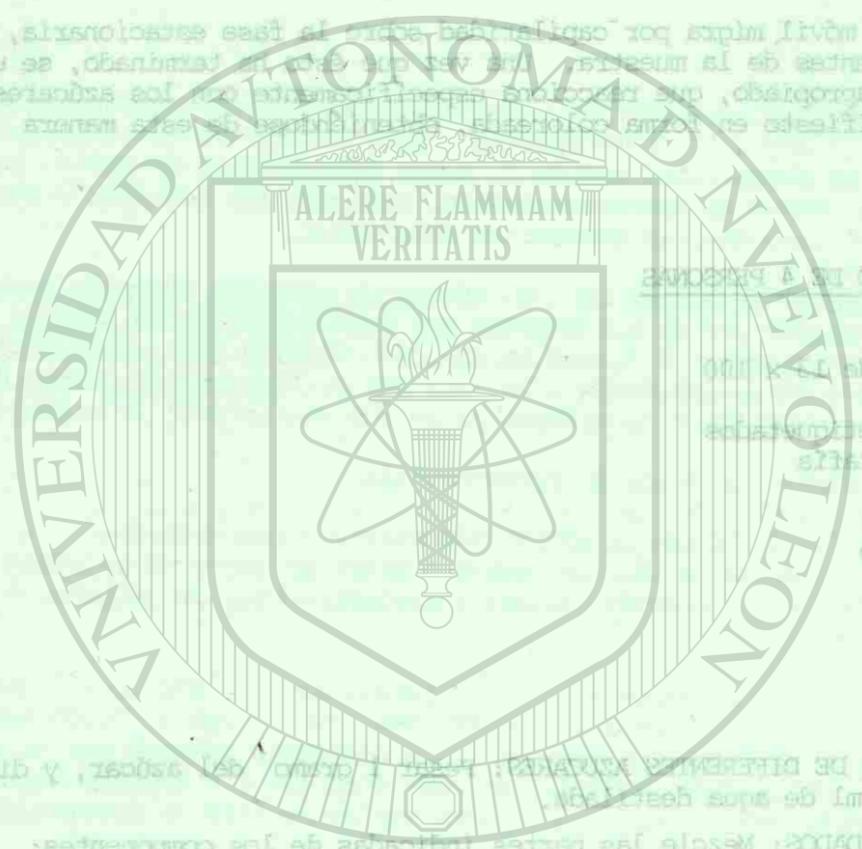


CROMATOGRAFIA DESCENDENTE

- I.-Sobre cada uno de los puntos coloque 5 gotas de las soluciones de carbohidratos utilizando un capilar para cada azúcar. Antes de aplicar la gota siguiente, espere que la anterior se haya secado. El tamaño de la gota debe ser pequeño por lo que se debe evitar que la gota tome un diámetro muy grande. En cada ocasión que aplique su muestra, limpie la punta del capilar.
- II.-En una cuba para cromatografía ascendente, colocar 100 ml del eluyente utilizado, y tápela herméticamente, dejándola en estas condiciones durante 15 minutos para saturar la atmosfera interna.
Para la cromatografía descendente,deposite eluyente en la tapa de una caja de petri colocada en el fondo de la cuba, tape herméticamente y deje saturar como se indicó anteriormente.

por este motivo en la cromatografía en papel intervienen dos fenómenos, la absorción y la partición.

La fase móvil migra por capilaridad sobre la fase estacionaria, se paran los componentes de la muestra. Los que se van moviendo, se utilizan un revelador apropiado, que revela los componentes en los puntos de partición de manera que se manifiesta en forma de manchas.



MATERIAL POR EQUIPO DE 4 PERSONAS

- 3 tubos de ensayo de 10 x 100
- 1 gradilla
- 6 tubos capilares estériles
- 60 ml de solvente para cromatografía
- 1 papel Whatman No. 1
- Lápiz, regla e hilo
- Cinta Scotch

REACTIVOS

- 1.-SOLUCIONES AL 1% DE DIFERENTES CARBOHIDRATOS: sacarosa, glucosa, y fructosa en 100 ml de agua destilada.
- 2.-ELUYENTES RECOMENDADOS: Mezcle las partes indicadas de los componentes:

- a) Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
- b) Acetona: ácido acético: agua (3:1:1)
- c) Butanol: Piridina: agua
- d) Cloroformo: ácido acético: agua (100:50:50)

- 3.-REVELADORES:
 - a) Disolver 0.1 ml de anilina (0.05 gramos) y 1.7 gramos de ácido fénico en 100 ml de butanol. Calentar a 100°C por 10 minutos y dejar enfriar.

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

- SOLUCION II: 10 ml de la solución de la solución I, 10 ml de agua.
- SOLUCION III: 10 ml de la solución de la solución I, 10 ml de agua.

PARTE EXPERIMENTAL

PARA LA CROMATOGRAFIA ASCENDENTE:

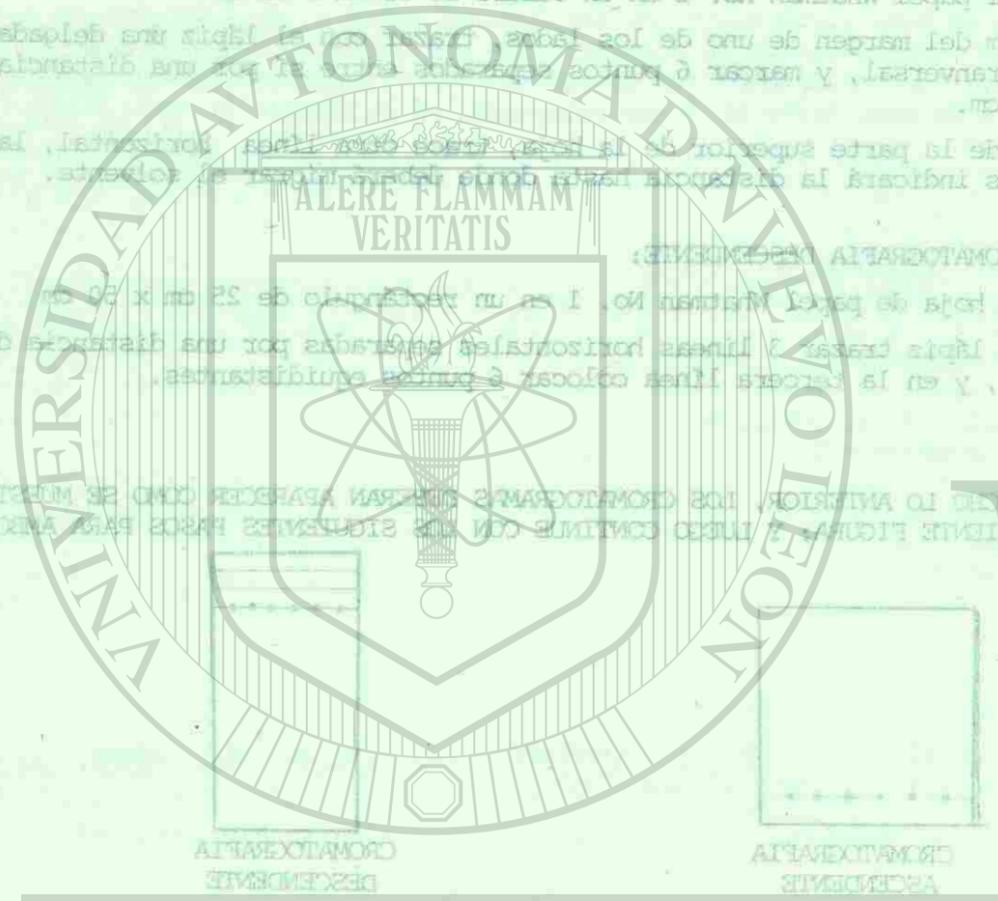
1.-Corte el papel Whatman no. 1 en un cuadro de 25 cm x 25 cm.
2.-A 2.5 cm del margen de uno de los lados traza una línea horizontal, y marca 6 puntos separados entre sí por una distancia de 3.5 cm.

3.-A 4 cm de la parte superior de la hoja traza una línea horizontal, la cual nos indicará la distancia desde donde se debe introducir el solvente.

PARA LA CROMATOGRAFIA DESCENDENTE:

1.-Corte la hoja de papel Whatman No. 1 en un rectángulo de 25 cm x 50 cm.
2.-Con un lápiz traza 3 líneas horizontales separadas por una distancia de 2.5 cm, y en la parte inferior línea colocada 6 puntos equidistantes.

UNA VEZ HECHO LO ANTERIOR, LOS CROMATOGRAFAS DEBERAN APARECER COMO SE MUESTRA EN LA SIGUIENTE FIGURA, Y LUEGO CONTINUE CON LOS SIGUIENTES PASOS PARA HACER LOS CASOS.



2.-Con los datos anteriores, y utilizando la fórmula citada, calcule los Rf

III.-Cuando termine de colocar los estándares y la muestra problema, introduzca el papel para la cromatografía ascendente dentro de la cuba respectiva, doblando la parte superior y sosteniendo el doblez con un hilo sujetado con cinta scotch a la cuba. Tenga cuidado de que el eluyente no lleve a la línea trazada con el lápiz en el momento de introducir el papel.

La hoja para cromatografía descendente dóblela siguiendo las indicaciones del instructor, colóquela en el receptáculo especial, adapte las varillas de vidrio, y adicione cuidadosamente el eluyente.

IV.- Deje migrar el eluyente durante varias horas, luego saque el papel, séque lo a temperatura ambiente.

V.- Una vez que el papel esté seco rocíelo con el revelador, dejelo secar, y colóquelo en una estufa a 80°C durante 15 minutos.

VI.-Cuando se utiliza el revelador de anilina, los azúcares aparecen con manchas café oscuras, que deberán ser delineados por los márgenes con un lápiz, colocando un punto en el centro de cada mancha. Cuando se emplea el revelador de Peryodato-Permanganato, los carbohidratos aparecen como manchas amarillas sobre un fondo rosado.

VII.-Mida la distancia desde el origen hasta el frente del solvente, y las distancias entre el origen y el centro de cada mancha. Determine el Rf con la fórmula que se da enseguida. y regístrelos en la tabla que aparece en la sección de resultados.

$$R_f = \frac{\text{Distancia desde el punto de partida al centro de la mancha}}{\text{Distancia desde el punto de partida hasta el frente del eluyente}}$$

VIII.-Adjunte el cromatograma, o en su defecto fotocópielo y adjunte la copia con su reporte.

RESULTADOS

1.-UTILICE LA SIGUIENTE TABLA PARA ANOTAR SUS DATOS:

Distancia recorrida por:	centímetros
ELUENTE	



III.- Cuando termine de colocar los estándares y la muestra problema, introduzca el papel para la cromatografía ascendente dentro de la cuba respectiva, doblando la parte superior y sosteniendo el doble con un hilo suave con cinta adhesiva a la cuba. Tenga cuidado de que el elemento no lleve a las líneas trazadas con el lápiz en el momento de introducir el papel.

IV.- Deje mirar el elemento durante varias horas, hasta que se haya desarrollado la mancha. Después de haber desarrollado la mancha, mida la distancia desde el punto de partida hasta el centro de cada mancha, y registre en la tabla que sigue.

V.- Una vez que el papel se haya secado, coloque el elemento en una cuba con un baño de agua a 30°C durante 15 minutos.

VI.- Cuando se utilice el revelador de sulfato, las manchas aparecerán con manchas café oscuras, que deberán ser desarrolladas por los minutos con un litro de agua destilada en el centro de cada mancha. Cuando se utilice el revelador de pentóxido de vanadilo, las manchas aparecerán como manchas amarillas sobre un fondo rosado.

VII.- Mida la distancia desde el origen hasta el frente del solvente, y las distancias entre el origen y el centro de cada mancha, y registre en la tabla que sigue.

VIII.- Ajuste el cromatograma, o en su defecto fotocopie y adjunte la copia con su reporte.

IX.- Utilice la siguiente tabla para anotar sus datos:

Elemento	Distancia recorrida por el solvente	Distancia recorrida por el elemento

2.- Con los datos anteriores, y utilizando la fórmula citada, calcule los Rf de los estándares y de la muestra.

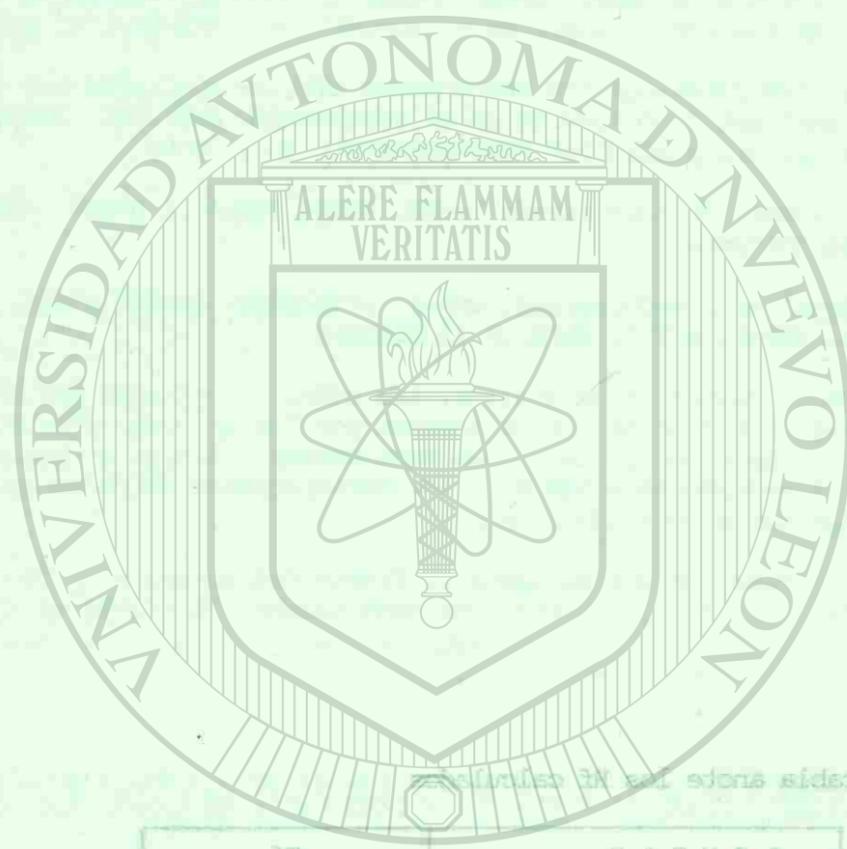
DISCUSIÓN

3.- En la siguiente tabla anote los Rf calculados

A Z U C A R	Rf

4.- Comparando los Rf de los carbohidratos patrón con los Rf presentados por las manchas desarrolladas por la solución problema, indique ¿cuáles azúcares estaban en su muestra?

2.- Con los datos anteriores, y utilizando la fórmula citada, calcule los R₁ de los estantes y de la muestra.



ES	ACUAR

4.- Comparando los R₁ de los estantes con los R₁ presentados por las manchas desarrolladas por la solución problema, indique cuáles estantes están en su muestra?

SECCION DE PREGUNTAS:

DISCUSION

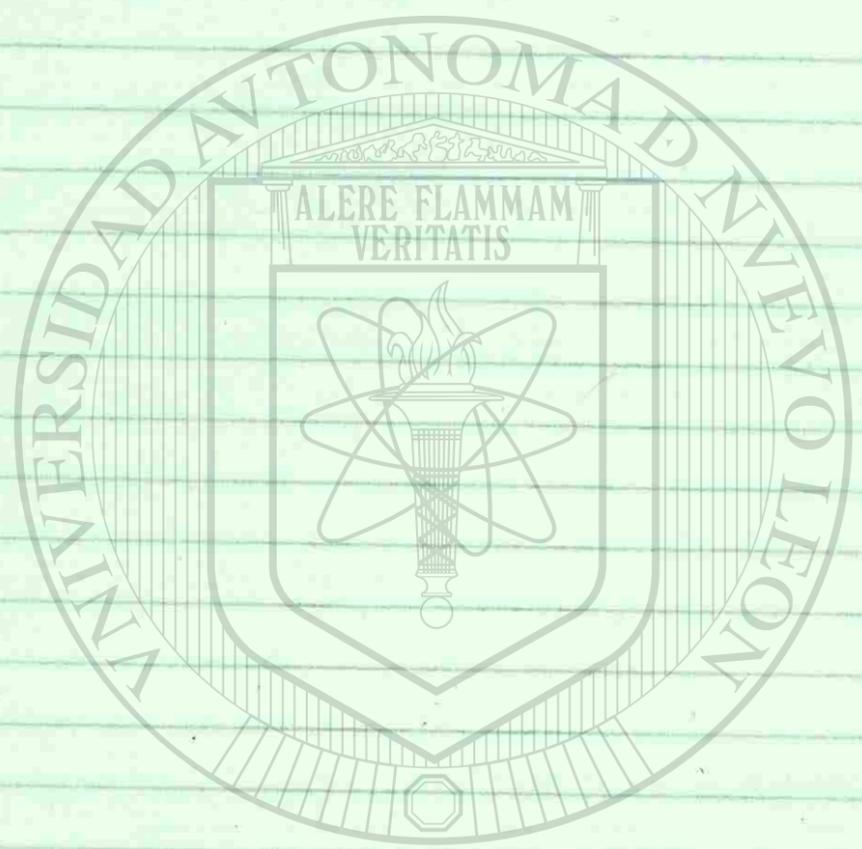
Lined area for discussion.

CONCLUSIONES

Lined area for conclusions.

SECCION DE PREGUNTAS:

DISCUSION



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

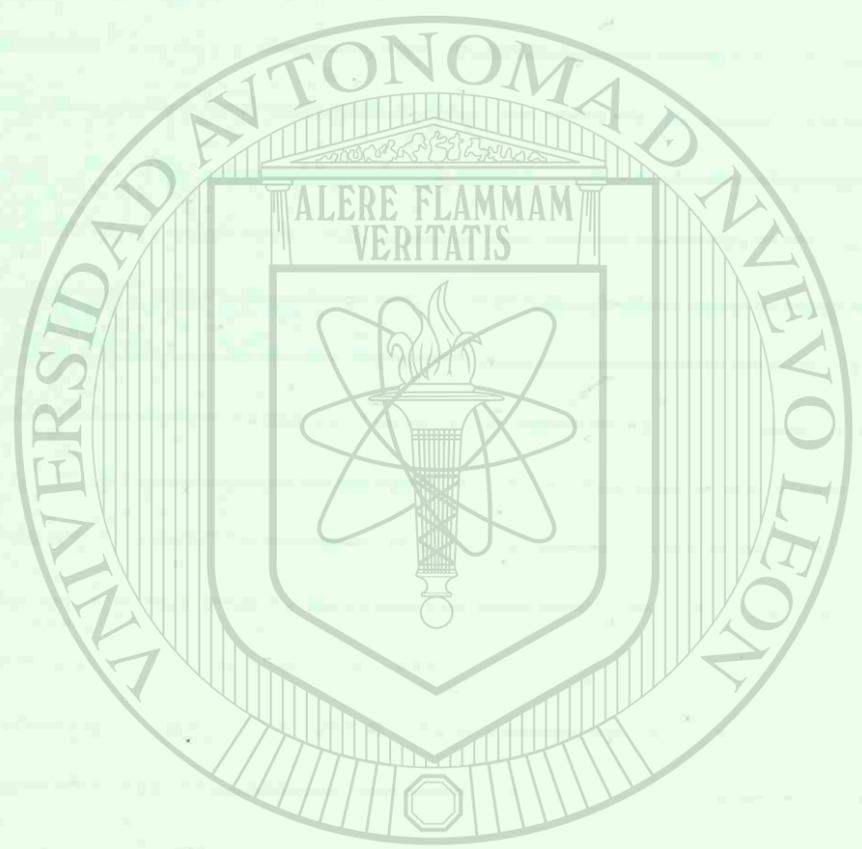
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Dobinski, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 1a. Edición en español. pp:12-15.
- 2.-Clark, J.M. 1964. Bioquímica Experimental. Editorial Acribia. 1a. Edición. pp: 237-247.
- 3.-Cohn, E.M. y P.K. Stumpf. 1978. Bioquímica Fundamental. Editorial Limusa. 3a. Edición. pp:587-590.
- 4.-Harper, A.H. 1960. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a Edición. pp: 14-25.
- 5.-Rodríguez, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana. 1a. Edición. pp:77-121.
- 6.-Teperek, M. 1984. Bioquímica. Editorial Interamericana, 1a. Edición. pp:27-77.
- 7.-Pinner, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Editorial McGraw-Hill Interamericana, S.A. Bogotá, Colombia. Traducido de la 2a. Edición en inglés. pp:73-77.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

POLARIZACIÓN Y ROTACIONES DE CARBOHIDRATOS

INTRODUCCION

La mayoría de los carbohidratos con respecto de la división horizontal, presentan isomería óptica. Los isómeros ópticos o enantiómeros poseen la misma fórmula molecular, la misma estructura, pero difieren en su configuración es decir, en la disposición espacial de los grupos sustituyentes en cada átomo de carbono asimétrico.

BIBLIOGRAFIA

este tipo de estereoisomería se debe a la presencia de átomos de carbono asimétricos en la molécula de azúcar; considerándose como centro asimétrico aquel átomo de carbono que está unido a cuatro grupos por radicales químicamente diferentes. La configuración espacial, mientras que la de su imagen especular, son opuestas.

- 1.-Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 1a. Edición en español. pp:12-15.
- 2.-Clarck, J.M. 1964. Bioquímica Experimental. Editorial Acribia. 1a. Edición. pp: 237-247.
- 3.-Conn, E.E. y P.K. Stumpf. 1978. Bioquímica Fundamental. Editorial Limusa. 3a. Edición. pp:587-590.
- 4.-Harper, A.H. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a Edición. pp: 34-35.
- 5.-Rendina, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana. 1a. Edición. pp:77-121.
- 6.-Toporek, M. 1984. Bioquímica. Editorial Interamericana, 3a. Edición. pp:225-227.
- 7.-Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. Bogotá, Colombia. Traducido de la 2a. Edición en inglés. pp:73-77.



El fenómeno de rotación de la luz polarizada causada por una solución daltónica activa que contiene un gramo de soluto por mililitro, en un tubo de polarización de 1 decímetro de longitud, a una temperatura dada, comúnmente 20°C.

POLARIMETRIA Y MUTARROTACION DE CARBOHIDRATOS

INTRODUCCION

La mayoría de los carbohidratos con excepción de la dihidroxiacetona, presentan isomería óptica. Los isómeros ópticos ó enantiómeros poseen la misma fórmula molecular, la misma estructura, pero difieren en su configuración es decir, en la disposición espacial de los grupos sustituyentes en cada átomo de carbono asimétrico.

Este tipo de estereoisomería se debe a la presencia de átomos de carbono asimétricos en la molécula de azúcar; considerándose como centro asimétrico aquel átomo de carbono cuyas cuatro valencias están ocupadas por radicales químicos diferentes. Así, un enantiómero adopta un determinado arreglo espacial, mientras que su isómero óptico tendrá una estructura similar a la de su imagen especular. El par enantiomórfico compartirá las mismas propiedades físicas y químicas, pero diferirán en la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada, ya que uno de ellos girará el plano de luz en el sentido de las manecillas del reloj, mientras que el otro lo hará en contra de las manecillas del reloj. El primero se considera dextrógiro ó dextrorrotatorio y el último levogiro ó levorrotatorio.

La rotación del plano de luz polarizada es específica del azúcar, y esto se puede demostrar y medir con el polarímetro. La polarimetría nos permite de esta manera la identificación de un carbohidrato así como el cálculo de la concentración de un azúcar en solución conociendo su rotación específica.

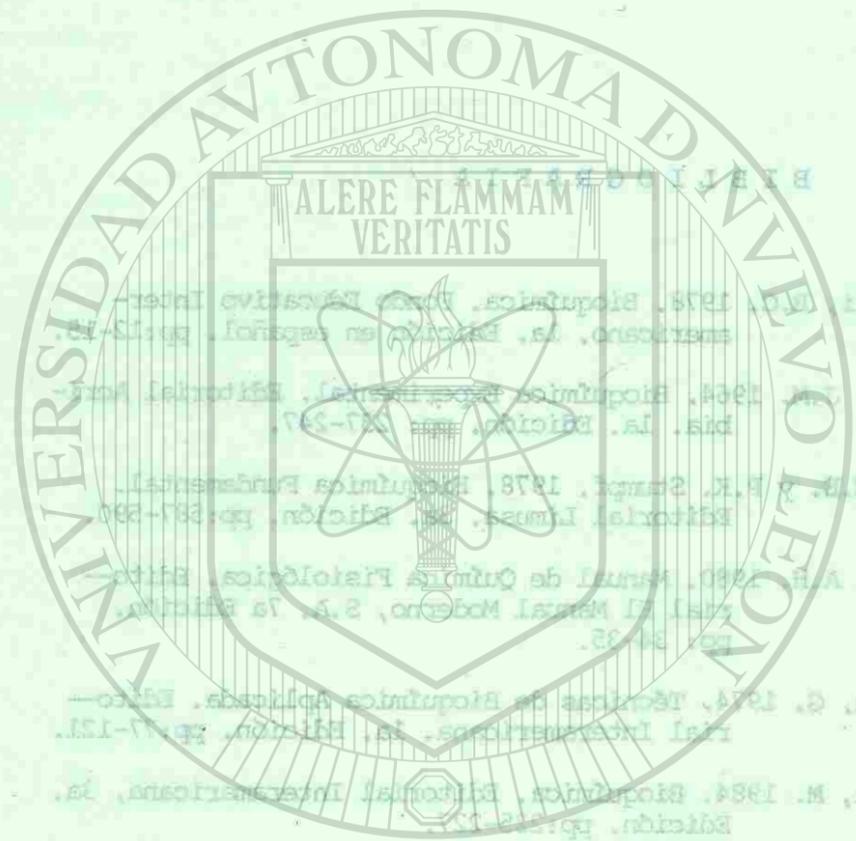
Cuando se desea identificar un carbohidrato, es conveniente determinar la rotación específica al momento de disolver la sustancia y después de cierto tiempo ya que los glúcidos presentan un cambio gradual en la rotación de la luz, fenómeno conocido como mutarrotación.

OBJETIVO

Determinar el poder rotatorio de una solución de carbohidrato, y comprobar que este valor se modifica después de un cierto tiempo de reposo.

FUNDAMENTO

La rotación específica se define como la rotación de la luz monocromática causada por una solución ópticamente activa que contiene un gramo de soluto por mililitro, en un tubo de polarímetro de 1 decímetro de longitud, a una temperatura dada, comúnmente 20°C.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



El grado de giro de la luz polarizada, es proporcional a tres factores importantes que son a) el número de moléculas asimétricas, es decir, a la concentración del azúcar ópticamente activo en la disolución; b) a la longitud del tubo del polarímetro, que representa el trayecto recorrido por la luz; y también por c) la longitud de onda de la luz polarizada, generalmente 589 nm.

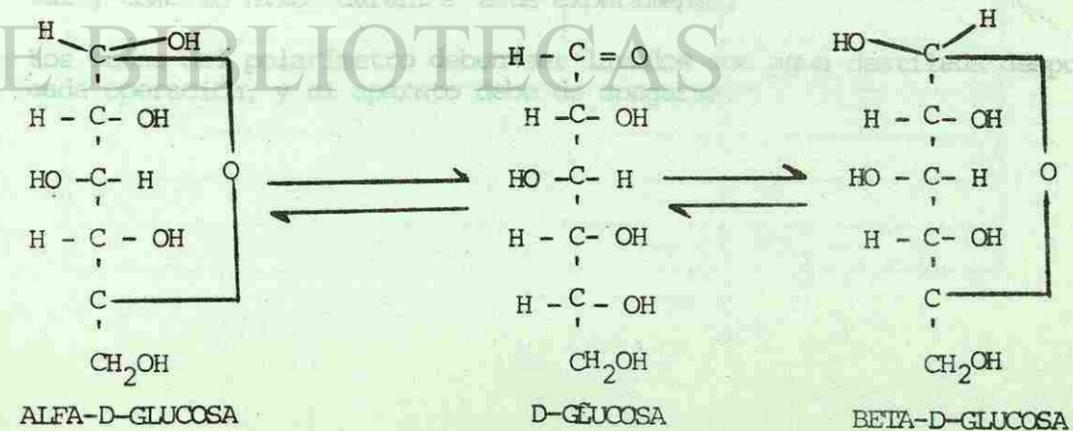
El poder rotatorio específico, y el ángulo de giro de la luz polarizada se encuentran relacionados mediante la siguiente ecuación:

$$[\alpha]_D^T = \frac{[\alpha]_{\text{observada}}}{l \times c}$$

donde: $[\alpha]$ = ángulo de giro determinado experimentalmente
 T = temperatura, generalmente 20°C
 D = longitud de onda de la luz de sodio (589 nm)
 l = longitud del tubo del polarímetro (en decímetros)
 c = concentración en gramos/ml

La mutarrotación presentada por los carbohidratos, es la interconversión de alfa anómeros y beta anómeros, mediada por la forma no cíclica del azúcar, el cual se refleja en el cambio de rotación específica que sufre una solución de azúcar al pasar el tiempo. Este fenómeno ocurre debido a la formación de hemiacetales intramoleculares cíclicos, que generan un nuevo centro asimétrico (el carbono del grupo carbonilo) el cual puede ahora adoptar un arreglo espacial diferente en el medio acuoso donde se encuentra el azúcar.

El fenómeno de mutarrotación es manifestado solamente por azúcares como las aldopentosas, aldohexosas, cetoheptosas, dado que son las únicas moléculas que pueden adoptar conformaciones cíclicas estables. En la figura, se ilustra la interconversión de los anómeros de la glucosa, cuando se alcanza el equilibrio entre las tres formas del carbohidrato, entonces la solución adopta una rotación específica definitiva.



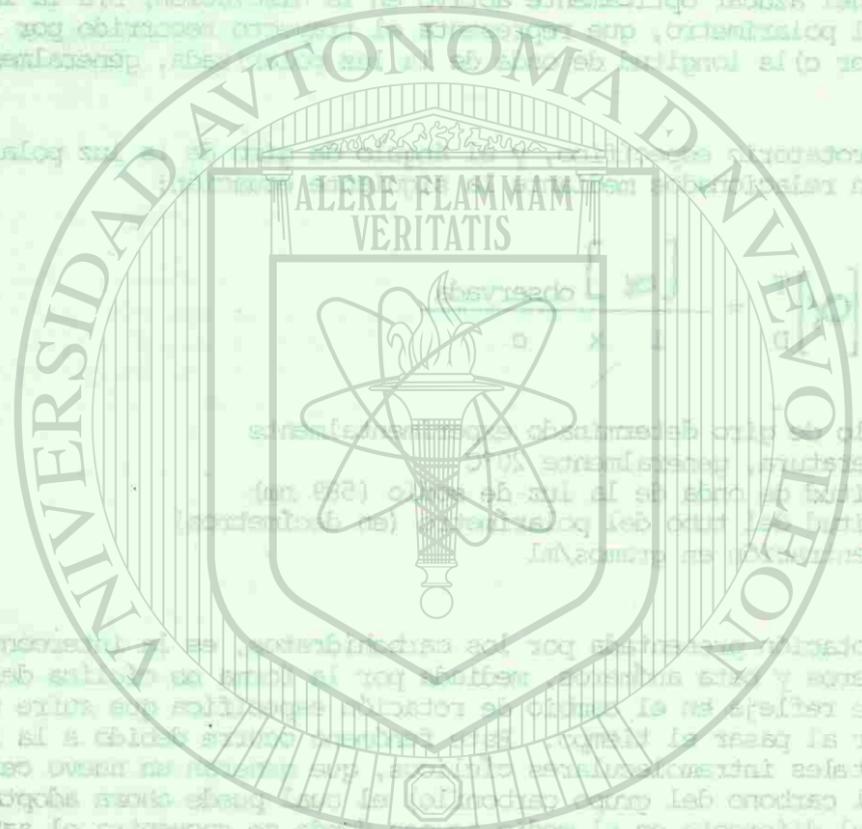
MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 1 matraz de aforación de 25 ml
- 1 pipeta de 5 ml
- 1 probeta graduada
- 1 piceta con agua destilada
- 1 espá-tula acanalada
- Balanza granataria
- Papel encerado para pesar
- 1 frasco Gerber limpio etiquetado
- Kleenex

PARTE EXPERIMENTAL

- 1.- Encienda el polarímetro durante 10 minutos, siguiendo las instrucciones - del profesor.
- 2.- Calibre a cero su aparato antes de efectuar su experimento, para ello, la ve la celda con agua destilada, y luego llene el tubo con agua destilada, cuidando de que no se queden burbujas de aire atrapadas. Lleve el tubo al polarímetro y ajuste a cero girando el analizador hasta observar por el - ocular que las dos mitades del círculo observado, tengan la misma lumino - sidad.
- 3.- Una vez hecho el ajuste, vacie la celda y séquela. Mientras esto ocurre, - efectue RAPIDAMENTE las siguientes operaciones.
- 4.- Pese 2.5 gramos del azúcar y transfíralo cuidadosamente a un matraz de - aforación de 25 ml procurando que no se le tire.
- 5.- Adicione 15 ml de agua destilada, y disuelva rápidamente. Enseguida afore hasta la marca y mezcle vigorosamente.
- 6.- Con esta solución ee carbohidrato llene el tubo del polarímetro, procuran do que el líquido forme un menisco sobre la superficie del tubo, con el - fin de que al cerrar la celda se evite la formación de burbujas.
- 7.- Hacer la lectura lo más rápido posible y anótelas en su manual.
- 8.- Al terminar guarde la solución de azúcar en un frasco limpio y etiquetado debidamente. A las 24 horas determine nuevamente la rotación específica, tal y como lo hizo durante este experimento.
- 9.- Los tubos del polarímetro deben ser lavados con agua destilada después de cada operación, y el aparato debe de apagarse.

El grado de giro de la luz polarizada, es proporcional a tres factores importantes que son: a) el número de volutas espirales, es decir, a la longitud del tubo, b) la concentración del azúcar, y c) la longitud del tubo del polarímetro, que depende del tipo de tubo utilizado, generalmente, y también por (c) la longitud del tubo del polarímetro, generalmente.



El fenómeno de rotación es manifestado solamente por azúcares como las almidones, almidones, almidones, etcétera, dado que son las únicas moléculas que poseen átomos de carbono quirales. En la figura se muestra la estructura de la molécula de glucosa, que es un azúcar simple. En el análisis de los azúcares se emplea el método de la rotación específica.



RESULTADOS

I.- Haga un dibujo del polarímetro utilizado en este experimento señalando por su nombre cada una de las partes que lo constituyen.

II.- Registre los grados de rotación inicial y final determinados experimentalmente para su muestra, así como los datos obtenidos por sus compañeros.

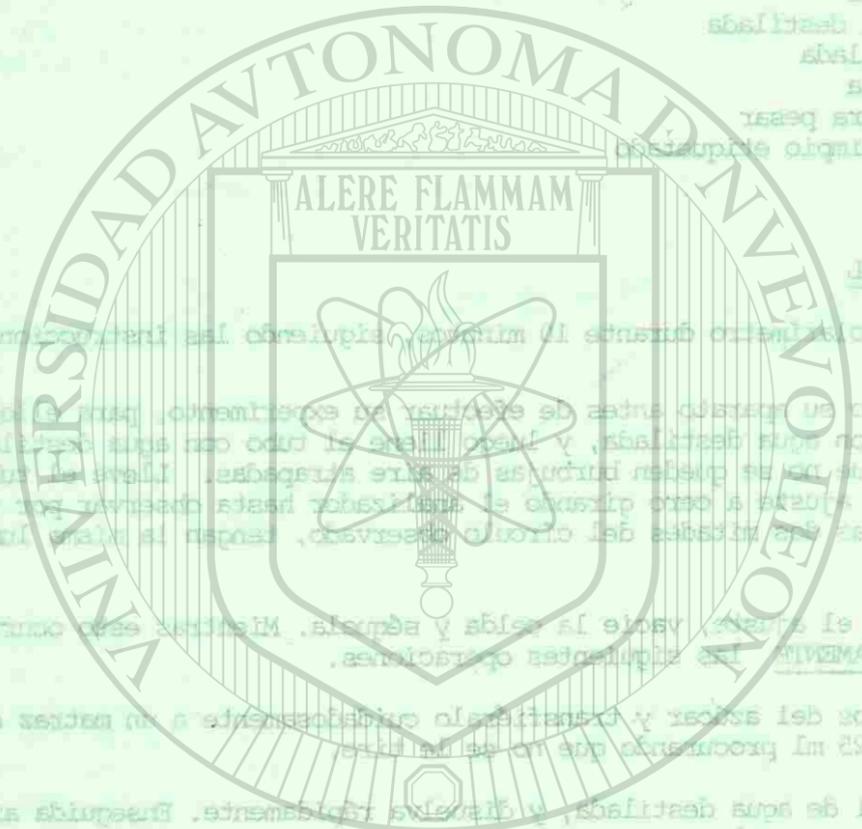
AZUCAR	Angulo de giro INICIAL	Angulo de giro FINAL

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 1. Matraz de rotación de 25 ml.
- 1. Pipeta de 5 ml.
- 1. Pipeta graduada.
- 1. Pipeta con agua destilada.
- 1. Espátula acanalada.
- Balanza granataria.
- Papel encerado para pesar.
- 1. Frasco Gamber limpio estérilizado.
- Klaseax.

PARTE EXPERIMENTAL

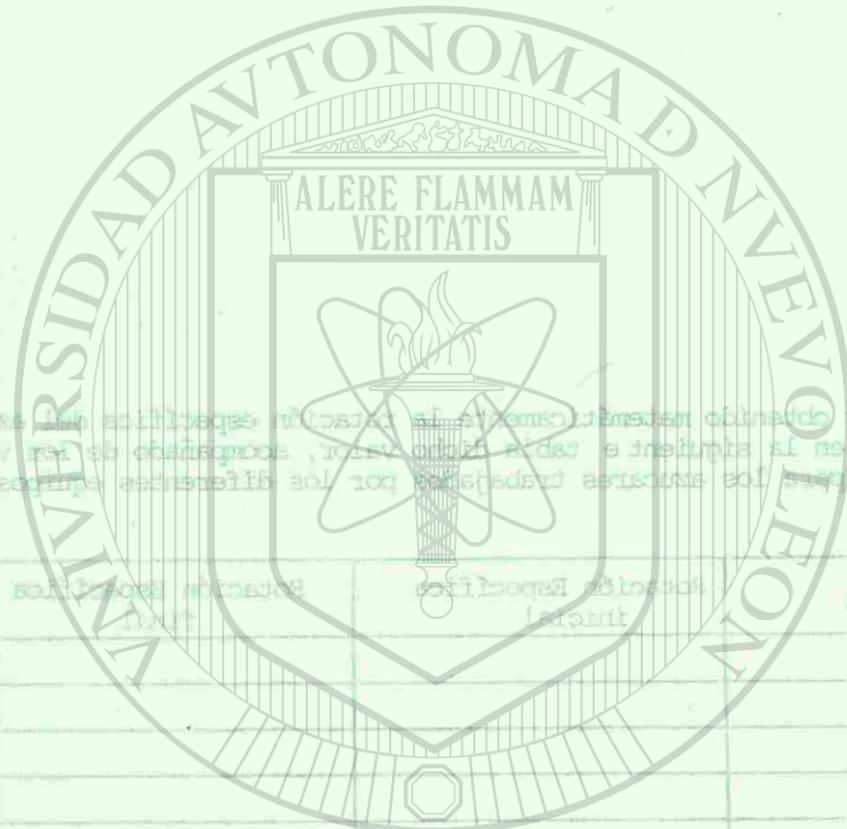
- 1.- Encienda el polarímetro durante 10 minutos siguiendo las instrucciones del profesor.
- 2.- Calibre a cero su aparato antes de efectuar el experimento, para lo cual ve la celda con agua destilada, y luego líbrala el tubo con agua destilada, cuidando de que no se queden burbujas de aire atrapadas. Líbrala el tubo al polarímetro y ajuste a cero el punto de lectura hasta observar por el ocular que las líneas del círculo de colores, tengan la misma longitud a cada lado.
- 3.- Una vez hecho el ajuste, vótese la escala y anótese. Muestre esta lectura a los compañeros de laboratorio.
- 4.- Pese 2.5 gramos del azúcar y disuélvalo cuidadosamente en un matraz de rotación de 25 ml. procurando que no se queden burbujas.
- 5.- Adicione 15 ml. de agua destilada, y déjelo reposar. Busquese ahora hasta la marca y desoche vigorosamente.
- 6.- Con esta solución se calibrará el tubo del polarímetro, procurando que el líquido forme un menisco sobre la superficie del tubo, con el fin de que al centrar la celda se evite la formación de burbujas.
- 7.- Hacer la lectura lo más rápido posible y anótese en su cuaderno.
- 8.- Al terminar guárdese la solución de azúcar en un frasco limpio y estérilizado debidamente. A las 24 horas determine nuevamente la rotación específica, tal y como se hizo durante este experimento.
- 9.- Los tubos del polarímetro deben ser lavados con agua destilada después de cada operación, y el aparato debe de espurarse.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

III-Utilizando la fórmula dada anteriormente, calcule la Rotación Específica inicial y final de su muestra.



IV-Después de haber obtenido los datos de la rotación específica del azúcar problema, anote en la siguiente tabla el ángulo α , corregido de su valor respectivo para los azúcares trabajados por los diferentes grupos.

Rotación Específica Inicial	Rotación Específica Final	Rotación Específica Inicial	Rotación Específica Final	Rotación Específica Inicial	Rotación Específica Final

V- Investigue en la literatura las rotaciones específicas de los azúcares de la muestra y de la mezcla en equilibrio para cada uno de los azúcares que se utilizaron en este experimento, y registre los resultados en la tabla siguiente.

Rotación Específica Inicial	Rotación Específica Final	Rotación Específica Inicial	Rotación Específica Final

DISCUSION PREMIAS:

Handwritten notes and calculations in the discussion section.

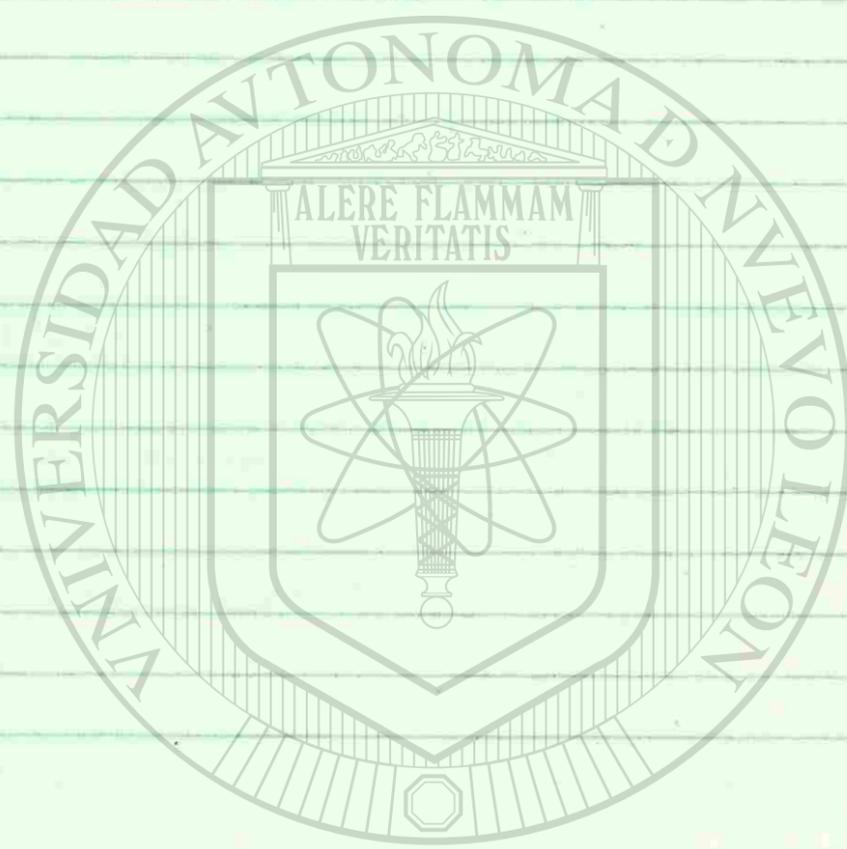
CONCLUSIONES

Handwritten notes in the conclusions section.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Handwritten references in the bibliography section.

DIRECCIÓN



DIRECCIÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS:

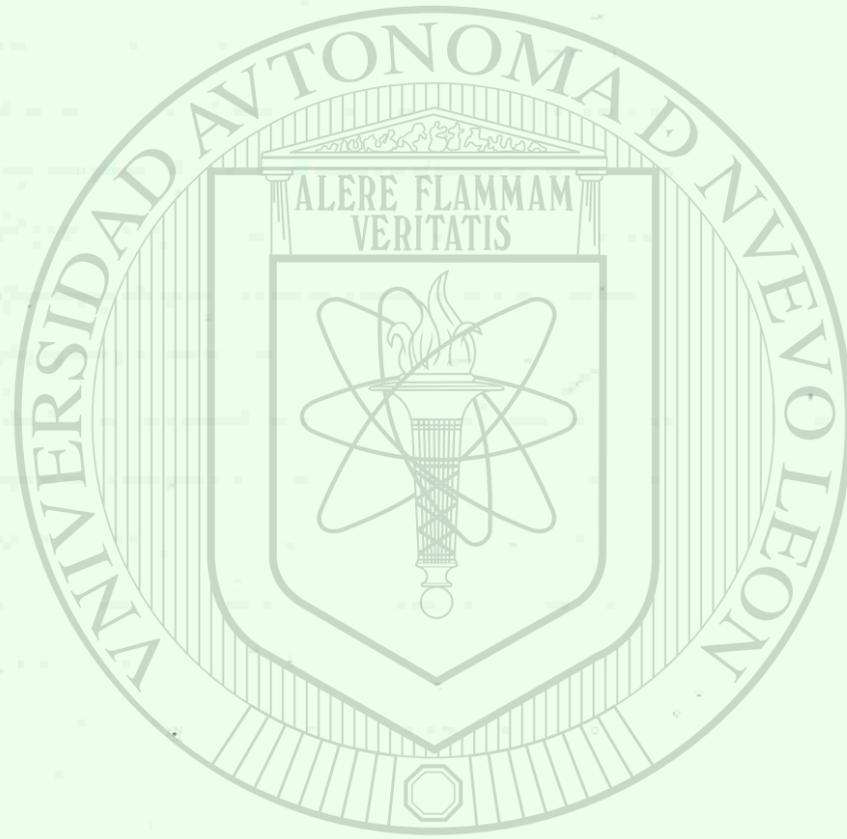
BIBLIÓGRAFIA

- 1.- Baer, S.J. 1961. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Publicación. pp:301-302.
- 2.- Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 1a. Edición en español. pp:237.
- 3.- Macarulla, J.M. y F.M. Goni. 1978. Biomoléculas. Editorial Reverte. 1a. Edición. pp: 32-53.
- 4.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducción de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Iberoamericana, S.A. Bogotá Colombia. pp:155,172.
- 4.- Ransoy B.J. 1980. Biología Química, una introducción a la bioquímica. 1a. edición en español. Compañía Editorial Continental, S.A. pp:72-74.
- 5.- Rendón, G. 1974. Técnicas de Bioquímica del Codo. Ed. Editorial Iberoamericana. 1a. Edición pp:112-128.
- 6.- Roberts, J.D., M. Stewart, R.C. Caserio. 1974. Química Orgánica, De metano a Macromoléculas. Fondo Educativo Interamericano, S.A. 1a. Edición. pp: 279- 380.
- 7.- Morrison, R.T. y R.L. Boyd. 1949. Química Orgánica. Editorial Harcourt, Harper & Co. Latinoamericana. Traducción de la 1a. Edición en Inglés. pp:144,145.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

102111502

SECCION DE PREGUNTAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOTECA CONSULTA

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

INTRODUCCIÓN

Uno de los métodos más sencillos para determinar la actividad enzimática es el de la Anticloruro. Este método permite determinar la actividad enzimática de la amilasa en forma libre o fijada a un soporte sólido. La muestra debe ser digna de confianza, libre de sustancias que interfieran con la actividad de la enzima y de 5 ml de solución de reacción. Es aconsejable utilizar proteínas puros en triplicado para cada muestra.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Publicación. pp:301-302.
- 2.- Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 1a. Edición en español. pp:237.
- 3.- Macarulla, J.M. y F.M. Goñi. 1978. Biomoléculas. Editorial Reverté. 1a. Edición. pp: 32-53.
- 4.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a. Edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Iationamericana, S.A. Bogotá Colombia. pp:155,172.
- 4.- Ramsey B.J. 1980. Biología Química, una introducción a la bioquímica. 1a. edición en español. Compañía Editorial Continental, S.A. pp:72-74.
- 5.- Rendina, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana. 1a. Edición. pp:122-128.
- 6.- Roberts, J.D., R. Stewart, M.C. Caserio. 1974. Química Orgánica, De metano a Macromoléculas. Fondo Educativo Interamericano, S.A. 1a. Edición. pp: 379- 380.
- 7.- Wingrove, A.S. y R.L. Caret. 1984. Química Orgánica. Editorial Harla, Harper & Row Latinoamericana. Traducido de la 1a. Edición en inglés. pp:1444,1452.

DETERMINACION DE AZUCARES TOTALES POR EL METODO DE LA ANTRONA

INTRODUCCION

Uno de los métodos más comunmente usados para cuantificar azúcares totales es el de la Antrona (Dimler y col. 1952). Este procedimiento nos — permite determinar cuantitativamente hexosas, aldopentosas, acidos urónicos ya sea en forma libre o formando parte de polisacáridos. Para que la medi— ción sea digna de confianza, deben controlarse cuidadosamente las concentra— ciones de antrona y de ácido en el reactivo así como el tiempo y la tempera— tura de reacción. Es aconsejable que la muestra se encuentre libre de — — proteínas ricas en triptofano para evitar interferencias en la reacción co— lorida.

OBJETIVO

Pretendemos en este experimento estimar cuantitativamente la pre— sencia de azúcares en diferentes muestras problemas.

FUNDAMENTO

En presencia del ácido sulfúrico del Reactivo de Antrona, los carbo— hidratos experimentan deshidratación convirtiéndose en furfural ó hidroxime— tilfurfural. Estos productos pueden condensarse con aminas aromáticas, fe— noles, antrona, etc; produciendo compuestos coloreados. La formación del — furfural ó sus derivados acomplejados con estas sustancias puede utilizarse como método cualitativo ó cuantitativo para estimar azúcares, ya que la in— tensidad de color desarrollado durante la condensación va a estar en función de la concentración de carbohidrato presente en la muestra.

Hemos de mencionar, que los polisacáridos por acción del ácido son primeramente hidrolizados a monosacáridos los cuales se deshidratan forman— do furfural ó hidroximetilfurfural; éstos ulteriormente se condensan con la antrona generando complejos coloreados.

La cuantificación de azúcares se hace en base al color desarrolla— do por la muestra, utilizando espectrofotómetros ó fotocolorímetros para de— terminar la intensidad o la energía de la luz que ha pasado a través de la celda ó tubo de fotocolorímetro conteniendo la solución coloreada. Para es— ta determinación se debe fijar un valor de longitud de onda que es donde el complejo colorido muestra su máxima absorción, y además disponer de un blan— co para calibrar el aparato, esta solución solamente contiene agua destila— da y reactivo de antrona sometido al protocolo indicado.



1.- Bawn, S.J. 1981. Introducción a la Biología Química y Bioquímica. Compañía Continental, S.A. México. 1ª Edición. pp: 301-302.

2.- Bohns, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 1ª Edición en español. pp: 237.

3.- Macmillan, J.M. y E.M. 1978. Bioquímica. Edición. pp: 32-33.

4.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Biología Química. Editorial. Compañía Continental, S.A. Bogotá Colombia. pp: 172.

4.- Ramsey B.J. 1980. Biología Química, una introducción a la bioquímica. 1ª edición en español. Compañía Continental, S.A. pp: 14.

5.- Roberts, J.D., R. Stewart, M.C. Caserio. 1974. Química Orgánica. De México a Macmillan. Fondo Educativo Interamericano, S.A. 1ª Edición. pp: 377-380.

6.- Wintrive, A. y R.J. 1984. Química Química. Editorial Harter & Row. Traducción de la 1ª Edición en inglés. pp: 144, 145, 2.

INTRODUCCION

Uno de los métodos más comunes para determinar azúcares totales es el de la Antrona (Dinitrofenilhidroxiamina) que permite determinar cuantitativamente azúcares reductores ya sea en forma libre o formando parte de glicósidos. Este método es digno de confianza, ya que es sencillo y de fácil ejecución. En el presente se describe el método de Antrona y de la Dinitrofenilhidroxiamina para la determinación de azúcares totales en proteínas ricas en aminoazúcares en la reacción de Maillard.

OBJETIVO

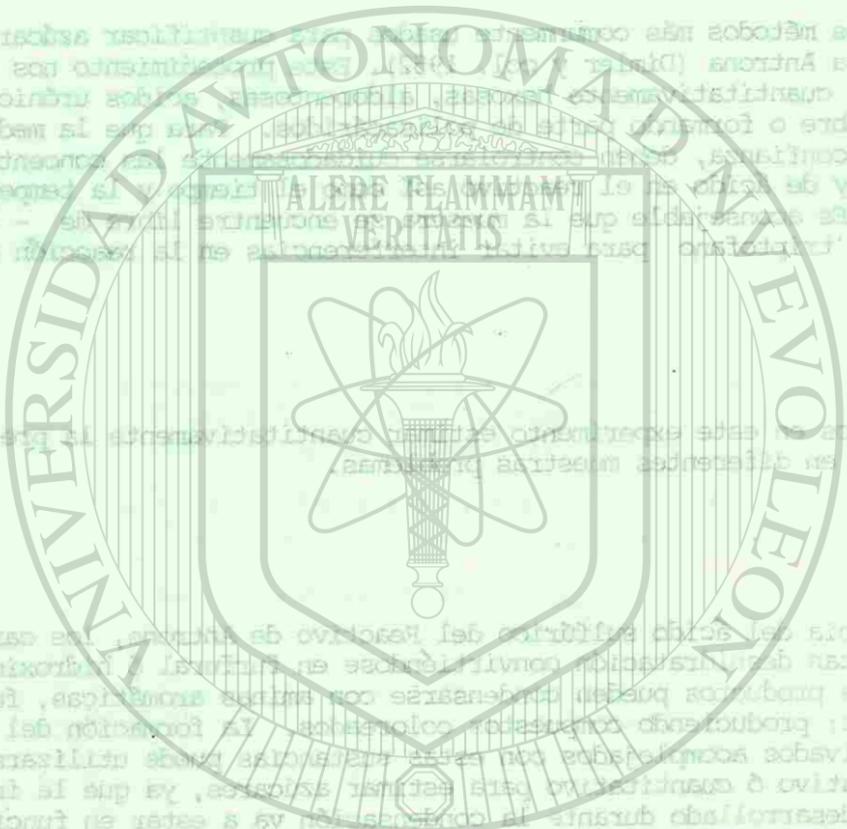
Pretendemos en este experimento estudiar cuantitativamente la reacción de azúcares en diferentes muestras proteicas.

FUNDAMENTO

En presencia del ácido sulfúrico el reactivo de Antrona reacciona experimentalmente dando lugar a una coloración roja. Este color depende de la concentración de azúcares reductores. La formación del color rojo, esta producida por la reacción de Maillard entre los azúcares reductores y el ácido sulfúrico. Este método cualitativo de Antrona, para determinar azúcares, ya que la intensidad de color desarrollado durante la reacción va a estar en función de la concentración de carbohidratos presente en la muestra.

Antes de comenzar, que los polímeros por acción del ácido sulfúrico se hidrolizan a monosacáridos los cuales se deshidratan formando el reactivo de Antrona. Este procedimiento es comúnmente utilizado para determinar azúcares totales.

La cuantificación de azúcares se hace en base al color desarrollado por las muestras, utilizando espectrofotómetros o fotocolorímetros para determinar la intensidad de la energía de la luz que ha pasado a través de la celda de color de fotocolorímetro con respecto a la solución colorada. Para esta cuantificación se debe tener un valor de longitud de onda que es donde el color de la muestra es máximo. Este método es muy preciso y se dispone de un plan para utilizar el aparato, esta solución solamente se utiliza para la determinación de azúcares totales en proteínas.



PORTE EXPERIMENTAL

La cantidad de luz que absorbe la muestra se denomina ABSORBANCIA, y la luz que pasó a través de la solución se llama TRANSMITANCIA. Existe una fórmula que nos relaciona a ambas:

$$A = - \log T$$

$$T = \frac{1}{\text{antilog } A}$$

Tubo No.	Concentración mg/ml	ml. de agua destilada
1	100	1.0
2	100	1.2
3	100	1.4
4	100	1.6
5	100	1.8

Para cuantificar la cantidad de azúcar presente en una muestra, primeramente se prepara una curva de calibración con los valores de absorbancia mostrados por distintas soluciones de concentración conocida. Estos valores se ajustan a una recta usando Regresión Lineal, y con la ecuación de la recta se determina la concentración de azúcar según haya sido el valor de absorbancia que mostró.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- Espectrofotómetro ó Fotocolorímetro equipado con filtro rojo
- Celdas para espectrofotómetro ó fotocolorímetro
- 15 tubos de ensaye de 18 x 150
- 1 mechero, tripie, tela de asbesto
- 1 vaso de precipitados de 600 ml
- 1 vaso de precipitados de 1 litro
- 2 pipetas de 10 ml
- 2 pipetas de 1 ml
- 15 canicas
- 1 gradilla
- pinzas para tubo de ensaye
- Hielo
- Kleenex

REACTIVOS

- 1.- ANTRONA AL 0.2% EN ACIDO SULFURICO CONCENTRADO: En 50 ml de ácido sulfúrico concentrado y frío disolver poco a poco y con agitación 0.2 gramos de antrona; y luego aforar a 100 ml con el ácido. La solución se debe guardar en un frasco oscuro y bajo refrigeración.
- 2.- SOLUCION PATRON DE GLUCOSA 100 mg/litro: Disolver 0.100 gramos de glucosa en 50 ml de agua destilada y luego aforar a 1 litro con agua. Guardar en refrigeración.
- 3.- SOLUCION PROBLEMA: Preparar soluciones apropiadas usando agua destilada como diluyente.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

PARTE EXPERIMENTAL

I.-CURVA DE CALIBRACION

1.-En una gradilla coloque 8 tubos de ensaye de 18 x 150. A los tubos numerados del 1 al 6 adicione los volúmenes de glucosa y agua indicados en la tabla siguiente, y mezcle. En los tubos 7 y 8 transfiera su muestra apropiadamente diluida. LLEVE TODOS LOS TUBOS A UN BAÑO DE HIELO DURANTE 10 MINUTOS.

RESULTADOS

Tubo No.	Concentración ug/ml	ml de Glucosa 100 mg/ml	ml. de agua destilada
1	0	- - -	2.0
2	10	0.2	1.8
3	20	0.4	1.6
4	30	0.6	1.4
5	40	0.8	1.2
6	50	1.0	1.0
7	- - -	2 ml de muestra	0
8	- - -	1 ml de muestra	1.0

2.-Una vez que todos los tubos están bien fríos, adicioneles 4 ml de Antrona a cada uno; para agregarla incline el tubo y por las paredes internas del tubo deje fluir lentamente la antrona de manera que el reactivo se estratifique debiendo aparecer una capa inferior amarilla y una superior blanca lechosa. DESCARTE AQUELLOS TUBOS DONDE NO SE SEPARARON LAS CAPAS O QUE SE HAYAN TORNADO VERDES.

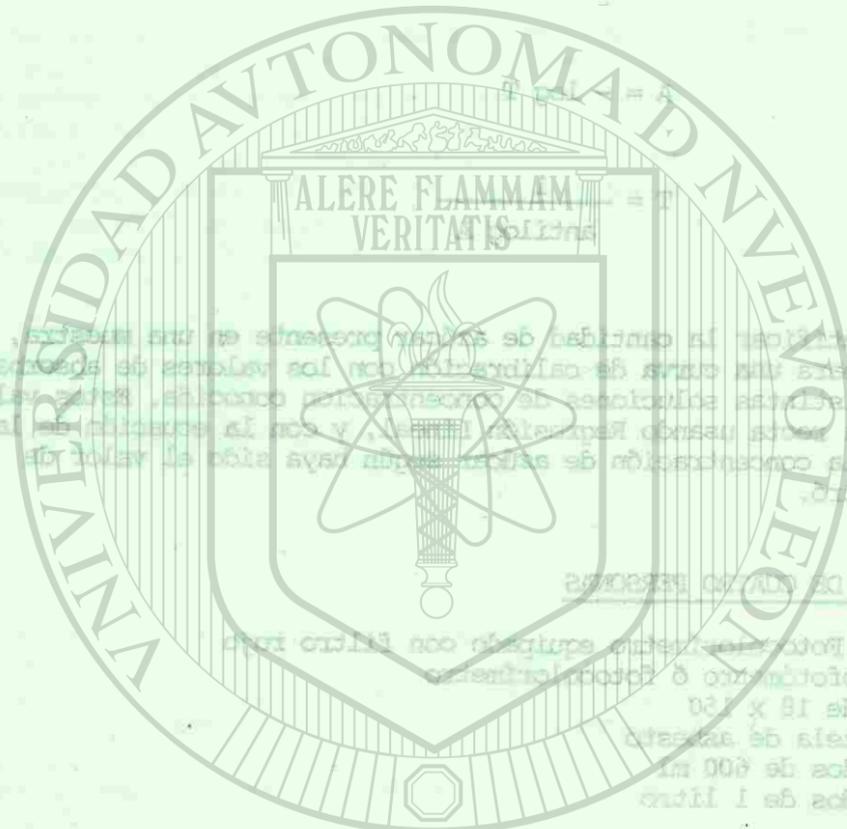
3.-Después de adicionar la antrona, todos los tubos deberán permanecer en el baño de hielo durante 5 minutos.

4.-Enseguida, agite vigorosamente cada tubo en un vórtex, de manera que se mezclen perfectamente las dos capas y la solución adquiera un color amarillo homogéneo. DESPUES DE AGITAR EL TUBO REGRESELO AL BAÑO DE HIELO. Elimine los tubos que se tornen verdes.

5.-Cuando haya agitado todos los tubos, transfíeralos a un baño de agua que ya se encuentre hirviendo, y déjelos ahí durante 10 minutos. Para evitar la evaporación, tape la boca de los tubos de ensaye con una canica.

6.-Después de ese tiempo, saque los tubos del baño de agua, y llévelos al baño de hielo para que se enfríen rápidamente.

La cantidad de luz que absorbe la muestra se determina absorbiendo y la luz que pasa a través de la solución se llama TRANSMITANCIA. Existe una fórmula que nos relaciona a ambas:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.- ANTRONA AL 0.2% EN ACIDO SULFURICO CONCENTRADO: En 50 ml de ácido sulfúrico concentrado y 50 ml de agua destilada se disuelve 0.2 gramos de Antrona. La solución se debe guardar en un frasco oscuro y etiquetado.

2.- SOLUCION PATRON DE GLUCOSA 100 mg/ml: Disolver 0.100 gramos de glucosa en 50 ml de agua destilada y luego añorar a 1 litro con agua destilada en refrigeración.

3.- SOLUCION PROBLEMA: Preparar soluciones apropiadas usando agua destilada como diluyente.

PARTE EXPERIMENTAL

1.-CURVA DE CALIBRACION

1.-En una gradilla coloque 8 tubos de ensayo de 18 x 150. A los tubos numere los del 1 al 8. Coloque en los tubos los volúmenes de muestra que se indican en la tabla siguiente y mezcle. En los tubos 7 y 8 coloque la muestra apropiada de muestra diluida. LAVE TODOS LOS TUBOS DESPUES DE CADA MUESTRA.

Tubo No.	Concentración (ug/ml)
1	0
2	10
3	20
4	30
5	40
6	50
7	--
8	--

2.-Una vez que todos los tubos estén bien mezclados, coloque 4 ml de solución de cada uno para preparar la muestra de cada tubo. Coloque la muestra de cada tubo de la siguiente manera: 4 ml de solución de muestra en el tubo de ensayo y 4 ml de solución de reactivo en el tubo de ensayo. Mezcle bien. Coloque la muestra de cada tubo en el tubo de ensayo y mezcle bien. Coloque la muestra de cada tubo en el tubo de ensayo y mezcle bien. Coloque la muestra de cada tubo en el tubo de ensayo y mezcle bien.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.-Cuando haya agitado todos los tubos, transférelas a un baño de agua que ya se encuentre hirviendo y déjelos ahí durante 10 minutos. Para evitar la evaporación, tape la boca de los tubos de ensayo con una cartita.

4.-Después de ese tiempo, saca los tubos del baño de agua y lívelos al baño de hielo para que se enfríen rápidamente.

5.-Después de enfriar, saque cuidadosamente cada tubo en un vortex, de manera que se mezclen perfectamente las dos capas y la solución adquiere un color amarillento. Después de aclarar el tubo transfiera al tubo de hielo. Limpie los tubos que se usaron.

- 7.- Cuando ya estén fríos los tubos, pase al espectrofotómetro ó fotocolorímetro para leer la absorbancia de cada uno de ellos. Utilice los tubos especiales de lectura que le serán proporcionados, fijando una longitud de onda de 640 nm.
- 8.- Hay que ajustar primeramente a cero de absorbancia su aparato, para ello emplee el contenido del tubo No. 1 que es su BLANCO.

RESULTADOS

I.-UTILICE LA TABLA SIGUIENTE PARA REGISTRAR LAS LECTURAS DE SUS TUBOS

Tubo	Concentración ug/ml	ABSORBANCIA	UNIDADES KLETT
1	0	0	0
2	10		
3	20		
4	30		
5	40		
6	50		
7	--		
8	--		

II.-Anote los siguientes datos: Dilución de la muestra: _____
Modelo del Aparato: _____

III.-Considerando como X a la concentración de los estándares y Y la absorbancia ó U.K. respectivas, trabaje estadísticamente esos datos como se pide en la tabla siguiente:

Concentración (ug/ml)	Absorbancia U.K. (Y)	x ²	XY	y ²
X	U.K. (Y)			
0	0	0	0	0
10				
20				
30				
40				
50				
Σ X =	Σ Y =	Σ X ² =	Σ XY =	Σ Y ² =

N = 6

7.- Cuando ya estén listos los tipos, pase al espectrofotómetro o fotómetro y tome las absorbancias de cada uno de ellos. Utilice los tipos especiales de facturas que le serán proporcionados, fijando una longitud de onda de 640 mμ.
 8.- Hay que ajustar primero a un tipo de concentración, para ello elegir el contenido del tipo...

RESULTADOS

1.- UTILICE LA TABLA SIGUIENTE PARA REGISTRAR LOS DATOS

Concentración (μg/ml)	Tipos
0	1
10	2
20	3
30	4
40	5
50	6
--	7
--	8

11.- Antes de registrar los datos, elija el Modelo del Aparato:

11.- Considerando como X a la concentración de los estándares y Y la absorbancia de U.K. respectivas, trate estadísticamente esos datos como se hizo en la copia adjunta.

X	Y	XY	X ²	Y ²
0	0	0	0	0
10	0.1	1	100	0.01
20	0.2	4	400	0.04
30	0.3	9	900	0.09
40	0.4	16	1600	0.16
50	0.5	25	2500	0.25
Σ X	Σ Y	Σ XY	Σ X ²	Σ Y ²

N = 6

III.- Con las ecuaciones dadas enseguida, someta sus resultados experimentales a regresión lineal, para obtener la ecuación de la línea recta (Y = mx + b) a la cual se ajustan sus datos. Calcule también la correlación existente entre ambas variables.

$$\text{intersección} = b = \frac{\sum X^2 \sum Y - \sum X \sum XY}{N \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$\text{pendiente} = m = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{N \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$\text{correlación} = r = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2][N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

ECUACION DE LA RECTA:
 Y = mx + b
 m = pendiente
 b = intersección

Antes aquí su resultado. Cuando X = 0 μg/ml, Y = ...
 Cuando X = 50 μg/ml, Y = ...

VII.- En la hoja de papel milimétrico construya una gráfica en la cual se represente la concentración de las soluciones patrón, y en las ordenadas los valores de absorbancia o unidades K.U. Coloque primeramente los datos correspondientes a los datos experimentales, y luego trace una línea recta que pase por los datos del inciso V., exclusivamente. A la línea se le llamará CURVA DE CALIBRACION.

VIII.- Con la ecuación de la línea recta obtenida, calcule la concentración de salina presente en su muestra. Ingrese la absorbancia de la muestra en la ecuación despejando X, solamente.

X = Y - b / m
 b = intersección; pendiente = m
 El coeficiente X.U. o absorbancia de la muestra se obtiene por la solución anterior.

IX.- De la concentración de salina en μg/ml obtenida en el inciso VIII., calcule la dilución por la cual se diluyó la muestra.

IV.- ESCRIBA LA ECUACION DE LA LINEA RECTA A LA CUAL SE AJUSTARON SUS DATOS

V.- CON LA ECUACION ANTERIOR CALCULE EL VALOR TEORICO DE (Y) CUANDO X=0 ug/ml Y CUANDO X = 50 ug/ml

Anota aquí tu resultado: Cuando X = 0 ug/ml , Y= _____
Cuando X =50 ug/ml , Y= _____

VII.- En la hoja de papel milimétrico construye una gráfica anotando en las - abscisas la concentración de las soluciones patrón, y en las ordenadas los valores de absorbancia ó unidades klett. Coloca primeramente los - puntos correspondientes a tus datos experimentales, y luego traza una - línea recta considerando los datos del inciso V., exclusivamente. A es ta línea se le llama: CURVA DE CALIBRACION

VIII.- Con la ecuación de la línea recta obtenida, calcula la concentración de azúcar presente en tu muestra. Enseguida te damos ya la ecuación despejando X solamente sustituye tus datos:

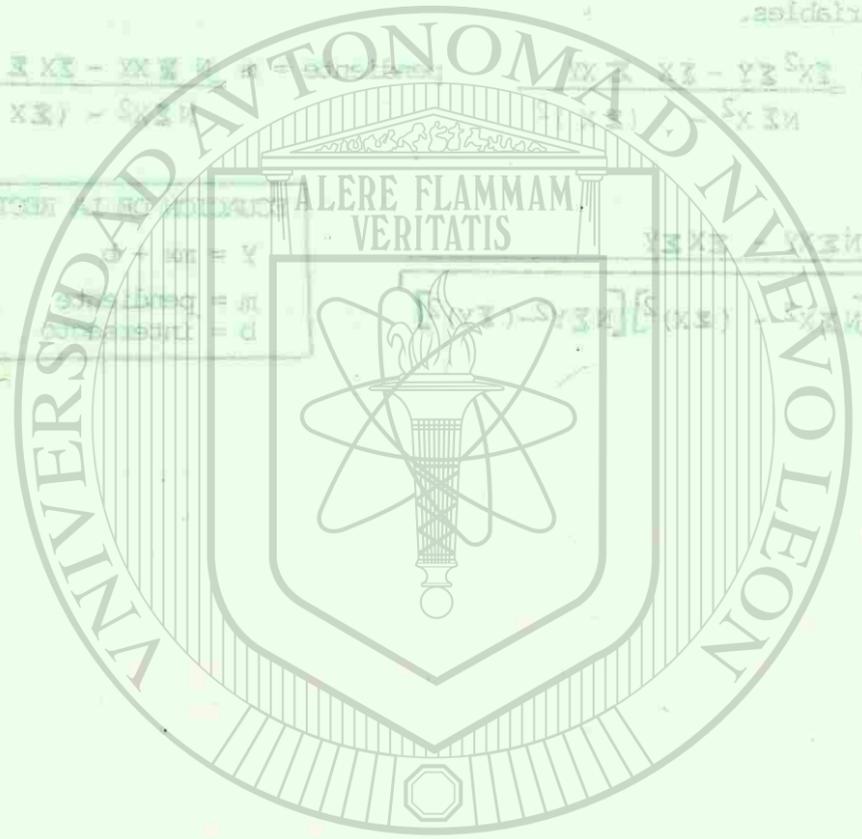
$$X = \frac{Y - b}{m}$$

b=intersecto; m=pendiente
Y=es la absorbancia ó U.K. mostrada por la solución problema.

IX.- Da la concentración de azúcar en ug/ml presente en tu muestra, considerando la dilución que hiciste:

III.- Con las ecuaciones dadas enseguida, saca sus resultados experimentales a regresión lineal, para obtener la ecuación de la línea recta (Y = mx + b) a la cual se ajustan sus datos. Calcule también la correlación existente entre ambas variables.

$$b = \frac{\sum Y - n \bar{Y}}{n}$$
$$m = \frac{\sum XY - n \bar{X} \bar{Y}}{\sum X^2 - n \bar{X}^2}$$
$$r = \frac{\sum XY - n \bar{X} \bar{Y}}{\sqrt{(\sum X^2 - n \bar{X}^2)(\sum Y^2 - n \bar{Y}^2)}}$$



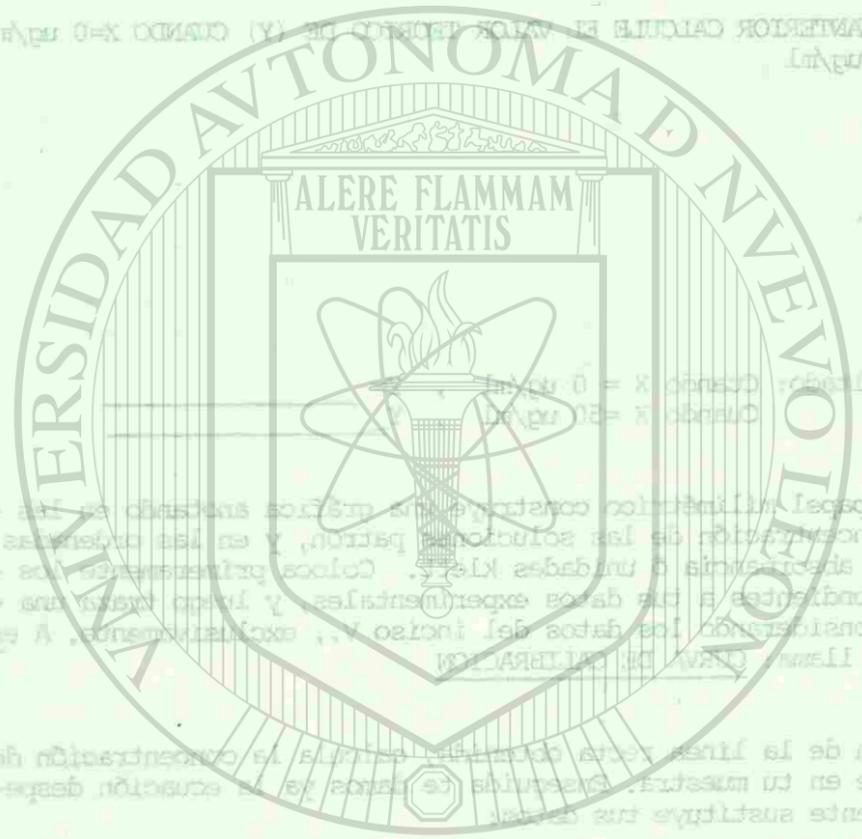
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



IV.-ESCRIBA LA ECUACION DE LA LINEA RECTA A LA CUAL SE AJUSTARON SUS DATOS

V.- CON LA ECUACION ANTERIOR CALCULE EL VALOR MEDIO DE (Y) CUANDO X=0 (Y) Y CUANDO X = 50 (Y)



Antes que resolver: Cuando X = 0 (Y) = 0
Cuando X = 50 (Y) = 50

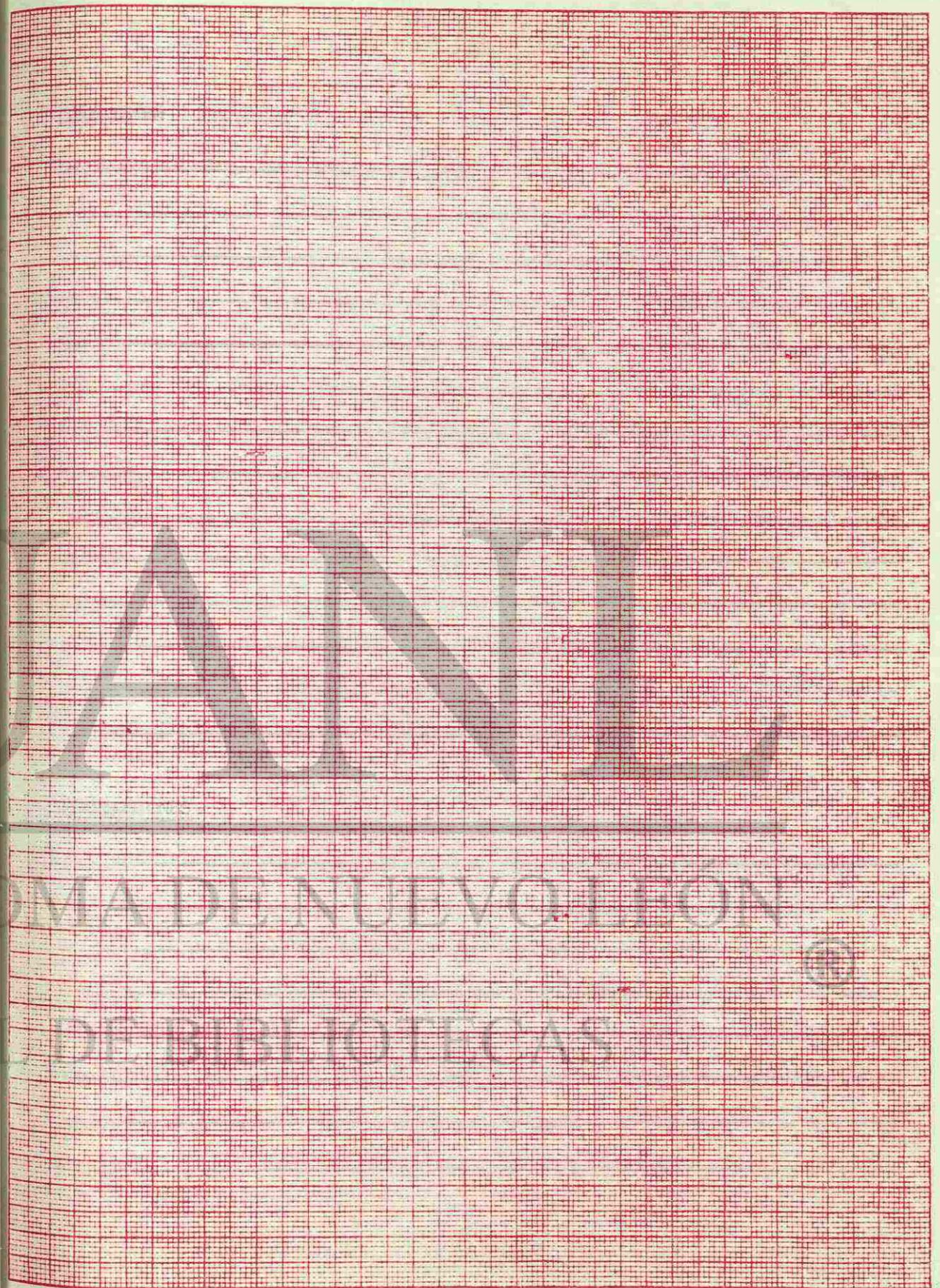
VII.- En la hoja de papel milimetrado construya los gráficos de las abscisas la concentración de las soluciones patrón, y en las ordenadas los valores de absorbancia o unidades K₂O. Coloque convenientemente los puntos correspondientes a los datos experimentales y trace una línea recta considerando los datos del inciso V., exclusivamente. A las líneas se las llama CURVA DE CALIBRACION

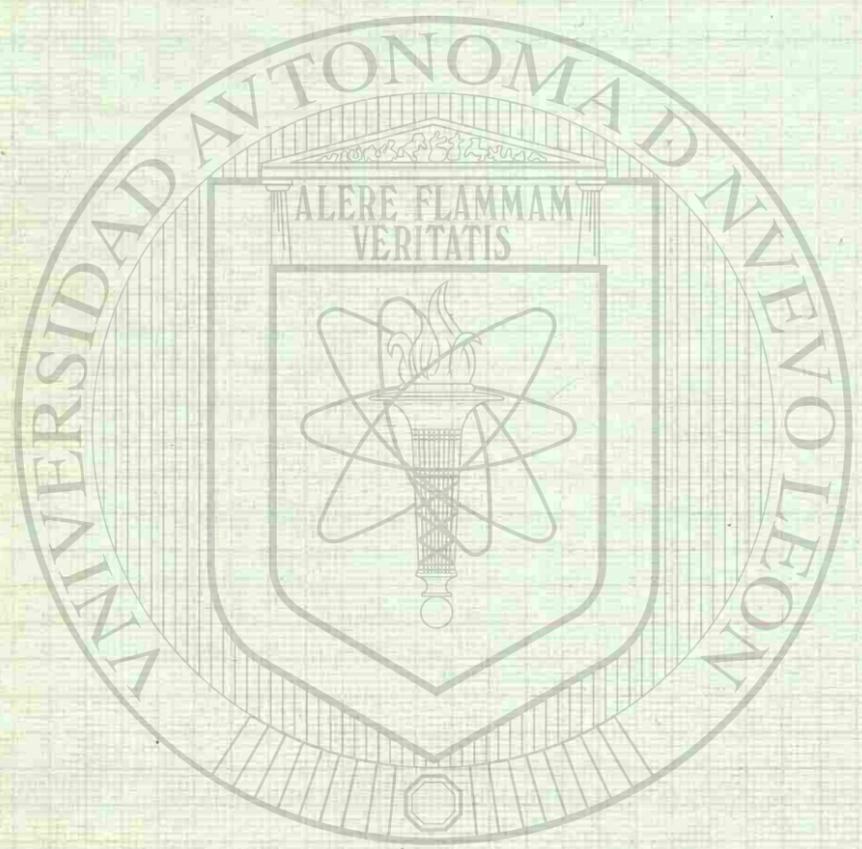
VIII.- Con la ecuación de la línea recta construya la concentración de azúcar presente en su muestra. Preséntela de nuevo en la ecuación de la línea X solamente sustituyendo los datos

III.- Y es la absorbancia o U.K. mostrada por la solución problema.
X = Y - b
b = intercepto; pendiente

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

IX.- De la concentración de azúcar en su muestra, considere de la dilución que hizo:





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSION: DE PREGUNTAS:

Handwritten lines for the 'DISCUSION: DE PREGUNTAS' section.

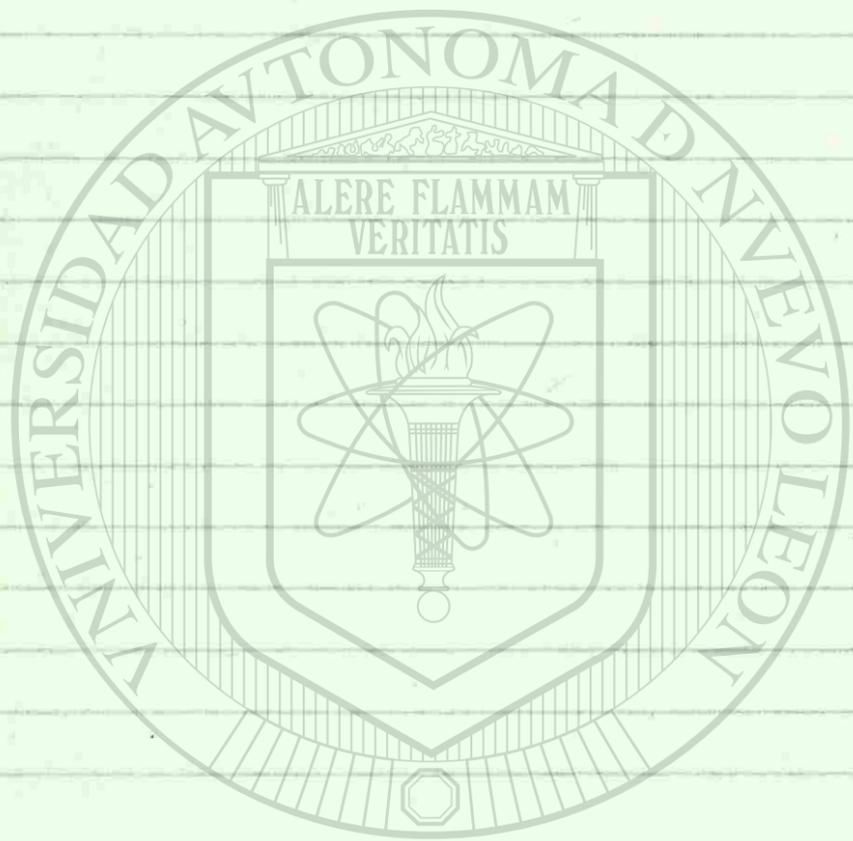
CONCLUSIONES

Handwritten lines for the 'CONCLUSIONES' section.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Handwritten lines for the 'BIBLIOGRAFIA CONSULTADA' section.

DISCUSION



CONCLUSIONES

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

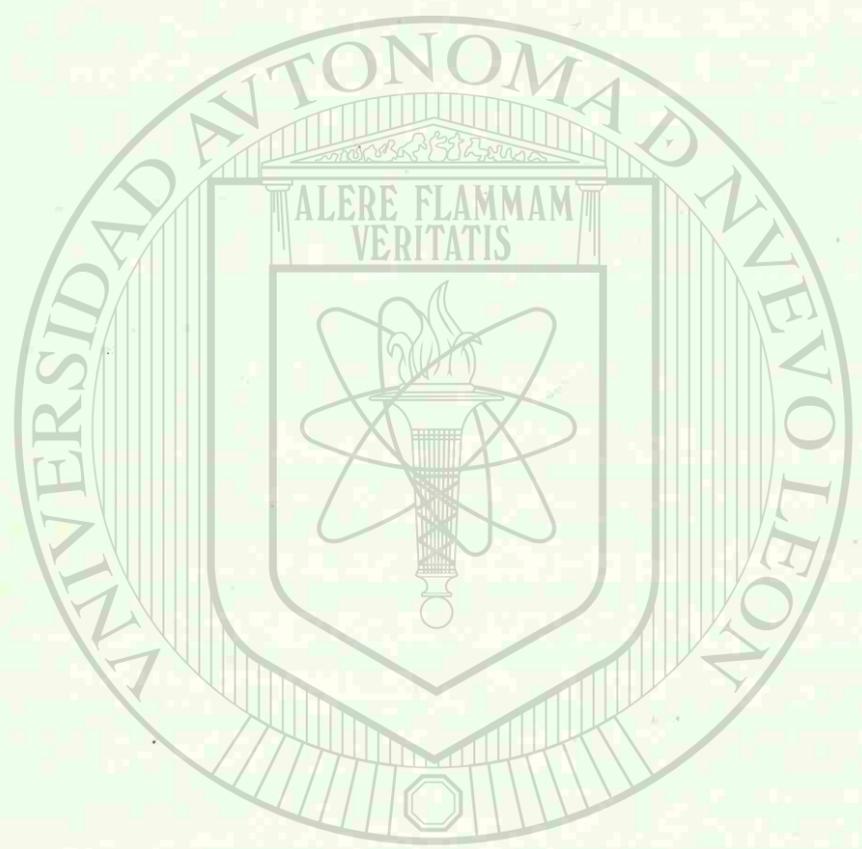
SECCION DE PREGUNTAS:

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bhagavan, N.M. 1978. Bioquímica. Editorial Interamericana 1a. Edición, pp: 126
- 2.- Bruening, C and R. Criddle, et al. 1970. Biochemical Experiments. John Wiley & Sons, Inc. 1a. Edición, pp: 1-29.
- 3.- Conn, R.E. y P.K. Stumpf. 1967. Bioquímica Fundamental. Editorial Limusa, México, 3a. Edición, pp: 56-57.
- 4.- Diner, R.J. and W.C. Stoffer, O.S. Wise and C.H. Rist. 1957. Appl. Chem. 124: 1411.
- 5.- Harper, A.H. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición, pp: 115-122.
- 6.- Lynch, M.J. et al. 1972. Métodos de Laboratorio. Editorial Interamericana, 2a. Edición, pp: 442-443.
- 7.- Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducción de la 2a edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Interamericana, S.A. Bogotá Colombia.
- 8.- Martins, G. 1974. Curso de Bioquímica. Editorial Nueva Interamericana, S.A. 1a. Edición, pp: 134-135.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA:

1.- ... para estudiantes de ... Editorial Continental, S.A. 1a. Edición, pp: 87.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

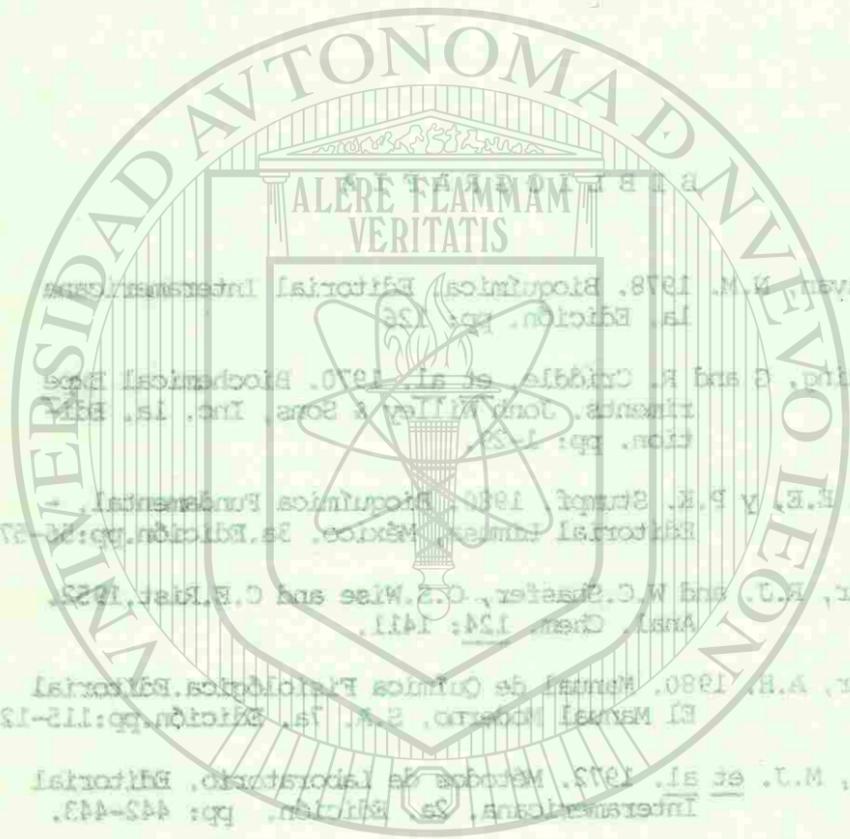
Los lípidos son sustancias no polares, prácticamente insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos no polares como el cloroformo, benceno, etanol, metanol, etc.

Este grupo de sustancias desempeña una variedad de funciones de gran importancia. Los lípidos sirven por parte de los investigadores, quizás de un modo atribuible a la insolubilidad en agua; pero desempeñan una variedad de funciones de gran importancia.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Bhagavan, N.M. 1978. Bioquímica. Editorial Interamericana 1a. Edición. pp: 126
- 2.-Bruening, G and R. Criddle, et al. 1970. Biochemical Experiments. John Willey & Sons, Inc. 1a. Edición. pp: 1-29.
- 3.-Conn, E.E. y P.K. Stumpf. 1980. Bioquímica Fundamental. - Editorial Limusa, México. 3a.Edición.pp:56-57.
- 4.-Dimler, R.J. and W.C.Shasfer, O.S.Wise and C.E.Rist.1952. Anal. Chem. 124: 1411.
- 5.-Harper, A.H. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición.pp:115-122. .
- 6.-Lynch, M.J. et al. 1972. Métodos de Laboratorio. Editorial Interamericana. 2a. Edición. pp: 442-443.
- 7.-Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Traducido de la 2a edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Lationamericana, S.A. Bogotá Colombia
- 8.-Rendina, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Nueva - Editorial Interamericana, S.A. 1a. Edición. pp:134-135.
- 9.-Thorpe, W.V. et al. 1967. Bioquímica para estudiantes de Medicina. Compañía Editorial Continental, S.A. 8a. Edición . pp:67-87.

La separación de los lípidos basada en sus diferencias de solubilidad, son desafortunadamente casi siempre, parcialmente satisfactoria, debido a que la solubilidad de los constituyentes de las mezclas de lípidos son bastante diferentes a las de los lípidos puros.



1.-Brady, N.M. 1978. *Biología*. Editorial Interamericana. La Habana. pp. 132.

2.-Brunt, G. and R. C. 1970. *Biología*. Editorial Interamericana. La Habana. pp. 132.

3.-Conn, E.E. y P.K. 1980. *Biología Fundamental*. Editorial Interamericana. La Habana. pp. 132-133.

4.-Dimler, R.U. and W.C. 1951. *Anal. Chem.* 23: 1411.

5.-Harper, A.H. 1980. *Manual de Química Farmacológica*. Editorial Interamericana. La Habana. pp. 115-122.

6.-Janich, M.J. et al. 1973. *Métodos de Laboratorio*. Editorial Interamericana. La Habana. pp. 442-443.

7.-Plummer, D.T. 1981. *Introducción a la Biología Práctica*. Traducción de la 2ª edición en inglés. Editorial McGraw-Hill Interamericana, S.A. Bogotá Colombia.

8.-Reid, G. 1974. *Técnicas de Biología Aplicada*. Nueva Editorial Interamericana, S.A. La Habana. pp. 134-135.

9.-Thorp, W.V. et al. 1967. *Biología para estudiantes de Medicina*. Editorial Continental, S.A. La Habana. pp. 132-133.

Para la separación de las lecitinas de la solución etérea, se utilizará acetona, ya que las lecitinas y otros lípidos son solubles en éter, etanol o cloroformo, pero insolubles en acetona, y por este motivo precipitan de la solución.

EXTRACCION DE LIPIDOS

INTRODUCCION

Los lípidos son sustancias no polares, prácticamente insolubles en agua, pero solubles en disolventes grasos no polares como el cloroformo, benceno, etanol, metanol, etc.

Este grupo de biomoléculas han recibido poco interés por parte de los investigadores, quizás en los problemas en su manejo atribuibles a la insolubilidad en agua; pero desempeñan una variedad de funciones de gran importancia.

Los lípidos simples como los triglicéridos, funcionan como sustancias de reserva; y las ceras realizan actividades de protección. Los lípidos compuestos como las lecitinas, cefalinas, etc; se combinan con proteínas para constituir la estructura de todas las membranas biológicas. Lípidos derivados como el colesterol es de gran importancia clínica para el hombre, en cambio otros se desempeñan como hormonas, sales biliares, vitaminas, etc.

Otro papel de importancia realizado por los lípidos, es el de proporcionar aislamiento físico y térmico a los diferentes órganos del cuerpo.

La yema de huevo, el tejido cerebral y ciertas semillas son fuentes ricas en fosfolípidos y otros materiales lípidicos.

OBJETIVO

Utilizar como fuente de lípidos a la yema de huevo, y proceder a su extracción y separación considerando sus propiedades fisicoquímicas.

FUNDAMENTO

Los lípidos generalmente se encuentran enlazados a proteínas y polisacáridos de los tejidos, formando complejos con diferentes grados de estabilidad, por lo que para poder romper estos complejos se requiere el empleo de condiciones de extracción capaces de desnaturar o separar las proteínas o carbohidratos asociados con ellos. El etanol, por ejemplo, desnatura proteínas y separa los complejos de lipoproteínas.

Para realizar la extracción total de los lípidos, es común el empleo de metanol al 95%, etanol al 95% o de mezclas metanol:cloroformo (3:1) o etanol:éter (2:1). Es conveniente adaptar las condiciones de extracción tanto al tipo de tejido empleado, así como a la cantidad y naturaleza del lípido deseado.

La separación de los lípidos basada en sus diferencias de solubilidad, son desafortunadamente casi siempre, parcialmente satisfactoria, debido a que la solubilidad de los constituyentes de las mezclas de lípidos son bastante diferentes a las de los lípidos puros.

EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

INTRODUCCIÓN

Los lípidos son sustancias no polares, prácticamente insolubles en agua, pero solubles en disolventes grasos no polares como el cloroformo, benceno, etanol, metanol, etc.

Este grupo de biomoléculas han recibido poca atención por parte de los investigadores, quizás en los problemas en el análisis de lípidos a la in-solubilidad en agua, pero desearían una variedad de funciones de gran importancia.

Los lípidos simples como los triglicéridos, funcionan como reservas de energía y las ceras realizan actividades de protección. Los lípidos complejos como las lecitinas, cefalinas, etc., combinan sus propiedades para constituir la estructura de todas las membranas biológicas. Los lípidos sencillos como el colesterol es de gran importancia para el hombre, en cambio otros se desearían como hormonas, sales biliares, vitaminas, etc.

Otro papel de importancia realizado por los lípidos, es el de precursor de ciertos sistemas de defensa y cambios a los diferentes órganos del cuerpo.

Las vías de síntesis de ciertos lípidos y ciertos materiales lipídicos se encuentran en los lípidos y otros materiales lipídicos.

OBJETIVO

Utilizar como fuente de lípidos a la leche de vaca, y proceder a su extracción y separación considerando las propiedades fisicoquímicas.

MATERIALES

Los lípidos generalmente se encuentran asociados a proteínas y polisacáridos de los tejidos formando complejos con diferentes grados de estabilidad, por lo que para poder separar estos lípidos se requieren las condiciones de extracción capaces de desnaturalizar o separar las proteínas o carbohidratos asociados con ellos. El etanol, por ejemplo, desnaturaliza proteínas y separa los complejos de lipoproteínas.

Para realizar la extracción total de los lípidos, es común el empleo de etanol al 95% o de metanol al 95% de metanol:cloroformo (3:1) o etanol:éter (2:1). La combinación de estas condiciones de extracción tanto al tipo de tejido empleado, así como a la cantidad y naturaleza del líquido empleado.

La separación de los lípidos basados en sus diferencias de solubilidad, son desafortunadamente casi siempre, parcialmente satisfactoria, debido a que la solubilidad de los constituyentes de las mezclas de lípidos son bastante diferentes a las de los lípidos puros.

Para la separación de las lecitinas de la solución etérea, se utilizará acetona, ya que las lecitinas, cefalinas y esfingolípidos son solubles en éter, etanol ó cloroformo, pero insolubles en acetona, y por este motivo precipitan de la solución.

Otros lípidos simples se separarán por saponificación con hidróxido de potasio, formando JABONES. En la porción etérea resultante se va a separar el COLESTEROL, ya que éste no es material saponificable. Para su aislamiento se eliminará el éter por evaporación.

La identificación del colesterol se hace generalmente realizando las Pruebas de Salkowski y la de Lieberman-Burchard, cuyo fundamentos son los siguientes:

PRUEBA DE SALKOWSKI: Cuando a las soluciones clorofórmicas de colesterol se les adiciona un volumen igual de ácido sulfúrico concentrado, y se mezclan suavemente, se desarrolla un color rojo característico en la capa clorofórmica. Aunque el mecanismo exacto de la reacción y la naturaleza del producto coloreado no se han precisado, se propone que el color resulta de la formación de dobles enlaces adicionales o bien a partir de la condensación de 2 moléculas de colesterol para formar biesteroides.

PRUEBA DE LIEBERMAN-BURCHARD: El anhídrido acético puede condensarse con los grupos hidróxilo de la posición 3 del colesterol ó esteroides relacionados, produciendo el éster correspondiente. Si el esteroide contiene una insaturación en la posición 5, ocurrirá una epimerización a la forma 3 y una deshidratación, con la formación de un color característico. La reacción sirve como una prueba específica para los 3-hidroxiesteroides con una insaturación en la posición 5.

MATERIAL POR EQUIPO DE 4 PERSONAS

- 4 vasos de precipitados de 400 ml
- 1 embudo de filtración rápida
- 1 agitador de vidrio
- 1 probeta graduada
- 1 parrilla eléctrica con agitación y una barra magnética
- 4 tubos de ensayo de 18 x 150
- 1 gradilla
- 2 pipetas de 10 ml
- Papel filtro
- Bolsas de papel celofán
- 2 huevos

REACTIVOS:

- 1.-Ácido sulfúrico concentrado
- 2.-Etanol
- 3.-Acetona
- 4.-Éter etílico
- 5.-Anhídrido acético
- 6.-Cloroformo
- 7.-Disolución Alcohólica de Hidróxido de Potasio al 5.6%: Disuelva 56 gramos de hidróxido de potasio en etanol frío, agite continuamente empleando un agitador magnético, y luego añore a un litro con etanol, procurando obtener una solución cristalina.

Para la separación de las lecitinas de la solución éter, se utiliza éter acetato, ya que las lecitinas, esteroles y esteroles son solubles en éter, etanol ó cloroformo, pero insolubles en acetato. Y por este motivo precipitan de la solución.

Otros lípidos simples se separan por agitación con hidróxido de potasio, formando JABONES. En la solución restante se va a separar el COLESTEROL, ya que éste no se disuelve en la solución para su aislamiento se eliminará el éter por evaporación.

Las lecitinas de la solución se separan por agitación con hidróxido de potasio, formando JABONES. En la solución restante se va a separar el COLESTEROL, ya que éste no se disuelve en la solución para su aislamiento se eliminará el éter por evaporación.

PRUEBA DE SALKOWSKI: Se trata a las soluciones de coloración de las lecitinas con el ácido sulfúrico concentrado, y se agregan las adiciones de color rojo característico en la zona de la solución. Aunque el mecanismo exacto de la reacción no está claro, se sabe que el color rojo se produce por la formación de un complejo entre las lecitinas y el ácido sulfúrico.

PRUEBA DE LIEBERMAN-BUCHARDT: El éter de la solución puede condensarse con los grupos hidroxilo de la solución de colesterol ó esteroles relacionados. Al producirse el éter condensado, el éter condensado se separa de la solución en la posición 5, ocurre una coloración azul-verde. La reacción se produce con la formación de un color característico. La reacción se produce con las pruebas específicas para los lípidos con una reacción en la posición 5.

MATERIAL POR EQUIPO DE 4 PERSONAS
4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

4 vasos de precipitados de 400 ml
1 embudo de filtración rápida
1 agitador de vidrio
1 probeta graduada
1 parrilla eléctrica con agitador y una barra magnética

PRUEBA DE SALKOWSKI PARA COLESTEROL: En un vaso de 10 x 150 se disuelven 100 mg de colesterol en 10 ml de cloroformo. En otro vaso se agregan 3 ml de cloroformo.

1.-Pese en la balanza granataria un vaso de precipitado de 400 ml completamente limpio y seco.

2.-Rompa cuidadosamente dos huevos, y transfiera las yemas al vaso de precipitados. Pese nuevamente y determine el peso de las yemas de huevo.

3.-Adicione 70 ml de etanol y 35 ml de éter y agite continuamente durante 10 minutos para extraer todos los lípidos.

4.-Filtre la suspensión a través de una gasa adaptada a un embudo de filtración rápida, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitados de 400 ml bien seco, LEJOS DE TODA FLAMA.

5.-El filtrado, se filtra nuevamente en un embudo de filtración rápida cubierto con papel filtro humedecido previamente con etanol.

6.-Este filtrado se evapora hasta casi sequedad utilizando una base magnética con agitación. Obtendrá una suspensión pastosa amarillenta.

7.-Enfriar el vaso al chorro de agua, procurando que no caigan gotas de agua sobre el residuo.

8.-Una vez enfriado el vaso, resuspenda el residuo en 10 ml de éter.

9.-Adicione 30 ml de acetona, agitando continuamente la solución. El precipitado que se forma son las LECITINAS.

10.-Filtre recogiendo el filtrado en un vaso limpio y seco. El precipitado obtenido se pesa y se guarda en una bolsa de celofán. Entregelo con su informe.

11.-Evapore el filtrado hasta obtener una pasta viscosa de color café amarillento, utilice para ello la parrilla eléctrica con agitación constante.

12.-Enfrie el vaso de precipitados al chorro de agua.

13.-Añada al residuo 30 ml de disolución alcohólica de hidróxido de potasio, y agite para resuspenderlo homogéneamente.

14.-Caliente la solución durante 5 minutos, con agitación constante.

15.-Enfrie, y añada 50 ml de éter agitando continuamente. Todo el material saponificado, sedimenta. Es un JABON.

16.-Filtre a través de un embudo de filtración rápida acondicionado con papel filtro humedecido con alcohol. Pese el jabón. El filtrado contiene el material no saponificable, principalmente colesterol.

17.-Evapore a sequedad el filtrado. Con una varilla de vidrio raspe el residuo formado de manera que obtenga un polvo fino, recupérelolo y péselo. Tome una pequeña cantidad para realizar las siguientes pruebas cualitativas, y el restante guárdelo en una bolsa de celofán y adjúntelo a su reporte.

PRUEBA DE SALKOWSKI PARA COLESTEROL: En un tubo de 18 x 150 disuelva una pequeña porción del colesterol obtenido en 3 ml de cloroformo. En otro tubo coloque 3 ml de cloroformo.

A ambos tubos añádales 3 ml de ácido sulfúrico concentrado, agítelos cuidadosamente, déjelos reposar 15 minutos. Observar la separación de dos capas, la clorofórmica adquiere una coloración roja cereza e n caso de existir colesterol. La capa sulfúrica toma una coloración amarilla con fluorescencia verde. La presencia de humedad dificulta la reacción.

PRUEBA DE LIEBERMAN BURCHARD: En un tubo de ensaye de 18 x 150 disuelva una pequeña porción de colesterol en 1 ml de cloroformo. En otro tubo transfiera 1 ml de cloroformo.

Agregue a los dos tubos 2 ml de anhídrido acético y 4 gotas de acido sulfúrico concentrado. Mezclar bien y dejar reposar 15 minutos. Si existe colesterol aparecerá una coloración azul verdosa que pasa a verde.

RESULTADOS

1.- Determine el peso de las 2 yemas de huevo:

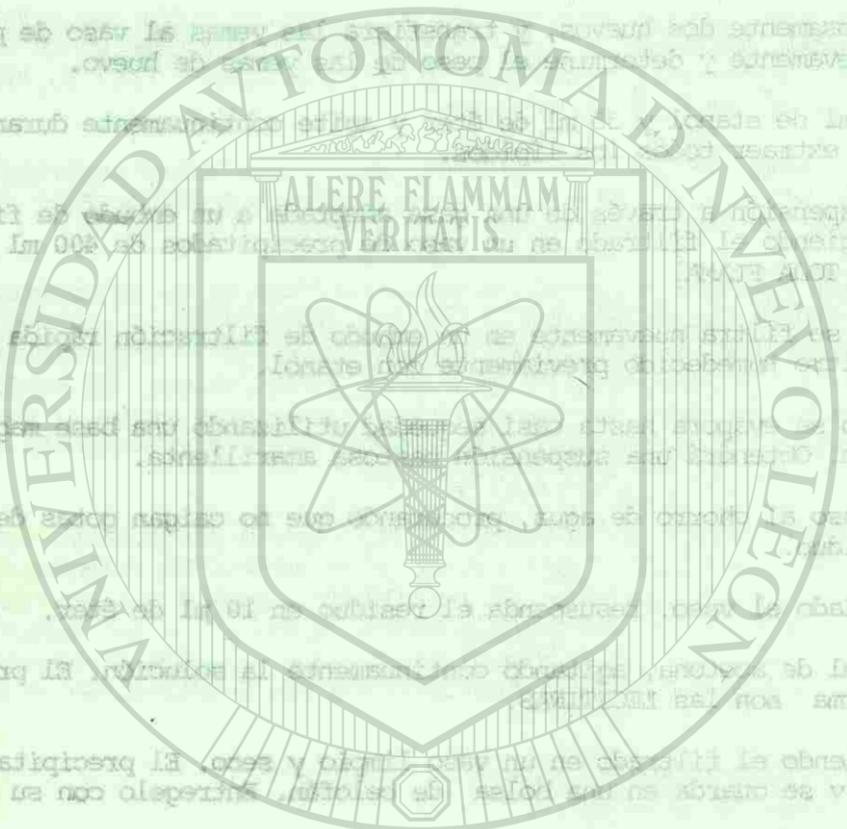
Peso del vaso de precipitados + 2 yemas de huevo: _____
Peso del vaso de precipitados : _____

PESO DE LAS YEMAS DE HUEVO : _____

2.-En la siguiente tabla registre los pesos determinados para los materiales que se citan:

MATERIAL	Peso en gramos
YEMAS DE HUEVO	
LECITINAS	
JABON	
COLESTEROL	

3.-Calcule los porcentajes de lecitina, jabón y colesterol en % g/g



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

COLESTEROL

4.-REGISTRE LOS PORCENTAJES DE LOS COMPONENTES MENCIONADOS ANTERIORMENTE

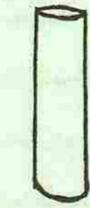
DISCUSION

MATERIAL	% gramos/gramos
LECITINA	
JABON	
COLESTEROL	

5.-Reporte los resultados de las pruebas cualitativas para colesterol

PRUEBA DE SALKOWSKI

PRUEBA DE LIEBERMAN-BURCHARD



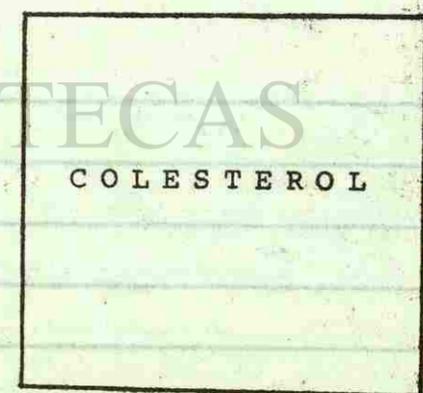
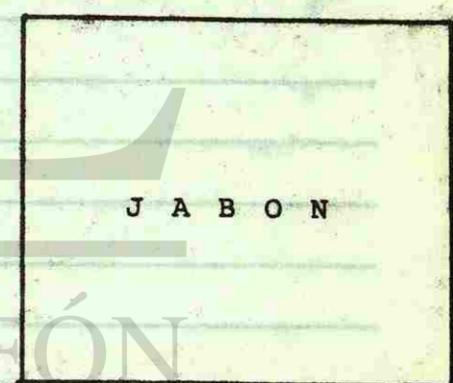
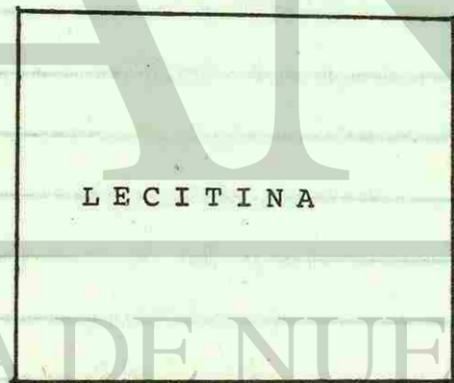
TESTIGO
Reacción: _____

COLESTEROL
Reacción: _____

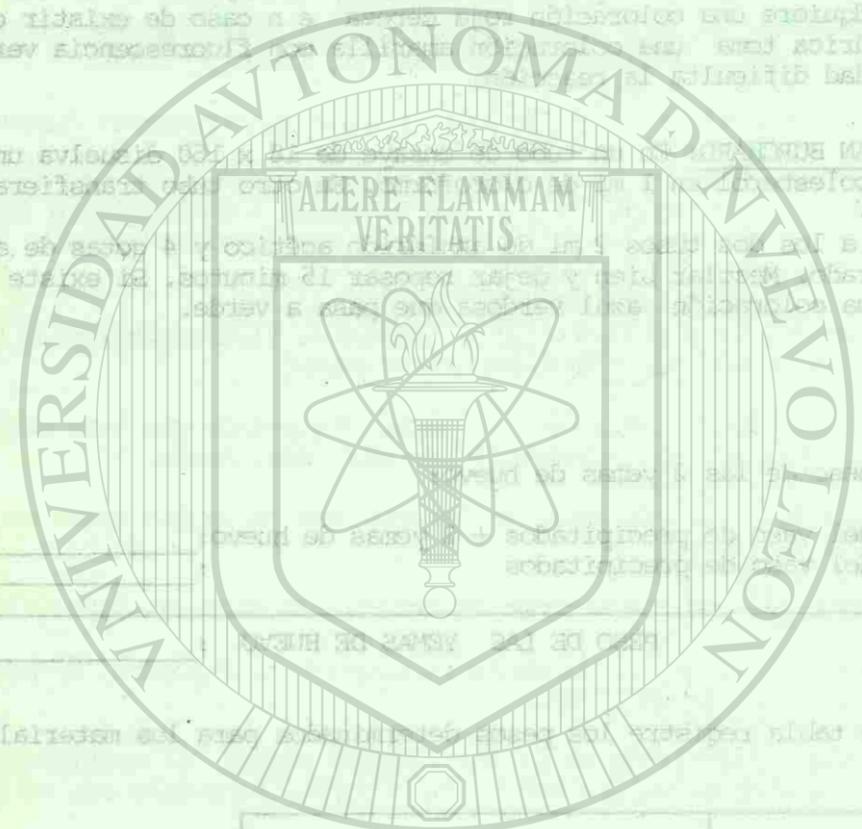
TESTIGO
Reacción: _____

COLESTEROL
Reacción: _____

6.-En los siguientes cuadros engrape cada una de las muestras de lipidos que aisló durante su experimento.



CONCLUSION



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.-REGISTRE LOS PORCENTAJES DE LOS COMPONENTES MENSAJES ANTERIORMENTE

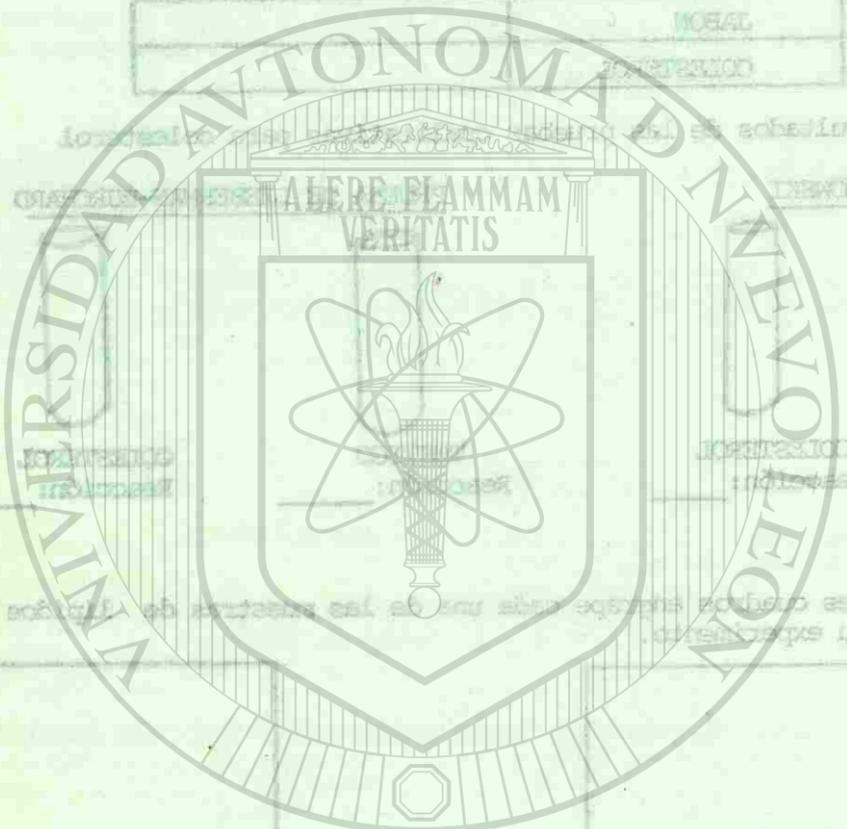
MATERIAL
LECTIVA
LABOR
CONTESTACION

5.-Reporte los resultados de las pruebas de laboratorio

PRUEBA DE SAATCHI



TESTIGO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



SECCION DE PRUEBAS:

DISCUSION

Lined area for discussion

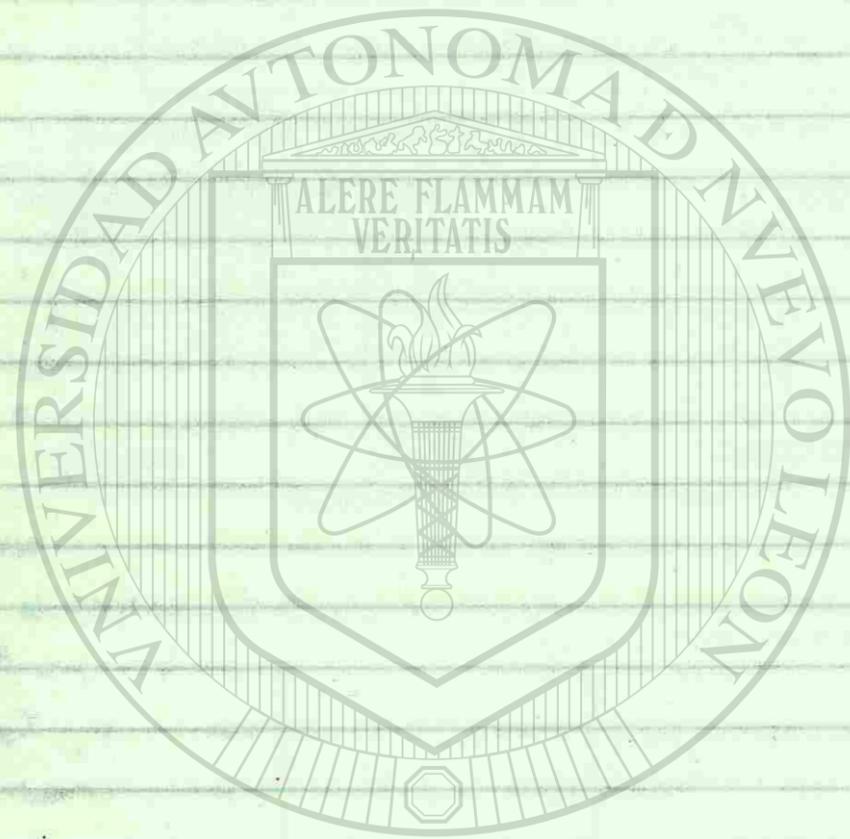
CONCLUSIONES

Lined area for conclusions



SECCION DE PREGUNTAS:

DISCUSION



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

CONCEPTOS

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Clark, J.M. 1964. Experimental Biochemistry, W.H. Freeman and Company, 1a. Edición, pp:43-66.
- 2.-Harper, A.H. 1980. Manual de Química Fisiológica, Editorial El Manual Moderno, S.A. 1a. Edición pp:132.
- 3.-Marur, M. y B. Harrow. 1973. Biología Básica, Editorial Intersamericana, 3a. Edición, pp:182.
- 4.-Macabula, M. y P.M. 1970. Bioquímica. Lecciones de Bioquímica estructural, Editorial Reval, 1a. Edición.
- 5.-Parker, J.H. y T.E. 1975. Bioquímica, Base de la Vida, Editorial Limusa, 1a. Edición.
- 6.-Bardina, G. 1974. Lecciones de Bioquímica Aplicada, Editorial Intersamericana, 1a. Edición.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



INDICE DE IODO E INDICE DE SAPONIFICACION DE UNA GRASA

INTRODUCCION

Además de los métodos físicos (puntos de fusión, índice de refracción, etc), el análisis de grasas consiste en la determinación de ciertas constantes químicas, entre ellas las siguientes: índice de saponificación, índice de iodo. Los químicos utilizan otras constantes para investigar los caracteres de los lípidos, por ejemplo, el índice de Reichert-Meisel que mide los ácidos grasos volátiles y el índice de acetilo que estima los hidroxiácidos. Hay otros índices ó números que solo tienen importancia para los especialistas en este campo.

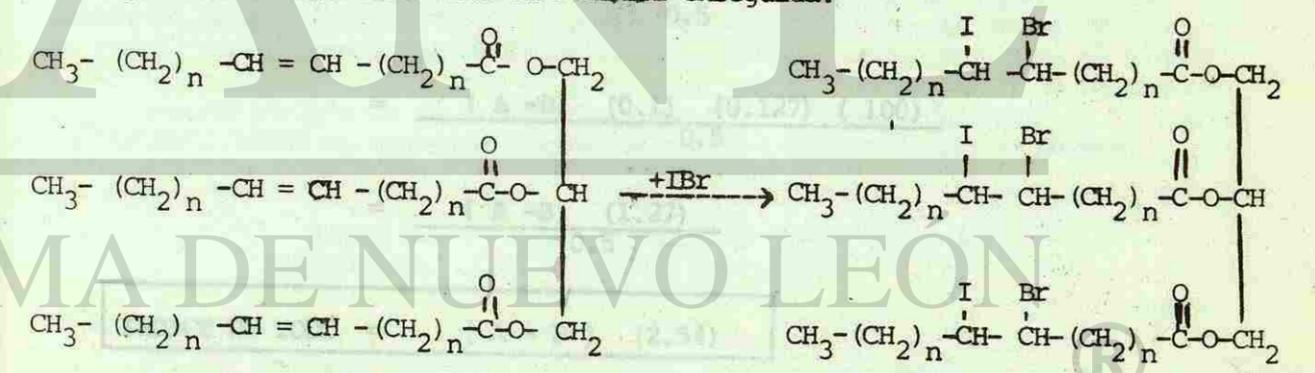
OBJETIVO

Obtener la información en cuanto a los valores de índice de iodo ó índice de saponificación para distintos tipos de grasas incluidas comúnmente en la dieta, y compararlas con valores establecidos en la literatura.

FUNDAMENTO

INDICE DE YODO: El índice de yodo se considera al número de gramos de yodo fijados por 100 gramos de grasa y nos indica el grado de insaturación de la grasa.

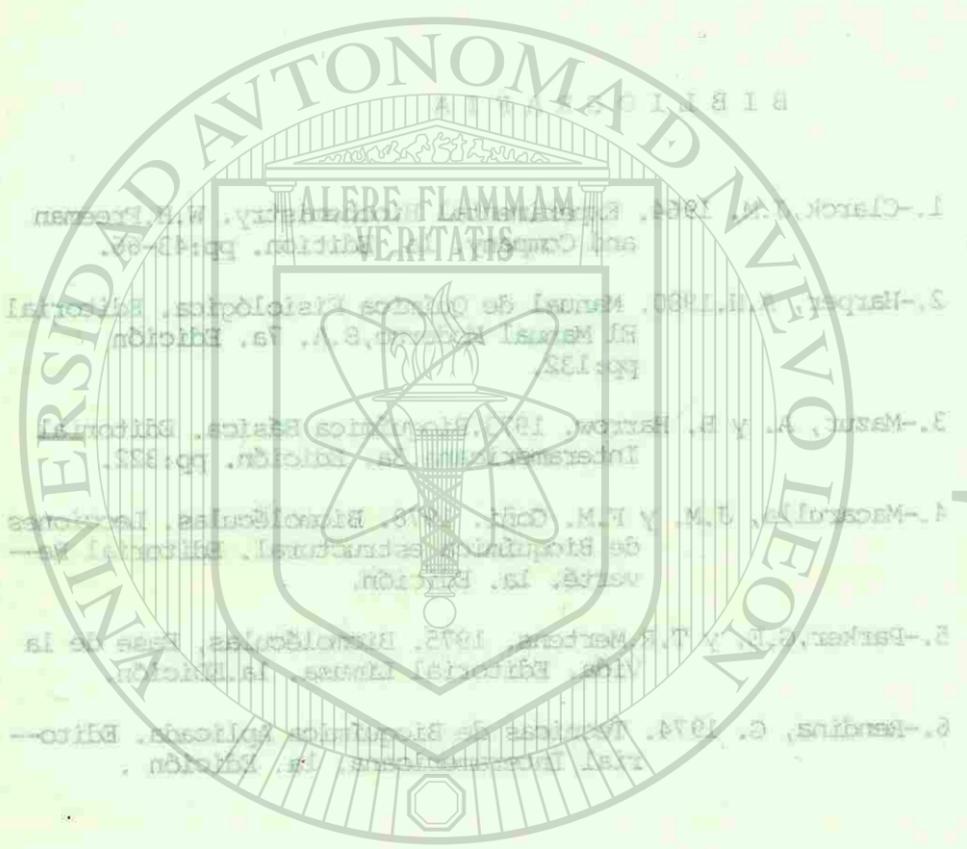
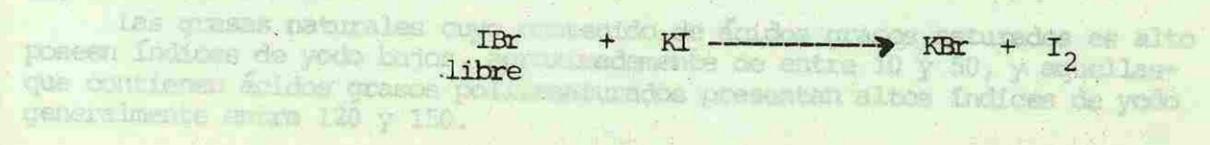
Cuando en condiciones de oscuridad se mantienen lípidos insaturados en contacto con monobromuro de yodo (método de Hanus) ó monocloruro de yodo (Método de Wijs), ocurre la adición de los halógenos a los dobles enlaces formando se compuestos de adición, como se ilustra enseguida:



LIPIDO INSATURADA

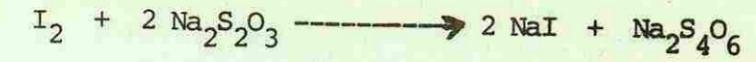
COMPUESTO DE ADICION

Si a la mezcla anterior se le añade KI, éste reacciona con el Bromuro de yodo-libre que no se adicionó a la grasa, liberándose como producto yodo, de acuerdo a la siguiente reacción:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El yodo liberado se titula con una solución estandar de tiosulfato de sodio empleando como indicador almidón. La reacción de titulación es la que se muestra enseguida:



Se comparan luego los resultados con los obtenidos de un blanco tratado en la misma forma, pero del que se ha omitido la grasa. La diferencia entre la lectura del blanco y de la muestra (A - B) corresponde al número de mililitros de tiosulfato 0.1M necesario para reaccionar con un volumen equivalente de yodo. Con este dato podremos calcular el número de gramos de yodo fijados a 100 gramos de grasa si seguimos efectuamos correctamente los siguientes calculos:

$$\begin{aligned} \# \text{ meq } S_2O_3^{2-} &= \# \text{ meq } I_2 \\ \# \text{ meq } S_2O_3^{2-} &= V_{S_2O_3^{2-}} \times N_{S_2O_3^{2-}} = (A - B) (N_{S_2O_3^{2-}}) \end{aligned}$$

Entonces:

$$\text{INDICE DE YODO} = \frac{(A - B) (N_{S_2O_3^{2-}}) \left(\frac{P.M. I_2}{1000} \right) (100)}{\text{GRAMOS DE MUESTRA}}$$

Sustituyendo valores:

$$\begin{aligned} \text{INDICE DE YODO} &= \frac{(A - B) (0.1 N) (127/1000) (100)}{0.5} \\ &= \frac{(A - B) (0.1) (0.127) (100)}{0.5} \\ &= \frac{(A - B) (1.27)}{0.5} \end{aligned}$$

$$\text{INDICE DE YODO} = (A - B) (2.54)$$

Sobre el valor del índice de yodo influyen varios factores, entre ellos el porcentaje de ácido insaturado en la molécula de triglicérido, y el grado de insaturación de cada ácido graso. En general, un valor alto de índice de yodo indica un alto grado de insaturación en la molécula de lípido.

Las grasas naturales cuyo contenido de ácidos grasos saturados es alto poseen índices de yodo bajos, aproximadamente de entre 10 y 50, y aquellas que contienen ácidos grasos poliinsaturados presentan altos índices de yodo generalmente entre 120 y 150.

INDICE DE YODO E INDICE DE SAPONIFICACION DE UNA GRASA

INTRODUCCION

Además de los métodos clásicos (puntos de fusión, índices de refracción, etc.), el análisis de grasas consiste en la determinación de ciertas constantes químicas, entre ellas las saponificables, índice de yodo, etc. Los químicos utilizan otras constantes para determinar el grado de insaturación de las grasas, por ejemplo, el índice de yodo. Este índice se define como el número de mililitros de una solución estandar de yodo que reacciona con los lípidos de una muestra. Hay otros índices de yodo que se utilizan para determinar el grado de insaturación de las grasas.

OBJETIVO

Obtener la información en cuanto a los métodos de análisis de grasas que se de saponificables para distintos tipos de grasas incluidas comúnmente en la dieta, y compararla con valores establecidos en la literatura.

FUNDAMENTO

INDICE DE YODO: El índice de yodo es el número de gramos de yodo fijados por 100 gramos de grasa y los índices de grado de insaturación de las grasas. Cuando en contacto con un compuesto de yodo se mantiene fijo en contacto con mandrágora, el índice de yodo se mide por el número de mililitros de una solución estandar de yodo que reacciona con los lípidos de una muestra. Hay otros índices de yodo que se utilizan para determinar el grado de insaturación de las grasas.

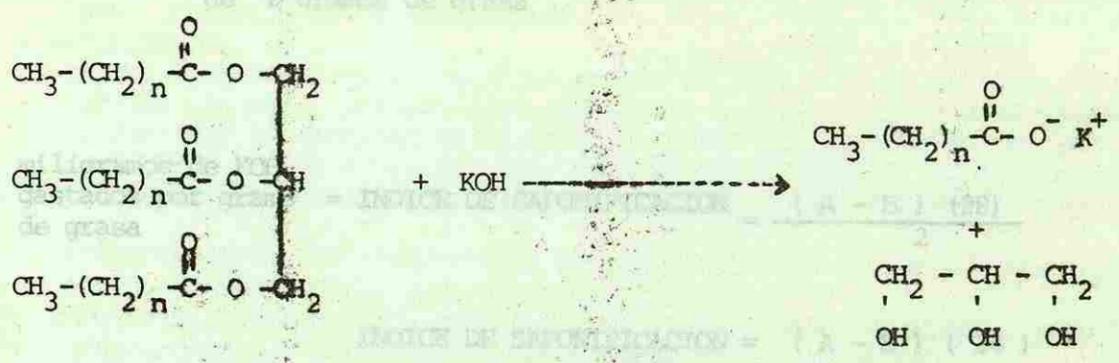


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

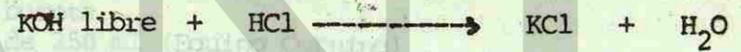
DIRECCIÓN GENERAL



INDICE DE SAPONIFICACION: Cuando un **triglicérido** se somete a reflujo en presencia de **hidróxido de potasio alcohólico**, se hidroliza generando glicerol y tres moléculas de **ácido graso** en forma de sales de potasio (**JABONES**). Esta reacción de **hidrólisis** conocida como **SAPONIFICACION**, se muestra enseguida:

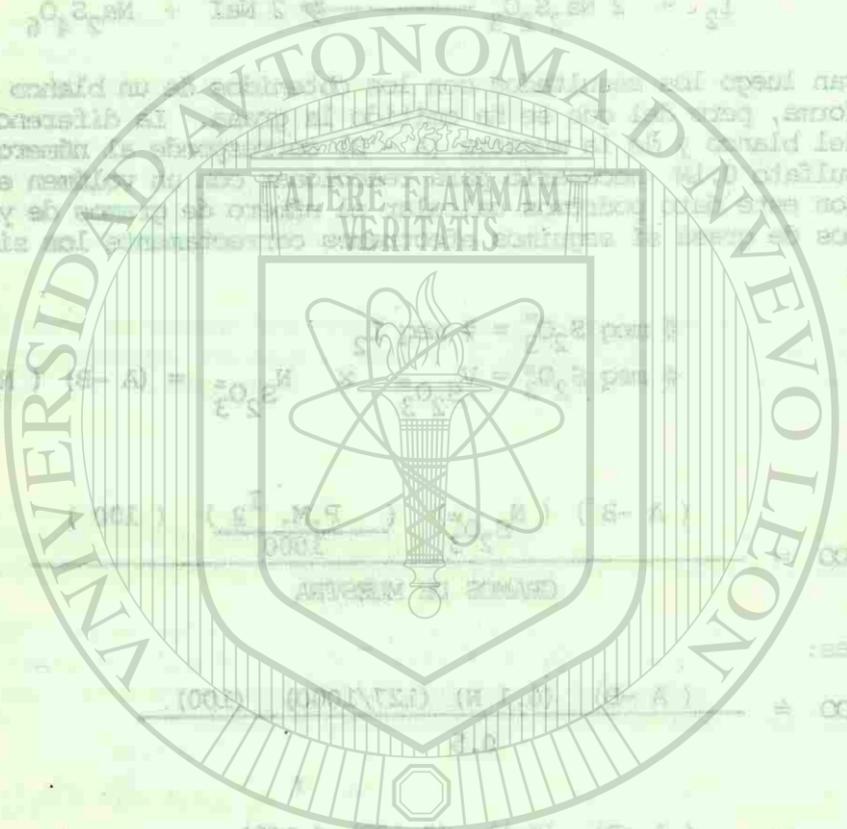


Al número de miligramos de **KOH** requeridos para saponificar los **ácidos-grasos** resultantes de la hidrólisis completa de un gramo de **grasa** ó **aceite** (triglicérido) se le denomina **INDICE DE SAPONIFICACION**. Este valor se determina **titulando** el **KOH** libre, no utilizado en la saponificación, con una **solución patrón de HCl 0.5M** empleando como **indicador** a la **fenolftaleína**. La **reacción de titulación** es la siguiente:



Los **mililitros** de **HCl** gastados en esta titulación se **compara** con el obtenido de un **blanco** tratado en la misma forma pero al que se la ha omitido la **grasa**. La **diferencia** obtenida entre las lecturas obtenidas para el **blanco** y para la **muestra**, proporciona el número de mililitros de **KOH 0.5M** gastados en la saponificación de la **grasa**. Con este valor podemos calcular el **INDICE DE SAPONIFICACION** si seguimos cuidadosamente el siguiente **procedimiento**:

$$\begin{aligned}
 \# \text{ meq KOH} &= V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} = (A-B) (N_{\text{HCl}}) \\
 &\text{gastados en} \\
 &\text{la hidrólisis} \\
 \# \text{ meq KOH} &= (A-B) (N_{\text{HCl}}) = \frac{\text{gramos KOH}}{P_{\text{meq}}} = \frac{g \text{ KOH}}{56} = \frac{g \text{ KOH}}{0.056} \\
 &\text{gastados en la} \\
 &\text{hidrólisis} \\
 \text{gramos de KOH} &= (A-B) (N_{\text{HCl}}) (0.056) \\
 \text{en la hidrólisis} &
 \end{aligned}$$



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

REACTIVOS:

1.- YODO (I₂) 15-gramos de I₂ en 100 ml de agua destilada, para ser usado como indicador.

2.- CIOBORRANO
3.- REACTIVO DE BENTE: Disolver 13.2 gramos de yodo en un litro de alcohol acetico glacial. Añadale aproximadamente 3 ml de oxido de mercurio, para duplicar la cantidad de yodo. Guarda el reactivo en frasco oscuro.

miligramos de KOH gastados por gramo de grasa = $\frac{\text{INDICE DE SAPONIFICACION} \times (A - B) \times (28)}{2}$

ESTANDARIZACION DEL TITULANTE: Titula la solucion anterior con una solucion patrón de Yodo, utilizando almidon como indicador.

YODO 0.1N: Disolver 12.7 gramos de I₂ en 100 ml de agua destilada. Añadir 6.5 gramos de yodo, para ser usado como indicador.

INDICE DE SAPONIFICACION = (A - B) (14)

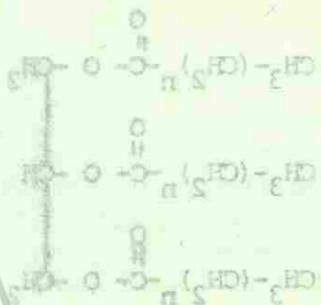
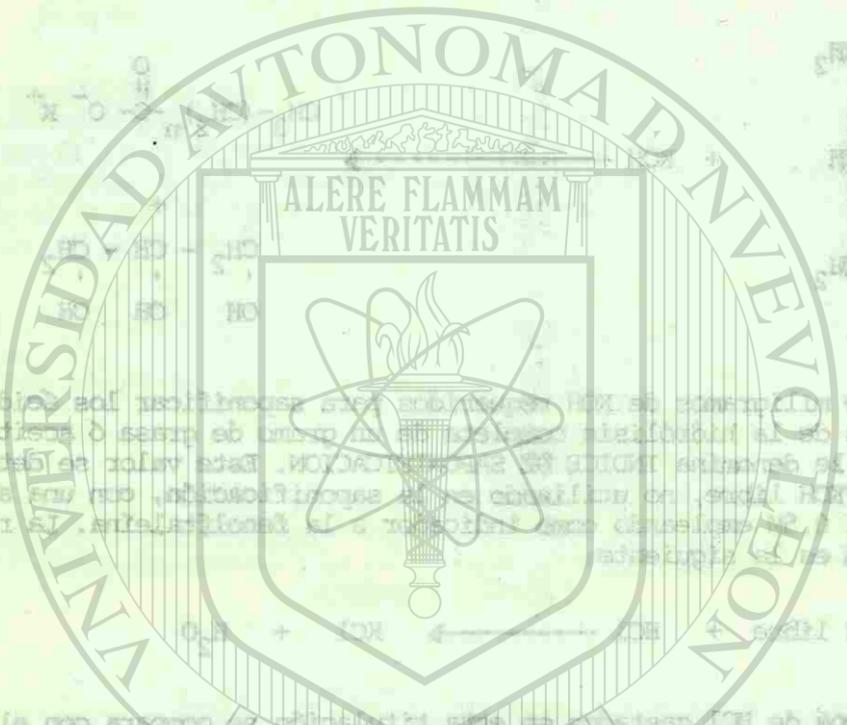
5.- SOLUCION ALCOHOLICA DE KOH 0.5N: Disolver 14 gramos de KOH en etanol como solvente en un litro con alcohol, asegurando obtener una solucion homogénea.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 6.- ACEITE CLOROFORMO: 20 ml de aceite de oliva y 20 ml de cloroformo en un matraz.
- 2 matraces Erlenmeyer de 250 ml
- 2 buretas de 50 ml
- 1 soporte y 2 pinzas para soporte
- 1 pinzas para bureta
- 1 matraz bola de 250 ml (Equipo Corning)
- 1 refrigerante de reflujo (Equipo Corning)
- 2 mangueras
- 1 balanza granataria
- 1 vaso de precipitados de 250 ml
- 1 probeta graduada
- 3 pipetas de 10 ml
- 2 pipetas de 5 ml
- 1 agitador de vidrio
- 1 mechero
- papel aluminio
- lápiz
- mantequilla
- aceite de oliva
- aceite de almendras
- aceite de hígado de bacalao
- aceite de ajonjolí
- aceite de coco
- aceite de maiz
- leche de vaca

6.- Titular el yodo libre, no utilizado en la halogenación, con Na₂S₂O₃ 0.1N hasta que la solución adquiere un color amarillo pálido. Cuando esto ocurre, agregue 2 ml de almidón al 1% como indicador, la solución se tinte de color azul.

INDICE DE SAPONIFICACION: Cuando un saponificado se somete a refino en presencia de hidróxido de potasio alcoholizado, se hidroliza el exceso de hidróxido y tres moléculas de ácido grasos en forma de sales de potasio (SABONES), para resaca de hidróxido conocida como SAPONIFICACION, se muestra siguiente:



Al número de miligramos de KOH que se gastan en la hidrólisis de un gramo de grasa se le llama índice de saponificación (tríplice) es la diferencia entre el índice de saponificación con y sin el ácido de HCl. Se muestra como indicador a la hidrólisis. La reacción de titulación es la siguiente:

Los miligramos de HCl gastados en esta titulación se comparan con el número de miligramos de KOH que se gastaron en la hidrólisis de la muestra. El índice de saponificación obtenido en la hidrólisis con y sin el ácido de HCl se muestra como indicador a la hidrólisis. La reacción de titulación es la siguiente:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

$$\frac{\text{KOH p}}{0.056} = \frac{\text{KOH p}}{28} \times \frac{\text{KOH gramos}}{\text{gramos}} = (A - B) \times (14) = \text{KOH por } \frac{\text{gramos}}{\text{gramos}}$$

$$\text{gramos de KOH gastados} = (A - B) \times (0.056)$$

REACTIVOS:

- 1.-YODURO DE POTASIO AL 15%: Disolver 15 gramos de KI en 100 ml de agua destilada, guardarlo en frasco oscuro.
- 2.-CLOROFORMO
- 3.-REACTIVO DE HANUS: Disolver 13.2 gramos de yodo puro en un litro de ácido acético glacial. Añadale aproximadamente 3 ml de bromo cuidadosamente, para duplicar la cantidad de halógeno. Guarde el reactivo en frasco oscuro.
- 4.-TIOSULFATO SODICO 0.1N: Disolver 12.4 gramos de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua recientemente hervida y fría, aforar a un litro. Estándarizar la solución.

ESTANDARIZACION DEL TIOSULFATO: Titule la solución anterior con una solución patrón de Yodo, utilizando almidón como indicador.

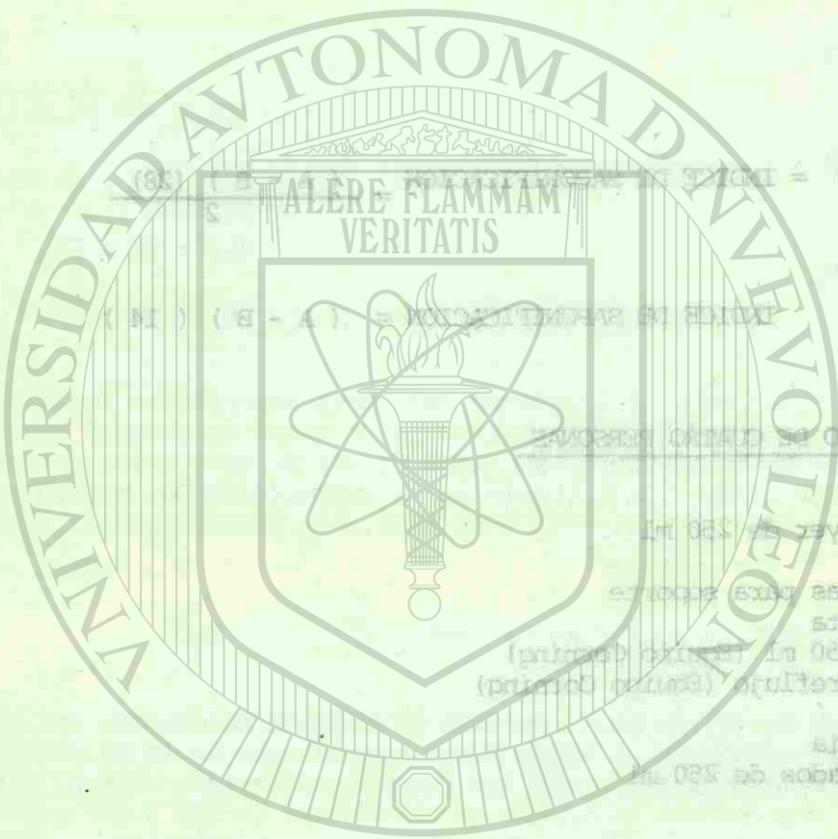
YODO 0.1N: Disolver 12 gramos de KI en 10 ml de agua destilada, añadir 6.5 — gramos de yodo, disolver el yodo y luego aforar a 500 ml.

- 5.-SOLUCION ALCOHOLICA DE KOH AL 5.6%: Disuelva 56 gramos de KOH en etanol con agitación constante. Afore a un litro con etanol, procurando obtener una solución cristalina.
- 6.- ACIDO CLORHIDRICO 0.5N: transferir 41.66 ml de HCl concentrado en un matraz de aforación de un litro coteniendo 200 ml de agua destilada, mezcle homogeneamente y luego afore hasta un litro con agua destilada.
- 7.-ALMIDON AL 1%: a 100 ml de agua caliente añada 2 gramos de almidón soluble, agite hasta disolver completamente. Luego añada 100 ml de agua fría y mezcle bien.
- 8.-SOLUCION INDICADORA DE FENOLFTALEINA: Disolver un gramo de fenolftaleina en 100 ml de etanol.

PARTE EXPERIMENTAL

INDICE DE YODO *

- 1.-Pesar 0.5 gramos de grasa en un matraz Erlenmeyer de 250 ml envuelto en papel aluminio.
- 2.-Adicionar 10 ml de cloroformo y agitar para disolver la grasa.
- 3.-Agregar 10 ml del reactivo de Hanus, agitar vigorosamente y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos, agitando ocasionalmente.
- 4.-Enseguida, agregar 10 ml de KI al 15%, agitando fuertemente.
- 5.-Luego adicione 100 ml de agua recientemente hervida y fría, lavando la pequeña cantidad de yodo que hubiera quedado en las paredes del matraz.
- 6.-Titular el yodo libre, no utilizado en la halogenación, con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1N hasta que la solución adquiera un color amarillo pálido. Cuando esto ocurra, agregue 2 ml de almidón al 1% como indicador, la solución se tiñe de color azul.

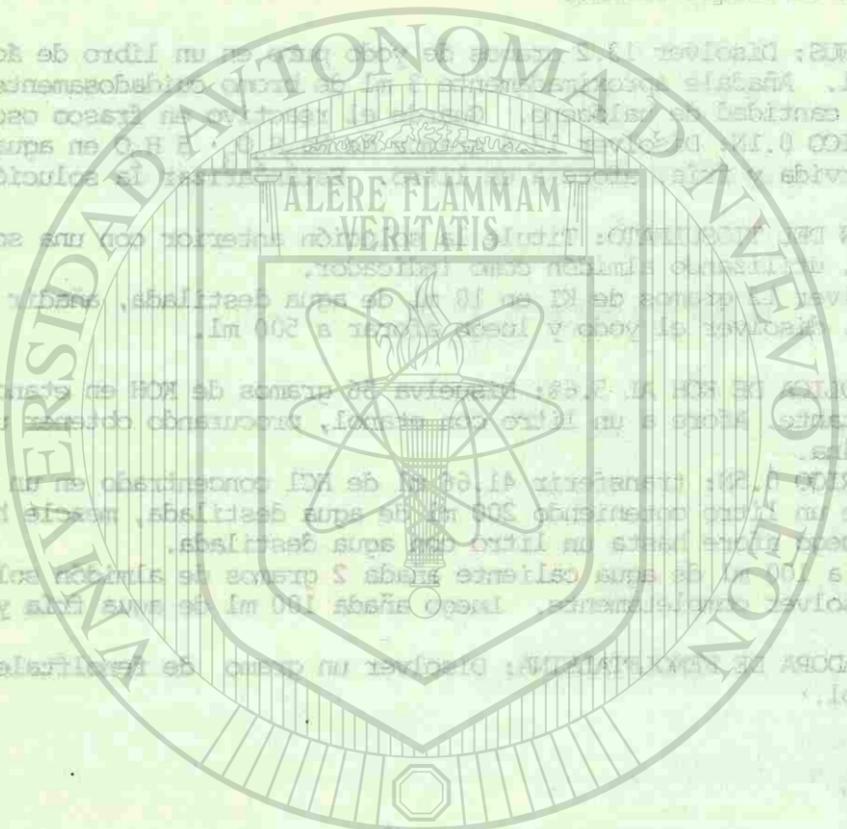


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REACTIVOS:

- 1.- YODOURO DE POTASIO AL 1%: Disolver 15 gramos de KI en 100 ml de agua destilada, guardar en frasco oscuro.
- 2.- CLOROFORMO
- 3.- REACTIVO DE HAUSS: Disolver 10 g de KI en un litro de agua destilada, añadir 10 ml de HCl 0.5N, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco. Añadir 10 ml de HCl 0.5N, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco.
- 4.- TIOUSULFATO SODICO 0.1N: Disolver 10 g de Na₂S₂O₃ en 100 ml de agua destilada, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco.
- 5.- SOLUCION ALCOHOLICA DE KOH AL 5%: Disolver 5 g de KOH en 100 ml de alcohol, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco.
- 6.- ACIDO CLORHIDRICO 0.5N: Disolver 9.1 g de HCl en 100 ml de agua destilada, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco.
- 7.- ALMIDON AL 1%: Disolver 1 g de almidon en 100 ml de agua destilada, agitar vigorosamente, pa- ra- scóticamente opaco.
- 8.- SOLUCION INDICADORA DE FENOLFTALEINA: Disolver un grano de fenolftaleina en 100 ml de alcohol.



PARTE EXPERIMENTAL

INDICE DE YODO

- 1.- Pesar 0.5 gramos de grasa en un matraz Erlenmeyer de 250 ml envuelto en pa- pel aluminio.
- 2.- Añadir 10 ml de disolucion alcoholica de KOH, agitar vigorosamente y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos, agitar vigorosamente.
- 3.- Añadir 10 ml de reactivo de Hauus, agitar vigorosamente y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos, agitar vigorosamente.
- 4.- Añadir 10 ml de agua destilada, agitar vigorosamente.
- 5.- Añadir 10 ml de agua destilada y fría, lavando la pequeña cantidad de yodo que hubiera quedado en las paredes del matraz.
- 6.- Titular el yodo libre, no utilizado en la saponificacion, con Na₂S₂O₃ 0.1N hasta que la solucion adquiera un color amarillo pálido. Cuando esto ocurra, agregar 2 ml de almidon al 1% como indicador, la solucion se tinte de color azul.

RESULTADOS

- 7.- Proseguir la valoración, AGITANDO VIGOROSAMENTE EL MATRAZ, hasta que desapa- rición del color azul.
- 8.- Registre el volumen de Na₂S₂O₃ 0.1N utilizado en la titulación.

AL MUESTRO DE MUESTRA	AL MUESTRO DE MUESTRA
GASTADO EN LA TITULACION DE LA MUESTRA	GASTADO EN LA TITULACION DE LA MUESTRA
DIFFERENCIA	

INDICE DE SAPONIFICACION

*DEBERA PREPARAR UN BLANCO REFLUJANDO 50 ml DE DISOLUCION ALCOHOLICA DE KOH EN LA FORMA DESCRITA A CONTINUACION Y TITULANDO EL ALCALI CON HCl 0.5N. Anote el VOLUMEN DE HCl GASTADO.

- 1.- En un matraz bola de 250 ml, coloque 2 gramos de grasa, y agregue 50 ml de disolucion alcoholica de KOH. Disuelva bien la grasa.
- 2.- Adapte al matraz bola un refrigerante de reflujo, y refluje la mezcla por un mínimo de 30 minutos. Una saponificación completa ocurre cuando la mez- cla está bien clara.
- 3.- Al terminar la saponificación, retire el mechero, y deje circular el agua hasta que se enfrie la mezcla.
- 4.- Cuando la solución esté fría, adicione 5 gotas de fenolftaleína como indi- cador, se desarrollará un color rosa.
- 5.- Titule el KOH libre con HCl 0.5N, hasta que el color rosa desaparezca. Anote el volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



RESULTADOS

I.-En las tablas siguientes anote los resultados obtenidos durante las titulaciones efectuadas.

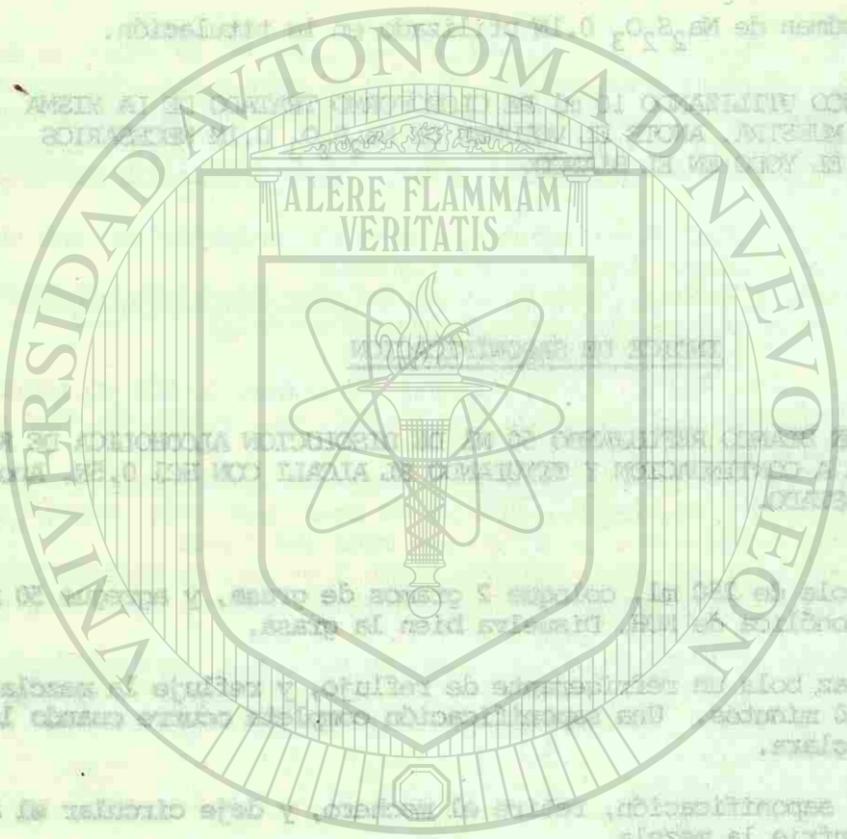
INDICE DE YODO

A) NUMERO DE MILILITROS DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N GASTADOS EN LA TITULACION DEL BLANCO	=
B) NUMERO DE MILILITROS DE $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1N GASTADOS EN LA TITULACION DE LA MUESTRA	=
DIFERENCIA (A - B)	=

INDICE DE SAPONIFICACION

A) NUMERO DE MILILITROS DE HCl 0.5 N GASTADOS EN LA TITULACION DEL BLANCO	=
B) NUMERO DE MILILITROS DE HCl 0.5 N GASTADOS EN LA TITULACION DE LA MUESTRA	=
DIFERENCIA (A - B)	=

II.-Con las diferencias (A- B), determine el INDICE DE YODO e INDICE DE SAPONIFICACION, en el siguiente espacio:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

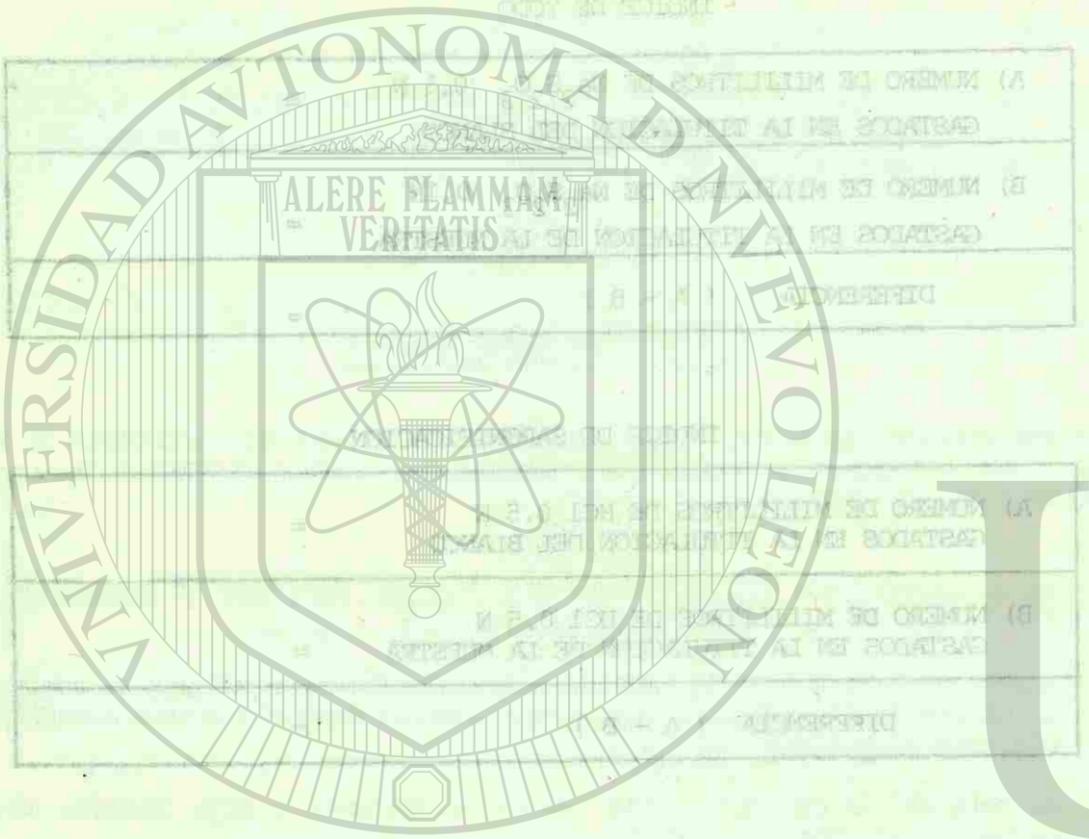


III.-En la siguiente tabla reporte los valores de INDICE DE YODO e INDICE DE SAPONIFICACION para su muestra y para las de sus compañeros

MUESTRA	INDICE DE YODO	INDICE DE SAPONIFICACION

IV.-INVESTIGE EN LA LITERATURA LOS INDICES DE SAPONIFICACION Y DE YODO PARA las muestras trabajadas, y anotelos en la siguiente tabla:

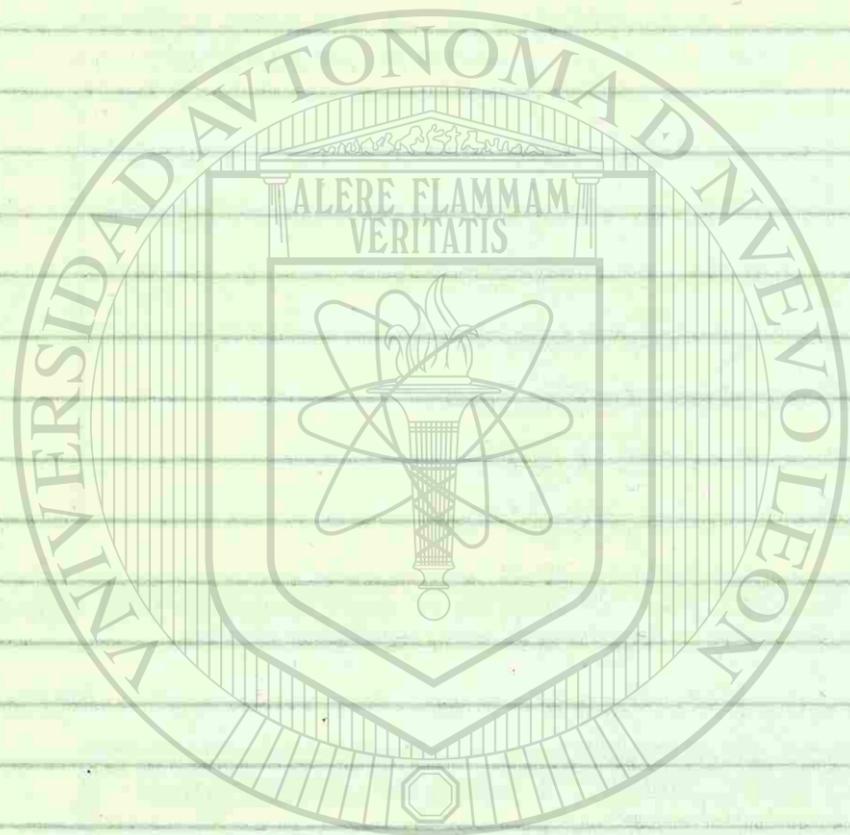
MUESTRA	INDICE DE YODO	INDICE DE SAPONIFICACION



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSION



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

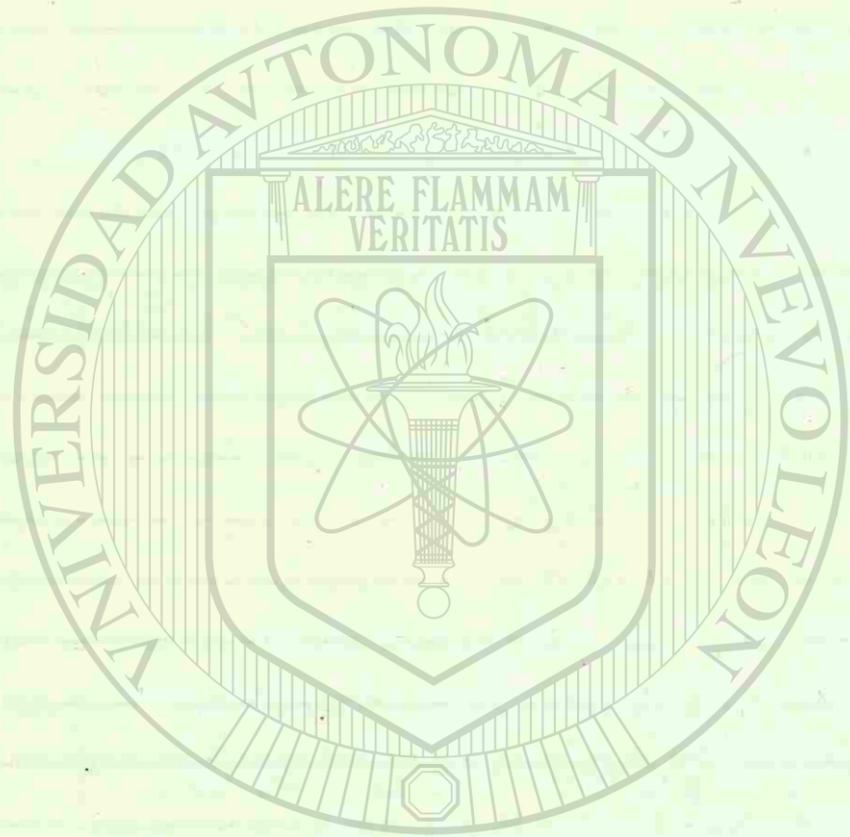
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS

1.- [Faint text]

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1.- [Faint text]
- 2.- [Faint text]
- 3.- [Faint text]
- 4.- [Faint text]
- 5.- [Faint text]
- 6.- [Faint text]



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SEPARACION DE LIPIDOS MEDIANTE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

INTRODUCCION

La cromatografía en capa fina (CCF), es un método simple, rápido y de bajo costo; utilizado para separar cualitativamente una muestra en sus componentes. La capa delgada se prepara dispersando una suspensión de material adsorbente sobre una placa de vidrio. Para formar una capa con un grosor aproximado de 250 micras.

BIBLIOGRAFIA

Esta técnica puede adaptarse a la separación y caracterización de lípidos, utilizando como fase estacionaria una mezcla de sílice y alúmina. Este método ha desplazado a otras técnicas de separación de lípidos séricos, surfactantes, hormonas séricas, vitaminas liposolubles, etc.

OBJETIVO

INTRODUCCION

- 1.-Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México, 1a. Publicación en español.- pp: 326-328.
- 2.-Cantarow, A y B. Schepartz. 1969. Bioquímica. Editorial Interamericana, 4a. Edición. pp:44-47.
- 3.-Clark, J.M. 19 . Bioquímica Experimental. Editorial Acribia. 1a. Edición. pp: 76.
- 4.-Harper, H.A. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a.Edición,pp:134.
- 5.- Lynch, M.J. et al. 1972. Metodos de Laboratorio. Editorial Interamericana. 2a. Edición. pp:56,382-396.
- 6.-Macarulla, J.M. y F.M. Goñi. 1978. Biomoléculas. Editorial Reverté. 1a. Edición. pp:76.
- 7.-Ramsey, B.J. 1980. Biología Química. Una introducción a la Bioquímica. Editorial Continental, S.A. 1a. Edición en español. pp: 172-173.
- 8.-Rendina, G. 1974, Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana, 1a. Edición. pp:142-143.
- 9.-Toporek, M. 1984. Bioquímica. Editorial Interamericana. 3a. Edición. pp:210-214.

Recordemos que este valor se obtiene al dividir la distancia recorrida por la muestra entre la distancia total recorrida por el solvente.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUMPLIR

PROTOCOLO A. SEPARACION DE LIPIDOS MEDIANTE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

INTRODUCCION

La cromatografía en capa fina (TLC), es un método simple, rápido y no costoso; utilizado para separar cualitativamente una muestra en sus componentes. La capa delgada se prepara dispersando una suspensión de material adsorbente sobre una placa de vidrio y dejando secar para formar una capa con un grosor aproximado de 250 micras.

Esta técnica puede adaptarse a la separación y caracterización de lípidos, utilizando microcantidades de material; es posible también efectuar estimaciones cuantitativas de las distintas clases de lípidos. Por ello, este método ha desplazado a otras técnicas y es ampliamente utilizada tanto en la industria como en los laboratorios clínicos para la separación de lípidos de lípidos séricos, corticosteroides de la orina, hormonas séricas, vitaminas liposolubles, etc.

OBJETIVO

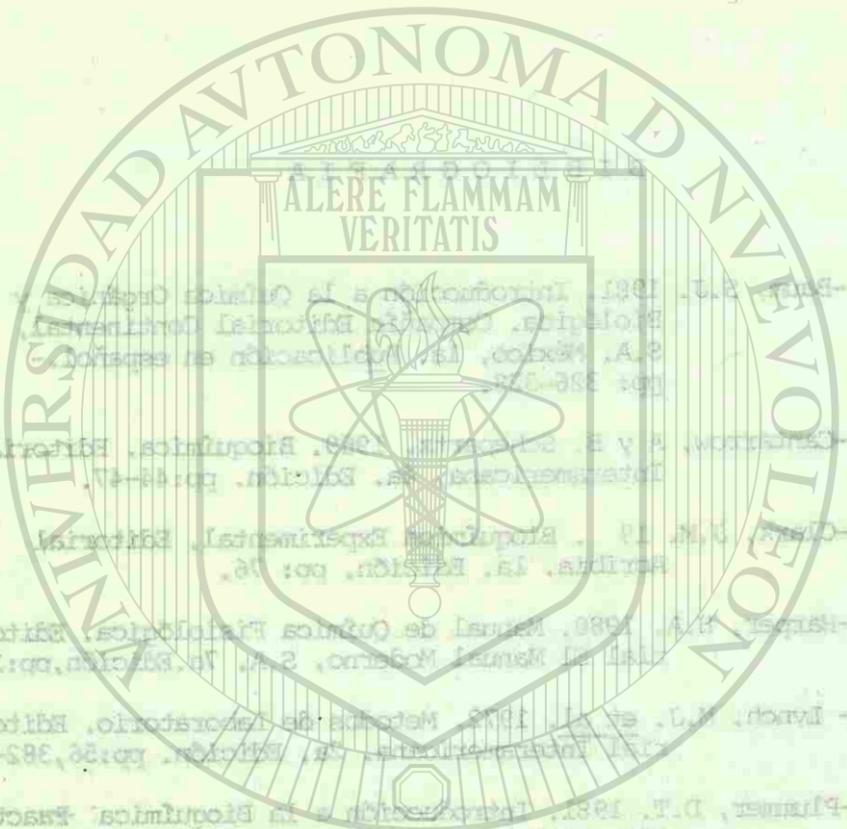
Intentaremos la extracción de lípidos de muestras biológicas con un alto contenido de lípidos y posteriormente los separaremos e identificaremos utilizando la técnicas de cromatografía en capa fina.

FUNDAMENTO

Basicamente a la cromatografía en capa fina se aplica el mismo fundamento de la cromatografía en papel. Aquí la muestra se coloca sobre una cubierta de sílica gel adsorbida a una placa de vidrio; esta placa se introduce en un eluyente contenido en una cámara cromatográfica dejándolo migrar a través del material adsorbente (fase estacionaria). El eluyente (fase móvil) al ir desplazándose sobre la sílica, arrastra la muestra. La adsorción y la partición retardan el avance de la muestra; y la resolución de los diferentes componentes se debe a que las sustancias presentes tienen diferentes velocidades en dirección del flujo.

Generalmente se permite que la fase móvil avance de 10 a 15 cm. La detección de los componentes separados se hace con vapores de yodo, rociando con ácido sulfúrico al 50%, o rociando con reactivos especiales como el ácido fosfomolibdico entre otros.

La identificación se hace calculando el Rf de cada uno de los componentes de la mezcla y comparándolo con los Rf de soluciones lipídicas conocidas. Recordemos que este valor se obtiene al dividir la distancia recorrida por la mancha entre la distancia total recorrida por el solvente.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- PROTOCOLO A:
- 1 tubo de 18 x 150
 - 1 gradilla
 - 1 matraz erlenmeyer de 50 ml
 - 1 pipeta de 5 ml
 - 1 parrilla eléctrica con agitación
 - 1 embudo de filtración rápida

- PROTOCOLO B :
- 1 vaso de precipitados de 250 ml
 - 1 probeta graduada
 - 3 tubos de ensaye de 18 x 150
 - 1 gradilla
 - 2 pipetas de 10 ml
 - 1 embudo de filtración rápida

REACTIVOS

- PROTOCOLO A:
- 1.- ELUENTE I: Eter de petróleo
 - 2.- ELUENTE II: Hexano: Cloroformo (25:75)
 - 3.- ELUENTE III: Cloroformo-Metanol (95:5)
 - 4.- Eter de petróleo
 - 5.- Mezcla cloroformo metano (50:50)
 - 6.- Soluciones patrón de aceite de oliva, ácido oléico, lecitina, colesterol, etc: Disolver 100 mg de cada uno de ellos en 100ml de una mezcla cloroformo: metanol (50:50).
 - 7.- Revelador: Acido fosfomolibdico al 20% en etanol: Disolver 20-gramos de ácido fosfomolibdico en 100 ml de etanol y guardarlo en frasco oscuro hasta el momento de su uso.

- PROTOCOLO B:
- 1.- ELUENTE: Cloroformo- Solvente Polar (100:7)
 - 2.- SOLVENTE POLAR: 90 ml de metanol se mezclan con 5 ml de agua - destilada y 5 ml de hidróxido de amonio.
 - 3.- Soluciones patron al 1 mg/ml: prepararlas como el protocolo A.
 - 4.- REVELADOR: Acido fosfomolibdico al 20% en etanol ó bien vapores de yodo.
 - 5.- Cloroformo- metanol (50: 50)

PREACTIVOS PARA AMBOS PROTOCOLOS: Sílica Gel, y Agua destilada

PREPARACION DE LAS PLACAS CROMATOGRAFICAS

- 1.- Pese 30 gramos de Sílica Gel H 6 HF₂₅₄ y suspéndalos en 50 ml de agua destilada, esto es suficiente para preparar 5 placas de 250 micras de espesor,
- 2.- Agite el matraz bola que contiene la mezcla durante un minuto vigorosamente.
- 3.- Vierta la suspensión en el distribuidor para placas, y rápidamente páselo sobre los cristales limpios y desengrasados con acetona.

REPARACION EN LIBRERIA MILITARE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

INTRODUCCION

La cromatografía en capa fina es un método simple, rápido y no costoso; utilizado para separar mezclas de compuestos orgánicos. La capa delgada se prepara sobre una placa de vidrio o aluminio recubierta con una capa gruesa aproximada de 250 micras.

Esta técnica puede aplicarse a la separación de mezclas de lípidos, utilizando mezclas de reactivos y es posible también aplicar las técnicas cromatográficas de las drogas y otros compuestos orgánicos en la industria como en los laboratorios de control de calidad de los lípidos séricos, control de calidad de la leche, alimentos séricos, vitaminas liposolubles, etc.

OBJETIVO

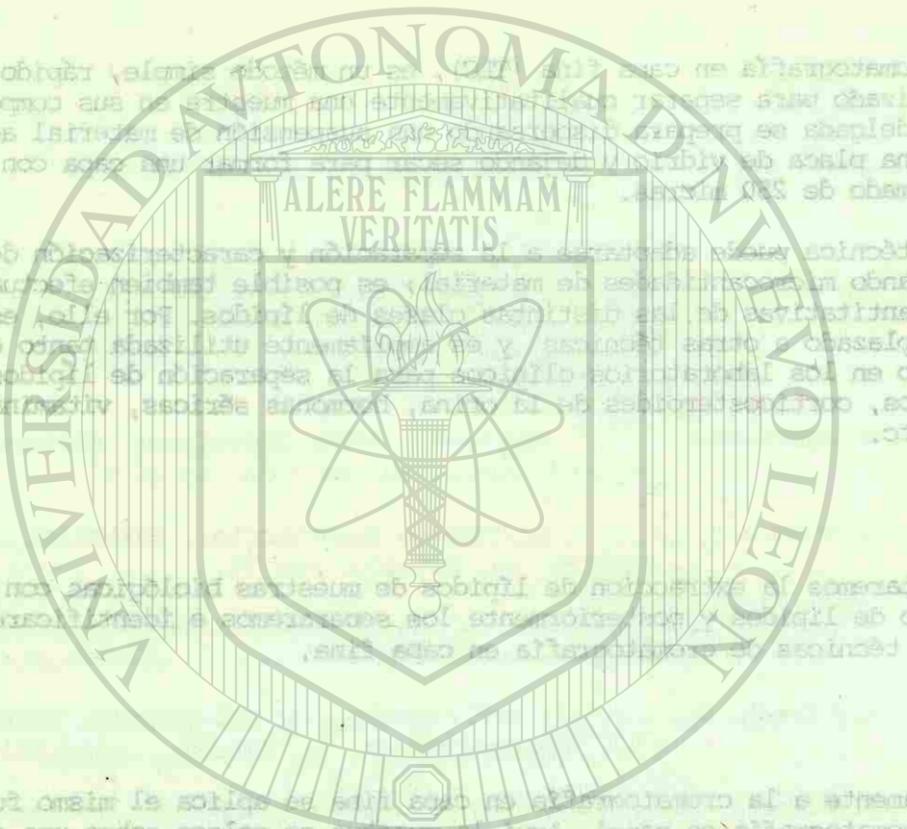
Intentaremos la separación de lípidos de muestras biológicas con un alto contenido de lípidos y determinaremos los componentes e identificaremos utilizando la técnica de cromatografía en capa fina.

FUNDAMENTO

Basicamente a la cromatografía en capa fina se aplica el mismo fundamento de la cromatografía en papel, pero la muestra se coloca sobre una placa de sílica gel adsorbida a una placa de vidrio; esta placa se introduce en un eluyente contenido en una cámara cromatográfica después de haberse desecado el material adsorbido (fase estacionaria). El eluyente (fase móvil) al ir desplazándose sobre la sílica, arrastra la muestra, la adsorcion y la separación dependen del grado de adsorción de los diferentes componentes de la muestra y que las moléculas se desplazan a diferentes velocidades en la dirección del flujo.

Generalmente se permite que la fase móvil avance de 10 a 15 cm. La detección de los componentes separados se hace con vapores de yodo, rociando con yodo sublimado al 2% en etanol o con reactivos especiales como el ácido fosfomolibdico.

La identificación se hace evaluando el R_f de cada uno de los componentes de la mezcla y comparándolo con los R_f de soluciones lípidas conocidas. Recordamos que este valor se obtiene al dividir la distancia recorrida por la mancha entre la distancia total recorrida por el solvente.



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

- 4.- Deje que las placas se sequen al aire, permaneciendo siempre sobre el nivelador.
- 5.- Activar las placas llevandolas a secar en una estufa a 110°C durante una hora para eliminar la mayor parte del agua.
- 6.- Guarde el estante con las placas dentro de un desecador hasta el momento de su uso

PARTE EXPERIMENTAL

Segun sea el material biológico con el que se cuente, el instructor indicará el protocolo adecuado.

PROCOLO A

1.-PREPARACION DE LA MUESTRA

- a) Si su muestra es una grasa ó aceite, disuelva 1 gramo de ella en 4 ml de éter de petróleo.
- b) Si trabaja con suero, entonces adicione 1 ml de suero a 25 ml de una mezcla de clorformo-metanol (50:50) en un matraz erlenmeyer de 50 ml. Caliente brevemente para precipitar proteínas, y filtre a través de papel filtro No.1

2.-APLICACION DE LA MUESTRA

La muestra y las soluciones patrón se aplicaran en forma de gota pequeña sobre la sílica, utilizando la plantilla especial para ello, procurando que las muestras queden bien separadas entre sí. Coloque 3 gotas de cada solución permitiendo que la gota se seque antes de aplicar la siguiente.

3.-DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

- a) Introduzca la placa en la cámara cromatográfica colocandola previamente en el dispositivo especial para ello, y eluya hasta una altura de 16 cm con el eluent e I. Saque la placa, y deje secar al aire.
- b) Introduzca la placa en otra cámara que contenga el eluyente II y eluya hasta una altura de 12 cm, deje secala al aire, y posteriormente eluya con el eluyente III hasta una altura de 5 cm. y seque al aire.

4.-DETECCION DE LAS MUESTRAS

Rocie la placa con ácido fosfomolibdico al 20% en etanol, y calientela una vez seca, en el horno a una temperatura de 105°C - 110°C durante 5 minutos.

5.-IDENTIFICACION

Delimite los contornos de las manchas con un alfiler ó un lápiz de punta fina, coloque un punto en el centro de cada mancha, y determine el Rf.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

PROCOLO A: 1 tubo de 18 x 150

- 1 gradilla
- 1 matraz erlenmeyer de 50 ml
- 1 pipeta de 1 ml
- 1 plantilla especial
- 1 estufa de secado

PROCOLO B: 1 vaso de precipitación

- 1 probeta graduada
- 1 tubo de 18 x 150
- 1 gradilla
- 2 pipetas de 1 ml
- 1 estufa de secado

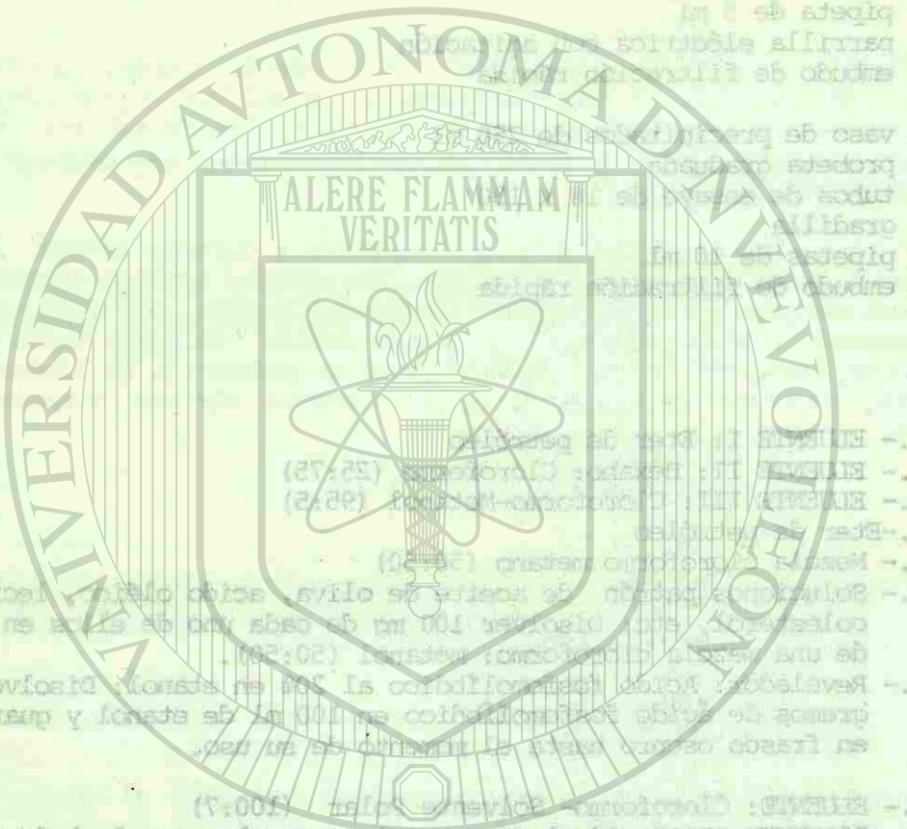
REACTIVOS

PROCOLO A: 1.- ETANOL (95%)

- 2.- ETANOL (70%)
- 3.- ETANOL (20%)
- 4.- Ácido fosfomolibdico
- 5.- Metanol
- 6.- Solución patrón de suero
- 7.- Solución patrón de grasa

PROCOLO B: 1.- ETANOL (95%)

- 2.- SOLVENTE TOBAC: 90 ml de etanol se mezclan con 5 ml de agua destilada y 5 ml de ácido fosfomolibdico.
- 3.- Soluciones patrón de suero y grasa.
- 4.- REVELADOR: Ácido fosfomolibdico al 20% en etanol ó bien vapores de yodo.
- 5.- CLOROFORMO-METANOL (50:50)



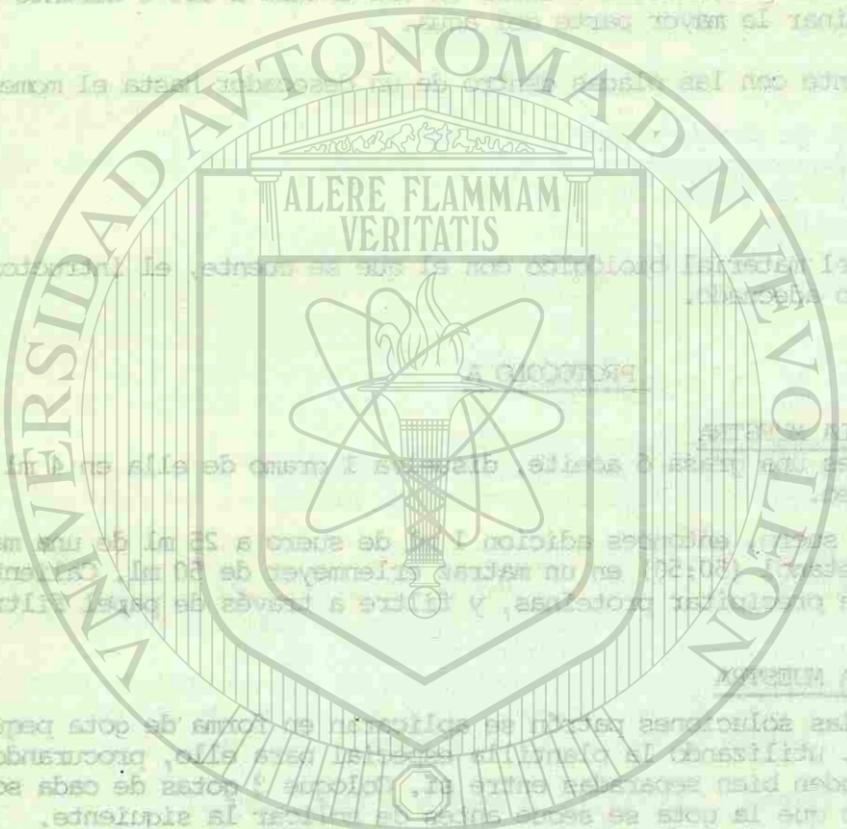
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.- Deje que las placas se sequen al aire, calentándose siempre sobre el radiador.

5.- Activar las placas lavándolas o lavar en las estufa a 110°C durante una hora para eliminar la mayor parte de la yema.

6.- Guarde el estufa con las placas en el momento de su uso.



PARTI EXPERIMENTAL

Según sea el material de las placas, el tiempo de desarrollo del protocolo será el siguiente:

1.- PREPARACION DE LA MUESTRA

a) Si su muestra es una mezcla de ácidos grasos, se debe preparar una muestra de 10 mg.

b) Si la muestra es una muestra sólida, se debe preparar una muestra de 10 mg de la muestra en un matrazo de 50 ml. Se debe utilizar un matrazo de 50 ml. Se debe utilizar un matrazo de 50 ml.

2.- APLICACION DE LA MUESTRA

La muestra y las soluciones patrón se aplicarán en forma de gota sobre la sílica, utilizando para ello la plantilla de plástico. Deje secar la gota antes de colocar la siguiente; ya que deberá aplicar 5 gotas de cada solución.

3.- DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Introduzca la placa de cromatografía en la cuba, acomodándola previamente en el dispositivo especial para ello; la cuba deberá contener el eluyente. Permita que el eluyente migre una distancia de 10 cm a 15 cm. En seguida saque las placas de la cámara cromatográfica y déjelas secar al aire.

4.- DETECCION DE LAS MUESTRAS

Rocíe las placas con ácido fosfomolibdico al 20% en etanol, y caliéntelas, una vez secas, a 110°C durante 5 minutos.

5.- IDENTIFICACION

Delimite los contornos de cada una de las manchas utilizando para ello un alfiler o un lápiz con punta fina, y luego coloque un punto en el centro de la mancha. Mida la distancia desde el centro de la mancha hasta el origen, y la distancia desde el origen hasta el frente del solvente.

Determine el Rf de las manchas, e identifique los componentes de su muestra comparando los Rf de estos con los Rf de soluciones conocidas.

RESULTADOS

I.- Dibuje un esquema del cromatograma, indicando los nombres de las soluciones utilizadas con el mismo el tiempo de desarrollo.

PROTOCOLO B

1.- PREPARACION DE LA MUESTRA

En vaso de precipitados de 250 ml, coloque la yema de un huevo, y añada 100 ml de una mezcla cloformo-metanol (50:50). Agite vigorosamente y luego filtre usando un embudo de filtración rápida, o bien deje reposar hasta que se separe bien el sobrenadante.

Del sobrenadante o del filtrado, prepare diluciones 10⁻¹ y 10⁻² en mezcla cloformo-metanol (50:50); la solución más diluida permite la determinación de fosfatidiletanolamina (cefalinas) y lecitina. La solución más concentrada demuestra la presencia de fosfatidil-serina y fosfatidilinositol.

2.- APLICACION DE LA MUESTRA

Las muestras y las soluciones patrón utilizadas se aplicarán en forma de gota sobre la sílica, utilizando para ello la plantilla de plástico. Deje secar la gota antes de colocar la siguiente; ya que deberá aplicar 5 gotas de cada solución.

3.- DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Introduzca la placa de cromatografía en la cuba, acomodándola previamente en el dispositivo especial para ello; la cuba deberá contener el eluyente. Permita que el eluyente migre una distancia de 10 cm a 15 cm. En seguida saque las placas de la cámara cromatográfica y déjelas secar al aire.

4.- DETECCION DE LAS MUESTRAS

Rocíe las placas con ácido fosfomolibdico al 20% en etanol, y caliéntelas, una vez secas, a 110°C durante 5 minutos.

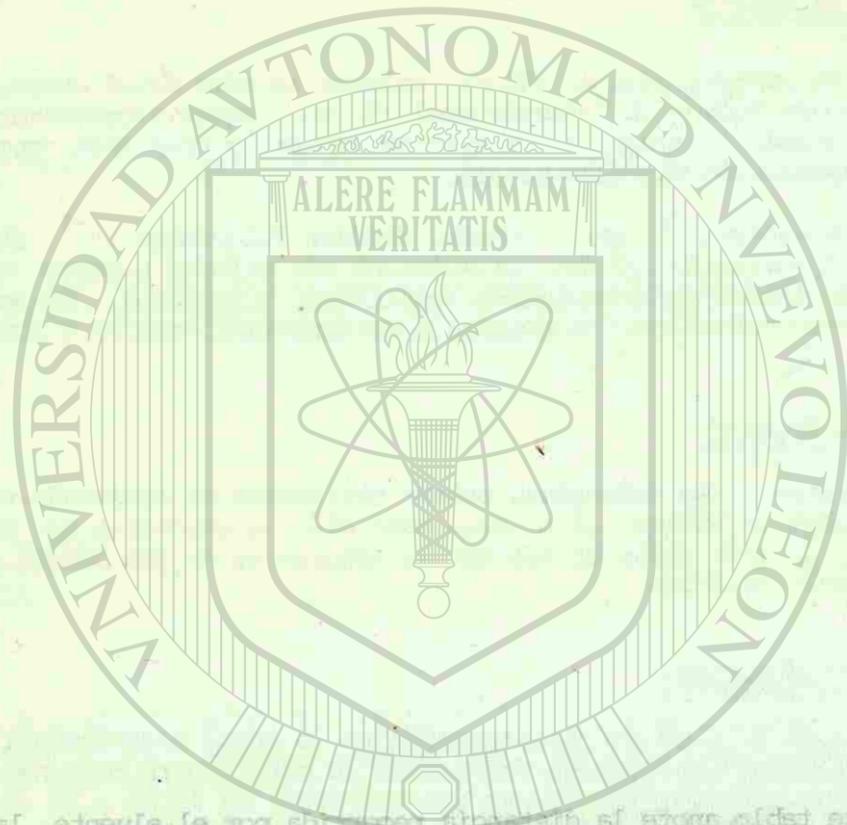
5.- IDENTIFICACION

Delimite los contornos de cada una de las manchas utilizando para ello un alfiler o un lápiz con punta fina, y luego coloque un punto en el centro de la mancha. Mida la distancia desde el centro de la mancha hasta el origen, y la distancia desde el origen hasta el frente del solvente.

Determine el Rf de las manchas, e identifique los componentes de su muestra comparando los Rf de estos con los Rf de soluciones conocidas.

RESULTADOS

I.-Dibuje un esquema del cromatograma obtenido, indicando los números de las soluciones utilizadas como patrón. Así mismo el tiempo de desarrollo.



II.-En la siguiente tabla anote la distancia recorrida por el eluyente a diferentes velocidades por cada una de las soluciones patrón utilizadas y la distancia medida por los componentes presentes en su problema.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN	

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

III.-Calcule los Rf's de todas las soluciones patrón y de los componentes presentes en su muestra problema.

Handwritten notes and calculations on lined paper.

IV.-Anote los datos obtenidos en el número anterior, y anótelos en la tabla.

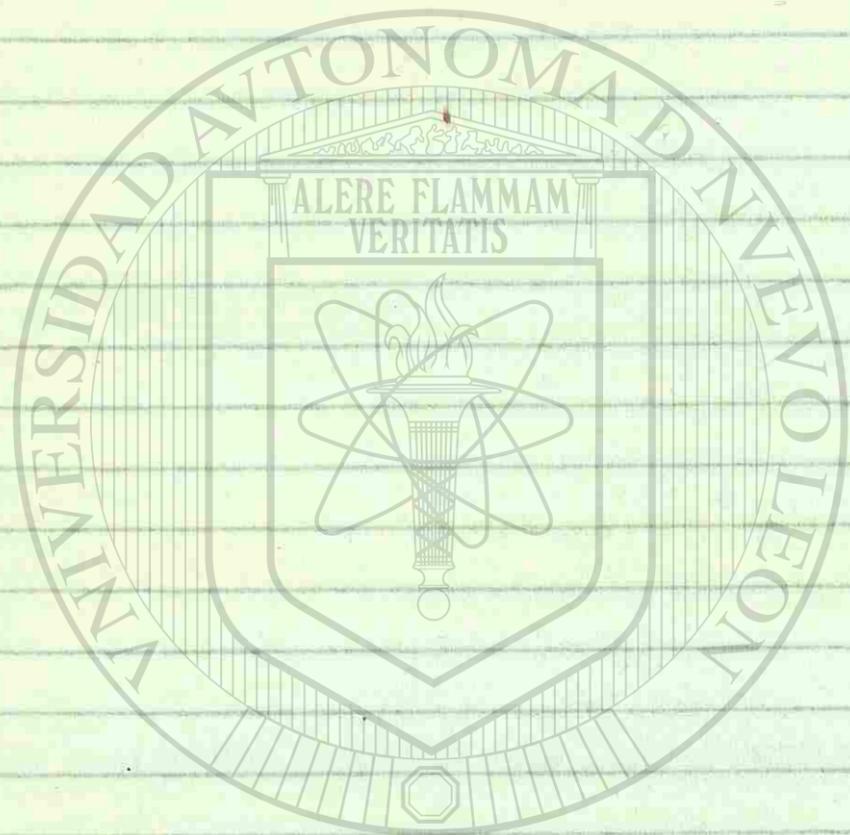
SOLUCION	Rf

CONCLUSIONES

V.-¿Cuáles fueron los lípidos presentes en la muestra?

Handwritten notes on lined paper.

DIRECCIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

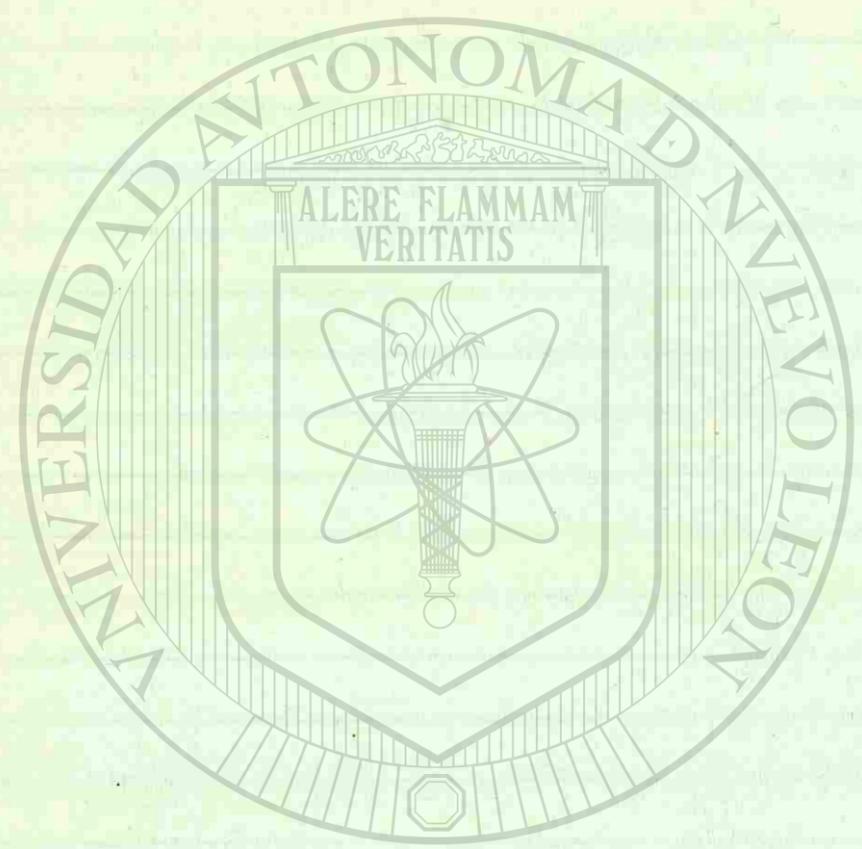
DIRECCIÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS

- 1.- Conn, B. J. *Journal of Chromatography*, 1972, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 2.- Devel, B. J. *Journal of Chromatography*, 1971, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 3.- Harper, J. *Journal of Chromatography*, 1971, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 4.- Lynch, J. *Journal of Chromatography*, 1971, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 5.- Stahl, E. *Journal of Chromatography*, 1971, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 6.- Gelman, J. *Journal of Chromatography*, 1974, *Chromatography in Biochemistry*, pp:136-137.
- 7.- Instant Thin-Layer Chromatography, 1971, Gelman Instrument Co., Bulletin 17.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

Un gran número de reacciones son utilizadas para la detección de proteínas. Debido a la complejidad de las moléculas proteicas y a la dificultad de obtenerlas en forma pura y aislada, estas pruebas son usadas sabiendo que identifican grupos químicos específicos de la molécula de proteína, o más general todavía, para las cadenas laterales de los aminoácidos encontrados en todas las proteínas. Así, el reactivo de Millon da una reacción positiva cuando reacciona con los grupos fenólicos de los aminoácidos presentes en las proteínas.

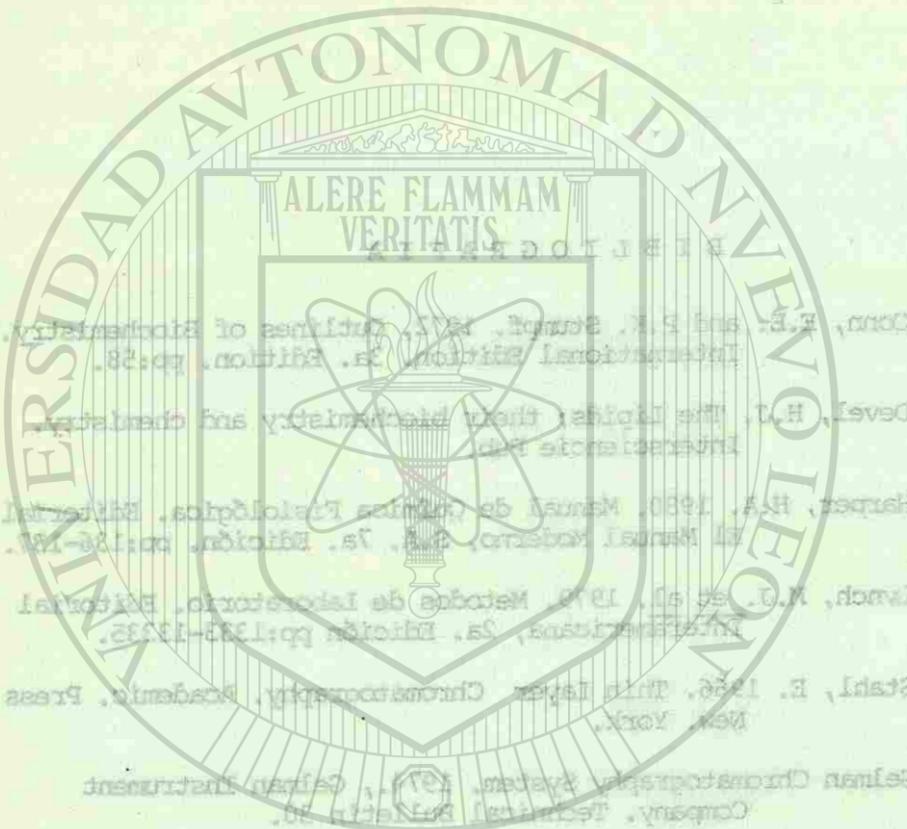
BIBLIOGRAFIA

- 1.- Conn, E.E. and P.K. Stumpf. 1972, Outlines of Biochemistry. International Edition. 3a. Edition. pp:58.
- 2.- Devel, H.J. The Lipids; their biochemistry and chemistry. Interscience Pub.
- 3.- Harper, H.A. 1980. Manual de Química Fisiológica. Editorial El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición. pp:136-137.
- 4.- Lynch, M.J. et al. 1979. Metodos de Laboratorio. Editorial Interamericana, 2a. Edición pp:1333-13335.
- 5.- Stahl, E. 1966. Thin Layer Chromatography. Academic. Press New York.
- 6.- Gelman Chromatography System. 1974., Gelman Instrument Company. Technical Bulletin 30.
- 7.- Instant Thin Layer Chromatography. 1971. Gelman Instrument Company. Technical Bulletin 17.
- 8.- Separación de lípidos por cromatografía en capa fina. 1974. Asesoría Técnica. Merck, MEXICO, S.A.

PRUEBA DE MILLON: Este ensayo nos permite detectar compuestos con radicales hidroxilo que lo contienen. Este ensayo se realiza mezclando el nitrato y nitrato mercurico los cuales ocasionan la nitración y nitración ó nitroso.

PRUEBA XANTOPROTEICA: Este ensayo nos permite identificar aminoácidos que contienen en su molécula un grupo amino secundario. Este ensayo se realiza mezclando el ácido nítrico y el ácido nítrico concentrado, cuando estas sustancias se tratan con soluciones de sulfato de cobre disueltas en solución alcalina (Reactivo de Biuret), dan un color violeta característico.

PRUEBA DE BIURET: Este ensayo nos permite detectar compuestos que posean dos o más enlaces peptídicos. Cuando estas sustancias se tratan con soluciones de sulfato de cobre disueltas en solución alcalina (Reactivo de Biuret), dan un color violeta característico.



1.- Conn, E. B. and P. K. Stumpf. 1951. *Journal of Biological Chemistry*, 191: 1-10.

2.- Devel, H. J. 1951. *The Journal of Biological Chemistry*, 191: 1-10.

3.- Harper, H. A. 1950. *Methods of Carbohydrate Chemistry*, 3rd Edition, pp. 1-10.

4.- March, M. G. 1951. *Methods of Carbohydrate Chemistry*, 3rd Edition, pp. 1-10.

5.- Stahl, E. 1956. *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York.

6.- Gelman Chromatography System, 1951. Gelman Instrument Company, Technical Bulletin 17.

7.- Instant Thin Layer Chromatography, 1951. Gelman Instrument Company, Technical Bulletin 17.

8.- Separación de lípidos por cromatografía en capa fina, 1951. Asesoría Técnica, México, D.F., S.A.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

El color desarrollado es debido a la formación de un complejo de coordinación entre el ion de cobre y los grupos amino y carboxilo de los aminoácidos. Este complejo se forma en presencia de un exceso de reactivos de Biuret y da lugar a un color violeta característico. Este ensayo se ejemplifica enseguida:

REACCIONES DE IDENTIFICACION DE AMINOACIDOS Y PROTEINAS

INTRODUCCION

Un gran número de reacciones son utilizadas para la detección de proteínas. Debido a la complejidad de las moléculas proteicas y a la dificultad de obtenerlas en forma pura y aislada, estas pruebas son usadas sabiendo que identifican grupos químicos específicos de la molécula de proteína, o más general todavía, para las cadenas laterales de los aminoácidos encontrados en todas las proteínas. Así, el reactivo de Millon da una reacción positiva cuando reacciona con los grupos fenólicos de los aminoácidos presentes en las proteínas.

Las reacciones de aminoácidos libres, son en general, las que podrían esperarse para los compuestos que contienen grupos amino y grupos carboxilo, además cualquier otro grupo que pueda estar presente, sufre sus propias reacciones características.

OBJETIVO

Estimar químicamente la presencia de algunos aminoácidos, y tratar de determinar si estos mismos están presentes en las proteínas utilizadas.

FUNDAMENTO

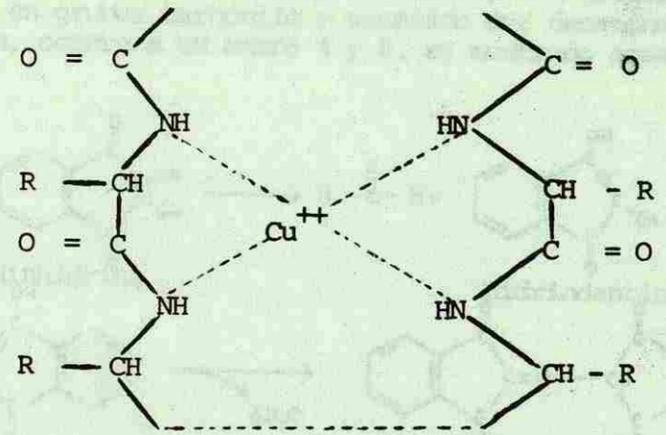
PRUEBA DE MILLON: Esta prueba nos permite detectar compuestos con radical hidroxibenceno como el aminoácido tirosina o sus derivados; así como proteínas que lo contengan (albúmina). El reactivo de Millon es una mezcla de nitrato y nitrito de mercurio los cuales ocasionan la mercuración y nitración o nitrosación del grupo fenólico de los aminoácidos libres o presentes en proteínas, generando un precipitado blanco que por la acción del calor, toma un color rosado o rojo ladrillo.

PRUEBA XANTOPROTEICA: Mediante esta prueba cualitativa podemos identificar aminoácidos que contienen anillos aromáticos o heterocíclicos en su molécula o proteínas que los contengan; aunque el anillo bencénico de la fenilalanina no tiene suficiente capacidad para tornar positiva la prueba.

Cuando los aminoácidos con la característica estructural ya mencionada, se calientan en presencia de ácido nítrico concentrado, producen compuestos nitrados de color amarillo, a los cuales el álcali como el NaOH o NH₄OH, convierten en sus sales respectivas de color naranja.

PRUEBA DE BIURET: Este ensayo nos permite detectar compuestos que poseen dos o más enlaces peptídicos. Cuando estas sustancias se tratan con soluciones de sulfato de cobre disueltas en solución alcalina (Reactivo de Biuret), dan un color violeta característico.

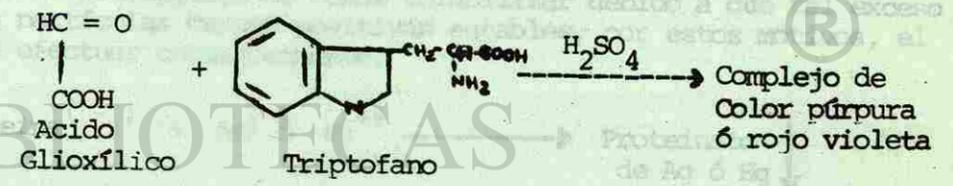
El color desarrollado es debido aparentemente al complejo de coordinación formado entre el átomo de cobre del Reactivo de Biuret, y cuatro átomos de nitrógeno peptídicos presentes en las cadenas polipeptídicas como se ejemplifica enseguida:



La intensidad del color generado es una medida cuantitativa del número de enlaces peptídicos presentes en la molécula. Esta prueba no es específica exclusivamente para detectar enlaces peptídicos, ya que cualquier compuesto que contenga dos grupos carbonilos unidos por un átomo de nitrógeno o de carbono, da también un resultado positivo, Así, el compuesto conocido como biuret ($H_2NCO-NH-CO-NH_2$) da una reacción positiva.

REACCION DE HOPKINS-COLE: Esta prueba es específica para la identificación de triptofano libre ó presente en proteínas. El reactivo de Hopkins Cole es una disolución de ácido glioxílico en agua, aunque el ácido acético glacial expuesto a la luz contiene también ácido glioxílico y se puede emplear en la prueba.

Cuando una solución de triptofano ó de proteína se trata con el Reactivo anterior, y luego se permite la estratificación de ácido sulfúrico; en la zona de interfase se genera un anillo púrpura ó rojo violeta resultante de la condensación del grupo carbonilo del ácido glioxílico y al anillo indol del triptofano:



REACCIONES DE IDENTIFICACION DE AMINOCIDOS Y PROTEINAS

INTRODUCCION

Un gran número de reacciones se han desarrollado para la detección de proteínas. Debido a la complejidad de las proteínas y a la dificultad de obtenerlas en forma pura, se han desarrollado métodos sencillos que permitan identificarlas en las muestras. En general, los métodos de identificación de proteínas se basan en reacciones químicas que producen cambios de color o precipitación cuando se reaccionan con los aminoácidos presentes en las proteínas.

Las reacciones de aminoácidos libres, con el ácido sulfúrico, dan un espectro para los compuestos que contienen grupos amino y grupos carbonilo, además cualquier otro grupo que sea característico, entre sus propias reacciones características.

OBJETIVO

Estimar cuantitativamente la presencia de algunos aminoácidos de determinar si estos aminoácidos están presentes en las proteínas analizadas.

FUNDAMENTO

PRUEBA DE MILLON: Esta prueba se emplea para la identificación de triptofano libre ó presente en proteínas. El reactivo de Millon es una mezcla de nitrato de mercurio y ácido nítrico, los cuales ocasionan la mercurización y nitrosación del grupo amino de los aminoácidos libres ó presentes en proteínas, generando un compuesto blanco que por la acción del calor, toma un color rosado ó rojo ladrillo.

PRUEBA XANTOPROTEICA: Esta prueba se emplea para la identificación de aminoácidos que contienen grupos carbonilo ó amino, como el ácido glutámico ó proteínas que los contienen; cuando el anillo benzénico de la fenilalanina reacciona con el ácido nítrico para formar nitrofenol, se produce un color amarillo ó naranja.

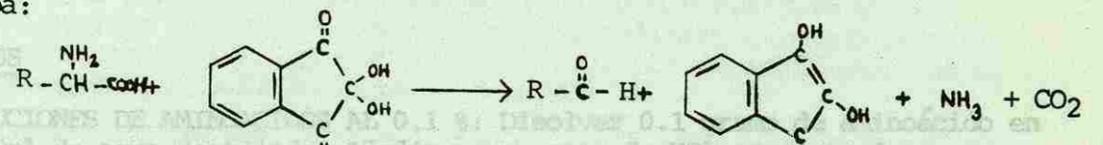
Cuando los aminoácidos con la característica estructural-mente mencionada se calientan en presencia de ácido nítrico concentrado, producen un color amarillo ó naranja, debido a la formación de nitrofenol.

PRUEBA DE BIURET: Este ensayo nos permite detectar compuestos que poseen dos ó mas enlaces peptídicos. Cuando estas sustancias se tratan con soluciones de sulfato de cobre disueltas en solución alcalina (reactivo de Biuret), dan un color violeta característico.

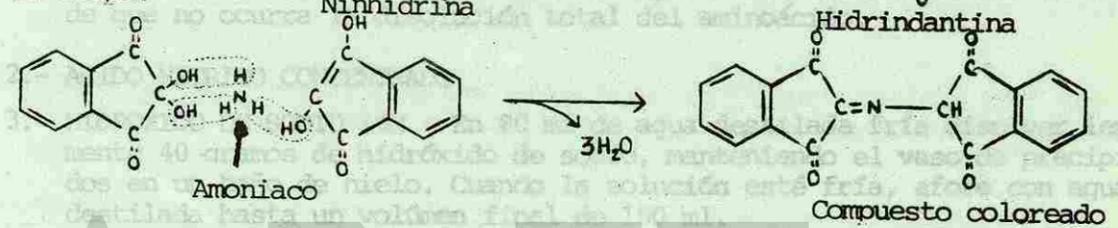
REACCION DE LA NINHIDRINA: Esta prueba permite identificar compuestos que poseen grupos amino libres como son todos los alfa-aminoacidos, aminas primarias y amoniaco.

Al añadir ninhidrina a una solucion que contenga aminoácidos, experimenta una reaccion de oxidación y reducción con los grupos amino libres, desdoblándolos en grupos carbonilo y amoniaco por desaminación oxidativa. Esta reaccion, ocurre a pH entre 4 y 8, es mostrada enseguida:

1a Etapa:

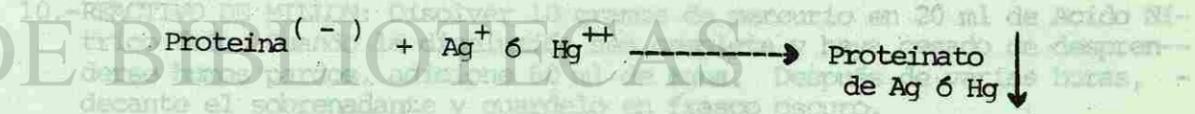


2a Etapa:



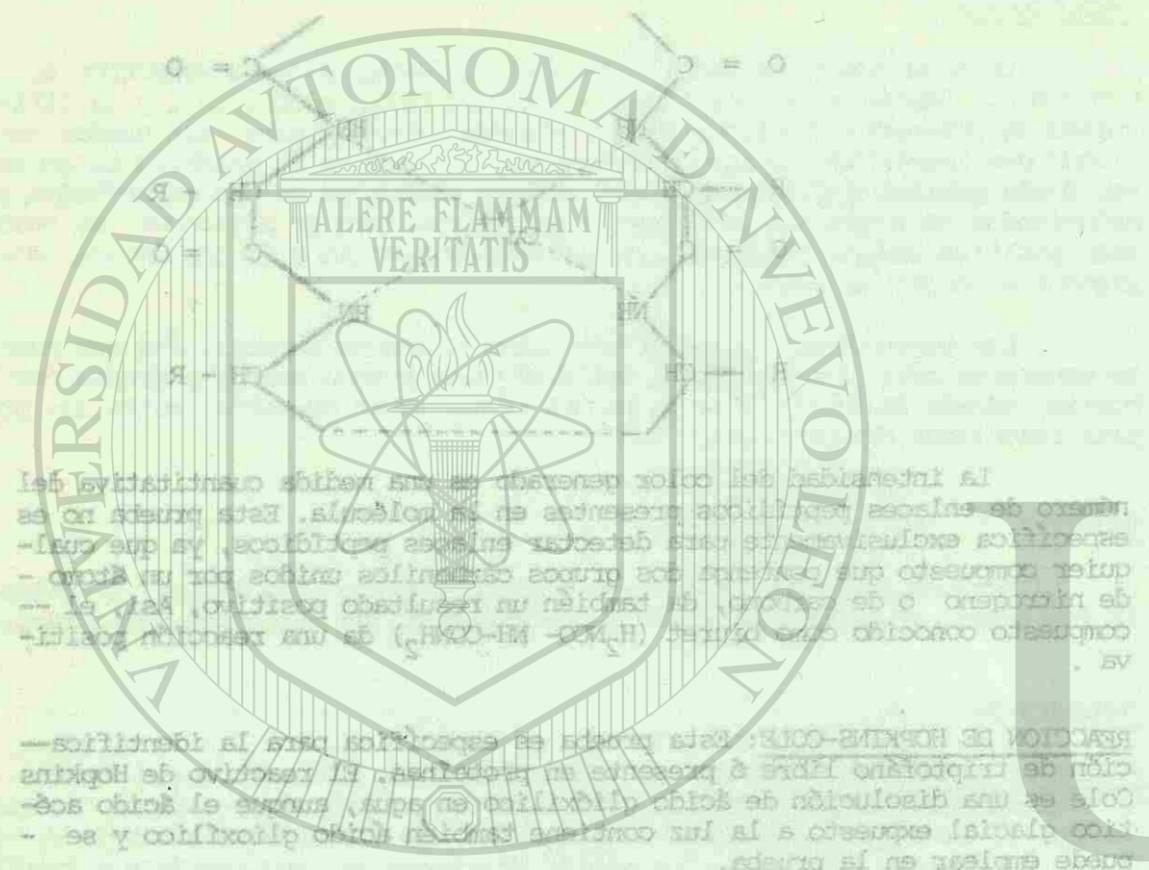
El compuesto final producido por los aminoácidos varía de color azul a violeta. Los péptidos ó proteínas dan una reaccion positiva débil - debido a que presentan menos grupos amino libres que los aminoácidos. Las aminas primarias y el amoniaco dan positiva la prueba, pero sin desprendimiento de CO2. Los iminoácidos como la prolina y la hidroxiprolina también reaccionan con la ninhidrina, pero el color desarrollado es amarillo y no violeta.

PRECIPITACION CON SALES DE METALES PESADOS (PRECIPITANTES CATIONICOS): Las proteínas a pH 7 ó superiores a éste se encuentran en forma aniónica, es decir cargados negativamente, por lo que al adicionar iones de metales pesados cargados positivamente se neutraliza la carga de la proteína y ésta precipita de la solución débilmente alcalina. Un exceso de álcali ocasiona la precipitación de hidróxidos metálicos. Y cuando hay un excedente de iones de metal pesado el precipitado se puede solubilizar debido a que tal exceso confiere a las partículas cargas positivas estables, por estos motivos, el ensayo se debe efectuar cuidadosamente.



PREPARACION ALTERNATIVA: Prepare una solución de sulfato mercurico al 15% en H2SO4 al 15% v/v.

El color desarrollado es debido a la reaccion de oxidación y reducción que experimenta la ninhidrina con los grupos amino libres, desdoblándolos en grupos carbonilo y amoniaco por desaminación oxidativa.



Cuando una solución de triptófano ó de proteínas se trata con el reactivo anterior, y luego se permite la estratificación de ácido sulfúrico en la zona de interfase se genera un anillo púrpura ó rojo violeta.



DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 20 tubos de ensaye de 18 x 150
- 6 pipetas de 5 ml
- 2 pipetas de 10 ml
- 1 mechero
- 2 gradillas
- 1 pinzas para tubos de ensaye
- masking-tape ó etiquetas

REACTIVOS

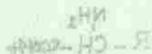
- 1.- SOLUCIONES DE AMINOACIDOS AL 0.1 %: Disolver 0.1 gramo de aminoácido en 100 ml de agua destilada. Añadir unas gotas de HCl concentrado en caso de que no ocurra la disolución total del aminoácido.
- 2.- ACIDO NITRICO CONCENTRADO
- 3.- HIDROXIDO DE SODIO 10M : En 80 ml de agua destilada fría disolver lentamente 40 gramos de hidróxido de sodio, manteniendo el vaso de precipitados en un baño de hielo. Cuando la solución esté fría, afore con agua destilada hasta un volumen final de 100 ml.
- 4.- CLORURO MERCURICO 0.2M : Disolver 54.428 gramos de HgCl₂ en agua destilada y luego aforar hasta un litro con agua destilada.
- 5.- ACIDO SULFURICO CONCENTRADO
- 6.- ACETATO DE PLOMO 0.2M: Disolver 75.842 gramos de PbOAc·3 H₂O en agua destilada, y luego aforar a un litro.
- 7.- NINHIDRINA AL 0.1%: Disolver 0.100 gramos de ninhidrina en n-butanol, y luego completar a un litro con n-butanol.
- 8.- REACTIVO DE BIURET: Disolver 1.50 gramos de CuSO₄·5 H₂O y 6 gramos de Tartrato de sodio y potasio (NaKC₄H₄O₆ · 4H₂O) en 500 ml de agua destilada, enseguida, adicionar 300 ml de NaOH al 10%, y aforar a un litro con agua destilada.
- 9.- REACTIVO DE HOPKINS-COLE: Colocar 10 gramos de polvo de magnesio en un matraz Erlenmeyer de 1 litro, y añadir agua destilada hasta que cubra completamente al magnesio. Enseguida, agregar lentamente 250 ml de una solución saturada en frío de ácido oxálico y agitar bien el conjunto, enfriando si es necesario. Luego filtre y acidifique el filtrado con ácido acético glacial y diluyendo a un litro con agua destilada.
- 10.- REACTIVO DE MILLON: Disolver 10 gramos de mercurio en 20 ml de Acido Nítrico frío. Cuando la disolución sea completa y haya cesado de desprenderse humos pardos, adicione 60 ml de agua. Después de varias horas, decante el sobrenadante y guardelo en frasco oscuro.

PREPARACION ALTERNATIVA: Prepare una solución de sulfato mercurico al 15% en H₂SO₄ al 15% v/v. mezcle bien y luego caliente a ebullición directamente a la llama del mechero. Ante el color desarrollado por la solución.

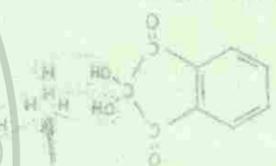
REACCION DE LA NINHIDRINA: Esta prueba permite identificar compuestos que poseen grupos amino libres como son todos los aminoácidos, aminas primarias y secundarias.

Al añadir ninhidrina a una solución que contenga aminoácidos, experimenta una reacción de oxidación y reducción con los grupos amino libres, desarrollándose en grupos carbonilo y amino por desaminación oxidativa. Esta reacción, ocurre a 100°C en gradillas enseguida.

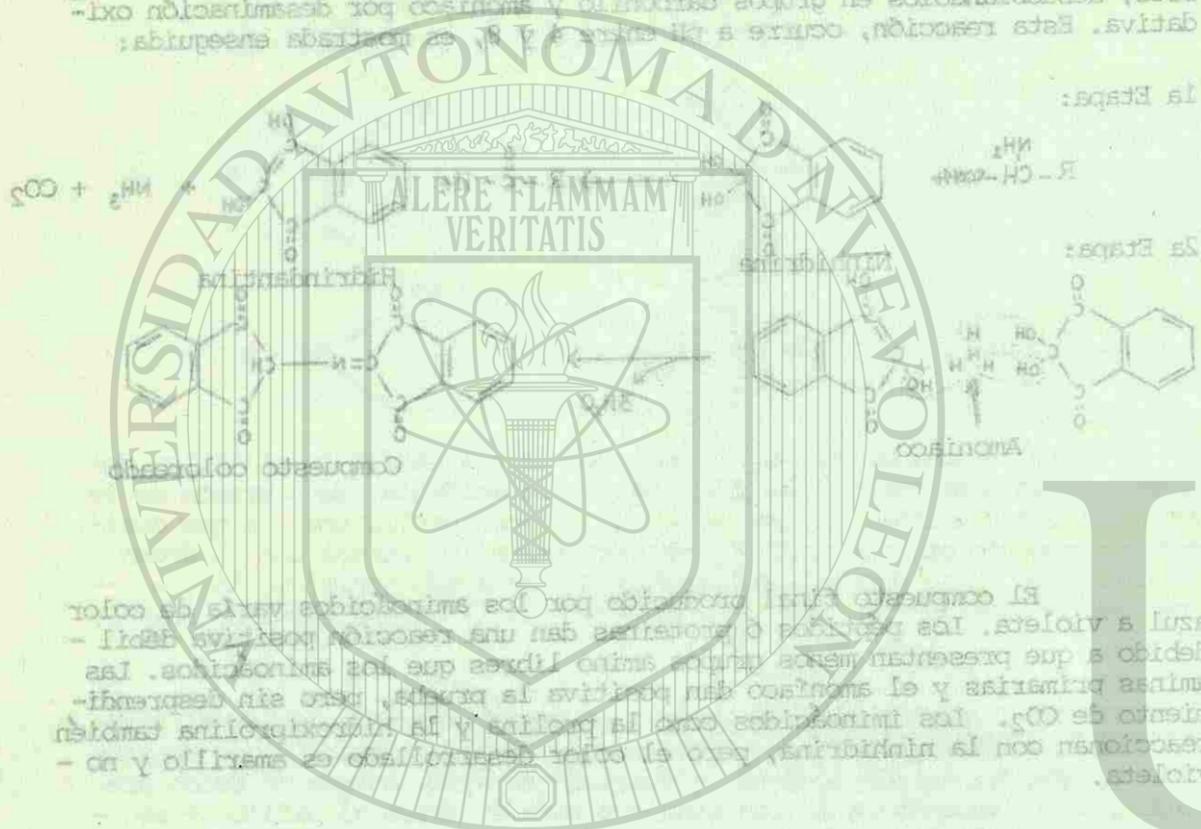
La Esgua:



La Esgua:



Aminoácido



El compuesto final producido por los aminoácidos varía de color azul a violeta. Los aminoácidos con una reacción positiva débil - debido a que presentan menos grupos amino libres que los aminoácidos - aminas primarias y el aminoácido más básico, que aún desarrollan un tinte de CO₂. Los aminoácidos como la prolina y la iminoácidos también reaccionan con la ninhidrina, pero el color desarrollado es amarillo y no violeta.

PRECIPITACION CON SALES DE METALES PESADOS (PRECIPITANTES CATIONICOS): Las proteínas a pH 7 ó superiores a éste se encuentran en forma aniónica, es decir cargadas negativamente, por lo que al adicionar iones de metales pesados cargados positivamente, se neutraliza la carga de la proteína y ésta precipita. En la solución débilmente ácida. En el proceso de precipitación la precipitación de hidróxido metálico. Y cuando hay un exceso de iones de metal pesado el precipitado se puede solubilizar debido a que tal exceso confiere a las partículas cargas positivas estables, por estos motivos, el ensayo se debe efectuar cuidadosamente.

DIRECCIÓN GENERAL DE

PARTE EXPERIMENTAL

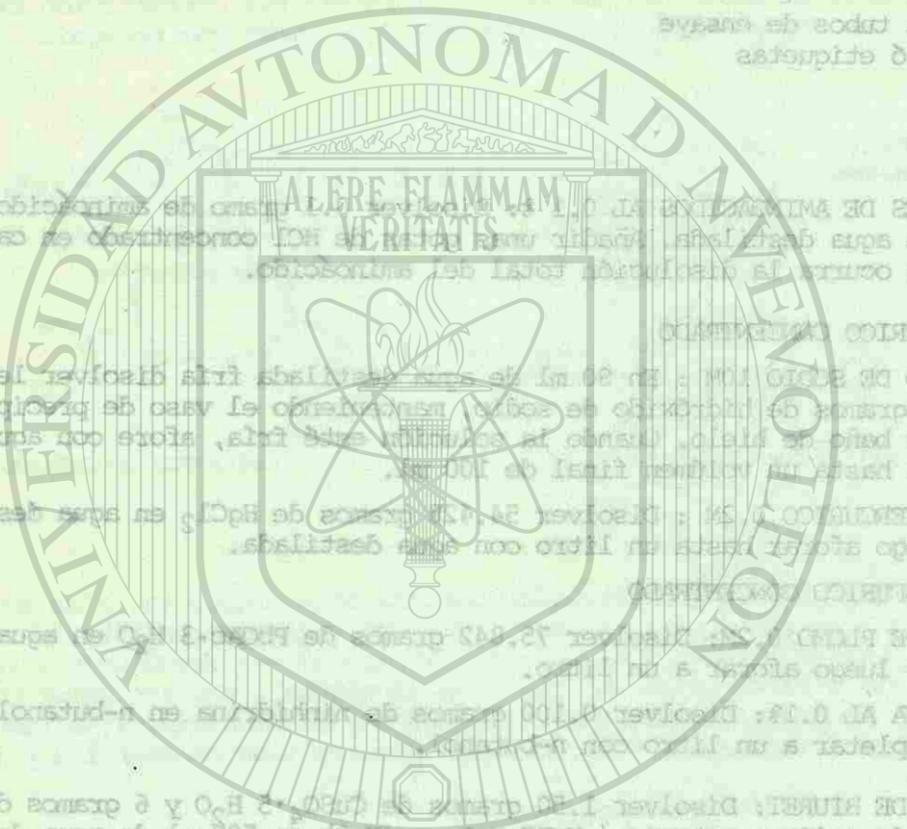
- 1.- PRUEBA DE MILLON: En una serie de tubos de ensaye, transfiera 2 ml de cada una de las soluciones proporcionadas. Añada 5 gotas del Reactivo de Millon, mezcle bien y caliente cuidadosamente la mezcla durante 10 minutos en un baño de agua hirviendo. Observe y anote sus observaciones!
- 2.- REACCION XANTOPROTEICA: Deposite 1 ml de cada una de las soluciones a prueba en una serie de tubos de ensaye, y agregue cuidadosamente 1 ml de ácido nítrico concentrado, mezcle bien, y caliente ligeramente a la llama del mechero. Deje enfriar y observe el color desarrollado. Los tubos pueden ser enfriados al chorro del agua.
Luego adicione gota a gota y con agitación NaOH 10 M (o NH₄OH concentrado) hasta que el líquido sea fuertemente alcalino. Observe el cambio de color.
- 3.- PRUEBA DE BIURET: A 1 ml de las soluciones ensayadas, adicione 2 ml del Reactivo de Biuret y mezcle bien. Observe el color desarrollado y anótelo.
- 4.- REACCION DE HOPKINS-COLE: Adicione 2 ml del Reactivo de Hopkins-Cole a 2 ml de las soluciones en estudio, mezcle bien.
Incline el tubo y vierta suavemente por las paredes del tubo 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, de modo que llegue al fondo y se estratifique, NO MEZCLE. Deje reposar.
Observe el color producido en la zona de contacto entre los dos líquidos, y solo en caso necesario AGITE MUY SUAVEMENTE EL TUBO para conseguir que se produzca la reacción generadora de color.
- 5.- PRECIPITACION CON SALES METALICAS:
 - A) Deposite 3 ml de las soluciones de proteína exclusivamente, en tubos de ensaye de 18 x 150 ml.
 - B) Alcalinice con NaOH diluido hasta un pH de 7 - 8.
 - C) Luego adicione 5 gotas de Acetato de Plomo 0.2M. Describa los resultados obtenidos
 - D) En otra serie de tubos de ensaye de 18 x 150 coloque 3 ml de las soluciones proteicas, alcalinice ligeramente como en el ensayo anterior utilizando NaOH diluido. Luego adicione 5 gotas de cloruro mercurico y anote sus observaciones.
- 6.- PRUEBA DE LA NINHIDRINA: En una serie de tubos de ensaye transfiera 3 ml de las soluciones ensayadas, y adicione 0.5 ml de Ninhidrina al 0.1%, mezcle bien y luego caliente a ebullición directamente a la llama del mechero. Anote el color desarrollado por la solución.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 30 tubos de ensaye de 18 x 150
- 6 pipetas de 5 ml
- 2 pipetas de 10 ml
- 1 mechero
- 2 gradillas
- 1 pinzas para tubos de ensaye
- masking-tape o etiquetas

REACTIVOS

- 1.- SOLUCIONES DE AMINOACIDOS: 100 ml de agua destilada para cada caso de que no ocurra la oxidación del aminoácido.
 - 2.- ACIDO NITRICO CONCENTRADO
 - 3.- HIDROXIDO DE SODIO 10M: En 98 ml de agua destilada disolver 40 gramos de hidróxido de sodio, calentando el vaso de precipitados en un baño de agua hirviendo. Durante la adición de la sustancia, añada agua destilada hasta un volumen final de 100 ml.
 - 4.- CLORURO MERCURICO 0.2M: Disolver 2.537 gramos de HgCl₂ en agua destilada y luego añadir hasta un litro con agua destilada.
 - 5.- ACIDO SULFURICO CONCENTRADO
 - 6.- ACETATO DE PLOMO 0.2M: Disolver 75.045 gramos de Pb(CH₃COO)₂ en agua destilada, y luego añadir a un litro.
 - 7.- NINHIDRINA AL 0.1%: Disolver 100 gramos de ninhidrina en n-butanol, y luego completar a un litro con n-butanol.
 - 8.- REACTIVO DE BIURET: Disolver 1.50 gramos de NaOH en 10 ml de agua destilada y acetato de sodio y acetato de sodio (NaC₂H₃O₂) en 500 ml de agua destilada, añadir 800 ml de NaOH al 10% y añadir a un litro con agua destilada.
 - 9.- REACTIVO DE HOPKINS-COLE: Colocar 10 gramos de polvo de manganeso en un matraz Erlenmeyer de 1 litro y añadir agua destilada hasta que cubra completamente el matraz. Añadir 500 ml de agua destilada y agitar bien el contenido. Añadir 500 ml de ácido oxálico y agitar bien el contenido. Añadir 500 ml de agua destilada y agitar bien el contenido. Añadir 500 ml de agua destilada y agitar bien el contenido. Añadir 500 ml de agua destilada y agitar bien el contenido.
 - 10.- REACTIVO DE MILLON: Disolver 10 gramos de mercurio en 30 ml de ácido nítrico concentrado. Cuando la disolución sea completa y haya cesado de despegarse los tubos de ensaye, añadir 60 ml de agua destilada y agitar bien. Después de varias horas, decante el sobrenadante y guardarlo en frascos oscuros.
- PREPARACION ALTERNATIVA: Prepare una solución de sulfato mercurico al 1.2% en H₂SO₄ al 18% v/v.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCION GENERAL DE LABORATORIOS

3.- PRUEBA DE BURET: Registre sus observaciones

REACCION (+) ó (-)	SOLUCION	OBSERVACIONES



4.- PRUEBA DE HOPKINS-COLEY: Registre sus observaciones en las casillas:

REACCION (+) ó (-)	SOLUCION	OBSERVACIONES

5.- PRECIPITACION CON SALES METALICAS

a) Anote sus observaciones cuando utilizó el Acetato de Plomo

Describe sus precipitados:

SOLUCION	REACCION (+) ó (-)	OBSERVACIONES

b) Anote lo observado cuando adicionó Cloruro Mercurico

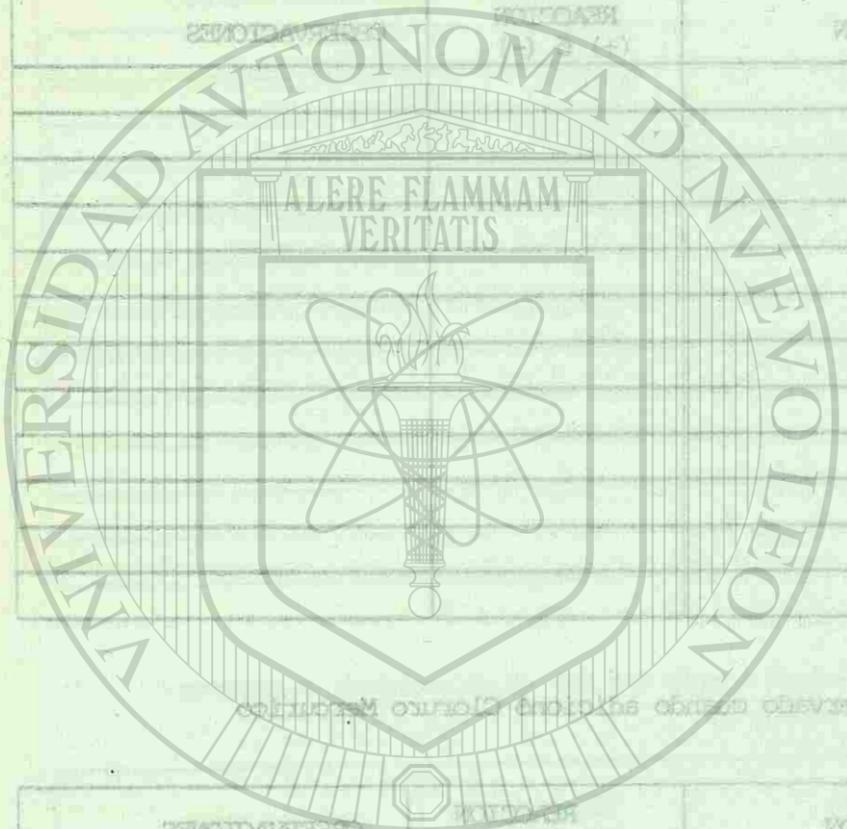
SOLUCION	REACCION (+) ó (-)	OBSERVACIONES

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.- PRECIPITACION CON SALES METALICAS

a) Anote sus observaciones cuando utilice el Acetato de Plomo

SOLUCION	REACCION



b) Anote la observación cuando se añada el Acetato de Plomo

SOLUCION	REACCION (+) ó (-)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6.- PRUEBA DE LA NINHIDRINA

Describa sus observaciones

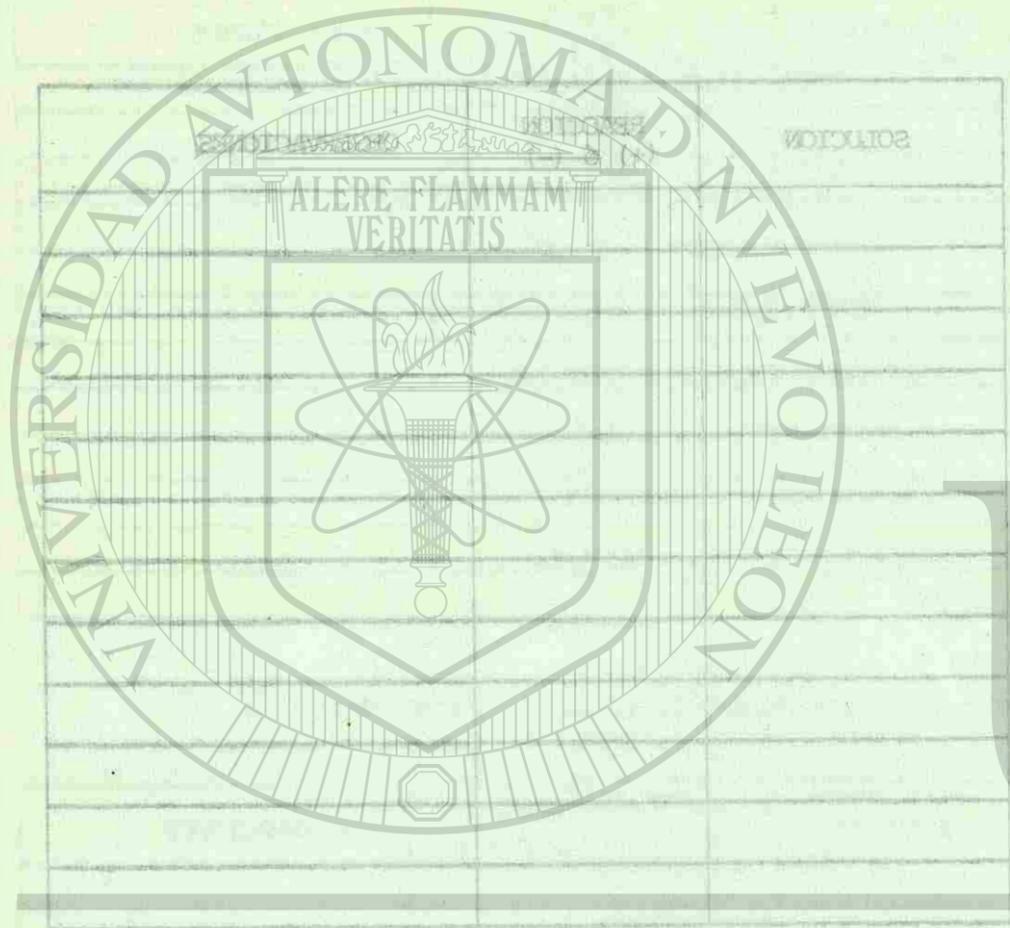
SOLUCION	REACCION (+) ó (-)	OBSERVACIONES

CONCLUSIONES



PRIMERA DE LA MINDRINA

Describe sus observaciones



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

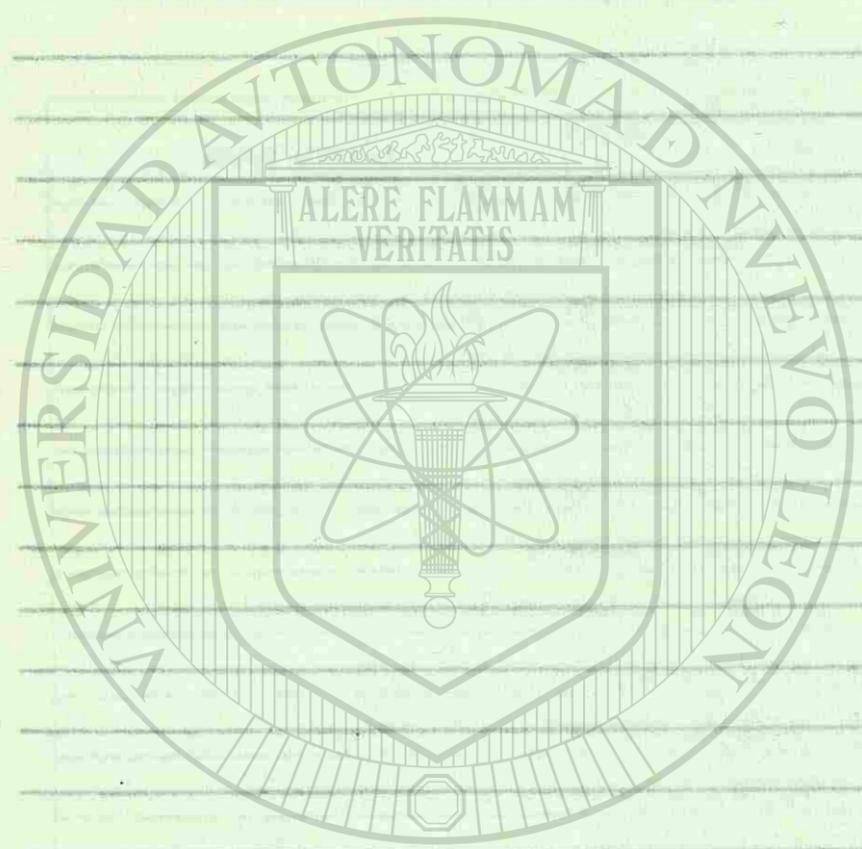
SECCION DE DISCUSION

Handwritten section for discussion, consisting of approximately 15 horizontal lines.

CONCLUSIONES CONSULTAS

Handwritten section for conclusions and consultations, consisting of approximately 6 horizontal lines.

DISCUSIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

COMISIONES

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

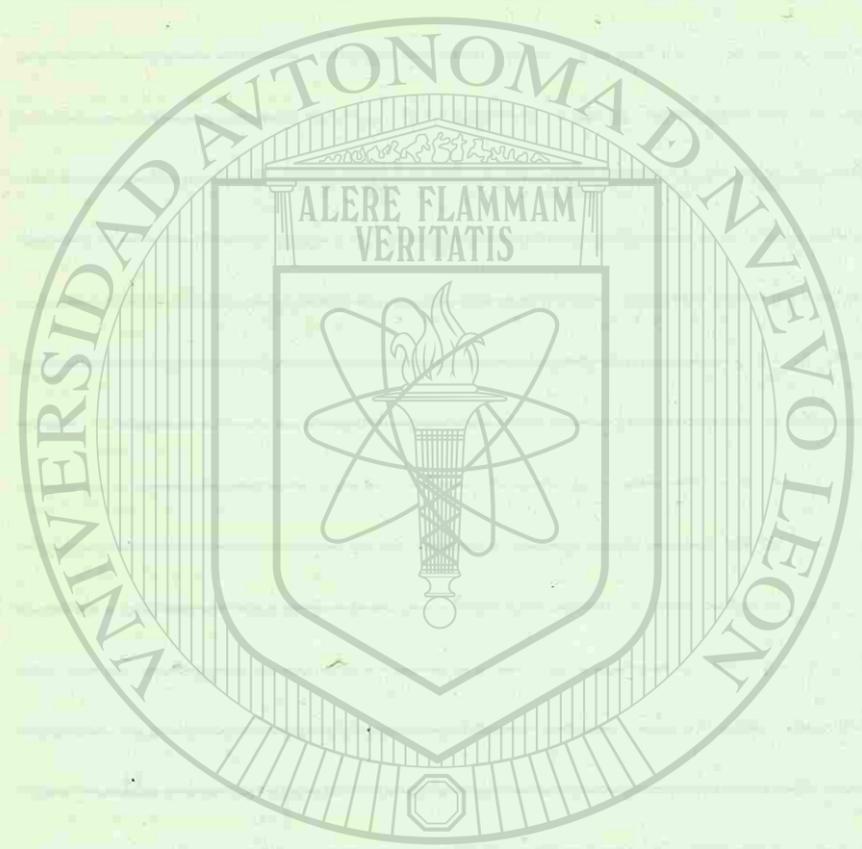
SECCION DE PREGUNTAS:

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bony, R.J. 1981. Introducción a la Biología y Medicina. Editorial Intamericana, S.A. México. Pág: 341-345.
- 2.- Pagan, O.N. 1978. Histología. Parte General. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 1-10.
- 3.- Bony, R.J. 1981. Introducción a la Biología y Medicina. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 341-345.
- 4.- Bony, R.J. 1981. Introducción a la Biología y Medicina. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 341-345.
- 5.- Harper, P.A. 1960. Manual de Genética. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 1-32.
- 6.- Macarulla, H.J. y cols. P.M. 1980. Biología. Tercer curso de Biología estructural. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 98-92, 107-108.
- 7.- Planner, T.D. 1981. Introducción a la Biología Práctica. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 1-10.
- 8.- Toporek, W. 1984. Biología. Editorial Intamericana, S.A. México. pp. 1-10.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGENCIAMIENTO AFASPOLIHA

INTRODUCCION

La caracterización de una proteína en cuanto a su estructura y función biológica, requiere del aislamiento y purificación a partir de la fuente natural. Para ello, es aplicable técnicas que permiten la eliminación de material contaminante; las cuales son métodos suaves que precisan de un trabajo cuidadoso si se quiere obtener proteínas altamente activas, pero no empleadas para otros como B I B L I O G R A F I A

Sin embargo para trabajar con estas bibliotecas es necesario una atención especial. 1.- Baum, S. J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Editorial Continental, S.A. 1a. Edición. Pag: 381- 386.

OBJETIVO

2.- Bhagavan, V.N. 1978. Bioquímica. Nueva Editorial Interamericana, S.A. 1a. Edición. pp: 52-54.

3.- Bohinski, R.C. 1982. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano, S.A. 1a. Edición. pp:93-96

4.- Bronk, R.J. 1980. Biología Química . Una introducción a la Bioquímica. Editorial Continental, S.A.- 1a. Edición. Pág:102, 142-143.

5.- Harper, H .A.1980. Manual de Química Fisiológica. El Manual Moderno, S.A. 7a. Edición Pag:26-32.

FUNDAMENTO

6.- Macarulla, M.J. y Goñi, F.M. 1978. Biomoléculas, lecciones de Bioquímica Estructural. Editorial = Reverté, S.A. 1a. Edición. Pp:88-92, 107-108.

7.- Plummer, T.D. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. 1a. Edición. pp 128-137.

8.- Toporek, M. 1984. Bioquímica. Editorial Interamericana. 3a. Edición. pp: 229-232.

Las alteraciones ocasionadas por agentes físicos como el calor, la radiación, etc., y químicas como los solventes orgánicos, los ácidos, las bases, los sales pesados, etc., sobre las estructuras de las proteínas ocasionan cambios en su actividad biológica, así como en su estabilidad, solubilidad y susceptibilidad incrementada a la hidrólisis catalizada por enzimas proteolíticas. Los agentes físicos como el calor ocasionan la formación de un coágulo (COAGULACION) como ocurre con las albúminas y las globulinas al calentarse. Este fenómeno se presenta mejor cuando la proteína se encuentra cerca de su punto isoelectrónico.



1.- Baum, E. J. 1981. Introducción a la Biología Celular. Edición. Pág. 381-384.
 2.- Braden, V. N. 1978. Biología Celular. Edición. Pág. 53-54.
 3.- Bohrnska, E. C. 1982. Biología Celular. Edición. Pág. 93-96.
 4.- Brock, E. J. 1980. Biología Celular. Edición. Pág. 142-143.
 5.- Harber, H. A. 1980. Manual de Cultivos. Edición. Pág. 25-32.
 6.- Macaulay, M. J. y Gail, E. M. 1978. Biología Celular. Edición. Pág. 107-108.
 7.- Plummer, T. D. 1981. Introducción a la Biología Celular. Edición. Pág. 128-131.
 8.- Rogozek, M. 1984. Biología Celular. Edición. Pág. 229-232.

DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

PROPIEDADES DE LAS PROTEINAS (DESNATURALIZACION, DIALISIS Y EQUILIBRIO DE DONNAN)

INTRODUCCION

La caracterización de una proteína en cuanto a su estructura y función biológica, requiere del aislamiento y purificación a partir de la fuente natural. Para ello, es aplicable técnicas que permiten la eliminación de material contaminante; las cuales son métodos suaves que precisan de un trabajo cuidadoso siendo útiles para el aislamiento de proteínas globulares nativas, pero no empleadas para otros compuestos de carbono biológicamente importantes.

Sin embargo para trabajar con estas biomoléculas es necesario una atención estricta a los detalles puesto que son extremadamente sensibles al calor, al pH, radiaciones, solventes orgánicos. etc; y en algunos casos hasta al agua destilada.

OBJETIVO

Trataremos de demostrar experimentalmente el efecto de los factores ambientales como el calor y el pH sobre la integridad de las proteínas, asimismo observaremos la propiedad que tienen estas moléculas de no atravesar membranas semipermeables, así como la capacidad de un ión no difusible (proteínas) de ocasionar una distribución desigual de iones a ambos lados de la membrana semipermeable.

FUNDAMENTO

DESNATURALIZACION: Este fenómeno, es el cambio que experimentan las moléculas de proteína cuando se exponen a diferentes condiciones como son: cambios de temperatura, pH, sonicación, exposición a la radiación ultravioleta, agitación, solventes orgánicos, altas concentraciones de compuestos polares, trituración. Las alteraciones ocasionadas por estos factores fisicoquímicos son directamente sobre las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas debido al rompimiento de los enlaces no covalentes que mantienen dichas estructuras.

Los efectos de la desnaturalización se manifiestan como pérdida de la actividad biológica, solubilidad disminuida en el punto isoeléctrico, pérdida de la cristabilidad, así como aumento en la levorrotación, asimetría de la molécula y susceptibilidad incrementada a la hidrólisis efectuada por enzimas proteolíticas. Los agentes que ocasionan la desnaturalización de las proteínas se conocen como AGENTES DESNATURALIZANTES.

Cuando las proteínas se colocan a temperaturas superiores a los 35°C sufren el fenómeno de desnaturalización y la alteración es total al llegar a los 80°C. Entre estos límites la solubilidad disminuye observándose la formación de un coágulo (COAGULACION) como ocurre con las albúminas y las globulinas al calentarlas. Este fenómeno se presenta mejor cuando la proteína se encuentra cerca de su punto isoeléctrico.

INTRODUCCION

La caracterización de una proteína en cuanto a su estructura y función biológica, requiere del aislamiento y purificación de la fuente natural. Para ello, es aplicable técnicas que permitan la eliminación de material contaminante; las cuales son métodos que requieren de un cuidado cuidadoso siendo útiles para el aislamiento de proteínas puras como no empleadas para otros compuestos de carácter biológico.

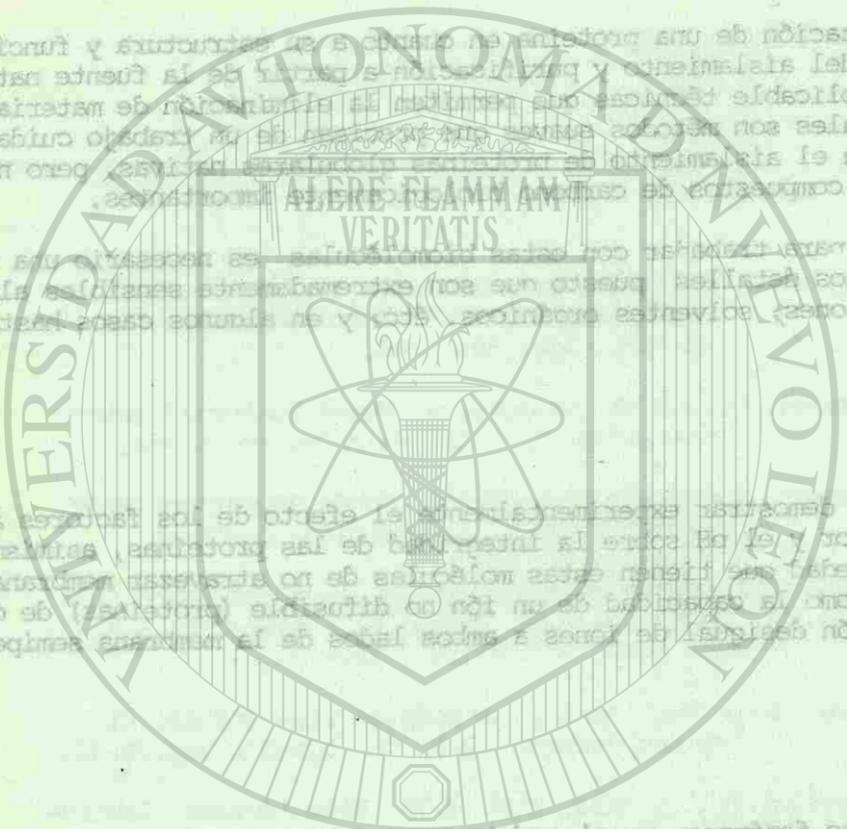
Sin embargo, para trabajar con estas proteínas es necesario una atención especial a los detalles puesto que son extremadamente sensibles al calor, al pH, radiaciones, solventes orgánicos, etc. y en algunos casos hasta al agua destilada.

OBJETIVO

Practicaremos de demostrar experimentalmente el efecto de las fuerzas osmóticas como el calor, el pH, etc. sobre la naturaleza de las proteínas, estudiaremos la propiedad que tienen estas moléculas de no atravesar membranas semipermeables, así como la capacidad de un ión no difusible (proteína) de ocasionar una distribución desigual de los iones a ambos lados de la membrana semipermeable.

FUNDAMENTO

DES NATURALIZACION: Este fenómeno, es el cambio que experimentan las moléculas de proteína cuando se exponen a diferentes condiciones como son cambios de temperatura, pH, sonicación, exposición a la radiación ultravioleta, etc. Los solventes orgánicos, sales concentradas de compuestos polares, etc. ocasionan alteraciones ocasionadas por estos factores físico-químicos. En el caso de las proteínas, las alteraciones ocasionadas por estos factores físico-químicos son irreversibles. Cuando las proteínas se encuentran en solución, las moléculas de proteína se encuentran en un estado de equilibrio con el medio que las rodea. Los efectos de la desnaturalización se manifiestan como pérdida de la actividad biológica, solubilidad disminuida en el punto isoeléctrico, pérdida de la cristalinidad, así como aumento en la levorrotación, asimetría de la molécula y susceptibilidad incrementada a la hidrólisis enzimática por enzimas proteolíticas. Los agentes que ocasionan la desnaturalización de las proteínas se conocen como AGENTES DES NATURALIZANTES. Cuando las proteínas se colocan a temperaturas superiores a los 35°C sufren el fenómeno de desnaturalización y la alteración es total al llegar a los 80°C. Entre estos límites la solubilidad disminuye observándose la formación de un coágulo (COAGULACION) como ocurre con las albúminas y las globulinas al calentarse. Este fenómeno se presenta mejor cuando la proteína se encuentra cerca de su punto isoeléctrico.

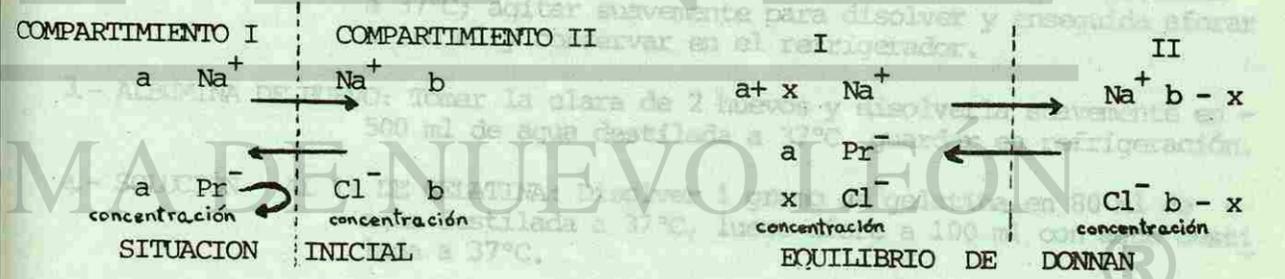


DES NATURALIZACION POR SOLVENTES ORGANICOS: Sustancias orgánicas como el alcohol, la acetona, éter con una baja constante dieléctrica, al ser adicionadas a soluciones acuosas de proteína, reducen la constante dieléctrica de esas soluciones, abatiendo la afinidad de la proteína por el solvente, por lo que estas biomoléculas se disuelven menos y precipitan de la solución.

PRECIPITACION POR ANIONES: Los iones negativos se combinan con las proteínas cargadas positivamente (a pH ácido con respecto al punto isoeléctrico), precipitando en forma de sales de proteína; algunas de estas sales son insolubles. Entre estos agentes precipitantes figuran el ácido tricloroacético, ácido pírico, ácido tánico, ácido fosfomolibdico, tungstico, y aniones como el metafosfato.

EQUILIBRIO DE DONNAN: Donnan en 1911, demostró que cuando una solución de proteína cargada se separa de una solución salina mediante una membrana semipermeable, la macromolécula no atraviesa la membrana, pero su contraíón sí, obteniéndose una distribución desigual de iones a ambos lados de la membrana en el equilibrio, lo cual genera una diferencia de potencial eléctrico a través de ella. Este tipo de distribución de iones en el equilibrio, debido a la presencia de un ión no-difusible en un compartimiento, se ha llamado EQUILIBRIO DE DONNAN; el cual se rige por las siguientes reglas:

- 1a. Ley: La suma de cationes es igual a la suma de aniones en cada uno de los compartimientos.
- 2a. Ley: El producto de los dos iones (anión y catión) de cualquier sal difusible es igual en los dos compartimientos.
- 3a. Ley: La suma de cationes difusibles es mayor en el compartimiento que contiene el anión coloidal no difusible.
- 4a. Ley: La suma total de iones es mayor en el compartimiento del coloide iónico.



Este equilibrio de Donnan se puede poner de manifiesto dializando una solución de proteína cargada negativamente contra un mismo volumen de agua destilada. Como sabemos, la proteína no puede atravesar la bolsa de diálisis pero si contraíón sí (el Na⁺); esto ocasiona un exceso de cationes en el líquido exterior, por lo que para mantener la neutralidad eléctrica ahí, el agua de diálisis generando iones H⁺ y OH⁻; los iones H⁺ migran al interior de la bolsa de diálisis ocasionando una disminución del pH, mientras que el líquido exterior al conservar los OH⁻ incrementa su pH.

SOLUCION B: NaOAc 0.2M. Disolver 16.31 gramos de acetato de sodio anhidro ó 27.22 gramos de acetato de sodio trihidratado en 100 ml de agua destilada y adular a un litro.

B.-REACTIVO DE BURET.

PART. EXPERIMENTAL

DIALISIS: Las membranas dialíticas son permeables al agua y solutos verdaderos, pero impiden el paso a los solutos coloidales debido a su gran tamaño. Por ello, mediante la DIALISIS, podemos separar solutos (cristaloides) de solutos coloidales (proteínas), en virtud a que los coloides por sus grandes dimensiones quedan retenidos dentro de la membrana.

La diálisis se emplea durante la purificación de proteínas para separar los agentes precipitantes de proteínas utilizados en el primer paso de su aislamiento como son las sales neutras (NH₄SO₄) ó etanol.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 3 vasos de precipitados de 250 ml (6 frascos Gerber)
- 2 pipetas de 10 ml
- 2 pipetas de 1 ml
- 10 tubos de ensaye de 18 x 150
- 5 tubos de ensaye de 13 x 100
- 1 gradilla
- 1 pinzas para tubos de ensaye
- Mechero
- Tripié y tela de asbesto

REACTIVOS

- 1.- **FENOLFTALEINA AL 0.5%:** Disolver 0.5 gramos de fenolftaleina en 100 ml etanol.
- 2.- **GELATINA AL 2%:** Disolver 2 gramos de gelatina en 80 ml de agua destilada a 37°C; agitar suavemente para disolver y enseguida aforar a 100 ml y conservar en el refrigerador.
- 3.- **ALBUMINA DE HUEVO:** Tomar la clara de 2 huevos y disolverla suavemente en 500 ml de agua destilada a 37°C. guardar en refrigeración.
- 4.- **SOLUCION AL 1% DE GELATINA:** Disolver 1 gramo de gelatina en 80 ml de agua destilada a 37°C, luego aforar a 100 ml con agua destilada a 37°C.
- 5.- **SOLUCION DE CASEINA AL 0.1%** Disolver 0.1 gramo de caseína en 80 ml de agua destilada a 37°C y luego aforar a 100 ml con agua a 37°C
- 6.- **SOLUCION DE PEPTONA AL 1%:** Disuelva suavemente 1 gramo de peptona en 100 ml de agua destilada tibia a 37°C.
- 7.- **REGULADOR DE ACETATOS pH 4.6:** Mezclar 15.5 ml de la solución A y 24.5 ml de la solución B y aforar a 100 ml con agua destilada.
SOLUCION A: HOAc 0.2M: Diluir 11.5 ml de ácido acético concentrado a 1 litro con agua destilada
SOLUCION B: NaOAc 0.2M: Disolver 16.31 gramos de acetato de sodio anhidro ó 27.22 gramos de acetato de sodio trihidratado en 800 ml de agua destilada y luego aforar a un litro.
- 8.- **REACTIVO DE BIURET.**

DESATURACION POR SOLVENTES ORGANICOS: Sustancias orgánicas como el alcohol, la acetona, éter con una baja constante dieléctrica, al ser adicionadas a soluciones acuosas de proteínas, reducen la constante dieléctrica de esas soluciones, abatiendo la afinidad de la proteína por el solvente, por lo que estas biomoléculas se disuelven menos y precipitan de la solución.

PRECIPITACION POR ANIONES: Los iones negativos se combinan con las proteínas cargadas positivamente (a pH ácido) formando complejos (precipitados) que al estar en forma de sales de proteínas con aniones precipitantes como el fosfato, ácido fólico, ácido tartárico, ácido oxalárico y ácidos como el metáforato.

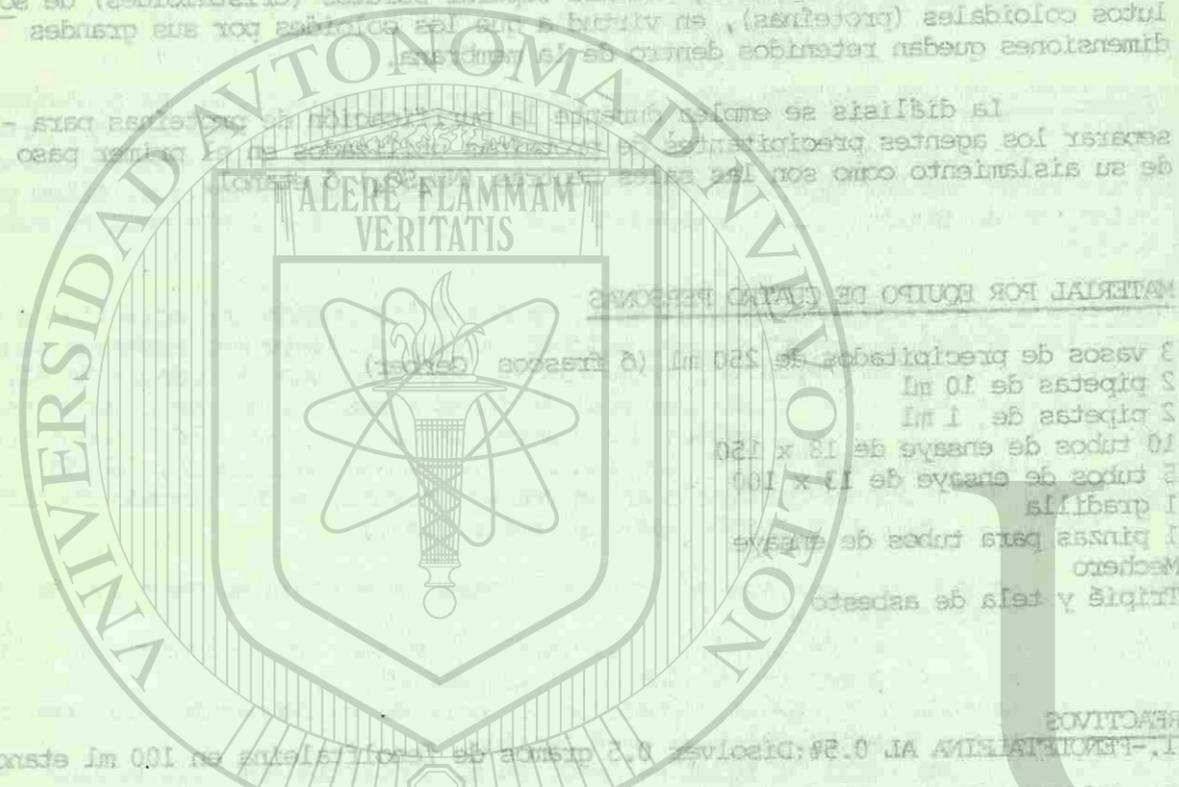
EQUILIBRIO DE DONNAN: Donnan en 1911, demostró que cuando una solución de proteína cargada se separa de una solución salina mediante una membrana permeable, la biomolécula no atraviesa la membrana, pero su concentración sí. obteniéndose una distribución desigual de iones a ambos lados de la membrana. En el equilibrio, la carga negativa de la proteína es igual a la carga positiva de los iones de la solución salina. Este tipo de distribución de iones en el equilibrio, debido a la presencia de un ión no difusible en un compartimiento, se ha llamado EQUILIBRIO DE DONNAN, el cual se rige por las siguientes leyes:

- 1ª Ley: La suma de cationes es igual a la suma de aniones en cada uno de los compartimientos.
- 2ª Ley: El producto de los iones (anión y catión) de cualquier lado de la membrana es igual en los dos compartimientos.
- 3ª Ley: La suma de cationes diluidas es mayor en el compartimiento que contiene el anión coloidal no difusible.
- 4ª Ley: La suma total de iones es mayor en el compartimiento del coloidal.



Este equilibrio de Donnan se puede poner de manifiesto dializando una solución de proteína cargada negativamente contra un mayor volumen de agua desionada. Como sabemos, la proteína no puede atravesar la bolsa de diálisis pero el agua sí. Si se coloca un exceso de cationes en el líquido exterior, por lo que para mantener la neutralidad eléctrica allí, el agua de diálisis generará iones H⁺ y OH⁻; los iones H⁺ migran al interior de la bolsa de diálisis ocasionando una disminución del pH, mientras que el líquido exterior al conservar los OH⁻ incrementa su pH.

DIALISIS: Las membranas dialíticas son permeables al agua y a los iones verdaderamente disueltos, pero impiden el paso a los solutos coloidales debido a su gran tamaño. Por ello, mediante la DIALISIS, podemos separar solutos (cristaloides) de los solutos coloidales (proteínas), en virtud de las diferencias de sus grandes dimensiones que quedan retenidas dentro de la membrana.



MATERIAL POR EQUIPO DE CADA PERSONA
3 vasos de precipitados de 150 ml (6 frascos) 2 pipetas de 10 ml 2 pipetas de 1 ml 10 tubos de ensayo de 18 x 150 5 tubos de ensayo de 13 x 100 1 gradilla 1 pinzas para tubos de ensayo Mechero Trípode y tela de asbesto
REACTIVOS
1.- FENOLTALEINA AL 0.5%: Disolver 0.5 gramo de fenolftaleína en 100 ml etanol.
2.- GELATINA AL 2%: Disolver 2 gramos de gelatina en 80 ml de agua destilada a 37°C; agitar suavemente para disolver y enseguida filtrar a 100 ml y conservar en el refrigerador.
3.- ALBUMINA DE HUEVO: Tomar la clara de 3 huevos y disolverla suavemente en 500 ml de agua destilada a 37°C; purgar en refrigerador.
4.- SOLUCIÓN AL 1% DE GELATINA: Disolver 1 gramo de gelatina en 80 ml de agua destilada a 37°C; luego store a 100 ml con agua destilada a 37°C.
5.- SOLUCIÓN DE CASEÍNA AL 0.1%: Disolver 0.1 gramo de caseína en 80 ml de agua destilada a 37°C; luego store a 100 ml con agua a 37°C.
6.- SOLUCIÓN DE SERUO AL 1%: Disolver suavemente 1 gramo de peptonas en 100 ml de agua destilada; titula a 37°C.
7.- REGULADOR DE ACETATOS AL 4.6%: Mezclar 15.2 ml de la solución A y 24.2 ml de la solución B y agitar a 100 ml con agua destilada.
SOLUCIÓN A: H2OAc 0.2M; Diluir 15.2 ml de ácido acético concentrado a 1 litro con agua destilada.
SOLUCIÓN B: NaOAc 0.2M; Disolver 16.31 gramos de acetato de sodio anhidro o 27.23 gramos de acetato de sodio cristalizado en 800 ml de agua destilada y luego store a un litro.
8.- REACTIVO DE BIURET.

PARTE EXPERIMENTAL

I.-DES NATURALIZACION POR CALOR (COAGULACION)

Prepare tres tubos de ensayo de 18 x 150 como se indica enseguida:

TUBO	Albumina 1%	Reg. Acetatos pH 4.6	HCl 0.1M	NaOH 0.1M
1	9 ml	---	1 ml	---
2	9 ml	---	---	1 ml
3	9 ml	1 ml	---	---

Coloque los tres tubos en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos, y enfríelos al chorro de agua corriente. Anote en cuales tubos ocurrió coagulación. En los tubos donde no se haya presentado este fenómeno, adicioneles 2 ml de Regulador de acetatos pH 4.6, y anote sus observaciones.

II.-DES NATURALIZACION POR SOLVENTES ORGANICOS

- a) En 4 tubos de 18 x 150, coloque 2 ml de las soluciones de proteína proporcionadas. Enseguida, agréqueles 2 ml de acetona y anote sus observaciones. En un 5o. tubo adicione 2 ml de agua destilada y 2 ml de acetona.
- b) En 4 tubos de ensayo de 18 x 150, coloque 2 ml de las soluciones proteicas bajo estudio, y en un 5o. tubo adicione 2 ml de agua destilada. A todos los tubos añádales 2 ml de etanol, y observe. Anote los cambios ocurridos.

III.-PRECIPITACION POR ANIONES

- a) En una serie de 4 tubos de ensayo deposite 2 ml de las soluciones bajo estudio, en tanto que en el tubo 5 agregue 2 ml de agua. Agregue luego a todos los tubos 1 ml de Acido Tricloroacético saturado, mezcle y anote sus observaciones.
- b) En una serie de 4 tubos de ensayo de 18 x 150 transfiera 2 ml de las soluciones proteicas y en un tubo número 5 coloque 2 ml de agua. A todos los tubos adicioneles 1 ml de Acido Sulfosalicílico saturado, mezcle, y anote lo ocurrido.

IV.- DIALISIS

- a) Corte un tubo de celofán de 25 cm de longitud
- b) Humedezcalo con agua destilada y átelo cuidadosamente por un extremo,
- c) Transfiera dentro de la bolsa de celofán 20 ml de Albúmina al 1% y cierre la bolsa atando el otro extremo.
- d) Introduzca la bolsa de diálisis en un vaso de precipitados de 400 ml conteniendo 300 ml de agua destilada, y déjela ahí por 90 minutos.
- e) Corra un blanco colocando 20 ml de NaCl 0.85% dentro de la bolsa de diálisis
- f) Una vez transcurrido el tiempo indicado, efectue la Prueba de Biuret tanto al líquido exterior como a la solución del interior de la bolsa de diálisis.
- g) Registre sus resultados.

PARTE EXPERIMENTAL

I.-DES NATURALIZACION POR CALOR (COAGULACION)

Prepárese tres tubos de ensayo de 18 x 150 como se indica enseguida:

TUBO	Albúmina 1%	Regulador de pH
1	2 ml	
2	2 ml	
3	2 ml	

Coloque los tres tubos en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos. Y entienda al color de cada tubo. Anote en un cuaderno las observaciones. En los tubos 2 y 3 añada 2 ml de acetato de sodio 10% y anote sus observaciones.

II.-DES NATURALIZACION POR SOLVENTES ORGANICOS

a) En 4 tubos de ensayo de 18 x 150 coloque 2 ml de las soluciones de proteínas. Enseguida añada 2 ml de acetato de sodio 10% y anote sus observaciones. En un 5o. tubo añada 2 ml de agua destilada y 2 ml de acetato.

b) En 4 tubos de ensayo de 18 x 150 coloque 2 ml de las soluciones proteicas. En un 5o. tubo añada 2 ml de agua destilada. A todos los tubos añada 2 ml de etanol y observe. Anote las observaciones.

III.-PRECIPITACION POR ANIONES

a) En una serie de 4 tubos de ensayo añada 2 ml de las soluciones paja estudio, en tanto que en el tubo 5 añada 2 ml de agua. Después luego a todos los tubos 1 ml de ácido trinitrobenzoico saturado, mezcle y anote sus observaciones.

b) En una serie de 4 tubos de ensayo de 18 x 150 añada 2 ml de las soluciones proteicas y en un 5o. tubo añada 2 ml de agua. A todos los tubos añada 1 ml de ácido sulfosalicílico saturado, mezcle y anote las observaciones.

IV.-DIALISIS

a) Haga un baño de agua destilada de 15 cm de longitud y humedezca con agua destilada y átelo cuidadosamente por un extremo. b) Transfiera dentro de la bolsa de celofán 20 ml de albúmina al 1% y cierre la bolsa estado el otro extremo. c) Introduzca la bolsa de dialisis en un vaso de precipitados de 400 ml conteniendo 300 ml de agua destilada y déjala ahí por 30 minutos. d) Corte un blanco colocando 20 ml de NaCl 0.85% dentro de la bolsa de dialisis. Una vez transcurrido el tiempo indicado, extraiga la bolsa de dialisis al líquido exterior como a la solución del interior de la bolsa de dialisis. Registre sus resultados.



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

V.-EQUILIBRIO DE DONNAN

- Húmedezca un tubo de celofán de 25 cm de longitud con agua destilada, y átelo por un extremo.
- Con una pipeta, deposite en el interior 20 ml de gelatina al 2% de pH= 9, y 4 gotas de fenolftaleína. Anote el color que toma la solución.
- Ate el otro extremo de la bolsa y cerciorese de que esté bien cerrada.
- En un vaso de precipitados de 250 ml ó en un frasco Gerber, coloque 20 ml de agua destilada pH= 7 y adicionele 4 gotas de fenolftaleína. Registre el color que toma la solución.
- Introduzca la bolsa de dialisis conteniendo la proteína dentro del frasco -- Gerber con el agua destilada pH=7.
- Deje en reposo durante 90 minutos. Transcurrido ese tiempo registre los colores tanto del líquido exterior como del interior de la bolsa de diálisis y
- Con el potenciómetro determine el pH de ambas soluciones. Regístrelo.

RESULTADOS

I.-DES NATURALIZACION POR CALOR (COAGULACION)

En la siguiente tabla anote las observaciones tenidas en este experimento

TUBO	Después de Calentar	Después de adicionar regulador de acetatos pH = 4.6

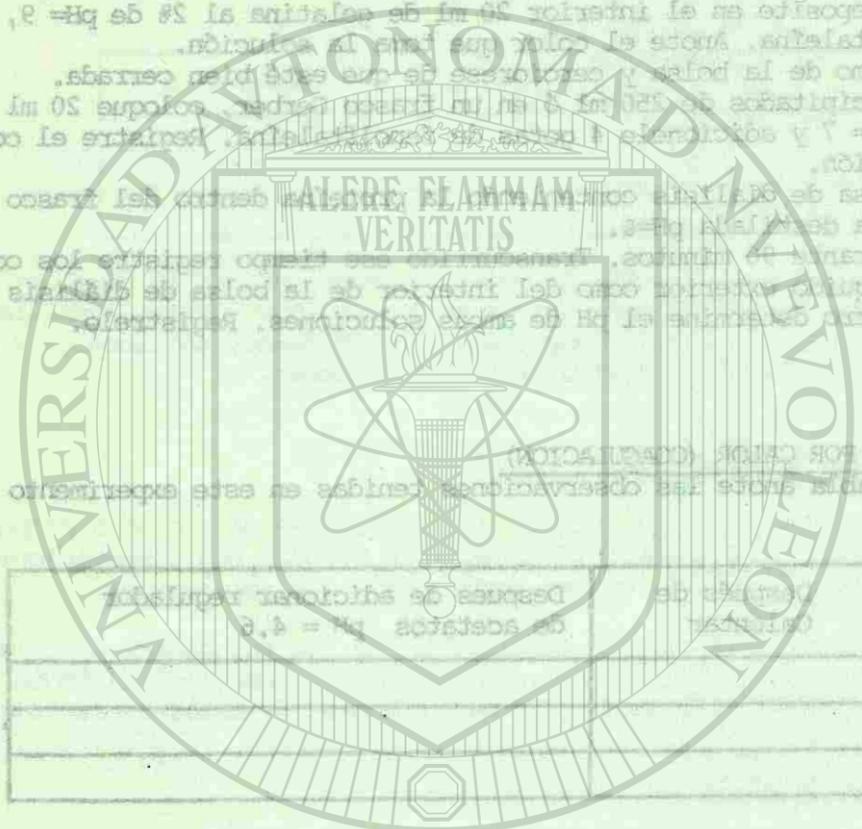
II.-DES NATURALIZACION POR SOLVENTES ORGANICOS

Informe en la siguiente tabla los resultados que obtuvo con los dos solventes utilizados,

SOLUCION PROTEICA	ACETONA	ETANOL

V.-EQUILIBRIO DE IONIAS

a) Humedece un tubo de color de 25 cm de longitud con agua destilada, y ántalo por un extremo.
 b) Con una pipeta, deposita en el interior 20 ml de acetato al 2% de pH = 9, y 4 gotas de fenolftaleína. Ántalo el tubo.
 c) Ántalo el otro extremo de la bolsa, y colócala en un vaso de agua destilada.
 d) En un vaso de precipitados de 250 ml, en un frasco de 250 ml, colócale 20 ml de agua destilada a pH = 7 y adóctale 1 ml de fenolftaleína. Ántalo el color que toma la solución.
 e) Introduce la bolsa de dialisis con el tubo de color dentro del frasco.
 f) Déjalo en reposo durante 30 minutos. Transcurrido ese tiempo repite los color.
 g) Con el potenciómetro, determina el pH de ambas soluciones. Repítelo.



RESULTADOS

I.-DESATURACION POR CALOR (COAGULACION)
 En la siguiente tabla anote sus observaciones hechas en este experimento

TUBO	Observaciones

II.-DESATURACION POR SOLVENTES ORGANICOS
 Coloque en la siguiente tabla sus resultados que obtuvo con los dos solventes

SOLUCION PROTEICA	ACETONA	ETANOL

III.-PRECIPITACION POR ANIONES

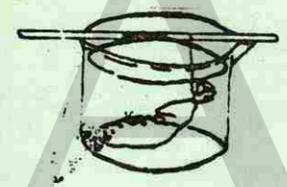
Anote en la tabla sus observaciones.

SOLUCION PROTEICA	ACIDO TRICLOROACETICO	ACIDO SULFOSALICILICO

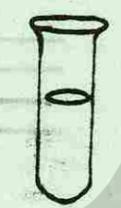
IV.- DIALISIS

Utilice los dibujos para presentar lo ocurrido en este experimento.

SOLUCION PROTEICA



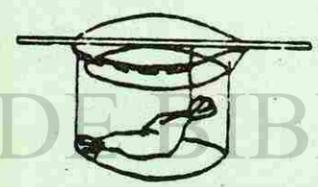
PRUEBA DE BIURET



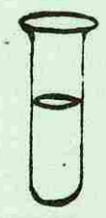
Color de la solución interna
 pH de la solución interna
 Color de la solución exterior
 pH del líquido exterior

SITUACION AL EQUILIBRIO

BLANCO (NaCl)



PRUEBA DE CLORUROS

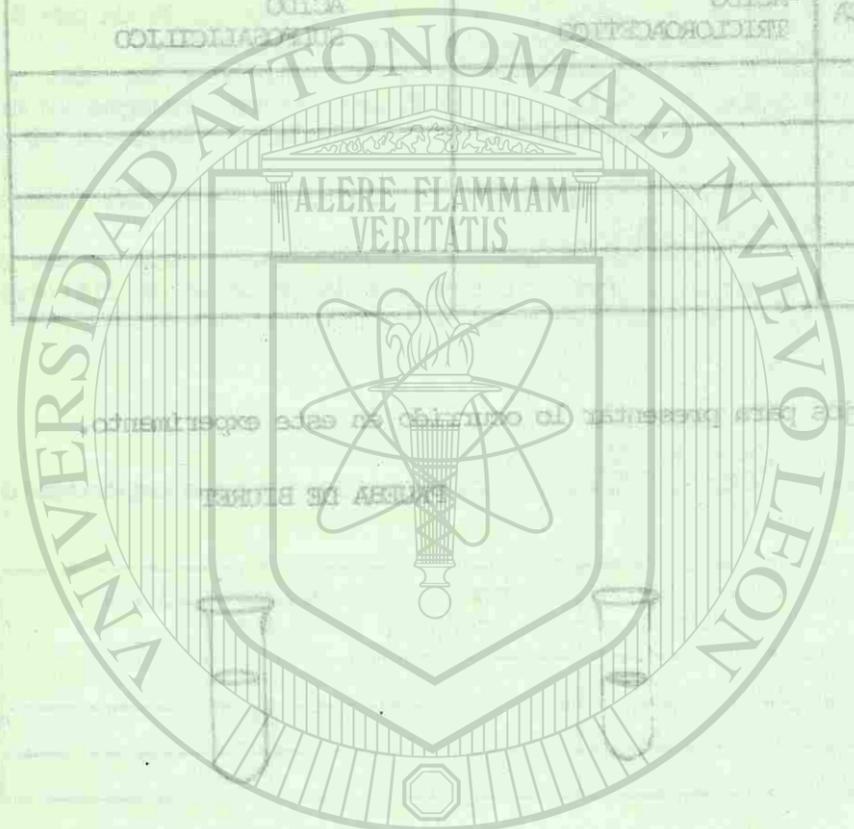


Color de la solución interna
 pH de la solución interna
 Color de la solución exterior
 pH del líquido exterior



III.- PRECIPITACION POR ANIONES
Anote en la tabla sus observaciones.

SOLUCION PROTEICA	ACIDO TRICloroacetico	ACIDO SULFONICO



IV.- DIÁLISIS
Utilice los dibujos para presentar los resultados de este experimento.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN

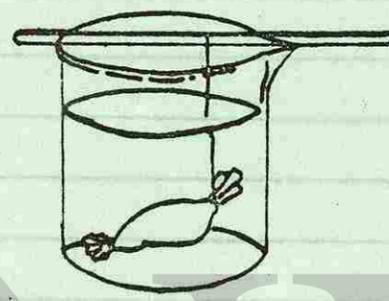


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

V.- EQUILIBRIO DE DONNAN

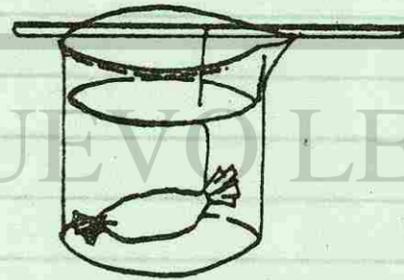
En los siguientes esquemas, represente las observaciones que usted tuvo tanto al inicio como al final del experimento.

SITUACION INICIAL



Color de la solución interna _____
 pH de la solución interna _____
 Color del líquido exterior _____
 pH del líquido exterior _____

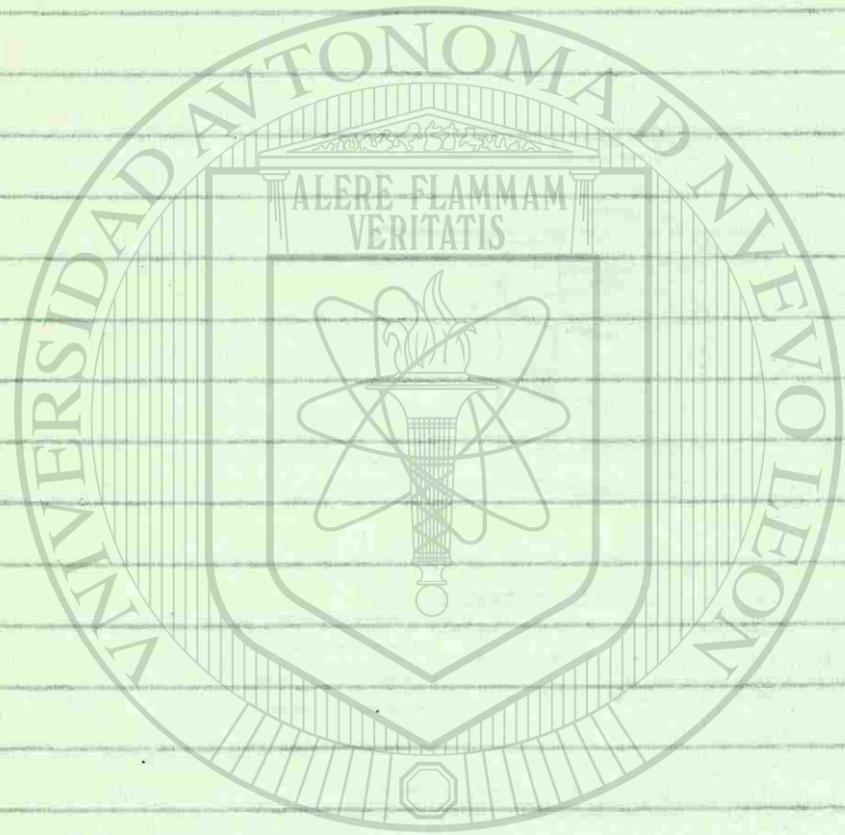
SITUACION AL EQUILIBRIO



Color de la solución interna _____
 pH de la solución interna _____
 Color de la solución externa _____
 pH del líquido exterior _____

DISCUSION

Discuta cada uno de sus experimentos por separado.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS

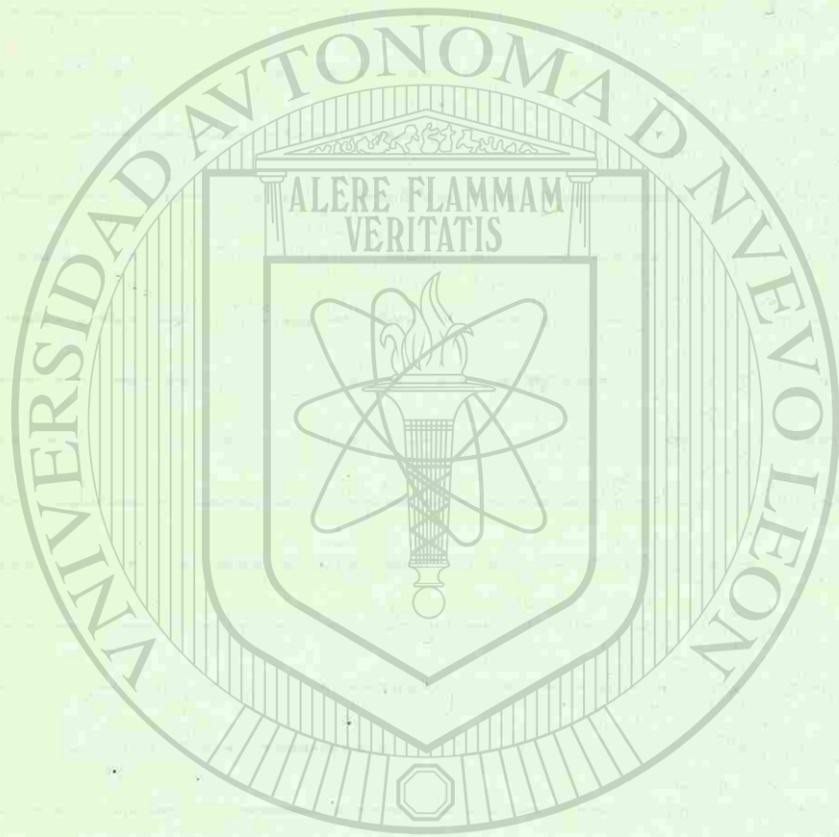
BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bhagavan, S. N. 1935. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 2.- Bohinski, R. G. 1937. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 3.- Macarulla, J. A. 1937. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 4.- Mazza, A. 1937. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 5.- Pittenger, C. 1937. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 6.- Ramsey, J. B. 1937. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 7.- ... 1974. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.
- 8.- Strayer, L. 1979. *Religión y Filosofía*. Editorial Espasa-Calpe. pp: 227-231.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA COMUNITARIA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

La leche es un alimento importante en la dieta humana. Es el único recurso del que depende el desarrollo y crecimiento de los niños recién nacidos.

BIBLIOGRAFIA

La leche de vaca es una fuente fundamental de proteínas, carbohidratos y lípidos. El 12.7% de sólidos totales, y presentes en ella son la caseína y la lactalbúmina. Las caseínas se encuentran en un grupo de proteínas que se caracterizan por su estructura globular y su capacidad de formar micelas.

1.-Bhagavan, N.V. 1978. Bioquímica. Editorial Interamericana, S.A. 3a. Edición. pp 227- 231.

2.-Bohinski, R.C. 1982. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. 2a. Edición. pp: 227-231.

3.-Macarulla, J.N. y Goñi, F.M. 1978. Biomoléculas. Editorial Reverté, S.A. 1a. Edición pp:113-114.

4.-Mazur, A y B. Harrow. 1973. Bioquímica Básica. Editorial Interamericana, 10a.edición. pp:87.

5.-Plummer, D.T. 1981. Introducción a la Bioquímica Práctica. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana, S.A. 1a. edición. pp: 47-49 , 134-136.

6.-Ramsey, J.B. 1980. Biología Química, una introducción a la Bioquímica. Editorial Continental, S.A . 1a. edición. pp: 559-564.

7.-Rendina, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana, la edición. pp:55-60.

8.-Stryer, L. 1979. Bioquímica. Editorial Reverté, S.A. 1a. edición. pp 19-20, 36.

9.-Toporek, M. 1984, Bioquímica. Editorial Interamericana, S.A. 3a. edición. pp:227-231.

Intentaremos en este experimento separar la caseína de la lactalbúmina, ajustando el pH de la leche a 4,8, que es el punto isoeléctrico de esta proteína, y trataremos de hacer una estimación cuantitativa presente en el suero.

FUNDAMENTO

Las proteínas muestran muchas de las propiedades anfotéricas de los aminoácidos. Al disolverse, las proteínas se comportan como si fueran aminoácidos, y se ionizan de la misma manera, ya que los grupos R de los



1.- Bhagavan, N.V. 1976. *Introducción a la Bioquímica*. Editorial Interamericana, S.A. 3a. edición. pp. 127-131.

2.- Borstnik, J.C. 1982. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 227-231.

3.- Macosko, J.M. y González, E.M. 1978. *Biología Celular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 113-114.

4.- Murray, R. y Harrow, J.B. 1978. *Biología Celular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 87.

5.- Plummer, R.F. 1981. *Introducción a la Bioquímica*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 47-48, 134-135.

6.- Ramsey, J.B. 1980. *Biología Celular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 22-24.

7.- Rendón, G. 1974. *Técnicas de laboratorio aplicadas*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 25-30.

8.- Stryer, L. 1975. *Biología Celular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 19-20, 36.

9.- Toplek, M. 1984. *Biología Celular*. Editorial Interamericana, S.A. 2a. edición. pp. 127-131.

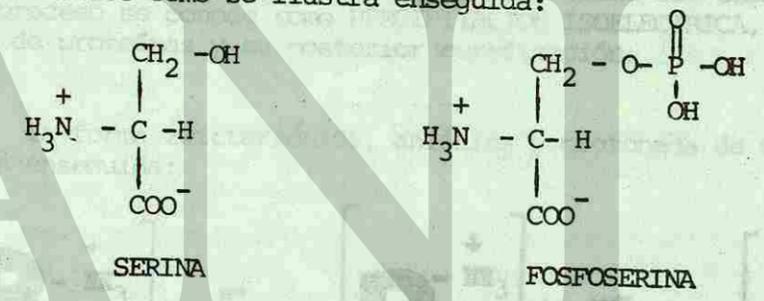
OBTENCION DE LA CASEINA A PARTIR DE LA LECHE

INTRODUCCION

La leche es un alimento importante en la dieta humana. Es el único recurso del que depende el desarrollo y crecimiento de los niños recién nacidos.

La leche de vaca es una fuente fundamental de proteínas, carbohidratos y lípidos. Contiene aproximadamente un 5% de Lactosa, 3.7% de Grasa 12.7% de Sólidos Totales, y un 87.6% de agua. Las proteínas principales presentes en ella son la Caseína y la Lactalbúmina, las cuales se encuentran en un 2.9% y un 0.5% respectivamente.

La lactalbúmina es una proteína soluble, parecida a la albúmina sérica y a la ovoalbúmina. La caseína es una proteína conjugada que se incluye dentro del grupo de las fosfoproteínas, ya que algunos de los residuos de serina presentes en la caseína tienen su grupo hidroxilo unido a un ácido fosfórico como se ilustra enseguida:



Aunque el contenido de proteínas de la leche de vaca es relativamente bajo, es mayor que el de la leche humana. La caseína, así como otras proteínas de origen animal como la miosina y la albúmina de huevo, contienen todos los aminoácidos esenciales para el crecimiento y desarrollo humano.

OBJETIVO

Intentaremos en este experimento separar la caseína de la leche, ajustando el pH de la misma a 4.8, que es el punto isoeléctrico de esta proteína, y trataremos de hacer una estimación cuantitativa presente en este alimento.

FUNDAMENTO

Las proteínas muestran muchas de las propiedades anfotéricas de los aminoácidos. Al disolverse, las proteínas se comportan como si fueran aminoácidos, y se ionizan de la misma manera, ya que los grupos R de los

ORIENTACION DE LA CASIINA A PARTIR DE LA LECHE

INTRODUCCION

La leche es un alimento importante en la dieta humana. Es el único recurso del que depende el desarrollo y crecimiento de los niños recién nacidos.

La leche de vaca es una fuente importante de proteínas, grasas y lípidos. Contiene aproximadamente un 3.5% de grasas, 12.7% de sólidos totales y un 87.6% de agua. Las proteínas principales presentes en ella son la caseína y la lactalbúmina, las cuales se encuentran en un 2.9% y un 1.2% respectivamente.

La lactalbúmina es una proteína soluble, formada a la albúmina sérica y la ovalbúmina. La caseína es una proteína conjugada que se encuentra dentro del grupo de las fosforoproteínas, ya que algunos de los grupos de serina presentes en la caseína tienen un grupo hidroxilo unido a un estado fosforado como se ilustra enseguida.



Aunque el contenido de proteínas de la leche de vaca es relativamente bajo, es mayor que el de la leche humana. La caseína, así como otras proteínas de origen animal como la mielina y la albúmina de huevo, contribuyen a todos los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo humano.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Intentaremos en este experimento separar la caseína de la leche, ajustando el pH de la misma a 4.8, que es el punto isoeléctrico de esta proteína y tratamos de hacer una estimación cuantitativa presente en el líquido.

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICACIONES

Las proteínas muestran muchas de las propiedades anfotéricas de los aminoácidos. Al disolverse, las proteínas se comportan como si fueran aminoácidos, y se ionizan de la misma manera, ya que los grupos R de los

REACTIVOS

residuos pueden cargarse positivamente ó negativamente. La carga neta de una molécula de proteína depende del pH de la solución y de la cantidad y tipo de grupos "R" presentes.

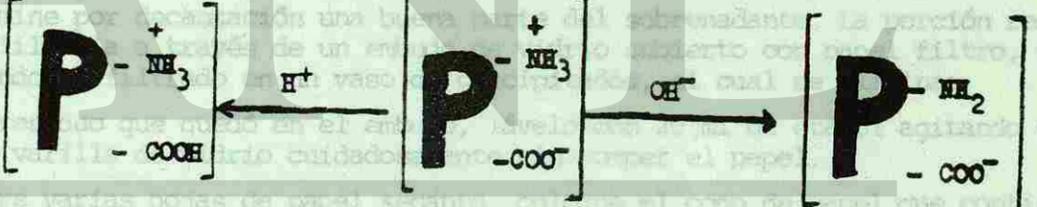
3.- ETANOL
Cuando la carga neta de la proteína es cero, es decir, el número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas, entonces la proteína no emigrará hacia ninguno de los polos en un campo eléctrico, y el pH en el que ocurre esta situación se denomina PUNTO ISOELECTRICO.

PARTE EXPERIMENTAL

Cuando una proteína se encuentra en una solución alcalina con respecto a su punto isoeléctrico, tendrá una carga neta negativa, mientras que en una solución ácida, con respecto a su punto isoeléctrico, poseerá una carga positiva.

3.- Coloque el vaso de precipitados sobre una base magnética cercana al potencial neta. Si a una solución de proteína se le ajusta el pH al pH isoeléctrico, la proteína precipita de la solución, y puede ser separada fácilmente. Este proceso se conoce como PRECIPITACION ISOELECTRICA, y permite la separación de proteínas y su posterior purificación.

La forma zwitteriónica, aniónica y protonada de una proteína se ilustran enseguida:



FORMA CATIONICA FORMA ZWITTERIONICA FORMA ANIONICA

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- 2 vasos de precipitados de 400 ml
- 2 pipetas graduadas de 10 ml
- 1 termómetro
- 1 parrilla eléctrica con agitación
- 1 barra magnética
- 1 agitador de vidrio
- 1 embudo de filtración rápida
- 1 mortero
- 2 tubos de 18 x 150
- 1 gradilla
- Gasa, y dos bolsas de papel celofán

RESULTADOS
REACTIVOS

- 1.-Acido Acético 2M: Tomar 117.6 ml de HOAc concentrado y aforar a un volumen de un litro con agua destilada.
- 2.-HCl 2%: Transferir 54 ml de acido clorhídrico concentrado a un matraz volumetrico de 1 litro conteniendo 300 ml de agua destilada, mezclar, y aforar.
- 3.-ETANOL
- 4.-ETER ETILICO
- 5.-NaOH 0.1%: Disolver 0.1 gramo de hidróxido de sodio en 50 ml de agua destilada y aforar a 100 ml con agua destilada.

PARTE EXPERIMENTAL

- 1.-En un vaso de precipitados de 400 ml, coloque 50 ml de agua destilada y calientela hasta una temperatura de 38°C.
- 2.-Adicione 100 ml de leche y deposite cuidadosamente una barra magnética.
- 3.-Coloque el vaso de precipitados sobre una base magnética cercana al potenciómetro e introduzca los electrodos en la solución. Encienda la agitación cuidadosamente. Determine el pH inicial y deje el botón en la posición de pH.
- 4.-Con una pipeta, comience a adicionar gota a gota Acido Acético 2M ó HCl 2%, hasta que el pH de la solución sea de 4.8, donde ocurrirá la máxima precipitación de caseína.
- 5.-Una vez obtenido el precipitado, detenga la agitación, remueva los electrodos, lávelos y dejelos dentro de agua destilada limpia. La solución manténgala en reposo durante 10 minutos
- 6.-Elimine por decantación una buena parte del sobrenadante. La porción restante filtrela a través de un embudo de vidrio cubierto con papel filtro, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitados, el cual se elimina.
- 7.-El residuo que quedó en el embudo, lávelo con 20 ml de etanol agitando con una varilla de vidrio cuidadosamente sin romper el papel.
- 8.-Entre varias hojas de papel secante, coloque el cono de papel que contiene el residuo y deséquelolo presionando con las hojas de papel secante.
- 9.-El precipitado seco, colóquelo en un vaso de precipitados y adicione 20 ml de eter etílico, agite bien la suspensión para deslipidizar la proteína.
- 10.-Filtre nuevamente esta suspensión a través de un embudo de filtración rápida cubierto con papel filtro. Descarte el filtrado. El residuo de color blanco es la CASEINA.
- 11.-Transferir la caseína a un mortero y pulverizarla. PESELA, y guardela en una bolsa de papel celofán.
- 12.-En un tubo de ensaye de 18 x 150 coloque una pequeña porción de la caseína obtenida y disuélvala en 5 ml de NaOH al 0.1% y realice la PRUEBA DE BIURET. PRUEBA DE BIURET: A la solución proteica, adicionele 1 ml del Reactivo de Biuret, agite y observe el color desarrollado. - Corra un control positivo utilizando albúmina de huevo.

REACTIVOS

- 1.-Acido Acético 5M: 10 ml de H₂OAc concentrado y agitar a un volumen de un litro con agua destilada.
- 2.-HCl 2%: Transferir 24 ml de acido clorhidrico concentrado a un matraz volumetrico de 1 litro con agua destilada, mezclar, y agitar.
- 3.-Etanol
- 4.-Etter Etilico
- 5.-NaOH 0.1%: Disolver 0.1 gramo de hidroxido de sodio en 100 ml de agua destilada y agitar a 100 ml con agua destilada.

PARTE EXPERIMENTAL

- 1.-En un vaso de precipitados de 400 ml, colocar 20 ml de agua destilada y calentarla hasta una temperatura de 38°C.
- 2.-Adicione 100 ml de leche y denature cuidadosamente una parte necesaria.
- 3.-Coloque el vaso de precipitados sobre una base numerada como el procedimiento de la prueba de Biuret. Introduzca la sonda de pH en la leche y determine el pH inicial y detente el pH en la posición de 8.8.
- 4.-Con una pipeta, agregue a la solución gota a gota Acido Acético 5M a HCl 2% hasta que el pH de la solución sea de 4.8. Marque cuidadosamente la lectura precipitación de caseína.
- 5.-Una vez obtenido el precipitado, detenga la sonda, revise los electrodos, lávelos y detente dentro de una destilada limpia. La solución manténgala en reposo durante 10 minutos.
- 6.-Elimine por decantación la parte del sobrenadante. La solución restante filtre a través de un embudo de vidrio con papel filtro con el fin de dar el filtrado en un vaso de precipitados, el cual se eliminará.
- 7.-El residuo que queda en el embudo, lávelo con 20 ml de etanol agitando con una varilla de vidrio cuidadosamente sin romper el papel.
- 8.-Entre varias hojas de papel secante, coloque el cono de papel que contiene el residuo y deséchele presionando con las hojas de papel secante.
- 9.-El precipitado seco, colóquelo en un vaso de precipitados y adicione 20 ml de etter etilico para la separación de la caseína.
- 10.-Filtre nuevamente esta suspensión a través de un embudo de filtración rápida cubierto con papel filtro. Descarte el filtrado. El residuo de color blanco es la CASEINA.
- 11.-Transferir la caseína a un matraz volumetrico de 100 ml y diluirla en una parte de agua destilada.
- 12.-En un tubo de ensayo de 18 x 150 coloque una pequeña porción de la caseína obtenida y disuélvala en 5 ml de NaOH al 0.1% y realice la PRUEBA DE BIURET. A la solución proteica, adicione 1 ml del Reactivo de Biuret, agite y observe el color desarrollado. Como un control positivo utilizando albúmina de huevo.

RESULTADOS

- 1.-PESO DE LA CASEINA OBTENIDA: _____
- 2.-REPORTE EL % DE CASINA EN GRAMOS/100 ml DE LECHE: _____
- 3.-ENTREGUE LA CASEINA OBTENIDA, GRAPANDOLA EN EL SIGUIENTE ESPACIO:



4.-Muestre sus resultados de la prueba de Biuret

CASEINA OBTENIDA

ALBUMINA DE HUEVO

CONCLUSIONES

Color: _____

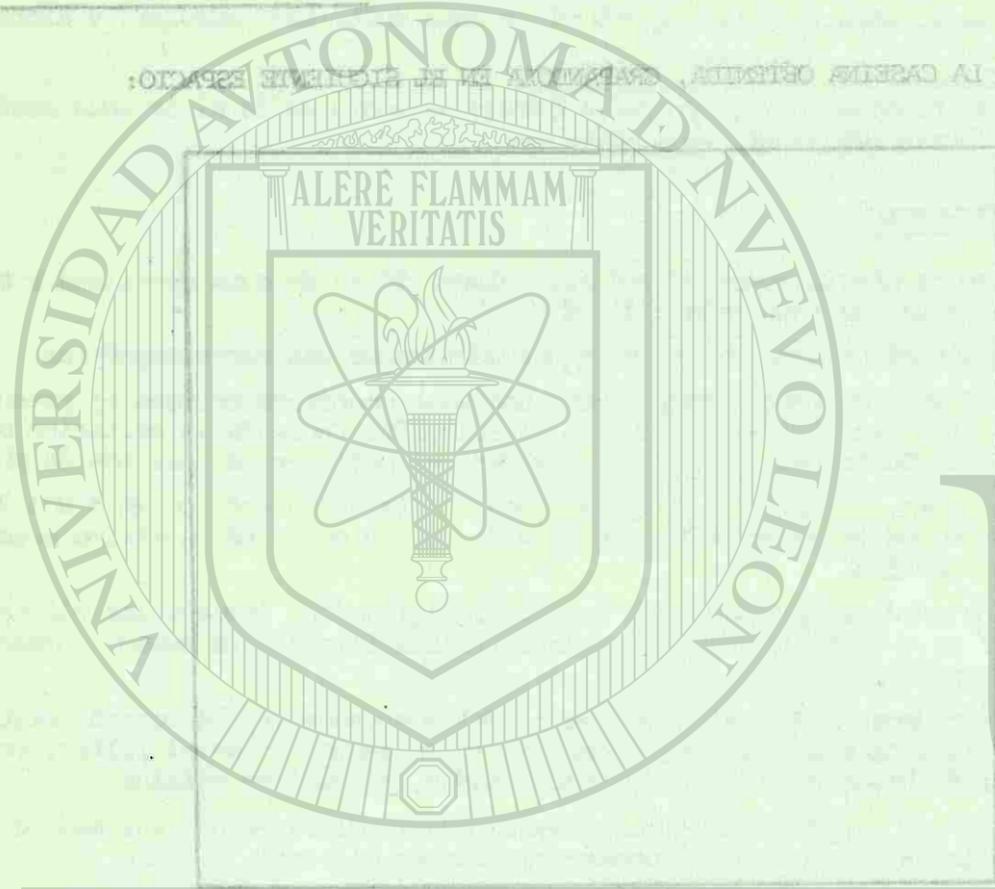
Reacción: _____

Color: _____

Reacción: _____

RESULTADOS

- 1.- PESO DE LA CASINA OBTENIDA: _____
- 2.- REPORTE EL # DE CASINA EN GRAMOS/100 ml DE LECHE: _____
- 3.- ENTORNO LA CASINA OBTENIDA, EVALUADA EN EL SIGUIENTE ESPACIO: _____



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

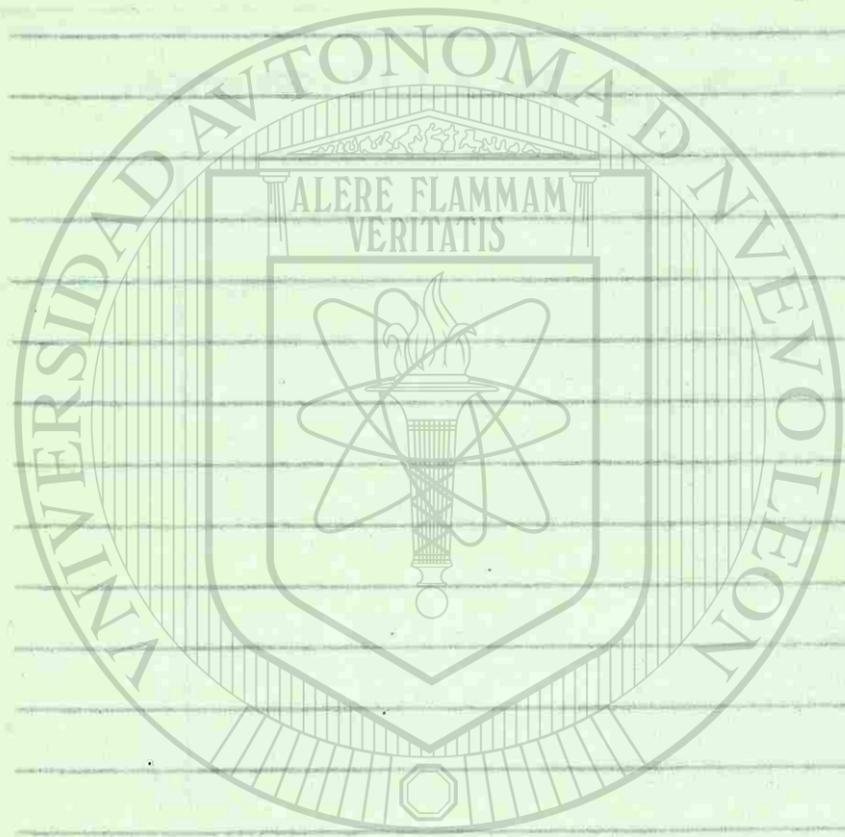
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Rescisión: _____
Color: _____

SECCION DE PRESENTES
DISCUSION

CONCLUSIONES

DIRECCIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SECCION DE PREGUNTAS

BIBLIOGRAFIA

1.-Bawa, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Edición. pp:380.

2.-Laboratory Manual Chemistry 303. Pan-American University, Edición. pp:125.

3.-Macmillan, J.M. y F.M. 1978. Biología. Lección de Biología Experimental. Editorial McGraw-Hill. Edición. pp:125.

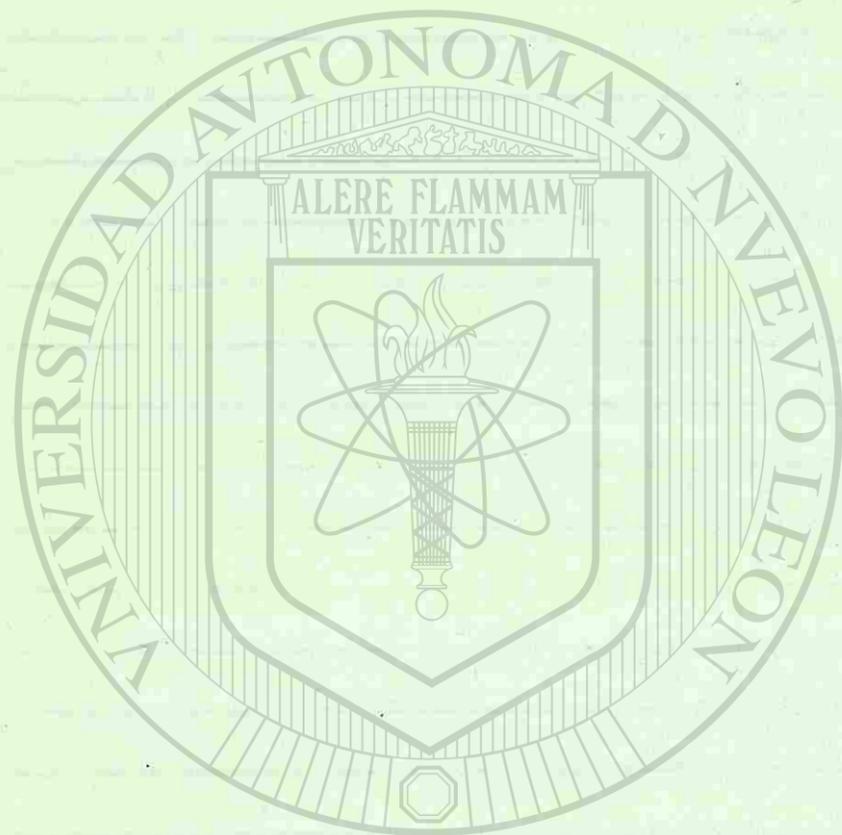
4.-Parker, A. y B. Harlow. 1973. Biología Básica. Editorial Interscience. 1a. Edición. pp:46-47.

5.-Serrano, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interscience. 1a. Edición. pp: 52-53.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA COMUNITARIA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS A PARTIR DE LEVADURAS

INTRODUCCIÓN

Los ácidos nucleicos son polímeros de elevado peso molecular cuya unidad monomérica, o componente fundamental es el NUCLEOTIDO, el cual consiste de una base nitrogenada purica o pirimidica, una pentosa, y ácido fosforico.

BIBLIOGRAFIA

Existen dos tipos de ácidos nucleicos que son: el Acido Desoxirribonucleico (DNA) y el Acido Ribonucleico (RNA).

- 1.-Baum, S.J. 1981. Introducción a la Química Orgánica y Biológica. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1a. Publicación. pp:380.
- 2.-Laboratory Manual.Chemistry 3403. Pan-American University, Edinburg Texas.
- 3.-Macarulla, J.M. y F.M. Goñi. 1978. Bióléculas. Lecciones de Bioquímica Estructural. Editorial Reverté 1a. Edición. pp:115.
- 4.-Mazur, A. y B. Harrow. 1973. Bioquímica Básica. Editorial Interamericana. 10a edición. pp:46-47.
- 5.-Rendina, G. 1974. Técnicas de Bioquímica Aplicada. Editorial Interamericana. 1a. Edición. pp: 52-53.

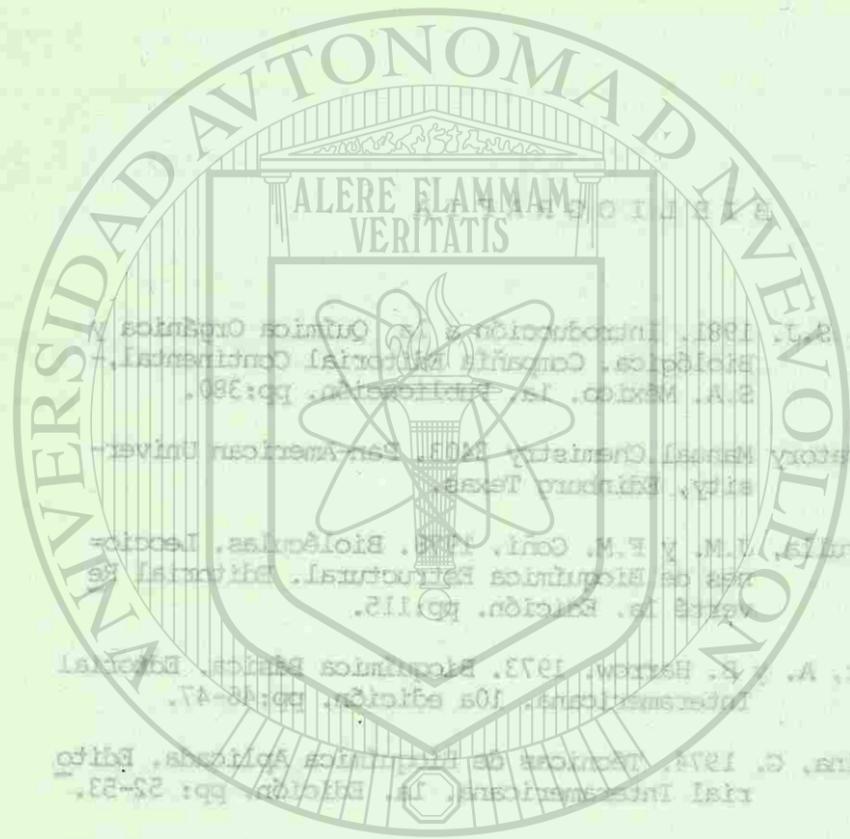
OBJETIVO

El objetivo de esta práctica es la extracción de ácidos nucleicos, sus propiedades y su identificación cuantitativa y cualitativa. El ácido nucleico que se extrae es el ácido nucleico de levadura.

FUNDAMENTO

El fundamento de esta práctica es la extracción, purificación y medición cuantitativa de los ácidos nucleicos. Entre estos se incluyen la extracción selectiva, precipitación, centrifugación (o filtración), hidrólisis, cromatografía y técnicas ópticas para establecer la cantidad de ácido nucleico que existe en una muestra.





MATERIAL OBTENCION DE ACIDOS NUCLEICOS A PARTIR DE LEVADURAS

INTRODUCCION

Los acidos nucleicos son polimeros de elevado peso molecular cuya unidad monomérica, o componente fundamental es el MONONUCLEOTIDO, el cual consiste de una base nitrogenada púrica o pirimídica, una pentosa, y ácido fosfórico.

Existen dos tipos de ácidos nucleicos que son: el Acido Desoxiribonucleico (DNA) y el Acido Ribonucleico (RNA).

En cuanto a su localización, el DNA se encuentra siempre en el núcleo de las células eucarióticas, y en la región del nucleolo en los organismos procarióticos. En los organelos como las mitocondrias y el cloroplasto, se ha demostrado la presencia de ácido desoxiribonucleico llamado "DNA SATELITE". En las células procarióticas, además de su genóforo existen pequeñas moléculas de DNA circulares, de doble cadena y autoreplicables, llamadas EPISOMAS.

El RNA se puede encontrar en el núcleo de las células eucarióticas pero principalmente se encuentra en el citoplasma celular.

En los organismos eucariotes, los ácidos nucleicos suelen asociarse con proteínas básicas específicas llamadas HISTONAS o PROTAMINAS las cuales neutralizan el carácter polianiónico de las moléculas, formando complejos de NUCLEOPROTEINAS. Las nucleoproteínas que contienen DNA poseen de un 40 a un 60% de ácido nucleico, mientras que las que poseen RNA consisten en un 5 a 20% de ácido nucleico.

OBJETIVO

Considerando que las levaduras contienen una elevada proporción de ácidos nucleicos, nos proponemos aislarlos parcialmente, fraccionarlos e identificar colorimétricamente el azúcar y el grupo fosfato que constituyen a estas biomoléculas.

FUNDAMENTO

Existen métodos especiales para el aislamiento, purificación y medición cuantitativa de los ácidos nucleicos. Entre estos se incluyen la extracción selectiva, precipitación, centrifugación (ó filtración), hidrólisis, cromatografía y técnicas ópticas para establecer la cantidad de ácido nucleico que existe en una muestra.

OBTENCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS A PARTIR DE LEVADURAS

INTRODUCCIÓN

Los ácidos nucleicos son polímeros de elevado peso molecular cuya unidad monomérica o componente fundamental es el nucleótido, el cual consiste de una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosforilado.

Existen dos tipos de ácidos nucleicos: el ácido desoxirribonucleico (DNA) y el ácido ribonucleico (RNA).

En cuanto a su localización, el DNA se encuentra en el núcleo de las células eucariotas, y en la región del nucleolo en los organismos procariotas. En las células procariotas, además de estar en el núcleo, se ha demostrado la presencia de ácidos nucleicos en el citoplasma. En las células procariotas, además de estar en el núcleo, se ha demostrado la presencia de ácidos nucleicos en el citoplasma.

El RNA se puede encontrar en el núcleo de las células eucariotas pero principalmente se encuentra en el citoplasma celular.

En los organismos eucariotas, los ácidos nucleicos están asociados a proteínas básicas específicas llamadas HISTONAS o NUCLEOMORFINAS. Las nucleomorfinae constituyen el 60% de un ácido nucleico eucariota, mientras que en los organismos procariotas constituyen un 2 a 10% de ácido nucleico.

OBJETIVO

El objetivo de esta práctica es la obtención de ácidos nucleicos a partir de levaduras, mediante el uso de reactivos químicos y técnicas de laboratorio.

INDICACIONES

Esta práctica es de carácter experimental y se debe realizar con cuidado y precisión. Entre otros se incluyen la extracción selectiva, precipitación, centrifugación, hidrólisis y técnicas ópticas para establecer la cantidad de ácido nucleico que existe en las muestras.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- Levadura de papadería (un paquete por grupo)
- Balanza granataria
- 2 pipetas de 10 ml
- 1 pipeta de 1 ml
- 1 agitador de vidrio
- 1 pinzas para tubo de ensaye
- 1 embudo de filtración rápida
- 1 vaso de precipitados de 250 ml
- 1 probet a graduada
- 5 tubos de ensaye de 18 x 150
- 1 mechero
- gasa ó manta de cielo
- Papel Hydrion
- Papel Filtro

REACTIVOS

- 1.- NaOH 30%: Disolver 30 gramos de hidróxido de sodio en 80 ml de agua destilada fría, afore después con agua hasta 100 ml
- 2.- NaOH 1 N: Disolver 40 gramos de hidróxido de sodio en 800 ml de agua destilada fría y luego afore hasta un litro con ese solvente.
- 3.- FeCl₃ 10%: Disuelva 10 gramos de FeCl₃·6H₂O en 50 ml de agua destilada, y adicione 1 ml de HCl conc. Afore a 100 ml con agua destilada.
- 4.- Etanol al 95%
- 5.- Acido Clorhídrico concentrado
- 6.- Reactivo de Bial
- 7.- Acido Sulfúrico 3 N: Añadir 8.3 ml de H₂SO₄ concentrado por los paredes del recipiente a un volumen de 50 ml de agua destilada, mezcle cuidadosamente a medida que se añada el ácido. Completar con agua hasta un volumen de 100 ml.
- 8.- H₂SO₄ 10 N: Repita el procedimiento anterior, pero utilice 27.7 ml de ácido sulfúrico concentrado.

PARTE EXPERIMENTAL

I.-SEPARACION DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

- 1.-En un vaso de precipitados de 250 ml, coloque 20 gramos de levadura de papadería, y agregue 15 ml de NaOH al 30%. Agite con una varilla de vidrio durante 20 minutos hasta formar una suspensión.
- 2.-Luego adicione 20 ml de agua destilada y homogenice. Después añada 10 ml de FeCl₃ al 10% y mezcle bien.

- 3.-Filtre la suspensión a través de un embudo de filtración rápida implementado con una capa de gasa ó manta de cielo. Exprima la pasta usando para ello -- guantes de hule. Recoga el filtrado en un vaso de precipitados de 250 ml
- 4.-Lave la pasta adicionandole 15 ml de agua destilada recuperando el lavado en el vaso de precipitados donde recuperó el filtrado anterior.
- 5.-Si la mezcla de los dos filtrados está turbia entonces filtre de nuevo utilizando papel filtro adaptado a un embudo de filtración rápida.
- 6.-El residuo que quedó en la gasa elimínelo.
- 7.-A la mezcla de los filtrados adicionele 50 ml de etanol al 95% agitando continuamente durante la adición.
- 8.-Después añadir con agitación suficiente HCl concentrado hasta acidificar la solución, utilice papel hydrion para verificar el pH. Con esto se consigue la precipitación del ácido nucleico.
- 9.-Filtre la suspensión así obtenida a través de papel filtro y lave el residuo con agua destilada recuperando ambos filtrados en un vaso de precipitados, y deséchelos.
- 10.-El residuo que se retuvo en el papel filtro son los ACIDOS NUCLEICOS , utilice para realizar los siguientes ensayos:

II.-HIDROLISIS DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

- 1.-Disuelva una pequeña porción del ácido nucleico obtenido, en 5 ml de NaOH 1N y caliente en baño de agua hirviente durante 15 minutos. Enfrie.
- 2.-Acidifique la solución hasta un pH=3.5 con HCl 0.1N, manteniendo de tubo de ensayo en un baño de hielo. Con este hidrolizado efectue la:

PRUEBA DE BIAL

- a)En un tubo de ensayo de 18 x 150, coloque 3 ml del Reactivo de Bial, y añada 1 ml del hidrolizado anterior. Caliente al mechero con agitación, hasta que las primeras burbujas alcancen la superficie. Observe el color desarrollado por la solución. Anótelos.

III.-IDENTIFICACION DE FOSFATOS

Prepare al momento las siguientes soluciones:

- i)MOLIBDATO DE AMONIO AL 2.5%:Disuelva 2.5 gramos de molibdato de amonio en 20 ml de agua destiladas. Coloque 30 ml de H₂SO₄ 10N en un matraz de aforación de 100ml, agreguele la solución de molibdato y diluya a 100 ml con agua destilada.Mezcle bien, y guarde la solución en un frasco de ambar bajo refrigeración.
- ii)CLORURO ESTANOSO: Disuelva SnCl₂·2H₂O en HCl 6M. Decante y al decantado añada granallas de estaño.

- 1.-En un tubo de ensayo de 18 x 150 coloque una porción del ácido nucleico obtenido.Añada 2 ml de H₂SO₄ 3N. Hierva lentamente durante 5 min para hidrizar el ácido nucleico. Enfrie.

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

- lavadora de papetería (un par de platos)
- Balanza granatada
- 2 pipetas de 10 ml
- 1 pipeta de 1 ml
- 1 agitador de vidrio
- 1 pinzas para tubos de ensayo
- 1 embudo de filtración rápida
- 1 vaso de precipitados de 250 ml
- 1 probet a graduada
- 2 tubos de ensayo de 18 x 150
- 1 mechero
- gasa ó manta de cielo
- Papel Hydrion
- Papel filtro

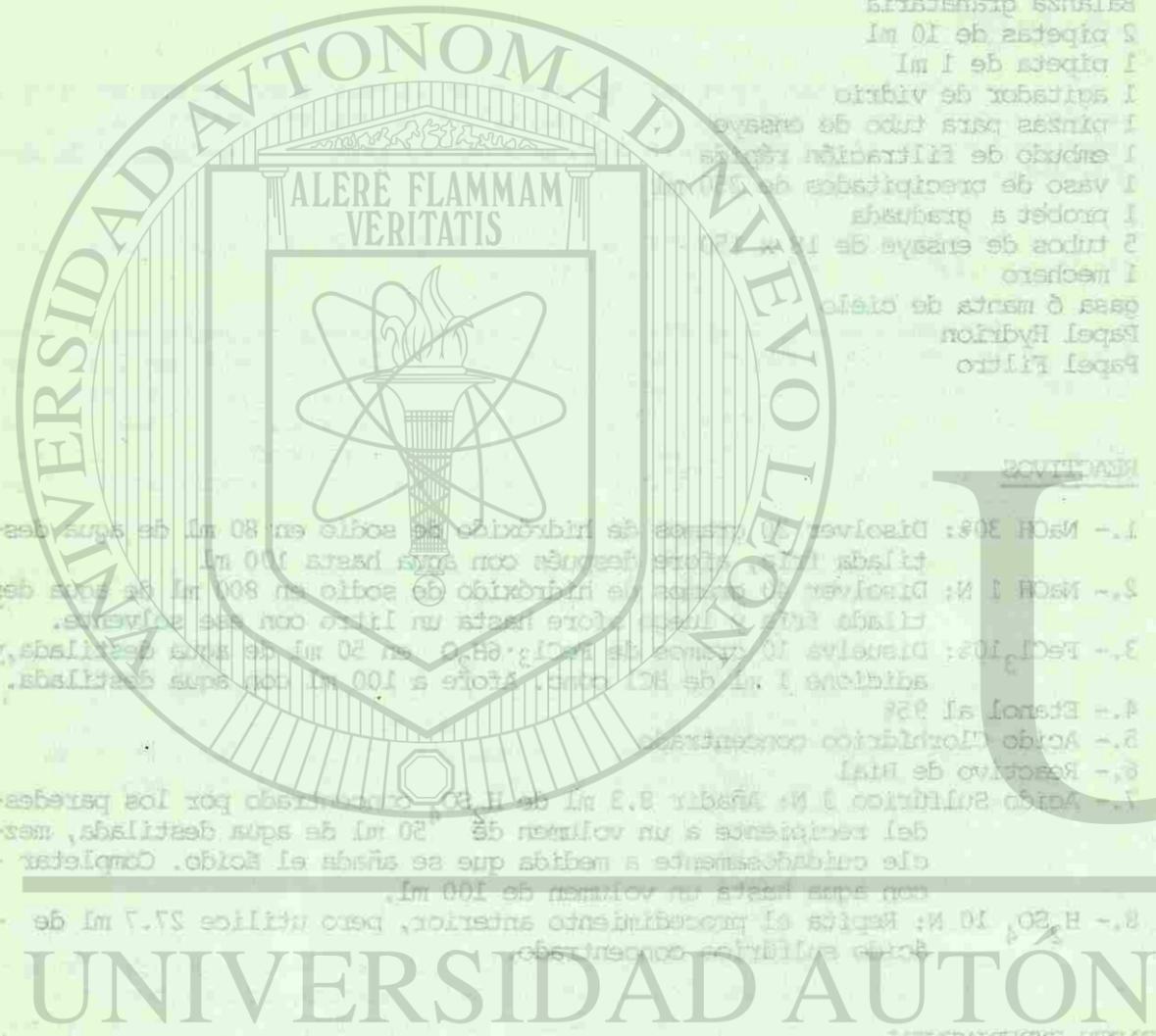
REACTIVOS

- 1.- NaOH 30%: Disuelva 30 gramos de hidróxido de sodio en 80 ml de agua destilada.
- 2.- NaOH 1 N: Disuelva 40 gramos de hidróxido de sodio en 800 ml de agua destilada.
- 3.- FeCl₃ 10%: Disuelva 10 gramos de FeCl₃ en 50 ml de agua destilada, y adicione 1 ml de HCl.
- 4.- Etanol al 95%
- 5.- Ácido clorhídrico concentrado
- 6.- Reservorio de Bial
- 7.- Ácido sulfúrico 10 N: Añadir 8.3 ml de H₂SO₄ concentrado por los paredes del recipiente a un volumen de 50 ml de agua destilada, mezcle cuidadosamente a medida que se añade el ácido. Completar con agua hasta un volumen de 100 ml.
- 8.- H₂SO₄ 3N: Repita el procedimiento anterior, pero utilice 27.7 ml de ácido sulfúrico concentrado.

PARTE EXPERIMENTAL

I.-SEPARACION DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

- 1.- En un vaso de precipitados de 250 ml coloque 20 gramos de papetería lavada y añada 100 ml de agua destilada y 10 ml de HCl 10N. Agite con una varilla de vidrio durante 30 minutos hasta formar una suspensión.
- 2.-Luego añada 30 ml de agua destilada y homogenice. Después añada 10 ml de FeCl₃ al 10% y mezcle bien.



3.-Filtrar la suspensión a través de un embudo de filtración rápida implementado con una capa de gasa o marra de cielo. Exprime la pasta usando para ello cuantos de hule. Recoge el filtrado en un vaso de precipitados de 250 ml.

4.-Lave la pasta adicionándole 15 ml de agua destilada recuperando el lavado en el vaso de precipitados dos veces recuperando el filtrado anterior.

5.-Si la mezcla de los dos filtrados está turbia añada un nuevo filtro de nuevo utilizando papel filtro adaptado a un embudo de filtración rápida.

6.-El residuo que queda en la tasa de filtración.

7.-A la mezcla de los filtrados añada un volumen de agua destilada suficiente durante la filtración.

8.-Después añadir con agitación suficiente un volumen de agua destilada hasta reducir la solución, utilice papel filtro para verificar el pH. Con esta solución la precipitación del ácido nucleico.

9.-Filtrar la suspensión así obtenida a través de papel filtro y lave el residuo con agua destilada recuperando ambos filtrados en un vaso de precipitados y deséchelos.

10.-El residuo que se retiene en el papel filtro con los ácidos nucleicos utilícelo para realizar los siguientes ensayos:

II.-HIDROLISIS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

1.-Disuelva una pequeña porción del ácido nucleico obtenido, en 5 ml de NaOH 1N y caliente en baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Enfriar.

2.-Acidifique la solución hasta un pH 2 con HCl 0.1M, manteniendo de tipo de ensayo en un baño de hielo. Con este hidrolizado efectúe las pruebas de Bial.

PRUEBA DE BIAL

a) En un tubo de ensayo de 18 x 150, coloque 1 ml del reactivo de Bial, y añada 1 ml del hidrolizado anterior. Caliente al mechero con agitación, hasta que las primeras burbujas alcancen la superficie. Observe el color desarrollado por la solución. Anótelos.

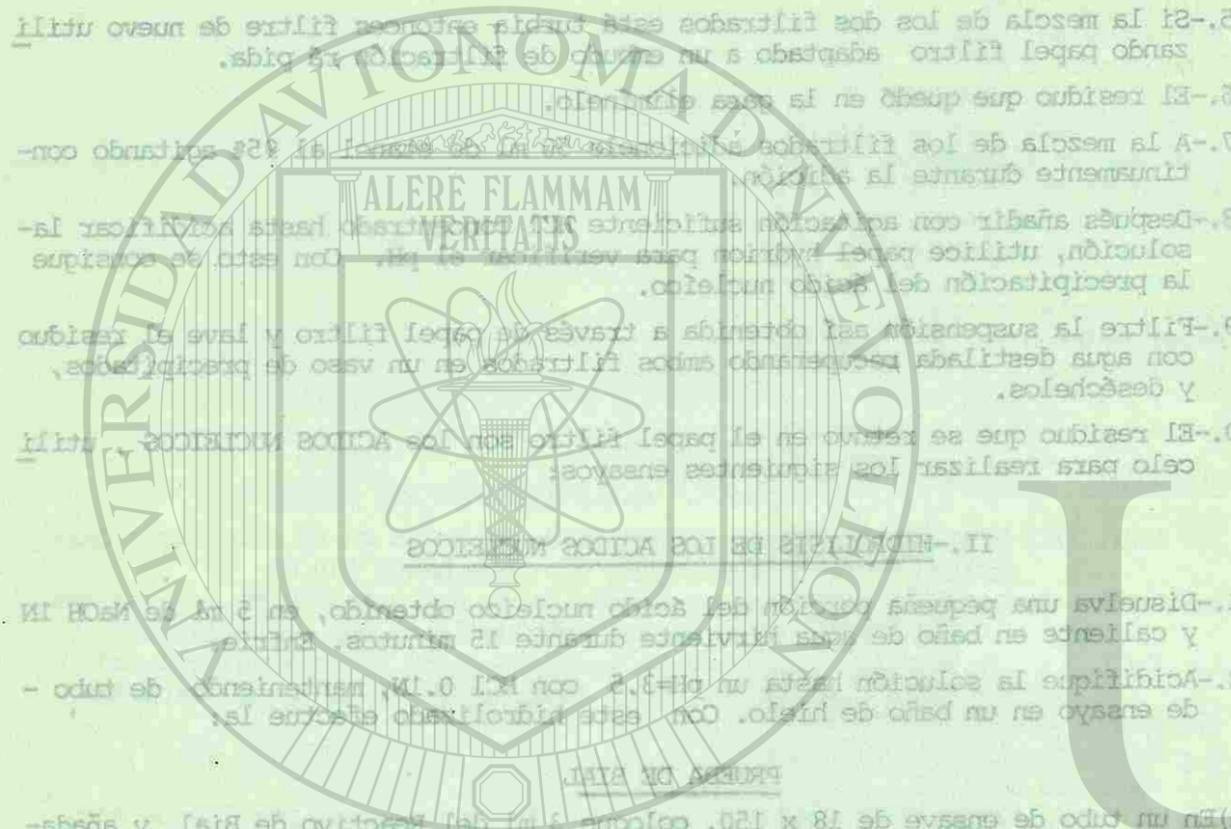
III.-IDENTIFICACION DE FOSFATOS

Requiere al momento las siguientes soluciones:

(1) MOLIBDATO DE AMONIO AL 2.5%: Disuelva 2.5 gramos de molibdato de amonio en 20 ml de agua destilada. Coloque 30 ml de H₂SO₄ 10N en un matraz de eioración de 100ml, adicione la solución de molibdato y diluya a 100 ml con agua destilada. Mezcle bien y guarde la solución en un frasco de vidrio para rehidratación.

(2) CLORURO ESTANOSO: Disuelva 2.5g de SnCl₂ en 10 ml de HCl 2M. Decante y al decantado añada granallas de estaño.

1.-En un tubo de ensayo de 18 x 150 coloque una porción del ácido nucleico obtenido. Añada 2 ml de H₂SO₄ 3N. Hierza lentamente durante 2 min para hidrizar el ácido nucleico. Filtrre.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.-Transfiera 1 ml de esta solución a un tubo de ensayo de 18 x 150 y añada 0.5 ml de H₂SO₄ 10N, 1 ml de solución de molibdato de amonio al 2.5%, y 5 gotas del reactivo reductor de cloruro estannoso. Deje reposar durante 10 minutos. Observe el color desarrollado. Anótelos.

Corra un control utilizando una solución de KH₂PO₄ 0.1M y otro control negativo utilizando agua destilada como muestra.

RESULTADOS

1.-Anota enseguida las características físicas del ácido nucleico obtenido:

Blank lines for recording physical characteristics of the nucleic acid.

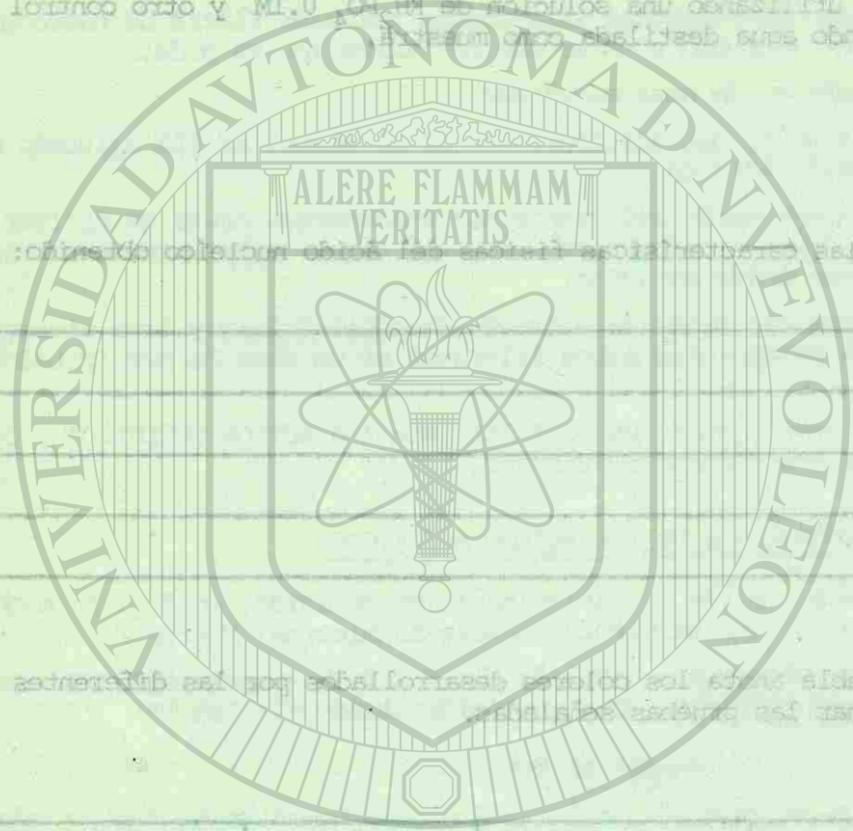
2.-En la siguiente tabla anota los colores desarrollados por las diferentes muestras al efectuar las pruebas señaladas.

PRUEBA BIOQUIMICA	HIDROLIZADO (AC. NUCLEICO)	CONTROL POSITIVO	AGUA
PRUEBA DE BIAL			
PRUEBA DE FOSFATOS			®

Blank lines for recording results from the biochemistry tests.

2.-Transferir 1 ml de esta solución a un tubo de ensayo de 18 x 150 y añadir 0.5 ml de H₂O, 1 ml de solución de molibdato de amonio al 2.5% y 5 gotas del reactivo reductor de cloruro estannoso. Deje reposar durante 10 minutos. Observe el color desarrollado. Anote.

Con un control utilícese una solución de H₂O 0.1M y otro control negativo utilizando agua destilada como muestra.



RESULTADOS

1.-Anote enseguida las características físicas del tubo nucleado con el control:

2.-En la siguiente tabla anote los colores desarrollados por las diferentes muestras al estar en contacto con el reactivo.

PRUEBA BIOMÉTRICA	INTRODUCIDO	CONTROL	AGE
	POSITIVO		
PRUEBA DE BILAN			
PRUEBA DE FOSFATOS			

SECCION DE PREGUNTAS

DISCUSION

Series of horizontal lines for writing the discussion.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

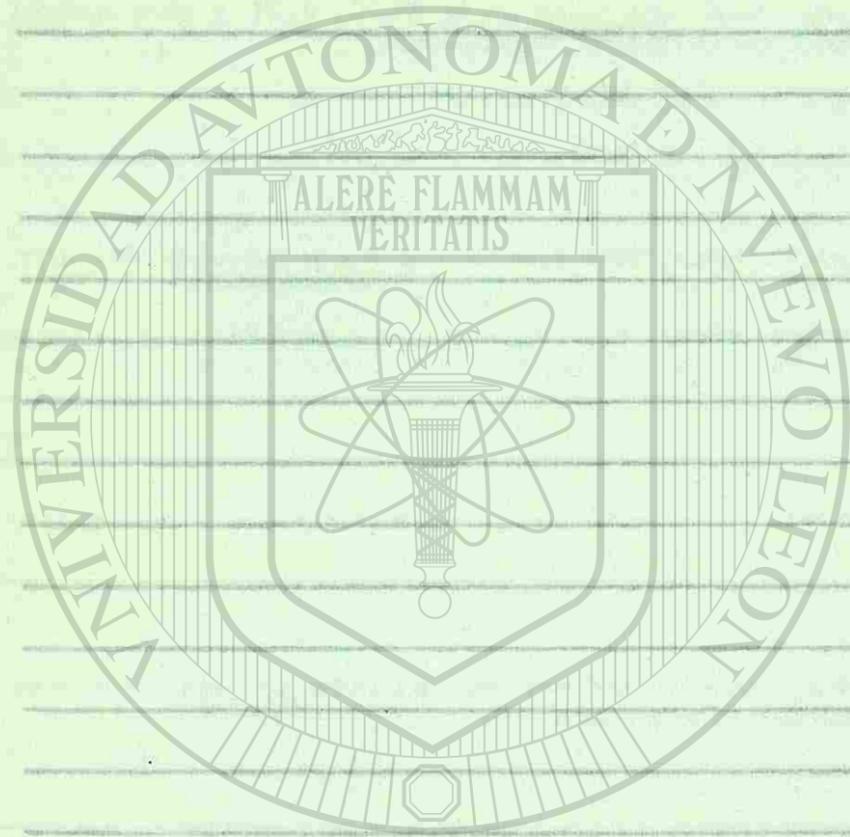
BIBLIOTECA CONSOLIDADA [®]

CONCLUSIONES

Series of horizontal lines for writing the conclusions.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DIRECCIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

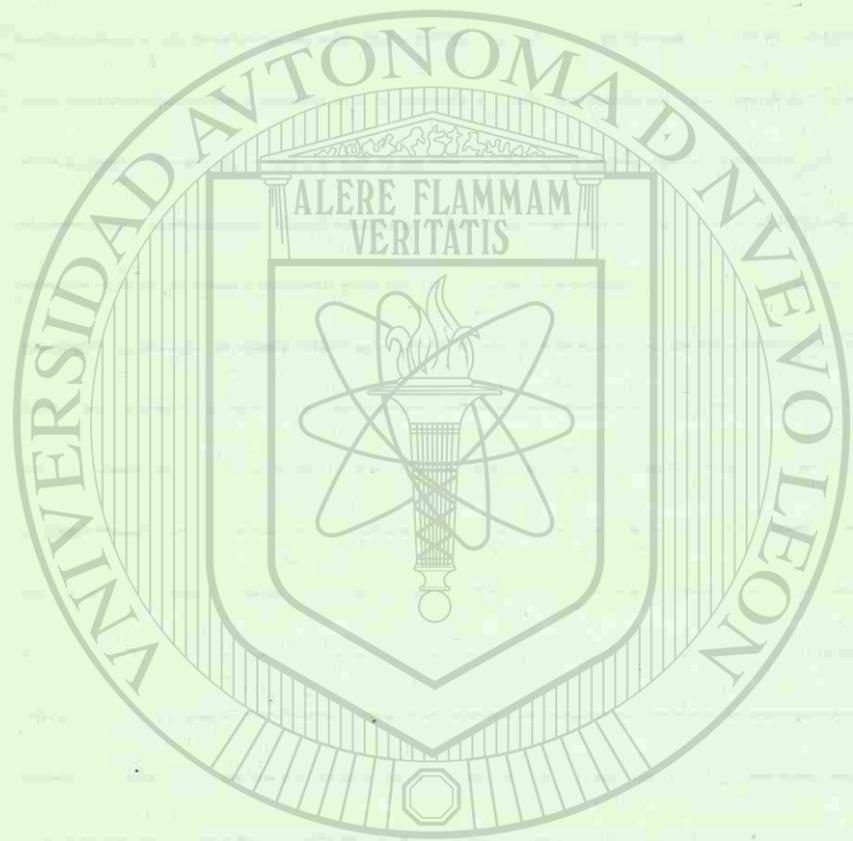
SECCION DE PREGUNTAS

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Barrera, A. ...
- 2.-Castaño, D. ...
- 3.-Martí, R. ...
- 4.-Rodríguez, G. ...
- 5.-Cabrera, M. ...

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA





BIBLIOGRAFIA

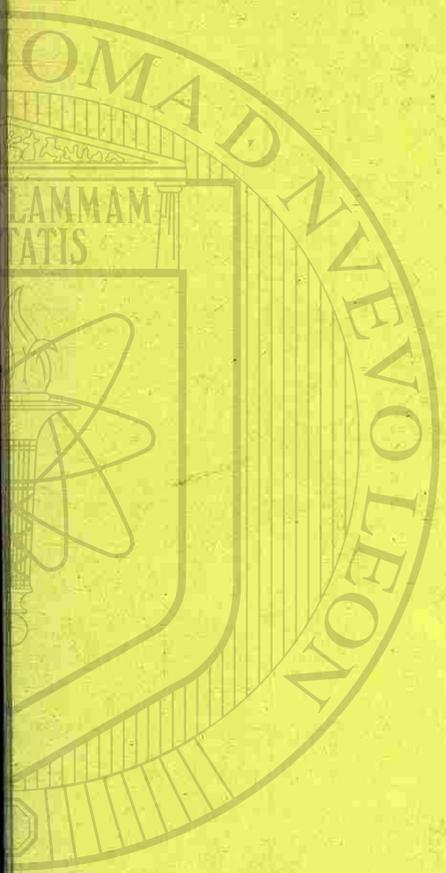
- 1.-Bohinski, R.C. 1978. Bioquímica. Fondo Educativo -- Interamericano. 1a. edición. pp:201-233.
- 2.-Conn, E. y P.K. Stumpf. 1978. Bioquímica Fundamental. Editorial Limusa. 3a. edición. pp:127-150.
- 3.-Mertz, E.T. 1977. Bioquímica. Publicaciones Cultural,S.A. 3a. reimpresion en español. pp: 111-122.
- 4.-Macarulla, J.M. y F.M. Goñi. 1978. Biomoléculas, lecciones de Bioquímica estructural. Editorial Reverté, S.A. 1a. Edición. pp: 118-122.
- 5.-Quiroga, V.L. 1971. Analisis de Alimentos utilizados en - Nutrición Animal. Facultad de Agronomía, -- U.A.N.L. Monterrey, N.L. pp 35.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA CONSUELA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA