



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA SUR**



**ÁREA DE CONOCIMIENTO
DE CIENCIAS DEL MAR Y DE LA TIERRA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE CIENCIAS MARINAS Y COSTERAS**

**PROGRAMA EDUCATIVO: BIÓLOGO MARINO
PLAN DE ESTUDIOS POR COMPETENCIAS 2011-II**

BIOQUÍMICA

III SEMESTRE

3 HORAS/SEMANA

LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

MANUAL DE LABORATORIO

**M. en C. Erika Torres Ochoa
La Paz, B.C.S., Agosto de 2011**

ÍNDICE

	Página
Índice	2
Introducción	3
Contrato de aprendizaje	6
Práctica 1: Preparación de soluciones	8
Práctica 2: Identificación de la función de las sales minerales en los seres vivos	12
Práctica 3: Espectrofotometría. Curva de calibración	16
Práctica 4: Propiedades de las proteínas	22
Práctica 5: Extracción y Comparación de Colágeno de Músculo de un Animal Marino y uno Terrestre	27
Práctica 6: Análisis Cualitativo y Cuantitativo de Lípidos: Determinación de Colesterol en Músculo de Camarón	30
Práctica 7: Estudio del efecto de la temperatura y pH sobre la actividad enzimática de amilasas en glándula digestiva de crustáceos	34
Práctica 8: Extracción y cuantificación de Pigmentos Fotosintéticos en Algas	39
Práctica 9: Caracterización e Hidrólisis del Glucógeno en músculo de almeja	44
Práctica 10: Extracción de la enzima succínico deshidrogenasa para el estudio de transporte de electrones en corazón de peces	49
Práctica 11: Proyecto final de Bioquímica	53
Anexo	58

INTRODUCCIÓN:

Este manual fue creado para apoyar el curso de: “Bioquímica”, y guiará al estudiante en la parte práctica del mismo, mientras le ayuda a desarrollar las competencias disciplinares, con el objetivo de prepararlo sólidamente en la disciplina y su aplicación en la Biología Marina, y simultáneamente, reforzar competencias genéricas que impactarán favorablemente los ámbitos de su vida.

El estudiante se preguntará ¿Qué es una competencia?

“Es la capacidad de movilizar recursos cognitivos para hacer frente a un tipo de situaciones con buen juicio, a su debido tiempo, para definir y solucionar verdaderos problemas.”¹ Las competencias van más allá de las habilidades básicas o saber hacer ya que implican saber actuar y reaccionar; es decir saber qué hacer y cuándo, lo que evita la memorización sin sentido de temas desarticulados y la adquisición de habilidades mecánicas. Esto a su vez promueve el desarrollo de competencias manifiestas en la resolución de problemas, procurando que en el aula y laboratorio exista una vinculación entre estos y la vida cotidiana.

Competencias a desarrollar:

- **Disciplinares Básicas:** las mínimas necesarias de cada campo disciplinar para que los estudiantes se desarrollen en diferentes contextos y situaciones a lo largo de la vida.
- **Disciplinares Extendidas:** implican los niveles de complejidad deseables para quienes opten por una determinada trayectoria académica, teniendo así una función propedéutica en la medida que prepararán a los estudiantes de enseñanza superior para su ingreso y permanencia en posgrados y trabajos especializados.
- **Disciplinares Profesionales:** son competencias especializadas que preparan al estudiante para desempeñar su vida profesional con mayores probabilidades de éxito.
- **Genéricas:** las que se desarrollan de manera transversal en todas las asignaturas del mapa curricular y permiten al estudiante comprender su mundo e influir en él, le brindan autonomía en el proceso de aprendizaje y favorecen el desarrollo de relaciones armónicas con su entorno y quienes les rodean. (Anexo I)

Estudiante: este manual te encauzará a lo largo de actividades que reforzarán o desarrollarán tus competencias, además de tareas para aprender en forma colaborativa (aprender de y con tus compañeros). Al realizar las actividades y proyectos (reportes de

¹ Mastache, Anahí et. al. Formar personas competentes. Desarrollo de competencias tecnológicas y psicosociales. Ed. Novedades Educativas. Buenos Aires / México. 2007.

práctica, informes, trabajos finales, etc.), encontrarás momentos para pensar, reflexionar y comunicarte, mientras:

- Conoces a tus compañeros.
- Compartes con ellos metas y objetivos.
- Cooperan y se ayudan mutuamente.
- Respetan sus puntos de vista y opiniones.
- Logran acuerdos y toman decisiones.
- Proponen alternativas para resolver los problemas que se presentan.

En el modelo de competencias lo importante es adquirir conocimiento, desarrollar habilidades y fortalecer actitudes y valores. Durante el laboratorio del curso desarrollarás diversas actividades y elaborarás tareas dirigidas a obtener tres tipos de evidencias que permitirán a tu docente evaluar si has adquirido la competencia.

Conocimientos: *Teorías y principios* que deberás dominar para lograr un desempeño eficaz.

Desempeños: *Habilidades para usar herramientas* (microscopios, ordenadores, software, claves de identificación, cuadrantes, transectos, etc.), en la adquisición, ordenamiento y análisis de datos e información. Estos desempeños pueden ser evaluados por el docente, alguno de tus compañeros e incluso por ti mismo.

Productos: *Evidencias tangibles de la competencia.* El producto que elaboraste u obtuviste (Reporte de práctica, marco conceptual, presentación), la información que buscaste, integraste al documento, y ordenaste en forma clara y estructurada en la sección de bibliografía etc.

La Bioquímica es la parte de la química que se encarga del estudio de las reacciones químicas que ocurren en los sistemas biológicos. Los sistemas biológicos: organismos, tejidos, células y sus respectivos organelos, así como a las moléculas que constituyen a estos sistemas.

La bioquímica ayuda a comprender mejor estos sistemas, pone por separado cada uno de estos sistemas, con lo cual, hace posible comprender conceptos de una manera básica y más simple. Gracias a esta separación, se pueden definir e interpretar los procesos químicos que ocurren en células, tejidos, organismos, etc.

Al ser la bioquímica una ciencia compleja, debe de apoyarse en técnicas de enseñanza-aprendizaje que apoyen a que el estudiante haga suyo el conocimiento bioquímico, para

lograr esto, no sólo la enseñanza de la bioquímica se puede apoyar en conceptos teóricos. El estudio de la bioquímica queda incompleto sin la presencia de una herramienta básica en la enseñanza de esta asignatura: el laboratorio. El laboratorio es el medio más cercano que puede tener el alumno para familiarizarse con investigación científica que va desde la investigación bibliográfica hasta investigación de campo.

Este manual es una colección de prácticas de laboratorio, las cuales han sido adaptadas en su mayoría, para ayudar al estudiante de la carrera de Biólogo Marino a comprender mejor los conocimientos de bioquímica y así el mismo estudiante pueda comprender mejor los sistemas biológicos marinos.

Las sesiones prácticas de este manual están relacionadas con los temas que contiene el programa del curso de bioquímica de Biólogo Marino de la UABCS el cual contiene los siguientes temas:

- I. Aminoácidos y proteínas: estructura y función
- II. Enzimas, coenzimas y anticuerpos
- III. Lípidos
- IV. Ácidos nucleicos
- V. Energía y vida
- VI. Metabolismo de carbohidratos
- VII. Metabolismo de lípidos
- VIII. Metabolismo de compuestos nitrogenados

Este manual también cuenta con una práctica final en donde los alumnos pueden hacer uso de las habilidades teóricas y prácticas adquiridas durante el curso para resolver un problema científico con ayuda de varias disciplinas de la ciencia; a su vez, el mismo alumno se va introduciendo al mundo de la investigación científica.

CONTRATO DE APRENDIZAJE

ASIGNATURA: BIOQUÍMICA	
<p>Al estudiante: Ahora que conoces los contenidos del curso de Bioquímica, revisa este Contrato de Aprendizaje, que tiene el propósito de establecer de forma conjunta estudiante – docente, los acuerdos y lineamientos que será conveniente respetar durante las sesiones del laboratorio, a fin de generar un espacio propicio para el trabajo y convivencia armónica y el desarrollo de competencias disciplinarias y genéricas.</p>	
DERECHOS Y DEBERES	
DEL ESTUDIANTE	DEL DOCENTE
Cláusulas:	Cláusulas:
<p>Primera: Actividades de Aprendizaje</p> <p>El estudiante se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Realizar de forma ética y responsable el 100% de las actividades de aprendizaje y evidencias solicitadas por el docente. • Hacer entrega de las actividades y sus requerimientos en la fecha y hora acordadas. <p>Solicitar apoyo a sus compañeros cuando así lo requiera, además de brindarles asesoría y dar soporte en la medida de sus posibilidades, a fin de favorecer el desarrollo de sus competencias.</p>	<p>Primera: Actividades de Aprendizaje</p> <p>El docente se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indicar claramente a los estudiantes las actividades de aprendizaje a realizar en el laboratorio, ya sea de forma individual o por equipos, además de otorgar un tiempo adecuado para su realización; programar anticipadamente la fecha en que se entregarán los productos (reporte de práctica, mapa conceptual, investigación bibliográfica). • Especificar los requisitos que estas actividades deberán cumplir además del lugar y hora en que deberán entregarse.
<p>Segunda: Responsabilidad</p> <p>Cada estudiante es responsable de su propio aprendizaje, por lo tanto su participación activa e interacción con sus compañeros de grupo y docente debe propiciar un ambiente que favorezca:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El logro de competencias disciplinares. • El desarrollo de competencias genéricas • La convivencia armónica. <p>Para tal fin el estudiante deberá:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Respetar el Reglamento General de Laboratorios • Presentar una bitácora de 	<p>Segunda: Responsabilidad</p> <p>El docente se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Realizar en forma oportuna la planeación del curso y actividades de laboratorio. • Impartir su clase y conducir las actividades de enseñanza, aprendizaje, práctica y evaluación, de forma tal que se produzca un proceso educativo de calidad acorde al contexto y a las necesidades de los estudiantes. • Crear experiencias de aprendizaje enfocadas a favorecer en los

<p>laboratorio al entrar a cada sesión de laboratorio en el cual lleve sus anotaciones respecto a la práctica.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presentar un pre-reporte de la práctica a realizar. • Llevar el material de trabajo solicitado en cada sesión. 	<p>estudiantes el desarrollo de competencias y el logro de los fines educativos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Generar un ambiente que motive a los estudiantes a aprender, participar, comunicar, interactuar, investigar.
<p>Tercera: Honestidad, Respeto y Tolerancia</p> <p>El estudiante se compromete a tratar con respeto, ética, honestidad y tolerancia a sí mismo, a sus compañeros y a su docente.</p> <p>El estudiante deberá respetar y cuidar los reactivos, aparatos y material que se le proporcione en cada sesión.</p>	<p>Tercera: Honestidad, Respeto y Tolerancia</p> <p>El docente se compromete a:</p> <p>Ser tolerante, responsable, y respetuoso.</p> <p>Dar un trato equitativo a todos los estudiantes.</p> <p>Dar a los estudiantes la orientación pertinente</p>
<p>Cuarta: Participación</p> <p>El estudiante tiene derecho y obligación de participar en la sesión, ser escuchado, expresar con orden y respeto sus ideas, puntos de vista, sugerencias, experiencias comentarios, y observaciones, todo ello con el objetivo de fortalecer el proceso educativo.</p>	
<p>Quinta: Puntualidad y Asistencia</p> <p>El estudiante se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asistir al 100% de las sesiones de laboratorio • Presentarse a las sesiones de laboratorio puntualmente. Se darán 15 minutos de tolerancia, pasado este lapso de tiempo, el alumno tendrá falta. • Al no asistir a el laboratorio, el alumno pierde el derecho tener calificación de esa práctica de manera que tendrá cero en esa sesión. 	<p>Cuarta: Puntualidad y Asistencia</p> <p>El docente se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asistir al 100% de las sesiones de laboratorio • Presentarse a las sesiones de laboratorio puntualmente
<p>Sexta: Evaluación</p> <p>El estudiante:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conocerá los criterios y porcentajes de evaluación de la materia, tomando en cuenta la normatividad 	<p>Quinta: Evaluación</p> <p>El docente se compromete a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Respetar y hacer respetar los criterios de evaluación de la asignatura correspondiente.

<p>y reglamento de la institución.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Observará el cumplimiento de los criterios de evaluación de la asignatura y el laboratorio. • Estará sujeto a una evaluación integral con base en los criterios establecidos, acorde a los objetivos de aprendizaje y a lo que se realizó en el laboratorio • Porcentajes de evaluación: Teoría 50 % Laboratorio 50 % • Ambas partes deberán ser aprobadas con calificación mínima de 60 para tener calificación final en el curso. <p>Queda automáticamente reprobado si:</p> <ol style="list-style-type: none"> a) Obtiene una calificación menor de 60 en el laboratorio b) Tiene un porcentaje de asistencia menor al 90% en el laboratorio. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dar a conocer los criterios y porcentajes de evaluación, tomando en cuenta la normatividad y reglamento de la institución. • Realizar una evaluación integral con base en los criterios establecidos, acorde a los objetivos de aprendizaje y a lo que se realizó en el laboratorio • Informar oportunamente a los estudiantes los resultados de su evaluación y calificaciones. Atender sus dudas y realizar las aclaraciones pertinentes.
--	---

COMPETENCIAS GENÉRICAS Y DISCIPLINARES

COMPETENCIAS GENÉRICAS	COMPETENCIAS DISCIPLINARES
Trabajo en equipo	Manejo adecuado de materiales y equipos de laboratorio
Organización y gestión	Razonamiento analógico-analítico
Gestión de la información	Comunicación verbal y escrita
Toma de decisiones y solución de problemas	Uso eficiente de las tecnologías de comunicación

NOTA IMPORTANTE

Honestidad. Los reportes deben de realizarse de manera original, si se llegase a descubrir un plagio, el equipo tendrá cero en la práctica y tendrá automáticamente reprobado el laboratorio.

PRÁCTICA 1
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES
3 horas en 1 sesión
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

Las soluciones son mezclas homogéneas resultantes de la interposición de átomos, moléculas o iones de dos o más sustancias, denominadas componentes, las cuales intervienen en proporciones variables.

Tanto el soluto como el disolvente conservan sus propiedades químicas; en cambio, las propiedades físicas de la solución son distintas de las de cada uno de sus componentes, especialmente la densidad, presión de vapor, puntos de solidificación, ebullición, entre otros.

Las soluciones se denominan moleculares, si las partículas de soluto corresponden a moléculas. En caso de que los componentes sean iones, se conocen como iónicas (Fernández *et al.* 1993).

En la investigación científica el uso de las soluciones es rutinario, no todas las sustancias que se utilizan en el laboratorio son sustancias puras, la mayoría de los compuestos, se utilizan en solución.

En esta práctica el alumno utilizará una operación tan importante como lo es la preparación y cálculos para preparar soluciones de concentración conocida a partir de sustancias puras.

OBJETIVOS DE APRENDIZAJE

El alumno será capaz de:

- Hacer cálculos químicos para obtener sustancias de concentraciones conocidas.
- Manejar reactivos e instrumentación de laboratorio de manera adecuada.

MATERIAL Y SUSTANCIAS

Material e instrumentación

Matraz de aforación (100mL y 250mL)

Pipeta

Probeta (100mL)

Vidrio de reloj

Espátula

Vaso de precipitados (50mL)

Balanza analítica y granataria

Sustancias

Cloruro de sodio puro

Cloruro de potasio puro

Hidróxido de sodio puro

Ácido sulfúrico concentrado

Agua destilada

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

a) Preparar una solución de cloruro de sodio 0.9N y cloruro de potasio 0.6M

1. Realizar los cálculos necesarios para preparar 250mL de una solución de cloruro de sodio 0.9N
2. Después de haber realizado los cálculos, pesar la cantidad de cloruro de sodio en la balanza analítica y preparar la solución en un matraz de aforación de 250mL de capacidad.
3. Verter en un frasco de reactivo etiquetado adecuadamente.
4. Repetir este procedimiento pero ahora para preparar 250mL de una solución de cloruro de potasio 0.6M

b) Preparar una solución de ácido clorhídrico 1N y obtener una solución 0.1N

1. Realizar los cálculos necesarios para preparar 500mL de una solución de ácido clorhídrico 1N.
2. Preparar la solución de ácido clorhídrico 1N.
3. Verter en un frasco de reactivo etiquetado adecuadamente.
4. Realizar los cálculos necesarios para preparar 250mL una solución de ácido clorhídrico 0.1N a partir de la solución de ácido clorhídrico 1N antes preparada
5. Verter en un frasco de reactivo debidamente etiquetado.

RESULTADOS

Para esta sesión, se deben entregar una descripción detallada de los cálculos para poder preparar las soluciones. Hacer una tabla en donde se muestren las características físicas de los compuestos con los que se prepararon las soluciones especificando la marca de los mismos.

CUESTIONARIO

1. Una solución saturada, ¿puede ser al mismo tiempo diluida? Una solución concentrada, es siempre saturada?
2. En relación al tema de las soluciones, indicar **razonadamente** si la siguiente afirmación es falsa o cierta:

Molaridad, tanto por ciento en peso y densidad, son conceptos relacionados entre sí; basta conocer dos de ellos para que el tercero, quede automáticamente determinado.

3. Una solución de ácido clorhídrico concentrado de densidad $d=1.19\text{g/mL}$ con un 37% de HCl. Calcular:
 - a. Molaridad
 - b. Normalidad
4. Se mezclaron 50mL de una solución 2N de ácido sulfúrico con 200mL de otra solución 0.1N del mismo ácido. Deducir la normalidad y molaridad resultante.
5. ¿Qué cantidad de hidróxido de calcio hay en 400mL de una solución 0.2N de dicha sustancia.

PRODUCTOS

Un reporte de la práctica, conteniendo tablas, esquemas y/o gráficas de las observaciones hechas en cada ejercicio, responder las preguntas de la Sección del Reporte de Laboratorio.

ESTRATEGIAS DE APRENDIZAJE Y EVALUACIÓN

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
Utilizar y dominar el lenguaje y los cálculos aplicados a la metodología de la sesión de laboratorio.	Cuestionario y diagrama de flujo de la metodología
Dominio del contenido de la metodología a ser aplicada en la sesión y manejo de la toxicidad de las sustancias utilizadas en la sesión.	Examen previo a la sesión de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

¹ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; Barcelona, España pp 1007

² PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 2
Identificación de la función de las sales minerales en los seres vivos.
6 horas en 2 sesiones
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

La materia viva está constituida por setenta elementos aproximadamente y que se conocen como bioelementos o elementos biogénicos (bíos, vida y genos origen). Sin embargo, estos elementos no se encuentran en la naturaleza puros, si no en mezclas en forma de sales o moléculas, según sea el caso y su función en la materia viva.

En especial, las sustancias minerales se pueden encontrar en los seres vivos de tres formas, precipitadas, disueltas en forma de iones o asociadas a sustancias orgánicas. Al mismo tiempo, estas sustancias, no podrían formar parte de la materia viva sin la presencia del agua.

Como ya se ha mencionado antes, algunos minerales en los organismos vivos, se encuentran en forma de soluciones. Las soluciones son mezclas homogéneas resultantes de la interposición de átomos, moléculas o iones de dos o más sustancias, denominadas componentes, las cuales intervienen en proporciones variables.

Por otro lado, en la investigación científica el uso de las soluciones es rutinario, no todas las sustancias que se utilizan en el laboratorio son sustancias puras, la mayoría de los compuestos, se utilizan en solución.

En esta práctica se pretende familiarizar al alumno con una operación tan importante como lo es la preparación de soluciones de concentración conocida a partir de sustancias puras y al mismo tiempo de identificar la importancia de las sustancias minerales en la materia viva a través de someterlo a una solución a diferente concentración.

OBJETIVOS DE APRENDIZAJE

El alumno será capaz de:

- Explicar la existencia y función de las sales minerales en esqueletos de diferentes organismos marinos.
- Realizar cálculos químicos para la preparación de soluciones de concentración conocida a partir de sustancias puras y de soluciones más concentradas.
- Diseñar la solución de un problema en el que se involucre el estudio de las sales minerales a través de la química analítica cualitativa de los principales minerales presentes en los organismos vivos.

MATERIAL Y SUSTANCIAS

Material e instrumentación	Sustancias
Matraz de aforación (200mL y 250mL)	Ácido clorhídrico concentrado
Pipeta	Cloruro de potasio puro
Probeta (100mL)	Cloruro de calcio puro
Vaso de precipitados (50mL)	Agua destilada
Balanza analítica	Conchas, caracoles, huesos secos
Vasos de reactivo de capacidad de 300mL	
Mechero	
Alambre de platino	

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

b) Preparar una solución de ácido clorhídrico 1 M

1. Observar los datos de la etiqueta del ácido clorhídrico concentrado (% en peso, densidad, peso molecular, etc.)
2. Con la información de dicha etiqueta, calcular el volumen de este ácido que se necesitan para preparar 200mL de ácido clorhídrico 1M
3. Después de haber realizado los cálculos, con ayuda de la probeta, medir el volumen de ácido necesario para preparar la solución. (Recordar primero agregar un poco de agua al matraz y ahí disolver el ácido)
4. Verter en un frasco de reactivo debidamente etiquetado.

c) Preparar una solución de ácido clorhídrico 0.1M a partir de la solución anterior

1. Realizar los cálculos necesarios para preparar 250mL de una solución de ácido clorhídrico 0.1M a partir de la solución 1M preparada anteriormente.
2. Después de haber realizado los cálculos, con ayuda de la probeta, medir el volumen de ácido necesario para preparar la solución.
3. Verter en un frasco de reactivo debidamente etiquetado.

d) Extracción de sales minerales de los esqueletos

1. Colocar en dos vasos de precipitados de 100mL (previamente etiquetados) las conchas, caracoles o huesos secos y añadir las soluciones de ácido, un vaso para la solución 1M y otra para 0.1M
2. Observar en cada caso lo que les ocurre a los huesos al primer contacto con la solución del ácido.
3. Dejar reposar tres días.
4. Observar las conchas, caracoles o huesos después de haber dejado en reposo.

5. Tomar una muestra de la solución, guardarla en un tubo de ensayo, limpio y etiquetado para utilizar en la siguiente sesión

e) Identificación de cationes en solución

1. Utilizar cloruro de calcio y de potasio para hacer los estándares e identificar los cationes presentes en la muestra.
2. Tomar un alambre de platino y colocarlo en la flama de un mechero. Utilizar los estándares para identificar los cationes presentes en los testigos (color naranja: potasio, color rojo: calcio)
3. Repetir el paso 2 con las soluciones obtenidas en el apartado (d).
4. Observar la flama en cada caso y anotarlo en la hoja de resultados.

RESULTADOS

Para esta sesión, se debe entregar:

- Una descripción detallada de los cálculos para poder preparar las soluciones.
- Hacer una tabla en donde se muestren las características físicas de los compuestos con los que se prepararon las soluciones especificando la marca de los mismos.
- Entregar una tabla con la descripción de lo que les sucedió a las conchas, caracoles o huesos al ser sometidos a las soluciones de ácido clorhídrico.
- Entregar una tabla con la identificación de la flama de las diferentes soluciones y compararlas con las soluciones testigos.

CUESTIONARIO PREVIO A LA PRÁCTICA

1. ¿Cómo se forma una sal?
2. ¿Qué son las sales minerales? Explicar 3 funciones que desempeñan las sales minerales en los seres vivos.
3. Calcular la masa que debemos de pesar para preparar una solución de carbonato de calcio (CaCO_3) 0.05M
4. ¿Por qué las reacciones químicas que se estudiar en cuestiones de la materia viva se llevan a cabo en soluciones acuosas?
5. ¿Qué función tienen las soluciones fisiológicas?

PRODUCTOS

Un reporte de la práctica, conteniendo tablas, esquemas y/o gráficas de las observaciones hechas en cada ejercicio, responder las preguntas de la Sección del Reporte de Laboratorio.

ESTRATEGIAS DE APRENDIZAJE Y EVALUACIÓN

Estrategias de Aprendizaje	Estrategias de Evaluación
Utilizar y dominar el lenguaje y los cálculos aplicados a la metodología de la sesión de laboratorio.	Cuestionario y diagrama de flujo de la metodología
Dominio del contenido de la metodología a ser aplicada en la sesión y manejo de la toxicidad de las sustancias utilizadas en la sesión.	Examen previo a la sesión de laboratorio.
Identificación de la importancia de las sales minerales en los seres vivos en las funciones	Reporte de laboratorio con el formato solicitado.

BIBLIOGRAFÍA

¹ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; Barcelona, España pp 1007

² PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 3
Espectrofotetría: Curva de Calibración
3 horas en 1 sesión
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

La manera más simple de realizar una determinación de cualquier elemento o especie química, consiste en aprovechar alguna propiedad fácilmente medible. Una propiedad muy utilizada para determinar la concentración de moléculas biológicas tales como carbohidratos, lípidos y proteínas, es la capacidad de reacciones coloridas que permitan identificar la presencia de la molécula por la coloración presentada al someterla a una determinada reacción. Esto gracias a las mismas propiedades estructurales de las mismas moléculas. Si se aprovechan dichas propiedades, las moléculas pueden absorber radiaciones a lo largo de un amplio margen del espectro de luz.

Por ejemplo, en el caso de las proteínas, existen varios de los métodos para cuantificarlas, como por ejemplo, los enlaces peptídicos de dichas macromoléculas: método de Biuret, Bradford o Lowry. (Roca, *et. al.* 2003).

Por otro lado, los aparatos utilizados para medir la coloración emitida por estas biomoléculas es el espectrofotómetro; instrumento capaz de manejar un haz de Radiación Electromagnética (REM), comúnmente denominado luz, separándolo en facilitar la identificación, calificación y cuantificación de su energía. Su eficiencia, resolución, sensibilidad y rango espectral, dependerán de las variables de diseño y de la selección de los componentes ópticos que lo conforman.

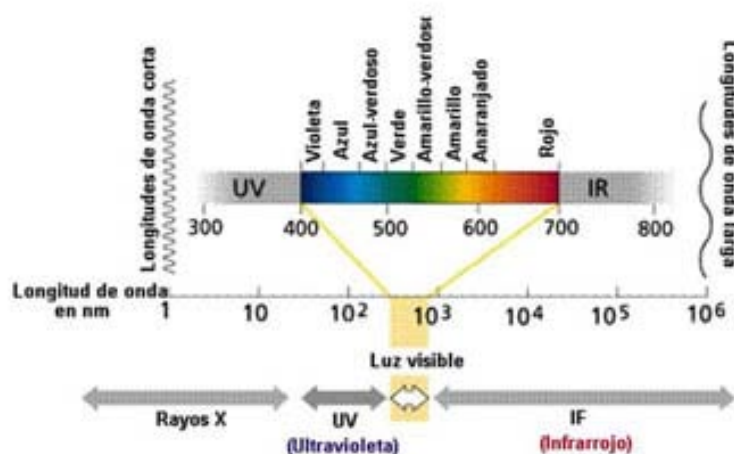


Figura 1. Espectro electromagnético.

Para el caso de las medidas espectroscópicas de una concentración proteica utilizan un espectrofotómetro, en el que una cubeta de grosor l que contiene una solución de la proteína se coloca en un haz de radiación monocromática de intensidad I_0 (Figura 2). La

intensidad del haz emergente disminuirá hasta un valor de I por que la solución absorbe parte de la luz (Mathews, 2002)

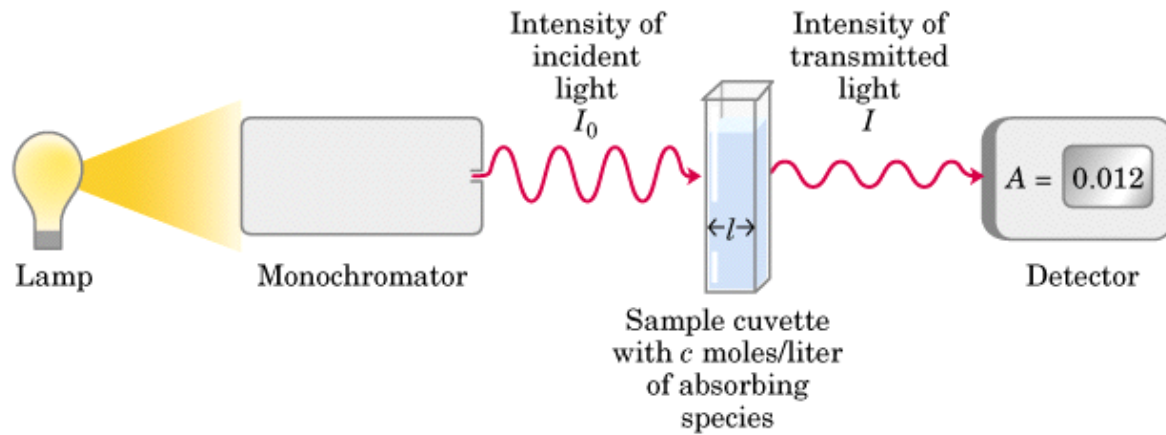


Figura 2. Modelo del funcionamiento de un espectrofotómetro (Stryer, 2005)

Sin embargo, la medición de especies químicas por métodos espectrofotométricos implica la elaboración de curvas de calibración, es decir, la representación gráfica en un eje de coordenadas de la Absorbancia (eje de ordenadas) frente a la Concentración (eje de abcisas). Se ensayan varias soluciones de concentración conocida y se determinan sus absorbancias, construyéndose la curva de calibrado, que es una recta. Una vez ensayadas las soluciones problemas, su concentración se averigua por interpolación de las absorbancias de las soluciones problema en la curva de calibración.

Estas curvas de calibración se basan en la propiedad de las sustancias absorbentes de seguir en la ley de Lambert y Beer. De acuerdo con esta ley, cuando se incide luz en una determinada longitud de onda sobre una especie absorbente, la absorción depende de:

1. El coeficiente de extinción molar de la especie química
2. El espesor del recipiente que la contiene
3. La concentración de la especie en solución

Como el coeficiente de extinción molar es constante para una especie química, si se miden soluciones de distinta concentración usando el mismo recipiente, la absorbancia depende exclusivamente de la concentración de la especie.

En esta sesión se construirá una curva de calibración por el método de Biuret para determinar la concentración de proteínas solubles y así comprender su utilidad y poder aplicar este conocimiento en prácticas posteriores.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la práctica el alumno será capaz de:

- Manipular el espectrofotómetro
- Elaborar una curva de calibración

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

MATERIAL

11 Tubos de ensayo
Pipetas de 1 y 5 ml (dos)
Gradilla para tubos de ensayo
Celdas para espectrofotómetro

REACTIVOS

Solución de albúmina 10mg/ml
Agua destilada
Reactivo de Biuret

INSTRUMENTACIÓN

Espectrofotómetro
Computadora con Excel

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE BIURET

a) Preparar y etiquetar tres series de 11 tubos de acuerdo a la siguiente tabla:

Tubo	Agua (mL)	Albúmina (mL)	Biuret (mL)
<i>B</i>	1.0	0.0	5.0
<i>1</i>	0.9	0.1	5.0
<i>2</i>	0.8	0.2	5.0
<i>3</i>	0.7	0.3	5.0
<i>4</i>	0.6	0.4	5.0
<i>5</i>	0.5	0.5	5.0
<i>6</i>	0.4	0.6	5.0
<i>7</i>	0.3	0.7	5.0
<i>8</i>	0.2	0.8	5.0
<i>9</i>	0.1	0.9	5.0
<i>10</i>	0.0	1.0	5.0

- b) Añadir los reactivos en orden, según la tabla 1 (agua, albúmina, Biuret).
- c) Después de añadir todos los reactivos, agitar los tubos cuidadosamente.
- d) Dejar transcurrir la reacción durante 30 minutos y leer la absorbancia a 450nm
- e) Calcular la concentración de albúmina por tubo y graficar el promedio de las Absorbancias (eje de ordenadas) frente a la Concentración (eje de abcisas).
- f) Determinar el R^2 y la ecuación del gráfico.

RESULTADOS

- Una tabla en donde se presenten las lecturas de las tres absorbancias y el promedio de ellas, junto con su desviación estándar.
- Una gráfica del promedio de las absorbancias frente a la concentración de albúmina. Incluir el R^2 y la ecuación del gráfico.

PRODUCTOS

Un reporte de práctica que contenga los resultados del cálculo de la concentración de albúmina en cada tubo, tomando como base la concentración de la solución estándar que utilizó y la cantidad en mililitros que se agregó a cada tubo; además hacer la regresión lineal, graficar y obtener la ecuación anotando el R^2 para corroborar el porcentaje de error. Debe contener discusión de resultados y conclusión, de acuerdo al Anexo 1.

Estrategias de Aprendizaje	Estrategias de Evaluación
Manejo del lenguaje de la práctica y desarrollo de la sesión.	Pre-reporte en Bitácora.
Dominio del desarrollo de la práctica.	Examen previo a la práctica.
Manipulación del espectrofotómetro y dominio de la elaboración de la curva de calibración.	Resultados de la práctica.
Integración de información para explicar los resultados.	Reporte de la Práctica con formato establecido.

CUESTIONARIO PREVIO A LA PRÁCTICA

6. ¿Cuál es la ley que relaciona la intensidad de luz incidente y la de la luz transmitida? Mencionarla y describirla.
7. ¿Qué limitaciones tiene esa ley?
8. ¿Qué es la espectroscopía? ¿Por qué es tan importante en las investigaciones biológicas?
9. ¿Es lo mismo Transmitancia que Absorbancia? Justificar la respuesta.
10. ¿En qué se basa el Método de Biuret para cuantificar proteínas?

REFERENCIAS

¹ ROCA P., Oliver, J., Rodríguez, A. Ma., (2003), "Bioquímica: técnicas y métodos" HÉLICE, pp 346, España.

² MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

³ Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

⁴ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; pp 1007, Barcelona, España

⁵ PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 4

Propiedades de las Proteínas: Precipitación, Punto Iso-Eléctrico, Solubilidad y Separación

3 horas en 1 sesión

Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son las biomoléculas más abundantes en las células y constituyen aproximadamente la mitad del peso seco de la mayor parte de los organismos. Se caracterizan por encontrarse en todas las células. Existen centenares de tipos de proteínas distintas, las cuales desempeñan una infinidad de funciones biológicas: forman parte de estructuras celulares, son herramientas celulares de distintos procesos, tienen funciones hormonales, por mencionar sólo algunas (Roca, 2002).

Están formadas por aminoácidos unidos entre sí y se mantienen estables por las fuerzas moleculares que determinan la estructura proteica, la cual es la base para que las proteínas puedan cumplir con su función biológica. Dentro de estas fuerzas se encuentran las siguientes:

- Fuerzas electrostáticas
- Puentes de hidrógeno
- Fuerzas hidrofóbicas
- Fuerzas de Van der Waals
- Puentes disulfuro

Gracias a la secuencia de aminoácidos y a las fuerzas que mantienen la estabilidad de éstas para poder realizar sus funciones biológicas; las proteínas poseen propiedades químicas, las cuales facilitan su estudio: solubilidad en agua, punto isoeléctrico, por mencionar dos ejemplos.

Por otro lado, la alteración de dichas fuerzas de atracción provoca en las proteínas la pérdida de estabilidad de las mismas, lo cual provoca una desnaturalización. Dichas alteraciones viene dada por agentes externos como por ejemplo alteración en el pH del medio en el que se encuentren las proteínas, calor, presencia de solventes orgánicos, etc (Leninger. 1993).

En esta práctica se estudiarán algunas de las propiedades de las proteínas, las cuales tienen un efecto sobre la estructura terciaria de la proteína y su forma nativa; lo que tiene por consecuencia, la pérdida de la solubilidad de las mismas, efecto beneficioso para el estudio de dichas macromoléculas.

OBJETIVOS DE APRENDIZAJE

Al finalizar la práctica, el estudiante será capaz de:

- Identificar las propiedades de las proteínas que intervienen en la alteración de la estructura terciaria de las proteínas.
- Comprenderá el efecto de la desnaturalización de la proteína soluble y la pérdida de esa solubilidad.
- Identificará los agentes externos que provocan la desnaturalización de una proteína en relación a algunas propiedades químicas de las mismas.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL

Gradilla

Tubos de ensayo

Pipetas 1, 5, 10 ml

Vasos de precipitados 300 y 50ml

Probeta 100ml

Centrífuga

Embudo de filtración

Parrilla de calentamiento

Matraces Erlenmeyer 50ml

Agitador de vidrio

INSTRUMENTOS

Potenciómetro

REACTIVOS

Solución de caseína al 5%

Solución de albúmina

Leche

Huevo

Reactivo de Biuret

NaOH al 40% y 0.1N

NaCl 5%

BaCl 5%

Nitrato de plata 2%

Cloruro Mercúrico 5%

Regulador de acetatos 0.1M, pH 4.7

Solución Saturada de sulfato de amonio

HCl 0.1N

Insulina Comercial

Ácido Acético 0.2M

Etanol 96°

Acetato de Sodio 0.2M

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS POR PRECIPITACIÓN CON SALES

- a) Colocar en un tubo de ensayo 6ml de una solución fresca de clara de huevo diluida 1:3 y agregar 6ml de una solución saturada de sulfato de amonio
- b) Agitar y filtrar o centrifugar a 2500rpm durante 15 minutos
- c) Resuspender el precipitado en 2ml de agua destilada y realizar la reacción de Biuret (agrega unas gotas de NaOH 40% para hacer esta prueba, ya que el sulfato de amonio consume el álcali del reactivo de Biuret con formación de amoniaco)
- d) Anotar los resultados.
- e) Tomar 1ml del filtrado anterior y hacer también la reacción de Biuret.
- f) Tomar otra muestra del filtrado y agregar con agitación sulfato de amonio sólido hasta saturación
- g) Filtrar o centrifugar a 2500rpm durante 15 minutos
- h) Al filtrado y al precipitado obtenidos realizar nuevamente, por separado, la reacción de Biuret (no olvidar las gotas de NaOH al 40%).
- i) Anotar los resultados en forma de tabla.

II. PRECIPITACIÓN POR EFECTO DEL pH Y DE SOLVENTES

- a) Preparar una serie de tubos de acuerdo con la siguiente tabla:

Tubo No.	1	2	3
Solución de albúmina (3ml)	3.0	3.0	3.0
HCl 0.1 N(ml)	1.0	--	--
NaOH 0.1N(ml)	--	1.0	--
Regulador de acetatos, pH 4.7 (ml)	--	--	1.0
Etanol 96° (ml)	3.0	3.0	3.0

Anotar observaciones en una tabla

- b) Repetir esta tabla pero ahora con huevo. En caso de que haber trabajado con caseína, ahora se hace con leche.

III. DETERMINACIÓN DEL PUNTO ISOELÉCTRICO DE LA INSULINA

- a) Preparar una serie de 5 tubos como se indica a continuación haciendo las mediciones de insulina con una jeringa.

Tubo No.	Ac. Acético 0.2M (mL)	Acetato de sodio 0.2M (mL)	Insulina * 40U/mL	pH		Observaciones	
				5'	10'	5'	10'
1	0.92	0.08	12U (0.3ml)				
2	0.60	0.40	12U (0.3ml)				
3	0.20	0.80	12U (0.3ml)				
4	0.02	0.98	12U (0.3ml)				
5	0.00	1.00	12U (0.3ml)				

Anotar las observaciones a los 5 y 10 minutos.

- a. Determinar con ayuda del potenciómetro el pH a cada tubo e indicar cuál es el punto isoeléctrico obtenido para la insulina.
- Si la solución de insulina utilizada es de 80U/ml se mide a razón de 6U/ml (0.15ml)

CUESTIONARIO

1. Definir qué es el punto isoeléctrico de una proteína
2. ¿Qué es la función biológica de una proteína?
3. ¿Por qué es importante conocer la solubilidad de una proteína?
4. ¿Qué es la desnaturalización de una proteína? Poner dos ejemplos
5. ¿Qué efecto tienen los solventes orgánicos sobre las proteínas como la hemoglobina?

PRODUCTOS

Reporte de práctica, en resultados calcular la concentración de albúmina en cada tubo, tomando como base la concentración de la solución estándar que utilizó y la cantidad en mililitros que se agregó a cada tubo; además hacer la regresión lineal, graficar y obtener la ecuación anotando el R^2 para corroborar el porcentaje de error.

Estrategias de Aprendizaje	Estrategias de Evaluación
Manejo del lenguaje de la práctica y desarrollo de la sesión.	Pre-reporte en Bitácora.
Dominio del desarrollo de la práctica.	Examen previo a la práctica.
Identificación de la solubilidad de las proteínas con solventes orgánicos. Identificación del punto isoeléctrico de una proteína.	Resultados de la práctica.

Integración de información para explicar los resultados.	Reporte de la Práctica con formato establecido.
--	---

REFERENCIAS

¹ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; Barcelona, España pp 1007

² PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 5

Extracción y Comparación de Colágeno de Músculo de un Animal Marino y uno Terrestre
3 horas, 1 sesión
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

El colágeno es el principal componente proteico de los vertebrados y se encuentra ampliamente distribuido en el tejido conjuntivo, huesos, cartílagos y dermis.

Como otras proteínas fibrosas, el colágeno tiene una composición de aminoácidos en la cual predominan unos pocos tipos de residuos en particular. La estructura del colágeno depende en gran parte de la zona en la cual esté realizando su función. No es lo mismo la estructura del colágeno que se encuentra en los huesos como el que se encuentra en los ojos.

La estructura primaria contiene varias repeticiones de una cadena corta de aminoácidos. En comparación con las proteínas solubles típicas y muchas proteínas fibrosas, la composición del colágeno es poco común.

El tejido muscular se caracteriza por su gran capacidad de contracción y por consiguiente, por efectuar trabajo mecánico. Está formado por células que en su citoplasma tiene fibras paralelas llamadas *microfibrillas* las cuales son las responsables de hacer la contracción y el soporte de este tejido. En esta práctica se quiere demostrar que aunque los peces y los animales terrestres, al no tener la misma función contráctil, no es el mismo tipo de colágeno. Lo cual se verá reflejado en el rendimiento de la extracción

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la práctica, el alumno será capaz de:

- Utilizar la técnica de extracción de colágeno de un tejido fibroso.
- Comprender la función de las proteínas fibrosas por la función del tejido del cual fue extraído

MATERIAL Y REACTIVOS

Material

Molino de discos
Mortero y brazo
Vasos de precipitado

Reactivos

KCl 0.6M
Éter (si se necesita)
Acetona (si se necesita)

Agitador de vidrio
Filtro de acero inoxidable

Filete de pescado (200g)
Pechuga de pollo (200g)
Carne de res (200g)

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA I. AISLAMIENTO DEL COLAGENO DEL MÚSCULO

1. Colocar los 200g de filete de pescado (sin grasa) y moler en molino de discos.
2. Homogeneizar en el mortero el tejido molido con 10 volúmenes de KCl 0.6M y transferir el homogeneizado en un vaso de precipitados y agitar.
3. Separar las fibras de colágeno con un filtro de acero inoxidable de 20 mallas.
4. Lavar el material con agua destilada.
5. Pesarse el material obtenido y calcular el rendimiento por kilogramo de tejido en base húmeda
6. Introducir las fibrillas de colágeno a la estufa hasta eliminar toda el agua, y llevar la muestra hasta peso constante. Calcular de la misma forma el rendimiento de tejido, ahora en base seca.
7. Repetir este proceso para la muestra de pechuga de pollo o carne de res, según sea el caso.

RESULTADOS

Una tabla que contenga el cálculo del %rendimiento del colágeno obtenido en peso húmedo y peso seco de los tejidos utilizados.

CUESTIONARIO

1. Describir las principales características de las proteínas fibrosas.
2. Describir la estructura del colágeno
3. ¿Cuál es la estructura del músculo estriado? ¿Tiene relación con el colágeno?
4. ¿Por qué se dice que el colágeno es la proteína más abundante?
5. ¿Existen distintos tipos de colágeno? Justifica tu respuesta.

PRODUCTOS

Reporte de práctica, en resultados calcular el rendimiento de las dos muestras tanto en base seca como base húmeda y realizar una comparación sobre cuál de las dos muestras se encontró más cantidad de fibras de colágeno y explicar a qué se debe la abundancia de las fibrillas de colágeno en un tejido más que en otro.

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
Técnicas de extracción y cuantificación de colágeno	Bitácora de Laboratorio
Comparación de colágeno en varios tipos de tejido	Pre-reporte en Bitácora
Integración de información para explicar los resultados obtenidos	Diagrama de Flujo de la Práctica
	Reporte de la Práctica con formato debido

BIBLIOGRAFÍA

¹ MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

² Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

PRÁCTICA 6

Análisis Cualitativo y Cuantitativo de Lípidos: Determinación de Colesterol en Músculo de Camarón

6 horas, 2 sesiones

Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

Los lípidos son compuestos químicos heterogéneos, insolubles en agua y solubles en solventes no polares. Se han clasificado en simples y complejos.

Los lípidos simples son derivados del isopreno y no son saponificables. Entre ellos se encuentra el colesterol, hormonas sexuales, ácidos biliares y algunas vitaminas.

El colesterol es el componente principal en tejidos y fluidos corporales de animales (lipoproteínas plasmáticas), interviene en la elaboración de la vitamina D, hormonas de glándulas suprarrenales y sexuales.

En esta práctica se desea identificar y cuantificar el colesterol por medio de un estándar de colesterol ya que es una molécula de gran importancia para las células.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la práctica el alumno será capaz de:

- Identificar el colesterol en una muestra problema por medio de una cromatografía en capa fina.
- Extraer el colesterol de una muestra problema para su determinación cualitativa y cuantitativa.
- Cuantificar el colesterol por medio de técnicas espectrofotométricas con el método de Lieberman-Burchard.

MATERIAL Y SUSTANCIAS

MATERIAL

Pipetas de 1, 5 y 10 ml
Bulbo de hule
Vasos de precipitado (25 y 100 ml)
Cámaras de cromatografía
Placas preparadas para cromatografía
Aspersor
Agitador de vidrio
Embudo de filtración
Gradilla
Capilares
Papel filtro
Balanza granataria
Micropipetas (5 y 50 μ l)
Pipetas Pasteur
Probeta graduada

REACTIVOS

H₂SO₄ concentrado
Cloroformo
Metanol
KCl 0.1 M
Ácido acético glacial (20%)
Butanol
KI
Molibdato de sodio
Estándar de colesterol
Huevo como solución problema

INSTRUMENTACIÓN

Espectrofotómetro
Balanza analítica
Estufa

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. EXTRACCIÓN DE LOS LÍPIDOS TOTALES DEL TEJIDO

1. Pesar 5g de tejido de camarón y macerar perfectamente.
2. Dejar en la estufa a 60°C de temperatura hasta llevar a peso constante.
3. Triturar la muestra seca de camarón hasta formar un polvo fino.
4. Agregar 30ml de cloroformo-metanol (2:1 v/v)
5. Agitar energéticamente durante 20 minutos (filtrar medir la cantidad del filtrado)
6. Agregar al filtrado 10ml de KCl 0.1M y agitar cuidadosamente.
7. Dejar reposar para que la muestra se separe en dos fases.
8. Eliminar la fase superior y acuosa. Utilizar la fase inferior orgánica para la separación cromatográfica y la cuantificación de colesterol.

I. DESARROLLO DE LA CROMATOGRAFÍA

1. Aplicar una solución estándar de colesterol, la cual será entregada por el encargado del laboratorio, en la placa para la cromatografía. (Mezcla cloroformo-metanol v/v)
2. Aplicar la muestra problema en la placa con cuidado de no mezclar el estándar con la muestra problema.
3. Desarrollar la cromatografía en la cámara utilizando como fase móvil una mezcla de cloroformo-metanol- ácido acético-agua (65:25:8:4)

4. Revelar la con el reactivo de molibdato para fosfo-lípidos en general.

III. CUANTIFICACIÓN DEL COLESTEROL EN LA YEMA DE HUEVO

Fundamento de la reacción de Lieberman-Burchard

En solución clorofórmica, el colesterol reacciona con el anhídrido acético y el ácido sulfúrico para dar un complejo color verde que resulta de la mezcla de dos compuestos: uno de color azul y otro amarillo y se cuantifican a 640nm.

Esta reacción es inestable por lo que las lecturas se deberán realizar antes de 20 minutos.

1. Preparar una serie de tubos de acuerdo con la tabla siguiente para hacer la curva de calibración:

TUBO	B	1	2	3	4	5	PB*
Estándar de colesterol* (ml) 80µg/ml	0.00	0.5	1.0	1.5	2.00	2.5	0.00
Cloroformo (ml)	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.00	2.5
Extracto de lípidos (ml)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.25
Anhídrido acético (ml)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
AGITAR							
H ₂ SO ₄ conc. (µl)	100	100	100	100	100	100	100
Agitar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente Leer dentro de los primeros 20 minutos (640nm)							
Absorbancia							
µg de colesterol en el tubo de reacción							

(*) Es la muestra problema, no se considera dentro de la curva de calibración

Etiquetar una serie de tubos con B, 1, 2, 3, 4, 5 y otra serie con B', 1', 2', 3', 4', 5'. Estos tubos corresponden al a curva de calibración. PB corresponde a la muestra problema a analizar.

*Estándar de colesterol: 4mg de colesterol por 50mL de cloroformo

NOTA IMPORTANTE: el material debe estar debidamente lavado y bien seco para evitar posibles contaminantes al momento de realizar la curva.

RESULTADOS

Tabla con el peso de tejido fresco y de tejido seco a peso constante.

Un esquema de la placa cromatográfica obtenida e identificar a qué compuesto coincide cada mancha del cromatograma.

Comparar la muestra problema con el estándar de colesterol.

Lectura de las absorbancias del espectrofotómetro.

Curva de calibración con la línea de tendencia para realizar los cálculos de concentración de colesterol.

Concentración del colesterol expresada en $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tejido húmedo y seco.

CUESTIONARIO

1. ¿Qué es un lípido? ¿Por qué aunque el petróleo tiene características semejantes a los lípidos, no es considerado como tal?
2. ¿Cuáles son las principales diferencias entre un lípido saponificable y uno no saponificable?
3. Menciona dos métodos para la extracción de lípidos en tejidos ¿Cómo separar los lípidos saponificables de los no saponificables?
4. ¿En qué principios se basa la cromatografía en capa fina?
5. ¿Qué reacciones ocurren en el método de Lieberman-Burchard en la identificación y cuantificación de colesterol?

PRODUCTOS

Un reporte que contenga la descripción de la extracción del colesterol del tejido de camarón, discuta la concentración de colesterol y la identificación de colesterol mediante la cromatografía en capa fina.

Estrategias de Aprendizaje	Estrategias de Evaluación
<i>Preparación de muestras</i>	<i>Bitácora de Laboratorio</i>
<i>Identificación de colesterol</i>	<i>Pre-reporte en Bitácora</i>
<i>Cuantificación de colesterol</i>	<i>Diagrama de Flujo de la Práctica</i>
<i>Identificación de Reacciones</i>	<i>Reporte de la Práctica con formato debido</i>
<i>Integración de información para explicar los resultados obtenidos</i>	

REFERENCIAS

¹ Carvajal-Juárez M. E. y P. Loyola. "Curso Experimental de Bioquímica General" 20ª. Edición (2003) IPN- ENCB. México

PRÁCTICA 7

Estudio del efecto de la temperatura y pH sobre la actividad enzimática de amilasas
en glándula digestiva de crustáceos
3 horas en 1 sesión
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

Las enzimas son catalizadores biológicos que tienen como característica disminuir la energía de activación de las reacciones químicas que ocurren dentro de los sistemas biológicos, inclusive, en algunas ocasiones, si no fuera por la presencia de dichas biomoléculas, las reacciones químicas de los sistemas no serían posibles.

La mayor parte de las enzimas desde el punto de vista química son compuestos que pertenecen al grupo de las proteínas, algunas sólo funcionan asociadas a un grupo no proteico (prostético o coenzima). Debido a su carácter proteínico, las enzimas son muy sensibles a cualquier cambio físico, químico o fisicoquímico (temperatura, pH, fuerza iónica, precipitación con sales, presencia de agentes oxidantes o reductores, etc.), esto provoca modificaciones en su actividad biológica y en algunos casos, hasta la pérdida de la misma.

Las enzimas digestivas son proteínas solubles con una actividad catalítica con poder de hidrólisis; se encuentran en la clasificación de las hidrolasas por que necesitan agua para romper los enlaces de las moléculas complejas que constituyen a los alimentos: polisacáridos, triglicéridos y proteínas. (Lenhinger, 1995)

En el campo de la acuicultura, el estudio de estas enzimas es importante para poder determinar el aprovechamiento de un alimento y así pues, determinar si es un producto óptimo para estos organismos.

En esta sesión se observará el efecto de la temperatura y pH sobre las enzimas tipo amilasa de los crustáceos.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la práctica, el alumno será capaz de:

- Observar el efecto de la temperatura y el pH sobre la actividad enzimática en la glándula digestiva de algunos crustáceos.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL

Charola y estuche de disección
Mortero con pistilo
Tubos de ensayo (12)
Pipetas 1, 5, 10, 20ml
Termómetro
Papel pH

REACTIVOS

Camarones enteros (1 ó 2 por mesa)
Solución estándar de almidón (8mg/ml)
Solución reguladora de fosfatos a pH: 3, 5, 7, 6, 8 y 9
Agua destilada
Hielo
Reactivo 3,5-dinitro salicílico

INSTRUMENTACIÓN

Centrífuga
Baño de hielo y María
Espectrofotómetro

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA

1. Tomar un camarón entero y vivo; introducirlo 5 minutos al congelador. Con un estuche de disección extraer la glándula digestiva. Pesar la glándula.
2. Colocar la glándula en un mortero previamente enfriado con hielo y agregar 10ml de agua destilada por cada 0.25ml del peso de la glándula.
3. Sacar el homogeneizado y centrifugar durante 5 minutos, utilizar el sobrenadante como solución de amilasa.
4. Esta solución debe ser utilizada inmediatamente después de la extracción ya que las enzimas en agua se inactivan con facilidad.
5. Tratar de mantener siempre en hielo esta muestra.

II. EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Fundamento.

La velocidad de cualquier reacción cambia al modificarse la temperatura, debido a los cambios de energía cinética. Por lo general, por cada 10°C de cada aumento de temperatura se duplica la velocidad. Sin embargo, debido a que las enzimas tienen una estructura protéica, las temperaturas altas producen desnaturalización y una marcada disminución en la actividad catalítica.

Para la mayoría de las enzimas, en el caso de animales homotermos, la temperatura óptima está alrededor de 37° C; si las enzimas llegan a alcanzar temperaturas por arriba de los 60° C, éstas se inactivan.

Preparar una serie de tubos con se indica en el siguiente cuadro:

Tubo No.	1	2	3	4	5	6	7
Estándar de almidón* (ml)	---	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Solución reguladora de fosfatos (ml)	---	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Agua destilada (ml)	5	3	3	3	3	3	3
Temperatura (°C) de preincubación (5 minutos)	25	5	25	40	50	60	92
Solución de glándula (ml)	---	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Tiempo de incubación en BM (minutos)	15	15	15	15	15	15	15
Dinitro salicílico (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Tiempo en BM a ebullición (minutos)	5	5	5	5	5	5	5

*Todas las muestras se realizan por triplicado

Después de que los tubos se dejan en ebullición, se dejan enfriar a temperatura ambiente. Las muestras se leen en el espectrofotómetro a 540nm; el tubo No. 1 es utilizado como testigo.

III. EFECTO DEL pH SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Fundamento.

El pH es uno de los factores que más afecta a la actividad de las enzimas, ya que afecta a la estabilidad de la molécula por la desnaturalización, o bien, por su carga eléctrica.

Cada una de las enzimas tiene un pH específico en donde ésta tiene su máxima actividad enzimática, pH óptimo. La mayoría de las enzimas alcanzan esta máxima actividad en los valores de pH entre 6 y 8; sin embargo, hay excepciones ya que para el caso de las enzimas digestivas, las cuales se encuentran mezcladas con el jugo gástrico, pueden llegar a tener hasta 1.5 como pH óptimo.

Metodología.

Preparar una serie de tubos con se indica en el siguiente cuadro:

Tubo No.	1	2	3	4	5	6	7
Estándar de almidón (ml)							
Solución reguladora de fosfatos (pH/ml)	7/5	3/4	5/4	6/4	7/4	8/4	9/4
Solución de glándula (ml)	---	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Tiempo de incubación a 40°C (minutos)	15	15	15	15	15	15	15
NaOH 2N (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Dinitro salicílico (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Tiempo en BM a ebullición (minutos)	5	5	5	5	5	5	5

*Todas las muestras se realizan por triplicado

Después de que los tubos dejar en ebullición, se dejan enfriar a temperatura ambiente. Las muestras se leen en el espectrofotómetro a 540nm; el tubo No. 1 es utilizado como testigo.

RESULTADOS

Una tabla con los datos de la temperatura y la absorbancia registrada a 540nm y otra con el pH y la absorbancia a la misma longitud de onda.

Realizar dos gráficas que muestren el comportamiento del cambio de temperatura y pH respecto a las absorbancias obtenidas en cada caso. Interpretar las gráficas.

En base a los datos obtenidos ¿cuáles son la temperatura y el óptimo de la amilasa de la glándula digestiva de camarón? Comparar los resultados con la literatura.

CUESTIONARIO

1. ¿Por qué las enzimas digestivas se conocen también como zimógenos?
2. ¿Cuál es el carbohidrato que se libera de la hidrólisis total con amilasa?
3. ¿Cuál es la función del DNS en la reacción?
4. Definir pH y temperatura óptima.
5. Justificar por qué es útil conocer los parámetros mencionados y definidos en la pregunta anterior.

PRODUCTOS

Reporte de práctica, con los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos, realizar una tabla que tenga los datos de la temperatura y la absorbancia registrada a 540nm y otra con el pH y la absorbancia a la misma longitud de onda. Realizar dos gráficas que muestren el comportamiento del cambio de temperatura y pH respecto a las absorbancias obtenidas en cada caso. En base a los datos obtenidos ¿cuáles son la temperatura y el óptimo de la amilasa de la glándula digestiva de camarón? Y En base a los datos obtenidos ¿cuáles son la temperatura y el óptimo de la amilasa de la glándula digestiva de camarón?

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
Preparación de muestras y soluciones	Bitácora de Laboratorio
Tabla comparativa	Pre-reporte en Bitácora
Técnica de extracción de enzimas	Diagrama de Flujo de la Práctica
Identificación de Reacciones	Reporte de la Práctica con formato debido
Realización de Gráficas para observar cambios	
Integración de información para explicar los resultados obtenidos	

REFERENCIAS

¹ ROCA P., Oliver, J., Rodríguez, A. Ma., (2003), "Bioquímica: técnicas y métodos" HÉLICE, pp 346, España.

² MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

³ Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

PRÁCTICA 8

Extracción y cuantificación de Pigmentos Fotosintéticos en Algas

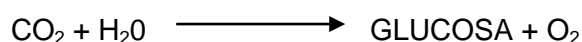
9 horas, 3 sesiones

Laboratorio de Bromatología

Salida de Campo

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas a los cuales se enfrentan las células, tanto autótrofas como heterótrofas es la obtención de energía. La fotosíntesis es uno de los procesos metabólicos de los que se valen las células para la obtención de energía. Este proceso metabólico es característico de las células autótrofas. Es un proceso complejo, mediante el cual los seres vivos poseedores de clorofila y otros pigmentos, captan energía luminosa procedente del sol y la transforman en energía química (ATP) y en compuestos reductores (NADPH), y con ellos transforman el agua y el CO₂ en compuestos orgánicos reducidos (glucosa y otros), liberando oxígeno:



Para obtener la energía luminosa, las células vegetales se valen de los tilacoides, localizados en los cloroplastos; los cuales, contienen a los fotosistemas I y II. Dentro de esos fotosistemas se encuentran los pigmentos que son capaces de absorber la luz en el rango de la luz visible, es por esta razón que se encuentran coloreados. Dentro de esos pigmentos encontramos a la clorofila a y b. También se pueden encontrar algunos carotenoides como carotenos y xantofilas.

La clorofila a es de color azul-verdoso y se encuentra en todas las plantas fotosintéticas. La clorofila b, es un pigmento verde-amarillento también está presente en la mayoría de las plantas superiores; en algunas ocasiones es sustituido por otros pigmentos como la ficocianina, en las algas verde-azules y rojas. Las algas cafés y las diatomeas poseen la clorofila c, mientras que las algas rojas tienen clorofila d. La mayoría de las plantas y bacterias también contienen carotenos y xantofilas.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la sesión el alumno será capaz de:

Extraer y cuantificar la clorofila de las algas por el método metanol:cloroformo.

MATERIAL Y SUSTANCIAS

MATERIAL

Tubos de ensayo para centrífuga (4)
Agitador de vidrio
Pipetas Pasteur (2)
Vaso de precipitado de 100ml
Probeta 50ml
Tapones de hule

REACTIVOS

Metanol
Cloroformo
10g de algas congeladas
Arena lavada con HCl (1:3)
Cápsula de clorofila de marca comercial
KCl 0.1M

INTRUMENTACIÓN

Espectrofotómetro y centrífuga

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. OBTENCIÓN DEL ESTÁNDAR

1. Tomar una cápsula de clorofila, pesarla en la balanza analítica y colocarla en un vaso de precipitado de 100mL previamente pesado.
2. Agregar 20mL de una mezcla de metanol:cloroformo (2:1) v/v y agitar vigorosamente
3. Agregar 10mL de KCl 0.1M a la mezcla.
4. Esperar a que se separe en dos fases y retirar la fase superior con ayuda de una pipeta Pasteur
5. Colocar el vaso de precipitado en BM y evaporar hasta sequedad, cuidado de estar agitando constantemente, controlar la temperatura que no pase de 60° C.
6. Pesar el vaso de precipitados con el residuo verde que queda en el fondo.
7. Calcular el peso de la cantidad de clorofila obtenida de la extracción.
8. Añadir 20mL de una mezcla de metanol:cloroformo (2:1) v/v y colocar extracto en un tubo de ensayo.
9. Calcular la concentración de clorofila por mililitro de mezcla metanol:cloroformo (2:1) v/v

OBTENCIÓN DE UNA CURVA ESTÁNDAR DE CALIBRACIÓN PARA CLOROFILA

1. Hacer una curva de calibración variando la concentración de acuerdo a la siguiente tabla:

Tubo No.	Metanol:Cloformo (mL)	Clorofila (mL)
1	5	0
2	4.5	0.5
3	4.0	1.0
4	3.5	1.5
5	3.0	2.0

Realizar la curva de calibración con tres réplicas

2. Leer en el espectro de absorción a 665nm para hacer la curva de calibración.

III. COLECTA DE LAS ALGAS

1. Colectar las algas y marcar con una clave cada una de las muestras.
2. Lavarlas perfectamente para eliminar arena e impurezas que contengan. Guardar cubiertas con papel aluminio y colocarlas en el congelador hasta ser utilizadas.

RECOMENDACIONES PARA LA SALIDA DE CAMPO

Para esta sesión de laboratorio, se debe de tomar en cuenta que las muestras se van a coleccionar del campo, por lo tanto, antes de ir a la colecta, se deben tomar en cuenta los siguientes puntos:

1. Identificar la zona de la colecta.
2. Hacer claves de muestreo y definir la clave.
3. Considerar que las muestras se procesarán por triplicado.
4. Llevar el material necesario para conservar las muestras.

IV. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FOTOSINTÉTICO

Nota: Evitar que la muestra tenga contacto con la luz ya que los pigmentos son fotolábiles.

1. Cortar en trozos pequeños hasta completar 5g de algas.
2. Colocar el tejido en un tubo de ensayo con 1g de arena lavada con HCl, agregar 5ml de la mezcla de solventes orgánicos (metanol:cloroformo (2:1) v/v), por cada gramo de alga pesada. En caso de no cubrir las algas en su totalidad, agregar otros 5ml por gramo.
3. Con ayuda del agitador de vidrio, macerar el tejido. Tapar el tubo con un tapón de hule.
4. Cubrir el tubo de ensayo con papel aluminio para protegerlo de la luz, agitar vigorosamente para completar la extracción.
5. Dejar reposar la muestra durante dos semanas para una mejor extracción.
6. Centrifugar durante 5 minutos.
7. Recuperar la fase orgánica superior, fase que contiene los pigmentos, registrar su volumen con ayuda de una probeta.
8. Leer en el espectro la muestra a 665nm

RESULTADOS

La curva de calibración con el estándar obtenido en una curva de absorbancia vs concentración en mg/mL.

Un cuadro que determine la concentración de clorofila en las muestras en mg/mL y en mg/g de tejido

PRODUCTOS

Reporte de práctica, los resultados deberán incluir el cálculo de extracto de clorofila obtenido de la cápsula, gráfica de la curva de calibración (incluyendo R^2); determinar la concentración de pigmentos extraídos por gramo de tejido de acuerdo a la curva de calibración. Investigar la absorbancia de distintos pigmentos y comparar con los resultados obtenidos.

ESTRATEGIAS DE APRENDIZAJE Y EVALUACIÓN

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
<i>Colecta de especímenes del campo</i>	<i>Bitácora de Laboratorio</i>
<i>Preparación y calibración de soluciones estándar</i>	<i>Pre-reporte en Bitácora</i>
<i>Técnica de extracción de pigmentos fotosintéticos</i>	<i>Diagrama de Flujo de la Práctica</i>
<i>Diferenciación de pigmentos fotosintéticos en el tejido</i>	<i>Reporte de la Práctica con formato debido</i>
<i>Integración de información para explicar los resultados obtenidos</i>	<i>Reporte grupal de la práctica de campo</i>

REFERENCIAS

¹ ROCA P., Oliver, J., Rodríguez, A. Ma., (2003), "Bioquímica: técnicas y métodos" HÉLICE, pp 346, España.

² MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

³ Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

⁴ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; pp 1007, Barcelona, España

⁵ PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 9

Caracterización e Hidrólisis del Glucógeno en músculo de almeja

6 horas, 2 sesiones
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

El glucógeno es el principal polisacárido de reserva de las células animales, es un polisacárido ramificado de la D-Glucosa con enlaces α -1,4 y α -1,6 en los puntos de ramificación, pero es mucho más ramificada y compacta que la glucosa. El glucógeno es especialmente abundante en el hígado, en donde puede alcanzar hasta el 7% del peso húmedo y se haya presente también en el músculo esquelético. En células hepáticas, el glucógeno se encuentra almacenado en gránulos grandes que contienen además, unidas en forma muy íntima, las enzimas responsables de su síntesis y degradación. En el caso de las almejas, éstas no poseen órgano hepático del cual se pueda extraer el glucógeno, sin embargo se puede utilizar toda la masa visceral, ya que en si, como tal, la almeja no está dividida en diferentes órganos y estos se encuentran en conjunto en una sola masa, de donde se puede hacer la extracción del glucógeno.

El glucógeno puede hidrolizarse por la acción de la enzima α amilasa que se encuentra en la saliva y en el jugo pancreático, la cual rompe los enlaces α - 1,4 de las ramas exteriores del glucógeno para dar glucosa, una cantidad pequeña de maltosa, etc.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al final de la práctica el alumno será capaz de:

Extracción del músculo de almeja

Identificar los carbohidratos contenidos en el glucógeno mediante una cromatografía en capa fina.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL

Baño de agua
Balanza analítica
Termómetro
Matraces 100mL
Vasos de precipitado 100mL
Desecador
Centrífuga

REACTIVOS

Hidróxido de Sodio al 50%
Etanol al 95%
Ácido Sulfúrico
Cloroformo
ANIMAL:
Rata, Pez, Almeja (Uno por equipo)

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

Primera Sesión

I. EXTRACCIÓN DEL GLUCÓGENO DEL MÚSCULO DE ALMEJA

1. Sacrificar la almeja y pesar todo el cuerpo en la balanza granataria.
2. Moler la almeja en un molino de discos hasta obtener una pasta homogénea.
3. Verter esta pasta en un matraz de 125 ó 250 ml y agrega 50ml de hidróxido de sodio al 50%. Calienta a 90°C en Baño María (BM) durante 60 minutos, agitar esporádicamente.
4. Enfriar el matraz en el chorro del agua y agregar ácido sulfúrico, hasta que la suspensión esté ácida. Verificar con papel pH.
5. Después de la digestión añadir 35 mL de agua y 70 mL de etanol al 95%, agitar.
6. Separar el sobrenadante por centrifugación a 5000 r. p. m. durante 20 minutos. En caso de no tener centrífuga utilizar papel filtro previamente pesado en la balanza analítica.
7. Conservar el precipitado ya que ahí es donde se encuentra el glucógeno extraído.
8. Pesar el papel filtro y colocar en él el glucógeno. Colocar el papel filtro en un vidrio de reloj dentro de un desecador. Déjalo secar por 24 horas.
9. Registra el peso seco y guarda el glucógeno para la segunda sesión.

SEGUNDA SESIÓN: Caracterización cromatográfica del glucógeno.

Hidrólisis del glucógeno

1. Pesar el glucógeno seco para evaluar el rendimiento.
2. Pesar 50 mg de éste glucógeno y suspenderlo en 1.5 ml de agua destilada (33.3mg/ml).
3. Preparar una serie de 3 tubos en la siguiente forma:

Tubo	1	2	3
	Testigo	Problema 1	Problema 2
Solución de glucógeno (33.3 mg/ml)	0.5	0.5	0.5
HCl (1,2 o 4 N) ml	0	0.5	0
Solución de amilasa (dilución 1:2, 1:4) (ml)	0	0	0.5
NaCl 5%	0	0	1 gota
Agua destilada (ml)	0.5	0	0
Incubación (30 minutos)	92° C	92° C	37° C

4. Terminada la incubación agregar al tubo 3 un ml de alcohol de 96° y centrifugar a 2000rpm durante 10 minutos.

5. Eliminar el precipitado y concentrar cuidadosamente el sobrenadante en una placa de calentamiento, para evaporar el alcohol.

PREPARACIÓN DEL CROMATOGRAMA

1. En la placa para cromatografía, marcar con lápiz, sobre la última línea (8 cm), 7 puntos equidistantes. En el primer punto colocar solución estándar de glucosa, en el segundo fructosa, el tercero galactosa y el en cuarto maltosa.
2. Colocar respectivamente en los 3 puntos restantes, 50 µl en aplicaciones de 3 en 3, las siguientes muestras:

Glicógeno sin hidrolizar, glicógeno hidrolizado con HCl y glicógeno hidrolizado con amilasa.
3. Saturar el cromatograma durante 2 horas en una cámara con propanol-agua (80:20).
4. Desarrollar hasta que el solvente haya recorrido $\frac{3}{4}$ partes del cromatograma
5. Sacar el cromatograma de la cámara, marcar el frente del corrimiento del solvente y dejarlo secar en la estufa para cromatografía a 70° c durante 10-15 minutos.

REVELADO DEL CROMATOGRAMA

1. Revelar el cromatograma por aspersión con una solución ácida de floroglucinol en etanol o con solución ácida de naftilamina en etanol caliente.
2. Colocar el cromatograma en la estufa para cromatografía a 80 C hasta al a aparición de manchas, de 10 a 15 minutos
3. Circunscribir las manchas de cada una de las muestras y calcular el Rf (índice de retención) correspondiente.
4. Anotar los resultados en la siguiente tabla:

Agente hidrolizante		Rf						
		T	P1	P2	Soluciones Estándar			
					Fructosa	Galactosa	Glucosa	Maltosa
HCl	1 N							
	2 N							
	3 N							
	4 N							

Donde T es el tubo testigo, P1 prueba 1 y P2 prueba dos

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL GLUCÓGENO.

1. Preparar 15 ml de una solución de glucógeno extraído de 5 mg/ml .
2. Preparar 5 tubos para hidrólisis del glucógeno según la siguiente tabla:

Tubo	1	2	3	4	5	6
Glucógeno (ml)	2	2	2	2	2	2
HCl 1N (ml)	2	--	--	--	--	--
HCl 2N (ml)	--	2	--	--	--	--
HCl 4 N (ml)	--	--	2	--	--	--
Amilasa concentrada (ml)	--	--	--	--	2	--
Amilasa 1:2 (ml)	--	--	--	--	--	2
NaCl 5 %	--	--	--	--	1 gota	1 gota
Agua destilada (ml)	--	--	--	2	--	--
Incubar 30 min	92 ° C	92 ° C	92 ° C	92 ° C	37° C	37° C

3. A 0.5 ml de los hidrolizados se les realizará las pruebas de Fehling, lugol y Seliwanoff e incluir un blanco con agua destilada y un testigo de glucógeno sin hidrolizar. Organizar los resultados en una tabla.

Nota: Para Fehling se neutralizará el tubo con 3 o 4 gotas de NaOH al 40%

PRODUCTOS

Reporte de práctica, reportar el rendimiento del glucógeno obtenido, hacer los cálculos necesarios para obtenerlo. Calcular los índices de retención de los estándares así como de los hidrolizados y determinar qué tipo de azúcares podemos encontrar en el glucógeno. Realizar una o unas series de tablas para reportar todos los datos.

CUESTIONARIO PREVIO A LA PRÁCTICA

11. ¿Cuál es la composición química del glucógeno?
12. Se dice que los mariscos son responsables de incrementar la concentración de colesterol en sangre, entonces ¿por qué se extrae el glucógeno de las almejas en esta práctica?
13. Escribir la reacción del licor de Felhing para carbohidratos. Describir su fundamento teórico.
14. ¿Qué efecto se espera de la amilasa sobre el glucógeno?
15. Describir brevemente el proceso de glucogenogénesis.

REFERENCIAS

¹ ROCA P., Oliver, J., Rodríguez, A. Ma., (2003), "Bioquímica: técnicas y métodos" HÉLICE, pp 346, España.

² MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

³ Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

⁴ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; pp 1007, Barcelona, España

⁵ PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

PRÁCTICA 10

Extracción de la Enzima Succínico Deshidrogenasa para el Estudio del Transporte de Electrones en Corazón de Peces

3 horas en 1 sesión
Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

Casi todas las oxidaciones biológicas se efectúan por remoción de hidrógeno del sustrato. Los átomos de hidrógeno son luego transferidos en un aceptador el cual puede ser uno de los nucleótidos de piridina, NAD^+ o NADP^+ . En las células aeróbicas la reducción del NAD es seguida de una serie de transferencia de electrones hasta llegar a la formación de agua. A esta secuencia de reacciones de oxidación reducción se le conoce como *cadena de transporte electrónico o cadena respiratoria*, la cual, se lleva a cabo dentro de la mitocondria.

La succinico deshidrogenasa cataliza la oxidación del ácido succinico a ácido fumárico:



La succinico deshidrogenasa es una flavoproteína que no requiere de coenzima nicotinamida y que se encuentra en las mitocondrias. Además de formar parte del ciclo del ácido cítrico es capaz de reducir directamente a la coenzima Q de la cadena respiratoria. Es altamente específica para el ácido succinico y es inhibida competitivamente por varios ácidos carboxílicos, en especial, ácido málico y oxalacético. Esta enzima es inhibida por la oxidación los grupos sulfidrilos o forman compuestos covalentes con la coenzima Q.

El azul de metileno es un pigmento de color azul que se decolora al reducirse. El potencial redox de las formas oxidada y reducida del azul de metileno es muy cercano al del complejo ubiquinona. Por lo tanto, el azul de metileno puede competir muy favorablemente con la ubiquinona por los equivalentes reductores y en este caso es posible que utilicen dos caminos de flujo de electrones.

La respiración celular se ve altamente afectada con el contacto de metales pesados que afectan a la enzima o, en su defecto, con cianuro. El cianuro ataca directamente a la cadena respiratoria inhibiendo enzimáticamente.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Al finalizar la sesión el alumno será capaz de:

Identificar la actividad enzimática de la enzima succínico deshidrogenada utilizando azul de metileno como aceptor final de hidrógenos

Identificar algunos factores que afecten al transporte de electrones en la cadena respiratoria.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL

Arena lavada

Mortero

Plancha

Termómetro

Vaso de precipitados 250ml

6 Tubos de ensayo

Probeta 200ml

Pipeta Pasteur

Agitador de vidrio

Estuche y charola de disección

Hielo

REACTIVOS

Succinato de sodio 0.10M

Azul de Metileno 0.01%

Nitrato de Plata 0.10M

Cianuro de Sodio 0.08M

Cloruro de Mercurio 0.10M

Glicerina

Fosfato ácido de sodio 0.06M, pH 7

INSTRUMENTACIÓN

Centrífuga

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

I. EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA

1. Sacrificar al pez. Abrirlo y extraer el corazón con mucho cuidado de no destrozarlo.
2. Pesar el corazón (3g aproximadamente). Pueden estar congelados.
3. Cortar los órganos en pequeños trozos y colocarlos en un mortero previamente enfriado en hielo.
4. Agregar aproximadamente 1 gramo de arena y 5 ml de fosfato de sodio pH 7.0.
5. Moler hasta obtener una pasta fina y agregar otros 5 ml de fosfato dejar esta mezcla a temperatura ambiente por unos 15 minutos, mezclar de vez en cuando para destruir sustratos endógenos.
6. Vaciar el contenido a un tubo de centrifuga y centrifugar a baja velocidad durante unos 5 minutos para sedimentar la arena, núcleos y células enteras que hayan quedado sin destruir. Conservar en hielo el sobrenadante.

II. ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL SUCCINATO

1. Con ayuda de la siguiente tabla etiquetar una serie de tubos para hacer el estudio de la actividad enzimática de la succinato deshidrogenasa:

Tubo No.	1	2	3	4	5
Succinato de Na (ml)	2	2	2	2	2
Azul de Metileno (ml)	1	1	1	1	1
Agua (ml)	1	2	--	--	--
Extracto de enzima (ml)	1	--	1	1	1
AgNO ₃ (ml)	--	--	1	--	--
Cianuro de Sodio (ml)	---	--	--	1	--
HgCl(ml)	--	--	--	--	1
Glicerina (ml)	2	2	2	2	2

⚠Advertencia: en esta práctica se utiliza cianuro, se recomienda tener mucho cuidado ya que este compuesto es muy venenoso.

RESULTADOS

Cuadro comparativo de la inhibición de la cadena respiratoria con distintos compuestos.

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la clasificación de la enzima succínico deshidrogenasa?
2. ¿En dónde se encuentra y cómo realiza su función?
3. ¿Qué tipo de inhibición se llevará a cabo con cada una de las sustancias que se utilizarán en esta práctica como inhibidores?
4. ¿Cuál es el efecto del cianuro en la cadena respiratoria?
5. ¿Por qué para la sesión se utiliza el corazón para extraer la enzima y no el músculo?

PRODUCTOS

Reporte de práctica, realizar una tabla en donde se aprecien las observaciones en cada tubo a instante de empezar la reacción, a los 5, 10, 15 y 20 minutos e identificar cuál de los tres inhibidores es el más efectivo. Determinar el efecto químico de cada uno de los inhibidores sobre las enzimas.

ESTRATEGIAS DE APRENDIZAJE Y EVALUACIÓN

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
<i>Técnica de extracción de enzima</i>	<i>Bitácora de Laboratorio</i>
<i>Manejo de tejido cardíaco</i>	<i>Pre-reporte en Bitácora</i>
<i>Técnica de análisis de actividad enzimática</i>	<i>Diagrama de Flujo de la Práctica</i>
<i>Manejo de sustancias venenosas</i>	<i>Reporte de la Práctica con formato debido</i>
<i>Identificación de Inhibidores</i>	
<i>Tabla comparativa</i>	
<i>Integración de información para explicar los resultados obtenidos</i>	

REFERENCIAS

¹ ROCA P., Oliver, J., Rodríguez, A. Ma., (2003), "Bioquímica: técnicas y métodos" HÉLICE, pp 346, España.

² MATHEWS Ch., K. E. van Holde y K. G. Ahern (2002) "Bioquímica" 3ra. Edición, PEARSON ADDISON WESLEY, pp 1335, Madrid, España.

³ Stryer, L (2005), "Bioquímica" 5ta. Edición, Editorial REVERTÉ, S. A. Barcelona, España pp.1010

⁴ FERNÁNDEZ, M. R. y J. A. Hidalgo (1993) "Química General" 3ra. Edición, EVEREST, S. A.; pp 1007, Barcelona, España

⁵ PARARIA, M. (1981) "Laboratorio: guía general de prácticas de química" HORA, S. A.; Barcelona, España; pp 203

Práctica 11
Proyecto Final de Bioquímica
18 horas, 6 sesiones
Campo y Laboratorio de Bromatología

INTRODUCCIÓN

La Biología Marina es una de las ramas de la investigación científica y como tal, involucra distintas actividades. En este momento, los alumnos comienzan también este camino y a formar parte de estas actividades.

Para lograr que los alumnos vean y relacionen la importancia de formar parte de la resolución de problemas a través de las distintas disciplinas que tiene la ciencia, los alumnos deben desarrollar un proyecto científico en donde ellos mismos se harán preguntas y plantearán una manera de resolver un problema a través del método científico.

Deben elaborar una propuesta de investigación científica en la cual, ellos se den una idea lo que significa hacer un proyecto de investigación y conozcan un poco de su proceso hasta el final (el alumno debe tomar conciencia que para resolver un problema, hay ocasiones que se invierten muchos años).

En esta sesión, la cual dura alrededor de mes y medio, el alumno tendrá la oportunidad de relacionar dos áreas de la ciencia en donde ellos van a aplicar sus conocimientos adquiridos durante el semestre para resolver un problema que ellos mismos identificarán.

OBJETIVO DE APRENDIZAJE

Introducir al alumno al mundo de la investigación científica a través de la elaboración de un proyecto de investigación.

INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

Para llevar a cabo este proyecto los alumnos deberán de seguir las siguientes instrucciones:

1. Los alumnos deben trabajar con el equipo que tuvieron todo el semestre.

2. Entre todos los integrantes del equipo elegirán un tema de los vistos en clase de Bioquímica y de las prácticas de laboratorio para poder enfocarlas al área de Biología Marina. El asesor también puede hacer propuestas para resolver problemas.
3. Se pueden hacer modificaciones a las prácticas para hacer una adaptación al área de interés. Por ejemplo, utilizar algas en lugar de plantas de tierra, en caso de que sea un tema relacionado con la fotosíntesis. Esto queda a disposición del equipo.
4. El experimento FORZOSAMENTE debe realizarse en el laboratorio de bioquímica. No se aceptarán trabajos realizados en otras instituciones o laboratorios de la universidad.
5. Los alumnos se pueden asesorar de profesores de otras asignaturas o de otros centros de investigación para adaptar su experimento.
6. Para poderse plantear las preguntas y plantear sus soluciones, el equipo debe de hacer una búsqueda bibliográfica exhaustiva relacionada con el tema que eligieron.
7. Entregarán una propuesta de proyecto en forma de protocolo semejante al que piden algunas instituciones gubernamentales como por ejemplo CONACYT. Para más información sobre los formatos, ver anexos.
8. Esta propuesta puede ser aceptada o rechazada, esta propuesta se hará tanto por escrito y de manera oral.
9. Ya aprobado el proceso, los equipos deben ir con el responsable del laboratorio donde lleven su clase para ver las condiciones en las cuales vana trabajar y si se tienen los reactivos y aparatos en condiciones para trabajar.
10. El asesor del curso hará un monitoreo semanal para resolver dudas en la realización del experimento. Así como para tus presentaciones de los reportes del avance del proyecto.
11. Al final del experimento, se realizará una presentación del trabajo, así como un reporte.

DESARROLLO DEL PROYECTO FINAL

Este proyecto tiene valor del 30% de la calificación total del laboratorio. Para obtener este porcentaje la calificación se cumplir los siguientes puntos así como respetar las fechas propuestas por el asesor.

1. Propuesta y protocolo

Un protocolo es un escrito en donde se plantea el problema que se va a investigar. Es la primera propuesta de proyecto. Esta propuesta es revisada por el asesor y debe de cumplir con ciertos requisitos: introducción, planteamiento del problema, objetivos, resultados esperados (hipótesis: alternativa y nula); experimentación. Es un escrito en donde se describe el problema que se desea resolver y la manera en la cual se va a resolver. Es importante que también lleve el análisis estadístico que se piensa utilizar. Todo documento debe estar bien redactado, con buena ortografía, tener orden. Es un escrito formal, no un borrador. Esta propuesta puede ser o no aprobada, en caso de no ser así se deberán hacer las correcciones correspondientes. Se recomienda revisar el ejemplo de redacción de un protocolo en las siguientes páginas.

2. Organigrama

Al momento de realizar una investigación, se debe tener muy bien organizado todo el planteamiento del problema así como las actividades que se van a realizar. Estas pueden cambiar de acuerdo a los problemas que se vayan presentando durante la investigación.

3. Diagrama de flujo y lista de reactivos

Se entregará un diagrama de flujo detallado y marcando los puntos importantes para la realización de la experimentación, así como una lista de material y reactivos que se van a utilizar para poder llevar a cabo la experimentación. Esta lista tiene un tiempo límite de entrega, si no se cumple, no se podrá llevar a cabo la experimentación y se perderá el resto de la puntuación alcanzada hasta ese momento.

4. Días de Experimentación

En algunas ocasiones, los experimentos no salen a la primera, de manera que se tienen que repetir. Es por ello, que tendrás dos semanas para hacer tu experimentación (dos días de clase de laboratorio). En caso de querer empezar antes la experimentación o necesites más días, lo deben consultar con la persona responsable del laboratorio para ver si hay espacio:

Día 1º para experimentación. Se deben tener listas las muestras, especies, con lo que se va a trabajar, así como toda la instrumentación necesaria. Deben haber consultado con la encargada del laboratorio si hay tanto el material como los reactivos necesarios para llevar a cabo el experimento.

Día 2º para experimentación. Se puede probar de nuevo el experimento o continuarlo, según sea el en caso.

5. Entrega de resultados

Se entregarán los resultados encontrados en el experimento así como el avance de la introducción y material y métodos del artículo que se va a entregar.

PRODUCTOS

1. Artículo de revista

El artículo debe cumplir con el formato especificado para la edición del mismo.

2. Exposición de proyectos finales

Se realizará la exposición oral de los trabajos finalizados, esta puede ser por medio de un cartel o de forma oral de acuerdo a las instrucciones estipuladas por el asesor.

<i>Estrategias de Aprendizaje</i>	<i>Estrategias de Evaluación</i>
<i>Trabajo en Equipo</i>	<i>Propuesta y Protocolo</i>
<i>Planteamiento de Problema</i>	<i>Organigrama</i>
<i>Propuesta del Tema de Interés</i>	<i>Diagrama de Flujo</i>
<i>Propuesta del Proceso para Solucionar el Problema</i>	<i>Lista de Reactivos</i>
<i>Búsqueda de Formato para Artículos Científicos</i>	<i>Avance de Resultados Obtenidos</i>
<i>Integración de información para explicar los resultados obtenidos</i>	<i>Artículo de revista con formato específico</i>
<i>Realización de un Artículo Científico</i>	<i>Exposición del Proyecto</i>
<i>Preparación de Exposición y Defensa del Proyecto</i>	

REFERENCIAS

Formato de llenado de solicitudes de la página de CONACYT.

ANEXO

Propuesta de diez competencias genéricas a desarrollar en la educación superior²

1. Organización y gestión

- Conocer los códigos de funcionamiento interno y las interdependencias de los sistemas sociales y organizativos (empresas, asociaciones, organizaciones, etc.).
- Fijar objetivos y priorizarlos en función de determinados criterios.
- Determinar funciones y establecer responsabilidades.
- Gestionar tiempos, dinero, materiales, etc.
- Evaluar procesos y resultados.

2. Comunicación

- Expresar la propia opinión y saber defenderla.
- Adaptar el discurso verbal y no verbal en función de la intención, la audiencia y la situación.
- Verificar la comprensión del mensaje.
- Saber escuchar y saber hacer preguntas.

3. Gestión de la información

- Seleccionar las fuentes donde obtener información relevante y fiable.
- Análisis e interpretación de la información.
- Clasificar y archivar la información.
- Identificar contradicciones, falacias o falsas analogías.

4. Toma de decisiones y solución de problemas

- Clarificar el problema y analizar causas.
- Generar alternativas de decisión o de solución de problemas y valorar ventajas e inconvenientes.
- Saber encontrar el equilibrio entre la racionalidad y la intuición en la toma
- de decisiones.

5. Trabajo en equipo

- Identificar claramente los objetivos del grupo y orientar la actuación para lograrlos.
- Priorizar los intereses colectivos a los personales.
- Evaluar la actuación del grupo de trabajo y hacer críticas constructivas.
- Saber trabajar en red: compartir y articular tareas entre los trabajadores de
- diferentes secciones o departamento de una empresa o institución o entre personas que trabajan en diferentes organizaciones.

²Corominas et al. 2006. Percepciones del profesorado ante la incorporación de las competencias genéricas en la formación universitaria. Revista de Educación, 341: 301-336

6. Relaciones interpersonales

- Capacitado de empatía: «saber ponerse en el lugar del otro».
- Saber entender y saber trabajar con personas de etnia, religión, cultura o nivel de formación diferente.
- Saber actuar como mediador/a acercando posiciones divergentes.
- Saber tratar a los otros con amabilidad, cordialidad y simpatía.

7. Adaptación al cambio

- Flexibilidad y apertura a nuevas ideas, circunstancias o situaciones.
- Asumir el riesgo, la incertidumbre, la ambigüedad.
- Percibir los cambios como oportunidades.
- Modificar el comportamiento ante nuevos contextos o nuevas circunstancias.

8. Liderazgo, iniciativa, dirección

- Saber persuadir o influir en las conductas de los otros.
- Animar y motivar a los otros.
- Crear sinergias.
- Saber delegar.
- Previsión y anticipación de acontecimientos o situaciones.

9. Disposición hacia la calidad

- Afán de mejora en los procesos y en los resultados.
- Afán de innovación.
- Deseo de conseguir la excelencia.
- Sentirse orgullosa/o de hacer las cosas bien.
- Procurar la satisfacción del cliente o usuario.

10. Control y gestión personal

- Autonomía: saber trabajar sin o con mínima supervisión.
- Saber afrontar el estrés o el trabajo bajo presión.
- Ofrecer una imagen personal positiva.
- Implicarse en la propia formación personal a lo largo de la vida.
- Desarrollar estrategias de auto-promoción: «saberse vender».