



Universidad
Continental

BIOQUÍMICA

Guías de Laboratorio



Visión

Ser una de las 10 mejores universidades privadas del Perú al año 2020, reconocidos por nuestra excelencia académica y vocación de servicio, líderes en formación integral, con perspectiva global; promoviendo la competitividad del país.

Misión

Somos una universidad privada, innovadora y comprometida con el desarrollo del Perú, que se dedica a formar personas competentes, íntegras y emprendedoras, con visión internacional; para que se conviertan en ciudadanos responsables e impulsen el desarrollo de sus comunidades, impartiendo experiencias de aprendizaje vivificantes e inspiradoras; y generando una alta valoración mutua entre todos los grupos de interés.



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
ÍNDICE	3

Primera unidad: Bases moleculares

1.- Reconocimiento de materiales y bioseguridad.	4
2.- Determinación del pH y amortiguación.	7
3.- Determinación de Caseína.	10
4.- Actividad enzimática.	13
5.- Identificación de carbohidratos.	17
6.- Difusión y ósmosis.	20

Segunda unidad: Metabolismo

7.- Glucólisis y fermentación.	24
8.- Separación cromatográfica de pigmentos verdes.	27

Tercera unidad: Bioquímica de la herencia

9.- Extracción de ADN animal.	30
-------------------------------	----



Guía de práctica N° 1:

RECONOCIMIENTO DE MATERIAL DE LABORATORIO Y BIOSEGURIDAD

Sección :Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Objetivo:

Familiarizar al estudiante con los materiales y equipos que usará en las sucesivas clases prácticas. Aprender las normas de bioseguridad y comportamiento en el laboratorio.

2. Fundamento Teórico

MATERIAL DE LABORATORIO:

El laboratorio de biología nos sirve para experimentar y demostrar hipótesis y/o teorías. Se encuentra equipado con materiales y equipos especiales para medir y analizar sustancias, reacciones y fenómenos químicos y físicos.

Los clasificamos en:

- **Material de vidrio:** fabricados con silicato de sodio de potasio, lo que le proporciona dureza, resistencia y calidad y debe ser transparente y resistente al calor, debe llevar la marca o calidad del vidrio y el volumen que puede contener, en este caso decimos que el material se encuentra graduado. Utilizaremos los siguientes:
 - Tubos de ensayo: 13x100mm, 16x150mm
 - Matraz Kitazato
 - Probetas graduadas
 - Vasos de precipitación
 - Frascos goteros
 - Cajas petri
 - Luna de reloj
 - Pipetas graduadas
 - Tubos de centrifuga
 - Laminas porta y cubre objetos
- **Material de porcelana:** Fabricados a base de arcilla químicamente pura, usaremos:
 - Cápsula de porcelana
 - Mortero y pilón
- **Material de madera:** fabricados en madera simple, sirven de soporte y aislamiento:
 - Pinza
 - Espátula
- **Material de metal:** fabricados con una aleación de hierro, cobre y bronce. Son de gran dureza y resistencia a los cambios de temperatura.
 - Gradilla
 - Mechero de Bunsen
 - Equipo de disección
 - Asa de Kohle

EQUIPOS DE LABORATORIO:



Son aparatos cuyo uso y aplicación requiere la instrucción y guía de un apersona con experiencia:

- o Potenciómetro
- o Estufa
- o Balanza analítica
- o Espectrofotómetro

NORMAS DE BIOSEGURIDAD:

1. Al acceder al laboratorio se debe portar el equipo de protección personal EPP que consta de: Mandil blanco, Cofia, mascarilla y guantes, opcional lentes de seguridad.
2. El laboratorio debe mantenerse ordenado y limpio. Revisar que el material entregado se encuentre en buen estado y limpio.
3. Las puertas permanecerán cerradas durante el trabajo. Se cerraran 10 minutos después del horario de entrada.
4. No se permitirá comer, beber, fumar, almacenar alimentos ni aplicarse productos de tocador durante el trabajo en el laboratorio.
5. Seguir las instrucciones de uso adecuado de cada material para evitar accidentes durante el procedimiento.
6. Se debe mantener un comportamiento equilibrado y atento de modo de no causar accidentes ni poner en riesgo a sí mismo y a sus compañeros.
7. Debe descontaminarse y lavarse todo material que haya sido usado y devolverlo limpio.
8. Las mesas de trabajo deben ser descontaminadas inmediatamente después de haberse derramado material contaminado y al finalizar la clase práctica.
9. Profesores y estudiantes deben lavarse las manos antes y sobre todo después de cada trabajo en el laboratorio.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Potenciómetro		1
2	Estufa		1
3	Balanza analítica		1
4	Espectrofotómetro		1

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayo:	13x100mm, 16x150mm	1
2	Matraz Kitazato	100ml	1
3	Probetas graduadas	100ml	1
4	Vasos de precipitación	100ml	1
5	Fascos goteros		1
6	Cajas petri		1
7	Luna de reloj		1
8	Pipetas graduadas	5ml, 1ml	1
11	Gradillas		1
12	Tenazas		1
13	Mechero de Bunsen		1

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Reactivo de Fehling	A y B	30ml
2	Ácido Clorhídrico	Solución diluida	10 ml
3	Hidróxido de sodio	Solución diluida	10ml
4	Lugol		10ml



5	Peróxido de hidrógeno		40ml
6	Sudan III		10ml

4. Indicaciones:

Observar los materiales entregados, dibujarlos en un cuadro según el siguiente esquema:

5. Procedimiento:

MATERIAL	DIBUJO	USO

5. Conclusiones

1. EL MATERIAL DE LABORATORIO:

2. LA BIOSEGURIDAD:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.



Guía de práctica N° 2:

DETERMINACION DEL Ph Y AMORTIGUACION

Sección :Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Determinar el pH de diversas muestras de manera cualitativa y cuantitativa, observar el efecto amortiguador

2. Fundamento Teórico

pH:

El pH de una solución es la medida de su concentración de iones de hidrógeno (H^+) activos, es así que una solución de pH 6.0 contiene 10 veces iones más que una solución de pH 7.0. De la misma manera es también la medida de la concentración de iones OH^-

DETERMINACION DE ACIDEZ – ALCALINIDAD:

La determinación del pH se hace puede hacer mediante diversos métodos:

Métodos Cualitativos: usando indicadores como el papel de tornasol, fenolftaleína y otros.

Métodos cuantitativos: usando el potenciómetro, equipo de campo o laboratorio que permite medir de forma exacta la concentración de H^+ u OH^- .

LA AMORTIGUACIÓN:

Un tampón, *buffer*, solución amortiguadora o solución reguladora es una mezcla en concentraciones relativamente elevadas de un ácido y su base conjugada que tiene la propiedad de mantener estable el pH de una solución acuosa cuando esta es sometida a la acción de ácidos o bases fuertes. Este hecho es importante para todos los seres vivos pues las reacciones metabólicas se llevan a cabo entre límites estrechos de pH, pero también en el medio ambiente donde la variación de pH se debe a la presencia de ciertos contaminantes. Por ejemplo, con un leve cambio en la concentración de hidrogeniones en la célula se puede producir un paro en la actividad de las enzimas.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Item	Equipo	Característica	Cantidad
1	Potenciómetro		1

3.2. Materiales

Item	Material	Característica	Cantidad
1	matraces	100 ml	2
2	vasos	50 ml	2
3	Bagueta		1
4	Cuchara		1
5	matraces	100 ml	2

**3.2. Reactivos**

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	NaCl	Solución diluída	20 ml
2	Fenolftaleína		20 ml
3	H ₂ SO ₄ en frasco gotero.	diluído	20 ml
4	Bicarbonato de sodio.	diluído	20 ml
5	ácido cítrico	diluído	20 ml
	ácido acético.		20 ml
	Amoniaco.	diluído	20 ml
	Papel de tornasol rojo y azul		

4. Indicaciones/instrucciones:

Luego de cada medición lava bien el material utilizado. Enjuaga con agua destilada el potenciómetro antes de cada medición.

5. Hipótesis de trabajo:**6. Procedimiento:****A. MEDICION DEL pH**

- o Con las sustancias líquidas: prepara 30 ml de solución colocando 20 ml de la sustancia y 10 ml de agua destilada.
- o Con las sustancias solidas: 1 cucharadas de sólido y completa hasta 30 ml con agua destilada.
- o Medir el pH de todas las sustancias con los siguientes métodos:
 - Cuantitativos: potenciómetro y cinta universal.
 - Cualitativos: Papel de tornasol y fenolftaleína.
- o Construye una escala de pH.

B. SISTEMA DE AMORTIGUACION:

- o Colocar aproximadamente 1 cucharadita de detergente en polvo de preferencia blanco y completa hasta 50 ml con agua destilada en un matraz de 100ml y adiciona 4 gotas de fenolftaleína, si aparece un color rosado, hidróxidos y carbonatos se hallan presentes, en este caso titule con H₂SO₄ y con gotas de limón hasta que el color rosado desaparezca.
- o Indica en tu cuadro de resultados cuantas gotas de cada acido necesitaste para titular la muestra.

7. Resultados:**A. Determinación del pH:**

MUESTRA	FENOLFTALEINA	PAPEL DE TORNASOL	POTENCIOMETRO
1.-			
2.-			
3.-			
4.-			
5.-			
6.-			
7.-			
8.-			



Construye una escala de pH:

B. Sistema de amortiguación:

MUESTRA	Gotas de H₂SO₄	Gotas de limón
50 ml de solución de detergente		

8. Conclusiones:

A.EL pH:

B. La amortiguación:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.

2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*.4ta Ed.Thomson. 2005.



Guía de práctica N° 3:

DETERMINACION DE PROTEÍNAS

Sección :Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Medir en el laboratorio por el método de Biuret la concentración de caseína en distintas muestras.

2. Fundamento Teórico

CASEINA:

La leche contiene vitaminas (principalmente tiamina, riboflavina, ácido pantoténico y vitaminas A, D y k), minerales (calcio, potasio, sodio, fósforo y metales en pequeñas cantidades), proteínas (incluyendo todos los aminoácidos esenciales), carbohidratos (lactosa) y lípidos. Los únicos elementos importantes de los que carece la leche son el hierro y la vitamina C.

Las proteínas se pueden clasificar de manera general en proteínas globulares y fibrosas.

En la leche hay tres clases de proteínas: caseína, lactato albuminas y lactato globulinas (todas globulares).

La caseína es una proteína conjugada de la leche del tipo fosfoproteína que se separa de la leche por acidificación y forma una masa blanca, el queso. Las fosfoproteínas son un grupo de proteínas que están químicamente unidas a una sustancia que contiene ácido fosfórico, en la caseína la mayoría de los grupos fosfato están unidos por los grupos hidroxilo de los aminoácidos serina y treonina. La caseína en la leche se encuentra en forma de sal cálcica (caseinato cálcico). La caseína representa cerca del 77% al 82% de las proteínas presentes en la leche y el 2.7 % en composición de la leche líquida.

La propiedad característica de la caseína es su baja solubilidad a pH 4,6. El pH de la leche es 6,6 aproximadamente, estando a ese pH la caseína cargada negativamente y solubilizada como sal cálcica. Se añade ácido a la leche, la carga negativa de la superficie de la micela se neutraliza (los grupos fosfato se protonan) y la proteína neutra precipita



La conformación de la caseína es similar a las proteínas desnaturalizadas globulares. El alto número de residuos de prolina en la caseína causa un especial plegamiento en la cadena de proteína e inhibe la formación de una fuerte y ordenada estructura secundaria.

EL METODO DE BIURET

La presencia de proteínas en una mezcla se puede determinar mediante la reacción del Biuret. El reactivo de Biuret contiene CuSO_4 en solución acuosa alcalina (gracias a la presencia de NaOH o KOH). La reacción se basa en la formación de un compuesto de **color violeta**, debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones Cu^{2+} y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos. La reacción debe su nombre al biuret, una molécula formada a partir de dos de urea ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$), que es la más sencilla que da positiva esta reacción, común a todos los compuestos que tengan dos o más enlaces peptídicos consecutivos en sus moléculas.



ESPECTOFOTOMETRO

Sirve para medir; en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativa a 2 haces de radiación y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra

Pueden ser de absorción atómica o de masa y foto colorimétricos.

Tiene la capacidad de proyectar un haz de la luz monométrica a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Eso permite realizar 2 funciones: dar información sobre la naturaleza de la sustancia e Indicar directamente que una cantidad de la sustancia que interesa está presente en la muestra

ABSORBANCIA (A)

Absorbancia es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$ en consecuencia:

$$A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t / I_o.$$

Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$. La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de este.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Item	Equipo	Característica	Cantidad
1	. Espectrofotómetro con 4 celdas.		1
2	. Balanza digital		1

3.2. Materiales

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Vasos de precipitado	50 ml	3
2	Bagueta		1
3	Pipeta		1

3.2. Reactivos

Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agua destilada		100ml
2	Reactivo de Biuret en frasco gotero.		20 ml

4. Hipótesis de trabajo:

5. Procedimiento:

- En un vaso de precipitado de 50ml disuelve, 20ml. de leche evaporada, con 20ml de agua destilada.
- Realiza lo mismo con las muestras de yogurt y de queso crema.
- Añade 5 gotas de reactivo de Biuret a cada vaso.
- Prepara un blanco con agua destilada en una celdilla y calibra el espectrofotómetro a 570 nm.
- Realiza la lectura de las muestras. Anótalas en la tabla de resultados.
- Realiza la conversión de nm a mg de caseína de acuerdo a la tabla de conversión adjunta.



6. Resultados

MUESTRA	nm	Mg de caseína
1.- Leche		
2.- Yogurt		
3.- Queso		

Compara tus resultados con la siguiente tabla y determina cuál muestra contiene mayor cantidad de proteína.

TABLA DE EQUIVALENCIAS

TUBO	I	II	III	IV	1	2	3	4	5	6
D.O	0.082	0.121	0.163	0.202	0.048	0.046	0.048	0.050	0.059	0.048
Mg. De proteína	0.8	1.6	2.4	3.2	0.024	0.023	0.024	0.025	0.02	0.024

8. Conclusión:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.



Guía de práctica N° 4:

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Sección :	Docente: Escribir el nombre del docente
Fecha :/...../2017	Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Identificar las características funcionales de las enzimas y el efecto de la temperatura.

2. Fundamento Teórico

PROTEÍNAS:

Son compuestos constituidos por C, O, H, N además de S, P, Fe, Cu, Mg. Están formados por cadenas de aminoácidos unidos por enlace peptídico. Las proteínas tiene gran variedad de funciones, la más importante de ellas es la función enzimática.

Los alimentos se degradan por la acción de las enzimas. Los carbohidratos, empiezan la degradación en la boca por medio de la acción de una enzima presente en la saliva llamada ptialina o amilasa salival.

Las enzimas realizan diversas funciones en la célula. La catalasa está presente en células vegetales y animales en los lisosomas y se encarga de la protección celular por medio de la siguiente reacción química:



Las enzimas tienen una temperatura en la cual adquieren la máxima velocidad de reacción. Esta temperatura varía de acuerdo a cada enzima. En general, los aumentos de temperatura aceleran las reacciones químicas: por cada 10°C de incremento, la velocidad de reacción se duplica.

Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley general. Sin embargo, al ser proteínas, a partir de cierta temperatura, se empieza a desnaturalizar por el calor. La temperatura a la cual la actividad catalítica es máxima se llama **temperatura óptima**. Por encima de esta temperatura, el aumento de velocidad de la reacción debido a la temperatura es contrarrestado por la pérdida de actividad catalítica debida a la desnaturalización térmica, y la actividad enzimática decrece rápidamente hasta anularse.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Item	Equipo	Característica	Cantidad
1	cocinilla		1

**3.2. Materiales**

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayo de con gradilla.	16 x 100	5
2	1 Pinza de madera		1
3	vasos de precipitado	50 ml	2
4	1 cuchara		
5	Morteros con pilón.		4
6	Gotero		1
7	Placa de porcelana.		1
8	Termómetro.		1

3.2. Reactivos

Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Lugol		20ml
2	Peróxido de hidrógeno		30 ml
3	Hielo	En vasitos	4
4			
5			

4. Indicaciones:

Atención: los estudiantes deberán traer, por grupo, 1 papa, # hojas de espinaca, 1 champiñón fresco y un hígado de pollo completo.

5. Hipótesis de trabajo:**6. Procedimiento:****EXPERIENCIA N°1: Acción catalítica de la ptialina**

- 1.- Rompe por la mitad una galleta de soda y desmenúzala dentro de un vaso de 50ml. Agrega 2 cucharadas de agua. Mezcla bien HASTA FORMAR UNA PAPILLA.
- 2.- Mastica la otra mitad hasta que se convierta en una masa pastosa. Pon la masa en otro vaso de 50ml.
- 3.- Deja descansar los dos vasos hasta casi el final de la práctica, luego:
- 4.- Coloca en ambos vasos 3 gotas de lugol, mezcla y observa.
- 5.- Registra tus resultados el cuadro de resultados.

EXPERIENCIA N°2: Presencia de catalasa en diversas células.

- 1.- Prepara un homogenizado de papa, hígado, espinaca y champiñón, en cada uno de los morteros, mezclando la muestra con un poco de agua de caño. De ser necesario filtra cada homogenizado con un poco de gasa.
- 2.- Coloca un poco del homogenizado en cada fosa de la placa de porcelana y añade 3 gotas de peróxido de hidrogeno a cada fosa.
3. Mide el tiempo de reacción de cada muestra. Registra tus observaciones en el cuadro de resultados.

EXPERIENCIA N° 3: Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.



- 1.- Rotula 5 tubos de 16 x 13.
- 2.- Añade un poco de homogenizado de hígado a cada tubo rotulado.
- 3.- Prepara un BM controlando la temperatura con el termómetro, a las temperaturas que pide el cuadro de resultados.
- 3.- Agregar 5 gotas de peróxido de hidrogeno a cada tubo por vez ys a las siguientes temperaturas indicadas controlando el tiempo de reacción. Anota los tiempos en el cuadro de resultados.

7. Resultados

1: Acción catalítica de la ptialina

MUESTRA	OBSERVACIÓN
Galleta + agua+ lugol	
Galleta + saliva + lugol	

2: Presencia de catalasa en diversas células.

	MUESTRA	AÑADIR	RESULTADO: tiempo de reacción.
1	agua	5 gotas de H ₂ O ₂	
2	Homogenizado de papa.	5 gotas de H ₂ O ₂	
3	Homogenizado de hígado.	5 gotas de H ₂ O ₂	
4	Homogenizado de espinaca.	5 gotas de H ₂ O ₂	
5	Homogenizado de champiñón.	5 gotas de H ₂ O ₂	

3: A: Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.

TUBO	T°C	TIEMPO QUE TARDO EN REACCIONAR
1	0	
2	13	
3	37	
4	50	
5	85	

B: Grafica la Temperatura en función del tiempo:



8. Conclusiones

A.LA PTIALINA:

B: LA CATALASA:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*.4ta Ed.Thomson. 2005.

Guía de práctica N° 5:

IDENTIFICACION DE CARBOHIDRATOS

Sección : Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Reconocer qué muestras contienen glúcidos por medio del análisis de sus propiedades químicas.

2. Fundamento Teórico

CARBOHIDRATOS:

Son compuestos químicos formados por C, H, O. Aldehídos o cetonas polihidroxiados, constituyen la fuente energética más importante. Los vegetales los sintetizan por medio de la fotosíntesis, los animales los consumen del medio ambiente.

Monosacáridos: o azúcares simples, se resumen en la fórmula $(CH_2O)_n$ donde n es entre 3 y 7. En una reacción química actúan como reductores.

Disacáridos: constituidos por dos monosacáridos que se unen mediante enlace glucosídico, los hay reductores (maltosa y lactosa) y no reductores (sacarosa).

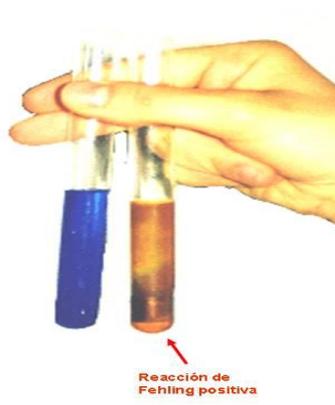
Polisacáridos: son cadenas de monosacáridos unidos entre sí. No reductores.

REACTIVO DE FEHLING

El ensayo con el reactivo de Fehling se fundamenta en el poder reductor del grupo carbonilo de un aldehído. Éste se oxida a ácido y reduce la sal de cobre (II) a óxido de cobre (I), que forma un precipitado de color rojo (siendo antes azul). Si un azúcar reduce el licor de Fehling a óxido de cobre (I) rojo se dice que es un azúcar reductor, y el cambio de color nos demuestra la presencia de dichos azúcares. Los reactivos A y B se guardan por separados hasta el momento de su utilización para evitar el precipitado del hidróxido de cobre.

Reacción de Fehling:

Los monosacáridos son reductores, esto es, reducen las sales de cobre de cúpricas (azul) a cuprosas (rojo).



REACCION DE LOS POLISACARIDOS CON EL LUGOL.

El almidón es un polisacárido vegetal formado por dos componentes: la amilosa y la amilopectina. La primera se colorea de azul en presencia de yodo debido no a una reacción química sino a la adsorción o fijación de yodo en la superficie de la molécula de amilosa, lo cual sólo ocurre en frío. Como reactivo se usa una solución denominada lugol que contiene yodo y yoduro potásico.



3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Item	Equipo	Característica	Cantidad
1	Cocinilla		1

3.2. Materiales

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayo con gradilla y pinza		1
2	Vaso de precipitado		1
3	Pipetas		1
4	goteros		1
5	Cuchara y Bagueta		2
	Tubos de ensayo con gradilla y pinza		12

3.2. Reactivos

Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Reactivo de Fehling A y B		30 ml
2	Lugol		20 ml
3	HCl en frasco gotero.		30 ml
4	Soluciones al 20% de: glucosa, fructuosa, galactosa, maltosa, lactosa, sacarosa y almidón.		30 ml de cada una
5	NaOH		20 ml
	Fenolftaleína		20 l

4. Hipótesis de trabajo:

5. Procedimiento:

EXPERIENCIA N° 1:

1. Preparar el Baño maría en el vaso de precipitación con 100 ml de agua.
2. Rotula 9 tubos de ensayo y procede de acuerdo al cuadro de resultados.

EXPERIENCIA N° 2:

- 1.- En un tubo limpio y seco prepara 1ml de solución de sacarosa y procede de acuerdo al cuadro de resultados.

6. Resultados:

EXPERIENCIA N° 1:

TUBO	MUESTRA	AGREGAR	RESULTADO
1	1ml Solución de glucosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	



2	1ml Solución de fructuosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
3	1ml Solución de galactosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
4	1ml Solución de maltosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
5	1ml Solución de lactosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
6	1ml Solución de sacarosa	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
7	1ml Solución de almidón	3gotas de Fehling A + 3 gotas de Fehling B Calentar a BM 1'	
8	1ml Solución de almidón	3 gotas de lugol	

EXPERIENCIA N° 2:

TUBO	MUESTRA	AGREGAR	RESULTADO
1	1 ml de Solución de sacarosa	1° Agregar 5 gotas de HCL concentrado. Llevar a BM x1'. 2° Agregar 3 gotas de fenolftaleína. 3° Agregar gotas de NAOH hasta virar el color. 4° Agregar 3 gotas de Fehling + 3 gotas de Fehling B. Llevar a BM x 1'.	

7. Conclusión:**Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados**

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.

Guía de práctica N° 6:

DIFUSION Y OSMOSIS

Sección :Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

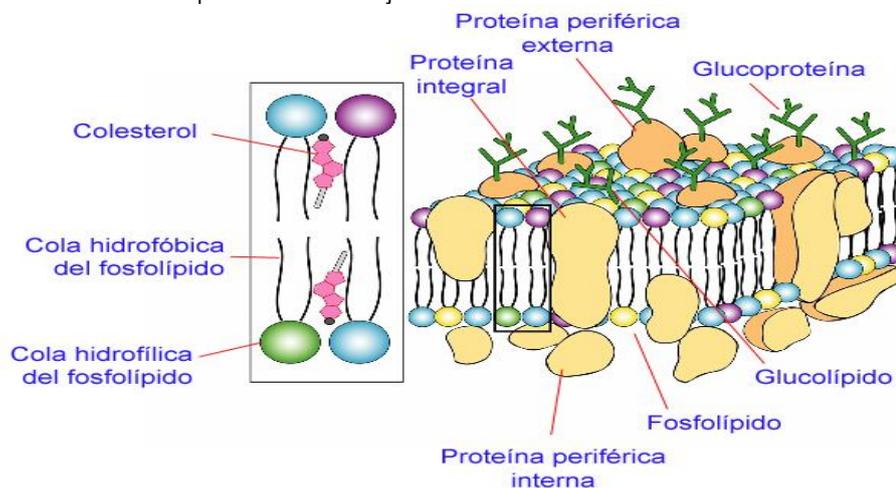
1. Identificar factores que afectan la integridad de las membranas.
2. Explicar cómo la difusión y la osmosis son importantes para las células.

2. Fundamento Teórico

LAS MEMBRANAS CELULARES:

Son barreras selectivas que separan las células y forman compartimientos intracelulares. Entre sus funciones están:

- Regular el transporte de moléculas que entran o salen de la célula o del organelo.
- Generar señales para modificar el metabolismo.
- Adherir células para formar tejidos.



La membrana celular está formada por una capa doble de fosfolípidos, proteínas y carbohidratos. Como se muestra en la figura cada fosfolípido está compuesto por glicerol, ácidos grasos y fosfato, que en conjunto crean una barrera hidrofóbica entre los compartimientos acuosos de la célula. Las proteínas permiten el paso de moléculas hidrofílicas a través de la membrana, determinan las funciones específicas de ésta e incluyen bombas, canales, receptores, moléculas de adhesión, transductores de energía y enzimas. Las proteínas periféricas están asociadas con las superficies, mientras que las integrales están incrustadas en la membrana y pueden atravesar completamente la capa doble. La función de los carbohidratos adheridos a las proteínas (glucoproteínas) o a los fosfolípidos (glucolípidos) es la de adhesión y comunicación intercelular. El colesterol, que es un esteroide (lípido), determina la fluidez de la membrana.

TRANSPORTE A TRAVÉS DE LAS MEMBRANAS:

Para que la célula funcione eficientemente, debe mantenerse en un ambiente estable conocido como **homeostasis**. Para mantener este equilibrio existen mecanismos para el transporte selectivo de materiales hacia el interior o exterior de la célula. Las membranas de la célula son **selectivamente permeables**, permitiendo el paso de algunas sustancias o partículas (moléculas, átomos, o iones), e impidiendo el paso de otras. Esta selectividad se debe a la capa doble de fosfolípidos de la membrana. La forma en que las moléculas pasan por la membrana depende en parte de la polaridad de las mismas. Las moléculas hidrofóbicas, o no polares, pasan con relativa libertad a través de la capa de lípidos, mientras que moléculas hidrofílicas, o polares, incluyendo el agua, y las moléculas de mayor tamaño, pasan a través de canales formados por proteínas transportadoras. La regulación del transporte de las moléculas, o la dirección en que se mueven depende de su gradiente de concentración (diferencia en concentración entre dos lugares).

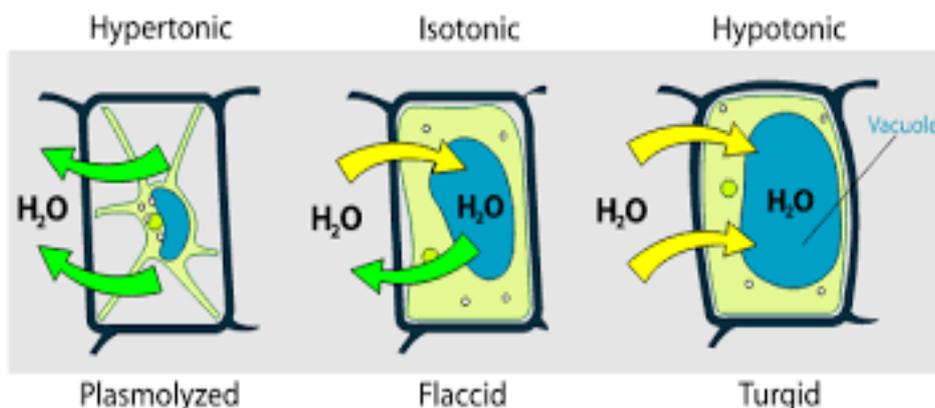
Las moléculas se mueven constantemente debido a su energía cinética y se esparcen uniformemente en el espacio disponible. Este movimiento, llamado movimiento browniano, es la fuerza motriz de la difusión.

Difusión se define como el movimiento natural de las partículas de un área **de mayor** concentración a un área **de menor** concentración hasta alcanzar un equilibrio dinámico, en el cual el movimiento neto de partículas es cero. La difusión no requiere gasto de energía por parte de la célula y por lo tanto es un **movimiento pasivo**. Cuando la célula transporta sustancias en contra de un gradiente de concentración (de un área de menor concentración a un área de mayor concentración) energía (ATP) y sucede **movimiento activo**.

DIFUSIÓN DE MOLÉCULAS DE AGUA:

El movimiento del agua será de un lugar de mayor concentración de moléculas de agua a un lugar con menos concentración de moléculas de agua hasta llegar a un equilibrio dinámico.

El movimiento de agua a través de las membranas (que son selectivamente permeables) se llama **osmosis** (difusión de agua) y sucede siempre del área de mayor concentración de agua (con menor concentración de soluto) al área de menor concentración de agua (con mayor concentración de soluto). El agua se moverá, entonces, a favor de un gradiente de concentración hacia el área de mayor concentración de soluto (donde hay una menor concentración de moléculas de agua libres). Como se muestra en el siguiente gráfico.



9. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Cocinilla		1
2	Congelador		1

**3.2. Materiales**

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayo con pinza y gradilla		6
2	vasos		2
3	Bagueta		1
4	Cuchillo		1
5	Termómetro		1

3.2. Reactivos

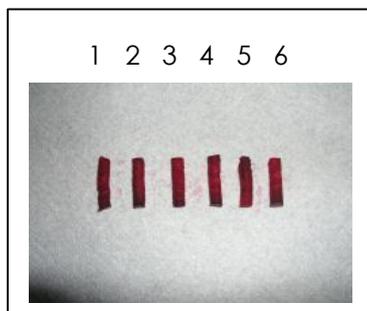
Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agua destilada	En Pizeta	1
2	hielo	En vasos	3

4. Indicaciones:

El estudiante debe traer una beterraga.

5. Hipótesis de trabajo.**6. Procedimiento:**

- A. Corta seis pedazos de beterraga (15 mm de largo, como se muestra en la figura y colócalos en tubos de ensayo rotulados del 1 al 6.



- B. Añade 5 ml de agua al tubo 6 y colóquelo en el congelador por 30 min.
C. Añade 5 ml de agua al tubo 5 y colóquelo en el baño de hielo por 30 min.
D. Añade 5 ml de agua al tubo 1 y colócalo en un baño de agua caliente a 70° C por 1 min. Después de 20 min, remueva el pedazo de remolacha del tubo.
E. Deja que la temperatura del baño baje a 55 °C y haz lo mismo con el tubo 2.
F. Repite el procedimiento de arriba con el tubo 3 a 37 °C y con el tubo 4 a 20 °C.
G. Compara la intensidad de color de las soluciones en los tubos y coloque los resultados en el cuadro correspondiente.
H. Grafica la intensidad de color vs. Temperatura.



7. Resultados

EFECTO DE TEMPERATURA		
TUBO	TEMPERATURA	INTENSIDAD DE COLOR 1 = MENOS INTENSO 6 = MÁS INTENSO
1	70 °C	
2	55 °C	
3	37 °C	
4	20 °C	
5	En baño de hielo	
6	En congelador	

8. Conclusión:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.

Guía de práctica N° 7:

Haga clic aquí para colocar el nombre del tema.

Sección :Docente: *Escribir el nombre del docente*

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Observar los efectos de las reacciones anaeróbicas en levaduras y cómo es posible la inhibición de las mismas.

2. Fundamento Teórico

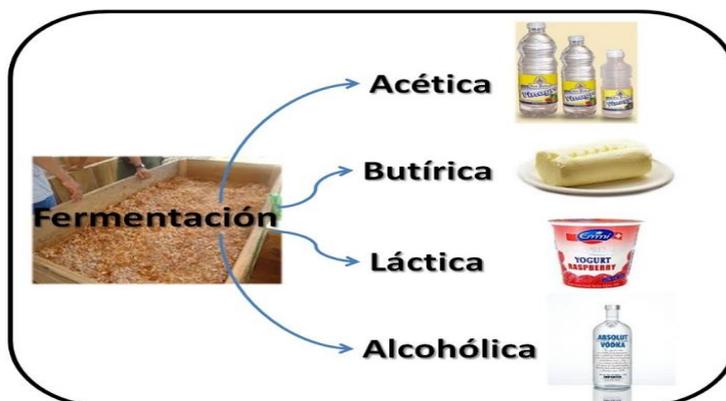
LAS LEVADURAS:

De todos los organismos vivos, solo unas pocas especies son totalmente **anaeróbicas**, es decir que pueden vivir en ausencia de oxígeno. De ellas, la mayoría son microorganismos del suelo profundo, de sedimento de lagos y océanos o en los pantanos donde el oxígeno es verdaderamente escaso.

La mayoría de organismos tiene la capacidad de vivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Entre ellos se encuentran tanto microorganismos como organismos superiores animales y plantas e incluso algunos tejidos que pueden vivir tanto aeróbica como anaeróbicamente.

Las células que pueden vivir de ambas maneras se llaman **células facultativas**. El aspecto significativo de ellas es que cuando se encuentran en un ambiente con poco oxígeno, extraen la energía de la glucosa por medio de la **fermentación anaeróbica**. En cambio cuando hay suficiente oxígeno, **oxidan** los alimentos hasta CO₂ y Agua.

Existen diversos productos de la fermentación, como se ve en el siguiente cuadro:



Las levaduras obtienen energía **degradando la glucosa a piruvato** y luego por medio de la **fermentación alcohólica**, convierten el piruvato en etanol.



3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Item	Equipo	Característica	Cantidad
1	Bañomaria a 37 °C		

3.2. Materiales

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayo con tapón de jebe y manguera de desprendimiento.	16 x 100	3
2	gradilla		1
3	Bagueta		1
4	Cuchara		1
5	Tubos en U		3

3.2. Reactivos

Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agua destilada.		100 ml
2	Solución de glucosa	al 50%	40 ml
3	Solución de fluoruro de sodio		40 l

4. Indicaciones/instrucciones:

El estudiante debe traer una pastilla de levadura de cerveza.

5. Hipótesis de trabajo:

6. Procedimientos:

A. Marca 3 tubos de ensayo y prepáralos de la siguiente manera:

Tubo A:

Llenar 3,5 cm del tubo con suspensión de levadura de cerveza y luego llenarlo totalmente con agua destilada.

Tubo B:

Llenar 3,5 cm del tubo con suspensión de levadura de cerveza y luego llenarlo totalmente con solución de glucosa.

Tubo C:

Llenar 3,5 cm del tubo con suspensión de levadura de cerveza, luego otros 3,5 cm de solución de glucosa y termine de llenar con solución de fluoruro de sodio.

- B. Toma cada tubo y tápalo con tapón de caucho, luego invierte suavemente para mezclar, fijándote de que no quede aire en el tubo. Conecta la manguera del tapón a un tubo en U, que contenga una columna de líquido para desplazar.
- C. Marca la altura del líquido en el tubo en U y coloca el sistema en bañomaria a 37°C.
- D. Registra el desplazamiento del líquido en el tubo en U que refleja la producción de CO₂. Anota las observaciones de cada tubo en el cuadro de resultados.
- E. Construye una gráfica del tiempo en función del CO₂ producido y realiza el análisis de la gráfica.



7. Tabla de Resultados:

TUBOS	CO ₂ producido
A	
B	
C	

8. Conclusión:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.



Guía de práctica N° 8:

CROMATOGRAFIA DE PIGMENTOS VEGETALES

Sección :Docente: *Escribir el nombre del docente*

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Identificar los pigmentos fotosintéticos. Entender la relación entre la fotosíntesis y la longitud de onda que absorben los pigmentos. Explicar qué ocurre en la cromatografía de papel.

2. Fundamento Teórico

LA FOTOSÍNTESIS:

Es un proceso que convierte energía solar en energía química. Se lleva a cabo en los **cloroplastos**, organelos de membrana doble que contienen pigmentos fotosintéticos que absorben la luz solar. La membrana interior del cloroplasto rodea el **estroma**, donde los **tilacoides** se agrupan formando **granás**. La fotosíntesis produce glucosa y oxígeno a partir de bióxido de carbono, agua y luz solar.

La reacción fotosintética se resume de la siguiente manera:



La glucosa es la fuente principal de energía en las células, y el oxígeno es necesario para las plantas, los animales y demás organismos que llevan a cabo respiración aeróbica en los mitocondrios. El proceso de fotosíntesis se divide en dos fases: las reacciones dependientes de la luz y las reacciones independientes de la luz (que ocurren en presencia o ausencia de luz).

Fase dependiente de la luz:

- Se absorbe la luz solar y se convierte en energía química.
- Las *reacciones dependientes de luz* ocurren en la membrana de los **tilacoides** de los cloroplastos.
- Durante esta reacción se descompone agua, se libera oxígeno como producto secundario, y se sintetiza ATP y NADPH.

Fase independiente de la luz:

- Las *reacciones independientes de la luz* (o de fijación de carbono) ocurren en el **estroma** del cloroplasto.
 - La energía del ATP y del NADPH, producidos en las reacciones dependientes de la luz, se usa para transformar el bióxido de carbono en carbohidratos.
- Para utilizar la energía solar se requiere que la luz sea absorbida por pigmentos fotosintéticos que se encuentran en las membranas de los tilacoides en los cloroplastos. El pigmento principal para la fotosíntesis es la **clorofila a**. También hay **pigmentos accesorios**, como la clorofila *b*, el caroteno y la xantofila, que absorben la luz y la transfieren a la clorofila *a*.

SEPARACIÓN DE LOS PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS DE LA HOJA:

En el experimento siguiente se usará cromatografía de papel para separar los pigmentos fotosintéticos presentes en las hojas de espinaca. La **cromatografía** separa los compuestos



químicos por su afinidad con un solvente orgánico específico. Mientras mayor afinidad tenga el pigmento por el solvente, más rápido se moverá y mayor distancia recorrerá en el papel. El color verde profundo de la hoja *no* indica cuáles ni cuántos pigmentos hay en los cloroplastos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubo con tapón de jebe y gradilla	16 x 100	1
2	Matraz	250 ml	1
3	Papel whatman cualitativo		1

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Solución cromatográfica	90% de éter +10% de acetona.	50 ml

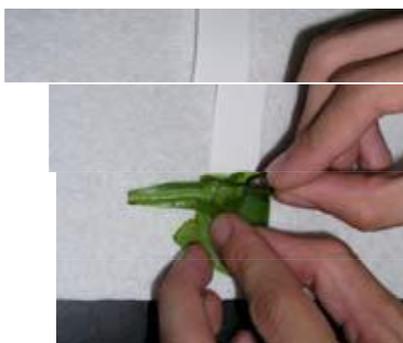
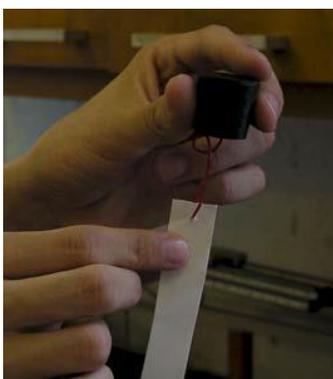
4. Indicaciones:

El estudiante debe traer una hoja de espinaca verde, hilo de cocer y una moneda.

5. Hipótesis de trabajo:

6. Procedimientos:

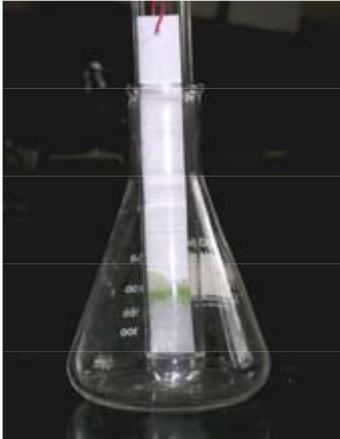
- A. Prepara tu "cámara de corrida". Consigue un corcho para el tubo de ensayo que usará e insértele una presilla en la parte inferior, como se muestra en la figura.



- B. Cuelgue un pedazo de papel de la presilla y verifica que el papel quepa dentro del tubo pero sin tocar el fondo. Con un lápiz marque 1 cm en la punta inferior del papel de cromatografía.
- C. Mide hasta dónde llega el papel de cromatografía dentro del tubo y transfiera la marca de 1.5 cm al tubo.
- D. Coloca una hoja de espinaca sobre el área del papel de cromatografía, donde hiciste la marca y transfiere con una moneda el pigmento al papel. Rueda la moneda varias veces sobre la hoja hasta obtener una línea oscura de pigmento como se ve en la figura.
- E. Añade al tubo solución de cromatografía hasta llegar un poco por debajo de la marca que hizo en el tubo. Asegúrate que la solución *no* llegue a la línea de pigmento en el papel.
- F. Coloca el tubo en el matraz donde se mantenga derecho.



- G. Coloca el papel de cromatografía dentro del tubo de ensayo sin que toque el fondo del tubo. Recuerda que la solución de cromatografía no debe llegar al macerado.



- H. Deja correr la cromatografía hasta 2 cm del borde superior y deténla removiendo el papel del tubo.
I. Marca hasta donde llegó la corrida y deja secar el papel.
J. Identifica las bandas de pigmentos y dibuje su corrida de acuerdo al siguiente cuadro:

Colores representativos de los pigmentos:

Pigmentos	Color
Clorofila <i>a</i>	Verde-azul
Clorofila <i>b</i>	Verde-oliva
Beta carotenos	Anaranjado
Xantofilas Amarillo	(tonos múltiples)

7. Resultados

Dibuja la gama de colores obtenidos:

8. Conclusión:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.



Guía de práctica N° 9:

EXTRACCION DE ADN ANIMAL

Sección :Docente: Escribir el nombre del docente

Fecha :/...../2017

Duración: 90 min

Instrucciones: Lee con cuidado la guía, sigue sus instrucciones así como las del docente, realiza tu práctica seguro y atento

1. Propósito:

Separar el ADN presente en el núcleo de las células, de muestras de tejidos animales (hígado)

2. Fundamento Teórico

SEPARACIÓN DEL ADN

Para la extracción del ADN del núcleo de las células, es necesario homogenizar el hígado de pollo, en hidróxido de sodio (NaOH) y sodio duodecil sulfato (SDS). Este tratamiento favorece la ruptura de la pared y de la membrana celular, además de contribuir a la desnaturalización de las proteínas.

Con el fin de liberar el ADN de las proteínas, se utilizan una serie de agentes desnaturalizantes, como el perclorato de sodio y la mezcla de cloroformo y alcohol isoamilo. Después de agregar los agentes desnaturalizantes, se centrifuga la solución y se obtienen dos fases: una orgánica y una acuosa, separadas por una interfase de proteínas desnaturalizadas; en la fase acuosa se encuentra el ADN. La mezcla de cloroformo y alcohol no solo desnaturaliza las proteínas, sino que disuelve los lípidos de la muestra y aumenta la separación de las fases.

El ADN de la fase acuosa se recupera por precipitación. La precipitación en etanol absoluto en presencia de una sal es un método muy utilizado en los procesos de extracción de ADN. Luego, el ADN se disuelve en solución salina, y puede ser almacenado para utilizarlo en experimentos posteriores.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.2. Materiales

Item	Material	Característica	Cantidad
1	Bagueta		1
2	vasos	50ml, 100 ml, 150 ml	3
3	Mortero con pilón.		1
4	Probeta		100 ml

3.2. Reactivos

Item	Reactivo	Característica	Cantidad
1	SDS El dodecilsulfato sódico (cualquier detergente).	concentrado	50 ml
2	Alcohol 96°		100 ml
3	Cloruro sódico	2M	50 ml

4. Indicaciones:

El estudiante debe traer 1 hígado de pollo completo, 150 g de arena fina, y cofia adicional.

5. Hipótesis de trabajo:



6. Procedimiento:

- A. Triturar 1 hígado de pollo en un mortero. Añadir arena para que al triturar se puedan romper las membranas y queden los núcleos sueltos.
- B. Añadir al triturado, 50 ml de agua destilada. Remover hasta hacer una especie de papilla o puré.
- C. Filtrar varias veces sobre una tela para separar los restos de tejidos que hayan quedado por romper.
- D. Medir el volumen del filtrado con una probeta.
- E. Añadir al filtrado un volumen igual de cloruro sódico 2M. Con esto conseguimos producir el estallido de los núcleos para que queden libres las fibras de cromatina.
- F. A continuación se añade 1 ml de SDS.
- G. Añadir mediante una pipeta 50 ml de alcohol de 96° el alcohol debe de estar frío. Hay que hacerlo de forma que el alcohol resbale por las paredes del vaso y se formen dos capas. En la interfase, precipita el ADN.

7. Resultados:

Introducir una varilla de vidrio e ir removiendo en la misma dirección. Sobre la varilla se van adhiriendo unas fibras blancas, visibles a simple vista, que son el resultado de la agrupación de muchas fibras de ADN.

Dibujar las fibras obtenidas.

8. Conclusión:

Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- TIMOCZKO J. *Bioquímica*. Editorial Reverte. Barcelona. 2014. Biblioteca UC-572 – T99.
- 2.-CAMPBELL, K.; FARREL, O. *Bioquímica*. 4ta Ed. Thomson. 2005.