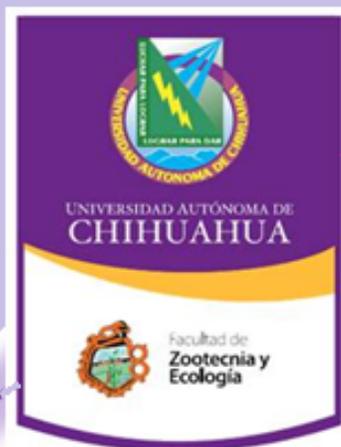


Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Código: INF 8.3 FZYE MP 03	Página 1 de 20
Fecha de Emisión: 02/2006	Fecha de Revisión: 26/03/2013
	Nº de Revisión: 03
Elaboró:	COORDINADOR DE AREA
Aprobó:	SECRETARIA ACADEMICA

MANUAL DE PRACTICAS DEL CURSO DE BIOQUIMICA



*Manual de Prácticas del Curso
de BIOQUÍMICA*

ELABORADO POR:

M.C. CELIA HOLGUÍN LICÓN

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGIA, UACH.

ENERO 2011

PRACTICA #1
TITULACION POTENCIOMETRICA

OBJETIVO:

Realizar la neutralización de un ácido fuerte (HCl) con una base fuerte (NaOH) y determinar el Punto de Equivalencia.

PRINCIPIO:

Una titulación potenciométrica es básicamente una técnica que asocia una valoración volumétrica a un potenciómetro, cuyo objetivo es determinar el punto de equivalencia que está asociado con las variaciones de fuerza electromotriz del sistema.

MATERIALES	SUSTANCIAS
Soporte Universal	Ácido clorhídrico 0.1 N
Bureta	Hidróxido de Sodio 0.1 N
Agitador magnético	Fenolftaleína
Vaso de precipitado de 500 ml	
Probeta de 50 ml	
Embudo de plástico	
Potenciómetro	
Agitador	
Pipeta de 10 ml	
Pinza para bureta	

PROCEDIMIENTO:

1. Mida 50 ml de HCl 0.1 N y transfíralo a un vaso de precipitado de 400 ml., adicione 4 gotas de indicador de fenolftaleína. Mida el valor del pH.
2. Llene una bureta con NaOH 0.1 N. utilizando un embudo.

PRÁCTICAS BIOQUÍMICA

3. Adicionar porciones de 10 ml de NaOH en el vaso que contiene el HCl, y agitar. Medir el pH, después de cada adicción hasta 70 ml.
4. Con los valores obtenidos llene la tabla, calculando el pOH con el valor del pH obtenido. Recuerde que $\text{pH} + \text{pOH} = 14$
5. Grafique la curva de titulación potenciométrica que muestre el pH vs. Volumen de NaOH 0.1 N señalando el punto de equivalencia.

Volumen de NaOH 0.1 N Añadido	PH	pOH
0		
10		
20		
30		
40		
50		
60		
70		

CUESTIONARIO:

1. Defina Titulación Potenciométrica: _____
2. ¿Qué entiende por Punto de Equivalencia?. _____

3. Defina pH: _____
4. Defina pOH: _____
5. La suma de $\text{pH} + \text{pOH} =$ _____.
6. ¿Qué observa en la gráfica obtenida?

PRACTICA #2**CAPACIDAD AMORTIGUADORA****OBJETIVO:**

Observar la capacidad amortiguadora de diferentes sustancias.

MATERIAL	REACTIVOS	
Potenciómetro	NaOH 1N	NaHCO ₃ / H ₂ CO ₃
Vasos de precipitado	HCl 1 N	Agua destilada
Pizeta	Suero	
2 Pipetas sexológicas	Melox	
Agitador magnético	Peptobismol	

PROCEDIMIENTO:

1. En un vaso de precipitado ponga 10 ml de cada una de las sustancias señaladas en la tabla, numere los vasos del 1 al 10.
2. Tome el pH de cada una de las sustancias y regístrelo en la tabla (pH inicial).
3. Adicione 1 ml de NaOH 1N a los vasos 1,3,5,7 y 9. Agite y tome el pH de nuevo y regístrelo en la tabla (pH final).
4. Adicione 1 ml de HCl 1N a los vasos 2,4,6,8 y 10. Agite y tome el pH de nuevo y regístrelo en la tabla (pH final).
5. De acuerdo a los resultados obtenidos, explique la capacidad amortiguadora de las sustancias.

Número de vaso	Sustancia	pH inicial	NaOH 1N	HCl 1N	pH final
1	Suero		1 ml	-----	
2	Suero		-----	1 ml	
3	Melox		1 ml	-----	
4	Melox		-----	1 ml	
5	Peptobismol		1 ml	-----	
6	Peptobismol		-----	1 ml	
7	Sol. Buffer		1 ml	-----	
8	Sol. Buffer		-----	1 ml	
9	Agua destilada		1 ml	-----	
10	Agua destilada		-----	1 ml	

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué es una solución Amortiguadora o Buffer?

2. ¿Cómo se preparan las soluciones amortiguadoras?

3. ¿Cómo se comportaron las soluciones utilizadas:

PRACTICA #3
IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS

OBJETIVOS:

Que el alumno identifique algunos carbohidratos y realice la hidrólisis de un disacárido.

MATERIALES Y REACTIVOS:

Vaso de precipitado	Glucosa
Mechero	Maltosa
Tubos de ensayo	Sacarosa
Gradilla	Almidón
Pinza para tubo de ensayo	Lactosa
	Reactivo de Fehling A
	Reactivo de Fehling B
	Lugol
	Acido clorhídrico al 10%
	Bicarbonato

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

1. Reactivo de Fehling A: disuelva 69.278 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ por litro de solución.
2. Reactivo de Fehling B: disuelva 100 g de NaOH y 346 g de sal de Rochelle (Tartrato ácido de potasio) por litro de solución.
3. Lugol: disuelva 16 g de KI en 5 ml de agua destilada y añada 3.2 g de yodo, una vez disueltos diluya con agua hasta 250 ml.
4. HCl 10% (v/v): diluya 10 ml de HCl concentrado en 90 ml de agua.

5. Soluciones de azúcar al 1%: disuelva 1g de cada uno de los azúcares en 100 ml de agua destilada.

PROCEDIMIENTO:

INVESTIGACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES:

1. Ponga 10 ml de cada una de las soluciones de azúcares en un tubo de ensayo.
2. Añada 1 ml de la solución de Fehling A y 1 ml de la solución de Fehling B. El líquido del tubo de ensayo tomará un color azul fuerte.
3. Calentar el tubo en baño María o directamente en un mechero.
4. La reacción será positiva si la muestra se vuelve de color rojo-ladrillo.
5. La reacción será negativa si la muestra queda azul, o cambia a un tono azul-verdoso.

FUNDAMENTO: Se basa en el carácter reductor de los monosacáridos y de la mayoría de los disacáridos (excepto la sacarosa). Si el glúcido que se investiga es reductor, se oxidará dando lugar a la reducción del sulfato de cobre (II), de color azul, a óxido de cobre (I), de color rojo-anaranjado.

OBSERVACIONES:

INVESTIGACIÓN DE AZÚCARES NO REDUCTORES

1. Tomar una muestra de sacarosa y añadir 10 gotas de ácido clorhídrico al 10%. Calentar a la llama del mechero durante un par de minutos.
2. Enfríe y neutralice con bicarbonato.
3. Realice la prueba de Fehling como en el paso anterior.

OBSERVACIONES:

INVESTIGACIÓN DE POLISACÁRIDOS:

1. Colocar una muestra de cada uno de los azúcares en un tubo de ensayo.
2. Añadir 5 gotas de Lugol a cada uno de los tubos.
3. Si el azúcar es un polisacárido se colorea de azul-violeta en presencia de yodo, debido no a una reacción química, sino a la fijación del yodo en la superficie de la molécula del almidón, fijación que solo tiene lugar en frío.

OBSERVACIONES:

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué otros nombres reciben los carbohidratos?
2. ¿Por qué se les llama hidratos de carbono?
3. ¿Cuál es la clasificación de los carbohidratos?
4. ¿A los aldehídos o cetonas polihidroxiados les llamamos?
5. De acuerdo al número de átomos de carbono que contengan los monosacáridos se clasifican en:
6. ¿Qué es una aldosa?
7. ¿Qué es una cetosa?
8. ¿Qué característica presentan los azúcares reductores?

PRACTICA # 4**IDENTIFICACIÓN DE PROTEINAS****OBJETIVOS:**

Que el alumno identifique los diferentes tipos de proteínas y sus propiedades.

MATERIAL	REACTIVOS
Mechero	Clara de huevo
Tubo de ensayo	NaOH al 20%
Pinza para tubo	Acetato de plomo al 5%
Pipetas serológica de 10 ml	Sulfato cúprico al 1%
Baño María	NaOH 40%
	Ácido acético concentrado
	HNO 3 concentrado

1) COAGULACIÓN DE PROTEINAS

Las proteínas, debido al gran tamaño de sus moléculas, forman con el agua soluciones coloidales. Estas soluciones pueden precipitar con formación de coágulos al ser calentadas a temperaturas superiores a los 70 o C, o al ser tratadas con soluciones salinas, ácidos, alcoholes, etc. La coagulación de las proteínas es un proceso irreversible y se debe a su desnaturalización por dichos agentes, que al actuar sobre la proteína la desordenan por la destrucción de su estructura terciaria y cuaternaria.

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar en un tubo de ensayo una pequeña cantidad de clara de huevo.

2. Añadir 5 gotas de ácido acético y calentar el tubo a la llama del mechero.

3. Anote sus observaciones: _____

4.Cuál fue la causa: _____

2) IDENTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS CON GRUPOS BENCÉNICOS (REACCIÓN XANTOPROTEICA)

PROCEDIMIENTO:

1. Ponga en un tubo de ensayo de 2 a 3 ml de clara de huevo.

2. Añadir 1 ml de HNO_3 concentrado.

3. Calentar al baño maría a 100°C .

4. Enfriar en agua fría.

5. Añadir gota a gota una disolución de sosa al 40 %.

6. Un vire de color anaranjado oscuro indica la presencia de aminoácidos con grupos bencénicos como la tirosina.

7. Anote sus observaciones: _____

3) RECONOCIMIENTO DE PROTEINAS Y ENLACES PEPTIDICOS

PROCEDIMIENTO:

1. Poner 3 ml de clara de huevo en un tubo de ensayo.
2. Añadir 2 ml de solución de NaOH al 20%.
3. Añada 4 o 5 gotas de solución de Sulfato cúprico al 1 %.
4. Sí la solución toma una coloración violeta-rosácea indica la presencia de enlaces peptídicos.
5. Observaciones:

4) IDENTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS CON AZUFRE

PROCEDIMIENTO:

1. Ponga en un tubo de ensayo de 2 a 3 ml de clara de huevo.
2. Añada 2 ml de la solución de NaOH al 20%.
3. Añada 10 gotas de solución de acetato de plomo al 5%.
4. Calentar el tubo hasta ebullición.
5. Si se forma un precipitado de color negruzco nos indica que se ha formado sulfuro de plomo, utilizándose el azufre de los aminoácidos, lo que nos sirve para identificar proteínas que tienen en su composición aminoácidos con azufre.
6. Observaciones:_____

CUESTIONARIO:

1. A la sustancia que contiene el radical ácido y el radical amino en su molécula se llama: _____
2. Al enlace resultante de la unión de dos aminoácidos cuya configuración es $-\text{CO}-\text{NH}-$ le llamamos: _____
3. Al resultado de la unión de dos moléculas de aminoácidos le llamamos: _____.
4. A las sustancias de elevado peso molecular que constan de varios cientos de moléculas de aminoácidos unidas entre si por medio de enlaces peptídicos las denominamos: _____
5. Qué nos indica la estructura primaria de una proteína:

6. Qué les pasa a las proteínas con el calor:

7. La desnaturalización de las proteínas es un proceso reversible o irreversible: _____.
8. Como se le llama a la proteína de la leche:
_____.
9. Como se le llama a la proteína del huevo:
_____.

PRACTICA # 5
RECONOCIMIENTO DE LÍPIDOS

OBJETIVO:

El alumno identificara algunas propiedades de los lípidos.

MATERIALES	REACTIVOS
Baño María	Aceite vegetal
Mechero	Solución de Sudán III
Gradilla para tubos	Tinta roja
Vaso de precipitado	Hidróxido de sodio 20%
Tubos de ensayo	Éter o Cloroformo

SAPONIFICACIÓN:**PROCEDIMIENTO:**

1. Colocar en un tubo de ensayo 2 ml de aceite vegetal y 2 ml de solución de hidróxido de sodio al 20%.
2. Agitar el tubo y colocar en baño María de 20 a 30 minutos.
3. Transcurrido ese tiempo, se puede observar en el tubo tres capas: la capa inferior clara que contiene la solución de sosa sobrante junto con la glicerina formada; la capa superior amarilla de aceite no utilizada, y la capa intermedia, de aspecto grumoso, que es el jabón formado.

OBSERVACIONES:

TINCIÓN DE GRASAS

1. Colocar en dos tubos de ensayo 2 ml de aceite vegetal.
2. Añadir a uno de ellos 5 gotas de solución alcohólica de Sudán III. Al otro tubo añadir 5 gotas de tinta roja. Agitar ambos tubos y dejar reposar.
3. Se observará en el tubo al que se le añadió Sudán, que todo el aceite aparece teñido. En cambio en el frasco al que se añadió tinta roja, la tinta se habrá ido al fondo y el aceite aparecerá sin teñir.

OBSERVACIONES:

SOLUBILIDAD

1. Tomar dos tubos de ensayo y poner en cada uno de ellos 3 ml de agua, en otro tubo poner 3 ml de éter u otro disolvente orgánico.
2. Añadir a cada tubo 1 ml de aceite y agitar fuertemente. Observar la formación de gotitas de micelas y dejar en reposo. Se verá como el aceite se ha disuelto en el éter y en cambio no lo hace en el agua.

OBSERVACIONES:

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué son los lípidos?

2. ¿Cómo le llamamos al producto de la combinación de ácidos grasos con glicerina?

3. ¿Cuáles son los productos resultantes de la saponificación de una grasa?

4. ¿En que solventes son solubles las grasas?

5. ¿Porqué las grasas no son solubles en agua?

6. ¿Cuál es el principio en el que se fundamenta la formación de capas?

PRACTICA #6**RECONOCIMIENTO DE ENZIMAS****OBJETIVOS:**

Que el alumno identifique la presencia y propiedades de algunas enzimas en tejidos animales y vegetales.

MATERIALES	REACTIVOS
Gradilla	Solución de Fehling
Tubos de ensayo	Hígado
Mechero	Agua Oxigenada
Pipetas	Tomate
Baño María	Solución de Lugol
Termómetro	Almidón

RECONOCIMIENTO DE LA CATALASA

La catalasa es una enzima que se encuentra en las células de los tejidos animales y vegetales. La función de esta enzima en los tejidos es necesaria porque durante el metabolismo celular, se forma una molécula tóxica que es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), esta sustancia es descompuesta por la catalasa en agua y oxígeno, eliminando el problema tóxico.

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar en un tubo de ensayo unos trocitos de hígado, en otro un trozo de tomate.
2. Añadir 5 ml de agua oxigenada a cada uno.
3. Se observará un intenso burbujeo debido al desprendimiento del oxígeno.
4. Anote sus observaciones: _____

DESNATURALIZACIÓN DE LA CATALASA:

Como la catalasa químicamente es una proteína, podemos desnaturalizarla al someterla a altas temperaturas.

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar en un tubo de ensayo varios trocitos de hígado.
 2. Añadir agua para hervir la muestra durante unos minutos.
 3. Después de este tiempo retirar el agua sobrenadante y añadir el agua oxigenada.
 4. Observar y anotar el resultado.
-
-

HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN

La enzima amilasa o ptialina, presente en la saliva actúa sobre el almidón hidrolizándolo en unidades de glucosa.

PROCEDIMIENTO:

1. Poner en una gradilla cuatro tubos de ensayo, numéralos del 1 al 4.
2. Añadir en cada tubo 5 ml de una solución diluida de almidón.
3. A los tubos 3 y 4 añadir una pequeña cantidad de saliva.
4. En el tubo 1 haz la reacción de Fehling: añade 1 ml de la solución de Fehling A y 1 ml de la solución de Fehling B. Calentar el tubo en baño María o directamente en un mechero. Si la muestra se vuelve de color rojo-ladrillo, indicará la presencia de monosacáridos o disacáridos.

Anote sus observaciones: _____.

5. En el tubo 2 realiza la reacción de Lugol: añadir 5 gotas de Lugol al tubo, si el azúcar es un polisacárido se colorea de azul-violeta en presencia de yodo, debido a la fijación del yodo en la superficie de la molécula del almidón, fijación que solo tiene lugar en frío. Anote sus observaciones: _____.
6. Los tubos 3 y 4 que contienen el almidón, al que se le agregó la saliva, ponerlos en un vaso de precipitado a baño María, controlando la temperatura del agua para que no hierva (temperatura de 37° C). Dejarlo unos 15 minutos.
7. En el tubo 3 realizar la prueba de Fehling, la cuál debe dar positiva porque la amilasa de la saliva ha hidrolizado el almidón transformándolo en glucosa. Observaciones: _____
8. En el tubo 4 realizar la prueba de Lugol, la cuál debe dar negativa porque el almidón se ha hidrolizado. Observaciones:

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué son las enzimas? _____

2. ¿Por qué son importantes en los procesos metabólicos?

3. ¿Cómo se nombra a las enzimas? _____
