

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE INGENIERÍA Y NEGOCIOS SAN QUINTÍN

Manual de Prácticas de Laboratorio de  
Bioquímica

Dra. Laura Dennisse Carrasco Peña  
MBC Jorge Luis Delgadillo  
Responsables de la elaboración del manual

2018

[Escriba la dirección de la compañía]

## Práctica 1. Estructura celular

### 1.1 Introducción

Todos los organismos vivos están integrados por una o más células. En ellas tienen lugar todas las reacciones químicas incluyendo las que liberan energía y los procesos biosintéticos. Los organismos superiores como el hombre, pueden ser considerados como el resultado del crecimiento y división de una célula fundadora única. Cada animal, vegetal u hongo es una colonia inmensa de células individuales que llevan a cabo funciones especializadas, coordinadas por complejos sistemas de comunicación. Las células por lo tanto, contienen la información que define sus características y ésta pasa de células progenitoras a células hija.

En consecuencia, las células son las unidades fundamentales de la vida y su estructura básica puede describirse como un sistema formado por un medio interno diferenciado y separado del externo mediante una membrana que permite intercambios con él. En este medio interno llamado citoplasma ocurren reacciones bioquímicas de transformación de materia y energía. Además, en su interior se encuentran las estructuras portadoras de información genética.

Todos los seres vivos están formados por alguno de los siguientes tipos de células: las células procariontes y las células eucariontes. La presencia o no de estructuras membranosas en su interior constituye la principal diferencia entre ambas. Las células procariontes carecen de dichas estructuras mientras que las células eucariontes sí las poseen.

La comparación entre las células eucariontes y procariontes advierte de la superioridad en complejidad de las primeras. Los organismos complejos como los animales y las plantas están constituidos por células eucariontes. Y en ellas podemos distinguir:

- a) Una membrana celular que delimita el medio interno del externo.
- b) Un citoplasma que constituye el medio interno. Dentro de él puede distinguirse una parte líquida, el citosol, que es una solución cuyo solvente principal es agua y como solutos son las sustancias que intervienen en el metabolismo celular. Suspendidos en el citosol se encuentran los diferentes organelos como las mitocondrias, los lisosomas y sistemas membranosos como el retículo endoplásmico.
- c) Un núcleo celular separado del citoplasma por la membrana nuclear y en cuyo interior se encuentra el material genético.

Una diferencia fundamental entre las células animales y vegetales, considerando el esquema de una célula básica, es que esas últimas poseen además de una membrana plasmática, una pared celular que la rodea. Otra diferencia importante

es que además de los organelos mencionados, las células vegetales poseen cloroplastos y grandes vacuolas en el citosol.

Por lo general las células son muy pequeñas para ser observadas a simple vista. No fueron visualizadas sino hasta el siglo XVII con la invención del microscopio. Gran parte del conocimiento de la estructura celular se debe al uso del microscopio, al cual se le han incorporado mejoras complejas, y como resultado podemos distinguir tres tipos de instrumentos: microscopio óptico o fotónico, microscopio electrónico de transmisión y el microscopio electrónico de barrido. Los microscopios ópticos utilizan la luz visible para iluminar las muestras y debido a esto tienen limitaciones propias de la radiación lumínica para revelar en detalle la estructura celular. Con el microscopio óptico podemos distinguir las estructuras más grandes y voluminosas de las células eucariontes y también podemos reconocer las células procariontes individuales. Pero, no podemos observar la estructura interna de las células procariontes ni en detalle la de las células eucariontes. Los microscopios electrónicos, se fundamentan en el empleo de haces de electrones en lugar de haces de luz como fuente lumínica, ampliando enormemente la capacidad para visualizar los detalles sutiles de las células e incluso posibilita la visualización de algunas moléculas de mayor tamaño.

Si se realiza un corte muy delgado de un tejido animal o vegetal y se coloca bajo un microscopio óptico se observará que está formado por miles de células e incluso si la muestra se mantuvo en condiciones adecuadas se visualizarán partículas internas dentro de ella en movimiento e incluso que cambian de forma con lentitud y se dividen. Es difícil observar la estructura interna de una célula, no sólo por el tamaño de sus componentes, sino además, porque son transparentes y en su mayoría incoloros.

En esta práctica podrás observar y comparar células vegetales y animales.

## 1.2 Competencia

Reconocer y diferenciar la organización y composición de células vegetales y animales para integrar sus funciones biológicas, con actitud analítica, capacidad de observación y respetando la biodiversidad del ambiente.

## 1.3 Material

Cristalería, microscopio compuesto, porta y cubreobjetos, pipetas Pasteur, cajas Petri, bisturí, yodo o lugol, cebolla, hoja de lirio y mucosa bucal.

## 1.4 Procedimiento

### 1.4.1 Preparación vegetal

1. Desprende el catáfilo de cebolla y colócalo en un portaobjetos. Pon una gota de yodo sobre la preparación y luego cúbrelo con el cubreobjetos. Procede de la misma manera con la hoja de lirio.

2. Lleva la preparación al microscopio y observa a 10X y 40 X e identifica la pared celular, el núcleo y el citoplasma.

#### 1.4.2 Preparación animal

1. Con un palillo de dientes haz un raspado de la mucosa bucal interna (muy suavemente) y procede a hacer el frotis en el portaobjetos; coloca una gota de yodo o lugol y luego cubre con el cubreobjetos.

2. Coloca el portaobjetos sobre la platina y observa a 10X y 40 X procede a identificar la forma, el núcleo, la membrana celular y el citoplasma.

### 1.5 Resultados

1.- Esquematice las células observadas señalando sus estructuras y el aumento al que fue observada dicha estructura.

2. Menciona las diferencias entre las células vegetales y animal observadas.

3. Las células observadas en la práctica son eucariotas ¿por qué?

### 1.6 Bibliografía

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Jhonson, A., Lewis, J., Raff, M. Roberts, K. Walter, P. (2016). *Introducción a la biología celular (3a. ed.)*. Recuperado de <https://www.medicapanamericana.com>

Curtis, H., Barnes, N., S., Schnek, A., Massarini, P. (2011). *Biología (7a. ed.)*. Recuperado de <https://www.medicapanamericana.com>

Curtis, H., Barnes, N., S., Schnek, A., Massarini, P. (2015). *Invitación a la biología: en el context social (7a. ed.)*. Recuperado de <https://www.medicapanamericana.com>

## Práctica 2. pH y capacidad amortiguadora

### 2.1 Introducción

La acidez de una disolución se mide por la concentración de iones hidronio o protones presentes. Esta concentración abarca desde 1 molar (1 M) en una solución muy ácida, hasta una concentración de  $10^{-14}$  en una solución muy alcalina o básica. Para evitar el uso de números tan pequeños se decidió convertir estas concentraciones a una escala logarítmica, denominada escala de pH, que comprende valores desde 0 hasta 14. Las disoluciones ácidas son aquellas que poseen valores inferiores a 7 y, alcalinas las que son superiores, mientras que se denominan neutras las que tienen un valor igual a 7. El pH de una solución se mide con un electrodo de vidrio en un instrumento conocido como pHmetro. El electrodo genera un potencial eléctrico que depende de la concentración de iones  $H^+$  y que el equipo convierte en una lectura de pH.

El estado de ionización de algunos grupos funcionales en moléculas biológicas depende de la concentración de protones en el medio. Por ejemplo en el caso de las enzimas, si consideramos que la mayoría de ellas presenta este tipo de grupos en su centro activo, se puede dimensionar el impacto que tienen pequeñas variaciones en el pH celular. Por ejemplo, si un grupo amino de un residuo de una enzima tiene carga positiva a pH 7, un incremento del pH conducirá a que el  $H^+$  del grupo amino sea cedido al medio y, por tanto se pierda una carga positiva. En muchos casos dicha carga es imprescindible para que la enzima interaccione con el sustrato, impidiendo que la reacción se lleve a cabo con normalidad.

Por lo anterior la regulación del pH tanto en el medio intracelular como extracelular es indispensable para que las moléculas puedan realizar su función de manera adecuada. Una disolución tampón, disolución amortiguadora o disolución reguladora son sistemas acuosos que soportan cambios en el pH al diluirse o cuando se le adicionan ácidos o bases. Dichos sistemas pueden constituirse por un ácido débil y su base conjugada o por una base débil y su ácido conjugado, por lo que pueden prepararse a partir de los pares: cloruro de amonio/amoniaco o ácido acético/acetato de sodio, por citar algunos. Cuando la concentración de ambos componentes es similar, entonces el sistema tiene una gran capacidad amortiguadora. En esta condición cualquier incremento en la concentración de iones  $H^+$  podrá ser absorbida por la base conjugada y si aumenta la concentración de  $OH^-$  será el ácido del sistema el que ceda un protón al medio que neutralice al ion hidroxilo. Las disoluciones amortiguadoras tienen amplia aplicación tanto por los científicos como por los técnicos en diversas industrias para mantener el pH relativamente constante y en valores predeterminados en una gran variedad de procesos.

## 2.2 Competencia

Preparar soluciones amortiguadoras para el estudio de la bioquímica de las células y realizar mediciones de pH de fluidos orgánicos utilizando un potenciómetro; con actitud crítica, manteniendo el equilibrio de la biodiversidad y el ambiente.

## 2.3 Material

Vasos de precipitado de 50 mL y 1L, 2 matraz volumétrico de 1 L, 1 pH-metro, 1 piseta, espátulas, agitador magnético. Fluidos orgánicos (savia, saliva, sangre, etc.), Tris, NaCl, HCl 1 M,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

## 2.4 Procedimiento

2.4.1 Calibrar el potenciómetro utilizando una o dos soluciones amortiguadoras de pH de referencia de acuerdo a las indicaciones del instrumento.

2.4.2 Preparación de buffer TBS (Tris 50 mM y NaCl 150 mM). Disolver 6.05 g de Tris y 8.76 g de NaCl en 800 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 7.5 con HCl 1 M y ajustar el volumen a 1 L con agua destilada. El buffer es estable a 4 °C por 3 meses.

2.4.3 Preparación de buffer de fosfato de sodio 100 mM pH 6,80, para curva de calibración: Pesar 1,2444g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (PM 173,98 g/mol) y 0,4042 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (PM 141,96 g/mol), el conjunto de reactivos depositarlo en un vaso de precipitados y disolver en 80 mL de agua destilada fría. Agitar hasta disolución completa. Luego ajustar a pH 6,8 y aforar a 100 mL con agua destilada fría. Conservar en un frasco debidamente rotulado a 4 °C.

2.4.4. Realizar mediciones de los fluidos orgánicos.

## 2.5 Resultados

2.5.1 Registrar el pH de cada una de las muestras y ordenarlas de acuerdo a su acidez o alcalinidad.

2.5.2 Resumir las características químicas de un amortiguador.

## 2.6 Bibliografía

Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, E. J. (2015). *Fundamentos de química analítica (9a. ed.)*. Recuperado de <http://ebookcentralproquest.com>

Christian, G. D. (2009). *Química analítica (6a. ed.)*. Recuperado de <https://ebookcentralproquest.com>

Feduchi, C. E. (2015). *Bioquímica (2a. Ed.)*. Recuperado de <https://www.medicapanamericana.com>

Cold Spring Harbor Protocols. Tris-Buffered Saline (TBS) (pH 7.6). Recuperado de <http://cshprotocols.cshlp.org>

## Práctica 3. Reacciones características de carbohidratos

### 3.1 Introducción

Los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes de la naturaleza y constituyen un vínculo directo entre la energía solar y la energía de los enlaces químicos de los seres vivos. Son las sustancias orgánicas consideradas como nutrimentos de mayor consumo entre los animales y el hombre. Se producen durante la *fotosíntesis*, un proceso bioquímico en el que se captura la energía luminosa y se emplea para llevar a cabo la biosíntesis de moléculas orgánicas con alta energía a partir de las moléculas con poca energía:  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . En un inicio se aceptaba que los carbohidratos contenían carbono, hidrógeno y oxígeno en una relación  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , de aquí su nombre. Sin embargo, en la actualidad esta restricción ya no se aplica y en esta categoría se incluyen muchas sustancias diferentes. A los carbohidratos se les atribuye una amplia diversidad de funciones biológicas, como fuentes de energía (por ejemplo la glucosa), como elementos estructurales de vegetales como el caso de la celulosa y de insectos como la quitina. Además son precursores de otras biomoléculas como los lípidos, aminoácidos, las purinas y las pirimidinas.

Los carbohidratos se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, según el número de unidades de azúcares sencillos que contengan. Los carbohidratos también son partes integrales de otras biomoléculas.

Un grupo amplio de *glucoconjugados* (moléculas proteínicas y lipídicas con grupos de carbohidratos ligados de forma covalente) están distribuidos entre todas las especies vivientes, principalmente, entre los organismos eucariotas. Determinados carbohidratos (los azúcares ribosa y desoxirribosa) son elementos estructurales de los nucleótidos y de los ácidos nucleicos.

Algunos azúcares tienen la propiedad de oxidarse en presencia de agentes oxidantes suaves como el ion  $\text{Fe}^{3+}$  o  $\text{Cu}^{2+}$ . Esta característica radica en la presencia de un grupo carbonilo libre, el cual es oxidado y genera un grupo carboxilo. Por lo tanto, aquellos azúcares con un grupo carbonilo libre son llamados azúcares reductores y aquellos en los que el grupo carbonilo se encuentra combinado en unión glicosídica se conocen como azúcares no reductores. Existen varias reacciones químicas que permiten determinar si se está en presencia de un azúcar reductor o no. Algunas de ellas son, la prueba de Benedict, la prueba cualitativa de la glucosa oxidasa, la prueba de yodo para almidón e hidrólisis del almidón.

En esta práctica se realizarán ensayos para determinar la presencia de carbohidratos en una muestra (reacción de Molisch) y algunas características de sus monómeros constituyentes mediante las reacciones de Bial y la prueba de Seliwanoff.

### 3.2 Competencia

Diferenciar las estructuras que distinguen a los carbohidratos con actitud crítica, manteniendo el equilibrio de la biodiversidad y el ambiente.

### 3.3 Material

Gradilla, pipetas de 5 mL, pipetas de 1 mL, mechero, tripié y tela de asbesto. Vaso de precipitados de 600 y 100 mL, probetas de 50 o 100 mL, pinzas para tubo de ensayo y tubos de ensayo de 18 X 150. Ácido sulfúrico concentrado  $\alpha$ -naftol al

0,5% en etanol, soluciones de glucosa, fructosa, almidón, sacarosa, maltosa al 3% rotuladas con números para su posterior identificación.

Reactivo de Seliwanoff: disolver 0,05 g de resorcinol en 33 mL de HCl concentrado. Aforar a 100 mL con agua destilada. Reactivo de Bial: disolver 1. 5 gramos de orcinol en 50 mL de HCl concentrado, y añadir de 20 a 30 gotas de una solución acuosa de  $\text{FeCl}_3$  a l 10%.

### 3.4 Procedimiento

#### 3.4.1 *Reacción de Molisch*

1. Pipetear en un tubo de ensayo 2 ml de disolución de azúcar problema.
2. Añadir 2 gotas de  $\alpha$ -naftol al 1% y mezclar bien.
3. Con una pipeta se dejan resbalar por la pared del tubo de ensayo 2 ml de ácido sulfúrico concentrado con mucho cuidado procurando que no se mezcle para que forme una capa bajo la disolución de azúcar.

En la superficie de separación de ambas capas se producirá la deshidratación del azúcar y su reacción con el  $\alpha$ -naftol formándose un anillo de color oscuro en dicha interfase.

Molisch positivo: anillo oscuro.

#### 3.4.2 *Reacción de Seliwanoff*

1. Con la ayuda de una pipeta, agregue en un tubo de ensayo 4 gotas de cada una de las soluciones de los carbohidratos.
2. Añada 5 mL de reactivo de Seliwanoff los tubos de ensayo.
3. Caliente en agua hirviendo durante 5-10 minutos.

La reacción es positiva al aparecer un color rojo intenso, indicando la presencia de cetoheptosas.

#### 3.4.3 *Reacción de Bial*

1. Con la ayuda de una pipeta adicionar 0.5 mL de cada una de las soluciones de azúcares a un tubo de ensayo.
2. Agregar 0.5 mL de reactivo de Bial
3. Colocar los tubos en un baño de agua hirviendo.

### 3.5 Resultados

3.5.1. Registre sus resultados e identifique el tipo de polisacárido contenido en cada tubo de ensayo.



### 3.5.2. Cuestionario

1. ¿Cuál es la utilidad de la reacción de Molisch en la identificación inicial de una muestra desconocida?
2. Existen reacciones que permiten identificar polisacáridos. Mencione una de ellas e indique su fundamento bioquímico.
3. La formación de furfurales es determinante en algunas reacciones de identificación de carbohidratos, ¿qué condiciones son necesarias para que se formen dichos compuestos? ¿Pueden formarse furfurales a partir de otro tipo de biomoléculas distintas a los carbohidratos?

### 3.6 Bibliografía

McKee, T., & Mckee, J. R. (2009). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida (4a. ed.)*. Recuperado de <http://ebookcentral.proquest.com>

## Práctica 4. Propiedades generales de los lípidos

### 4.1 Introducción

Los lípidos son un grupo diverso de biomoléculas. Por lo general son hidrófobos aunque gran parte de ellos poseen contienen grupos polares o cargados, además de un centro hidrocarbonado. Se consideran lípidos moléculas como los fosfolípidos, los esteroides, los carotenoides, las grasas y los aceites, que se diferencian mucho en cuanto a estructura y función. Por lo que su definición carece de un sentido estructural, pero pueden definirse sustancias de los seres vivos que se disuelven en solventes no polares, como el éter, el cloroformo y la acetona, y que no lo hacen de manera perceptible en el agua. Debido a su diversidad estructural, las funciones de los lípidos son múltiples. Las funciones más importantes son de almacenamiento de energía por grasas y aceites (ambos triacilgliceroles), integrantes de estructuras de las membranas celulares como en el caso de los fosfolípidos y los esfingolípidos y otras clases de moléculas lipídicas son señales químicas, vitaminas o pigmentos. Finalmente, algunas moléculas lipídicas que se ubican en las cubiertas externas de varios organismos cumplen funciones protectoras o impermeabilizantes. En esta práctica se realizará el aislamiento del colesterol en el huevo y carotenos en plantas.

### 4.2 Competencia

Identificar las características que distinguen a los lípidos vegetales y animales. Con actitud crítica, manteniendo el equilibrio de la biodiversidad y el ambiente.

### 4.3 Material

4 vasos de precipitados de 400 mL, 1 embudo de filtración rápida, agitador de vidrio, 1 probeta graduada, 1 parrilla eléctrica con agitación y una barra magnética, 4 tubos de ensayo de 18 x 150, 1 gradilla, 2 pipetas de 10 mL, papel filtro, bolsas de papel, celofán, 2 huevos. REACTIVOS: ácido sulfúrico concentrado, etanol, acetona, eter etílico, anhídrido acético, cloroformo, disolución alcohólica de hidróxido de potasio al 5.6%: Disuelva 56 gramos de hidróxido de potasio en etanol frío, agite continuamente empleando un agitador magnético y luego afore a un litro con etanol, procurando obtener una solución cristalina.

### 4.4 Procedimiento

1. Pese en la balanza granataria un vaso de precipitados de 400 mL completamente limpio.
- 2.-Rompa cuidadosamente dos huevos, y transfiera las yemas al vaso de precipitados. Pese nuevamente y determine el peso de las yemas de huevo.
- 3.-Adicione 70 mL de etanol y 35 mL de éter y agite continuamente durante 10 minutos para extraer todos los lípidos.
- 4.-Filtre la suspensión a través de una gasa adaptada a un embudo de filtración rápida, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitados de 400 mL bien seco, lejos de las flamas.
- 5.-El filtrado, se filtra nuevamente en un embudo de filtración rápida cubierto con papel filtro humedecido previamente con etanol.
- 6.-Este filtrado se evapora hasta casi sequedad utilizando una base magnética con agitación. Obtendrá una suspensión pastosa amarillenta.

- 7.-Enfriar el vaso al chorro de agua, procurando que no caigan gotas de agua sobre el residuo.
- 8.-Una vez enfriado el vaso, resuspenda el residuo en 10 mL de éter.
- 9.-Añada 30 mL de acetona, agitando continuamente la solución. El precipitado que se forma son las LECITINAS.
- 10.-Filtre recogiendo el filtrado en un vaso limpio y seco. El precipitado obtenido se pesa y se guarda en una bolsa de celofán. Entréguelo con su reporte.
- 11.-Evapore el filtrado hasta obtener una pasta viscosa de color café amarillento, utilice para ello la parrilla eléctrica con agitación constante.
- 12.-Enfríe el vaso de precipitados al chorro de agua.
- 13.-Añada al residuo 30 mL de disolución alcohólica de hidróxido de potasio, y agite para resuspenderlo homogéneamente.
- 14.-Caliente la solución durante 5 minutos, con agitación constante.
- 15.-Enfríe, y añada 50 mL de éter agitando continuamente. Todo el material saponificado, sedimenta. Es un JABON.
- 16.-Filtre a través de un embudo de filtración rápida acondicionado con papel filtro humedecido con alcohol. Pese el jabón. El filtrado contiene el material no saponificable, principalmente COLESTEROL.
- 17.-Evapore a sequedad el filtrado. Con una varilla de vidrio raspe el residuo formado de manera que obtenga un polvo fino, recupérela y péselo. Guárdelo en una bolsa de celofán y adjúntelo a su reporte.

#### 4.5 Resultados

Reporte el peso del colesterol extraído y adjunte el producto mantenido en una bolsa.

#### 4.6 Bibliografía

Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Appling, D. R., Anthony-Cahill, S. J. (2013). *Bioquímica (4a. ed)*. Pearson Educación., Madrid, España.

McKee, T., & McKee, J. R. (2009). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida (4a. ed.)*. Recuperado de <http://ebookcentral.proquest.com>

## Práctica 5. Propiedades de aminoácidos y proteínas

### 5.1 Introducción

Las proteínas son constituyentes esenciales de todos los organismos. La mayoría de procesos que realizan las células requieren proteínas, las cuales tienen una diversidad de funciones. Además de desempeñarse como materiales estructurales en todos los organismos ya sea como componentes estructurales en el músculo y en el tejido conjuntivo de animales o como componentes de la pared celular de las procariotas, las proteínas participan en funciones tan diversas como la regulación metabólica, el transporte, la defensa y la catálisis. La variedad funcional que exhibe este tipo de biomoléculas está directamente relacionada con las posibilidades de combinación de las unidades monoméricas, los 20 aminoácidos.

### 5.2 Competencia

Identificar las características que distinguen a los aminoácidos y proteínas de origen vegetal y animal con actitud crítica, manteniendo el equilibrio de la biodiversidad y el ambiente.

### 5.3 Material

Gradilla	2 pipetas de 5 ml
20 tubos de ensaye de 13 x 100	3 pipetas de 1 ml
Vaso de precipitados 250ml	2 pizas para tubos
7 vasos de precipitados de 50 ml	de ensaye
Escobetilla	mechero, triplete, Tela de asbestos.

### 5.4 Procedimiento

1. Con su mechero, triplete, tela de asbestos y un vaso de precipitados de 250 mL, prepare un baño de agua hirviendo. No llene de agua totalmente el vaso de precipitados sino más o menos a la mitad, y con agua destilada.
2. Con cinta o con plumón graso rotule sus siete vasos de precipitados de 50 mL con los nombres de las sustancias que va a contener, que son: albumina, alanina, tirosina, triptófano, aspártico, arginina y gelatina.
3. Con los vasos así titulados vaya a la mesa de reactivos y tome más o menos 20 mL de albumina, 15 mL de alanina y 10 mL de los restantes reactivos de muestra. Estas soluciones estarán en su mesa de trabajo para facilitar la práctica.

#### 5.4.1 Reacción de la ninhidrina

1. Coloque en sus gradilla 7 tubos de ensaye y titúlelos con los nombres de los reactivos, o numérelos y en una hoja aparte anote las correspondencias

de los números a los reactivos para poderlos identificar al final de la reacción, y poder reportar correctamente.

2. Pipetee 3.0 mL de cada una de las muestras a sus correspondientes tubos. Cuide de no perder la identificación de las muestras. Si usa una sola pipeta, cuide de enjuagarla bien con agua destilada cada vez que cambie de reactivo.
3. Con papel indicador, cheque el pH de las muestras. Si no está neutro, ajústelo con mucho cuidado.
4. Añada 1.5 ml de la solución de ninhidrina al 0.1 % a cada uno de los siete tubos de ensaye, añada entonces 5 gotas de piridina a cada uno de los siete tubos. Cuide de no tener el gotero o frasco de piridina destapado por más tiempo del necesario. De lo contrario el olor desagradable de la piridina llenara el laboratorio.
5. Coloque los tubos en el baño de agua hirviendo y déjelos unos minutos. En cuanto los tubos vayan dando la reacción positiva, váyalos sacando. Si alguno a los 10 minutos de estar en el baño no ha dado la reacción, sáquelo y considere la reacción para ese tubo negativa.
6. Observe el color desarrollado y anote características de tiempo y color de la reacción para cada tubo.

#### **5.4.2 Reacción de Millon**

1. Coloque en su gradilla 4 tubos de ensaye y numérelos o titúlelos. Así: tirosina, alanina, albúmina, gelatina.
2. Pipetee 3 mL de las soluciones correspondientes, a los tubos,
3. Añada 5 gotas del reactivo de millón a cada uno de los cuatro tubos.
4. Coloque los tubos en el baño de agua hirviendo y déjelos por cinco minutos
5. Saque del baño los tubos, y observe el color desarrollado en algunos de los tubos.
6. Anote sus observación

#### **5.4.3 Reacción Xantoproteica**

1. Coloque en su gradilla 5 tubos de ensaye y numérelos o titúlelos: tirosina, triptófano, alanina, albumina, gelatina.
2. Pipetee 2.0 mL de las soluciones correspondientes.
3. Con mucho cuidado añada a cada uno de los cinco tubos 1.0 ml de ácido nítrico concentrado ( incoloro )
4. Lleve los tubos al baño de agua hirviendo y déjelos ahí por cinco minutos
5. Saque del baño los tubos y enfríelos en agua corriente
6. Con sumo cuidado, resbale lentamente la pared de cada tubo 2.0 mL de Hidróxido de amonio concentrado.
7. Observe el resultado si la reacción es positiva, se desarrollara un anillo de color naranja
8. Anote sus observaciones

#### **5.4.4 Reacción de Hopkins-cole**

1. Coloque en su gradilla 3 tubos de ensaye y numérellos o titulelos triptófano, alanina, albumina.
2. Pipetee 3.0 mL de las soluciones correspondientes
3. Añada 2.0 mL del reactivo de Hopkins-cole a cada uno de los tres tubos. Mezcle bien y déjelos reposar por 5 minutos.
4. Con mucho cuidado resbale por la pared del tubo inclinado 1.0 ml de ácido sulfúrico concentrado a cada uno de los tres tubos.
5. Deje reposar los tubos y observe los resultados. Si la prueba es positiva desarrollara un anillo de color violeta en la interfase.
6. Anote sus observaciones.

#### **5.4.5 Reacciones de Sakaguchi**

1. Prepare un baño de hielo, poniendo hielo picado en un vaso de precipitado de 600 mL.
2. Coloque en ese baño de hielo 3 tubos de ensaye numerados o titulados Aspártico, Argina, Albúmina.
3. Pipetee 5.0 ml de las soluciones correspondientes
4. Añada 1.0 ml de Hidróxido de sodio al 10 % a cada uno de los tres tubos.
5. Añada 2.0 ml de solución de Alfa – Naftol al 0.02 % a cada uno de los tres tubos. Mezcle bien y déjelos reposar por tres minutos en el baño de hielo
6. Añada 1.0 ml de Hipobromito alcalino a cada uno de los tres tubos.
7. Después de un minuto añada 1.0 ml de solución de urea al 40 % ( para destruir el exceso de Hipobromito ) mezcle bien.
8. Observe el desarrollo de un color rojo violáceo para la prueba positiva.
9. Anote sus observaciones.

### **5.5 Resultados**

Reporte el resultado obtenido de cada reacción como tabla.

### **5.6 Bibliografía**

Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Appling, D. R., Anthony-Cahill, S. J. (2013). *Bioquímica (4a. ed)*. Pearson Educación., Madrid, España.

McKee, T., & McKee, J. R. (2009). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida (4a. ed.)*. Recuperado de <http://ebookcentralproquest.com>

Rodríguez Arzave, J. R. (1987). *Manual de prácticas de bioquímica (4a. ed.)*. Recuperado de <http://cdigital.dgb.uanl.mx/la/1020111502/1020111502.PDF>.