

Manual de laboratorio de Química General para estudiantes del área de la salud

Daniel Andrés Lopera Riaño

Trabajo de Grado para Optar el Título de Químico

Directora

Stelia Carolina Méndez Sánchez

PhD. Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

### **Agradecimientos**

Quiero expresar, en primer lugar, mi agradecimiento a Dios, por el regalo de la vida, la salud, las capacidades y la fortaleza que me han permitido descubrir el fascinante mundo de la Química. Por cada una de las experiencias vividas durante estos años, que no solo me formaron como profesional, sino también como ser humano.

A la Universidad Industrial de Santander, por haber sido durante todos estos años una verdadera casa de aprendizaje. No solo me formó en las ciencias, sino también en la música, la historia, el arte y, sobre todo, en la vida. Gracias por abrir mi mente a un mundo lleno de conocimiento, de culturas y de un sinfín de oportunidades que ahora sé que me esperan.

A la doctora Stelia, por su confianza, guía y paciencia. Sus consejos, su calidad humana, y los momentos compartidos me enseñaron que es posible ser una profesional excepcional sin dejar de lado la calidez y la empatía.

A mi familia, quienes fueron mi primera fuente de motivación en los momentos de duda y mi impulso cuando me faltaban las fuerzas.

A mi mamá, Yolanda Riaño Acevedo, con quien celebré cada logro alcanzado y de quien recibí un apoyo incondicional. Gracias por ser mi tierra firme en medio de las turbulencias que se viven en la universidad, por ser mi ejemplo constante de compromiso, honestidad, resiliencia y disciplina. Gracias por enseñarme, con amor y paciencia, el modelo de ser humano y profesional que espero llegar a ser algún día.

A Angie Rodríguez y a Sofía Guzmán, mis mejores amigas y compañeras de estudio, con quienes compartí este inolvidable viaje. Juntos disfrutamos cada tarde de estudio, cada parcial,

cada exposición, y cada momento de proceso formativo. En cada etapa compartimos conocimientos, logros y, sobre todo, muchas risas.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	12
1. Objetivos .....	14
1.1. Objetivo General.....	14
1.2. Objetivos Específicos.....	14
2. Cuerpo del Trabajo .....	15
Guía 1. Redacción de preinformes y preparación del cuaderno de laboratorio .....	20
Guía 2. Redacción y presentación de informes de laboratorio .....	25
Práctica 1. Seguridad en el laboratorio: Normas, manejo de equipos y conducta responsable ....	32
Práctica 2. Identificación de materiales de laboratorio y manejo seguro de sustancias químicas: FDS y SGA .....	40
Práctica 3. Cálculos de concentración y preparación de soluciones químicas .....	56
Práctica 4. Propiedades físicas: Densidad, medición de magnitudes y evaluación de errores .....	62
Práctica 5. Separación de mezclas: métodos físicos aplicados a mezclas homogéneas y heterogéneas.....	66
Práctica 6. Titulación ácido-base: Estandarización de soluciones y determinación de ácido acético en productos comerciales.....	73

Práctica 7. Estudio del pH y concentración de soluciones mediante métodos de indicadores, potenciómetro y titulación .....	79
Práctica 8. Estudio del comportamiento anfotérico y capacidad amortiguadora de los aminoácidos en solución .....	92
Práctica 9. Aplicación de la espectrofotometría UV-Visible en la detección y cuantificación del ion férrico .....	98
Práctica 10. Análisis de la estructura, función y cuantificación de proteínas: estudio comparativo de métodos analíticos y aplicación en la determinación de caseína .....	106
Práctica 11. Análisis estructural y detección cualitativa de carbohidratos mediante ensayos químicos clásicos .....	115
Práctica 12. Estudio estructural, clasificación e identificación cualitativa de lípidos en muestras biológicas .....	122
Práctica 13. Extracción y detección cualitativa de ADN a partir de tejido vegetal: análisis estructural y ensayo con difenilamina.....	130
Práctica 14. Observación y análisis de la mitosis en células meristemáticas de las raíces de la cebolla ( <i>Allium Cepa</i> ) mediante microscopía y técnicas de tinción .....	136
3. Conclusiones .....	143
Referencias Bibliográficas .....	144
Apéndices.....	149

**Lista de Tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Pictogramas de seguridad. ....	43
Tabla 2. Materiales de laboratorio. ....	47
Tabla 3. Tabla de resultados de la masa, volumen y densidad de los sólidos entregados. ....	65
Tabla 4. Tabla para la identificación de mezclas preparadas, su tipo, y método de separación... ..	69
Tabla 5. Tabla de resultados para la determinación de $CuSO_4$ media filtración y evaporación de una mezcla de arena y la sal.....	72
Tabla 6. Registro del efecto de las sustancias sobre los diferentes papeles indicadores. ....	89
Tabla 7. Registro del pH determinado con papel indicador y potenciómetro, y su clasificación. ....	90
Tabla 8. Soluciones para la elaboración de la curva de calibración del complejo.....	103
Tabla 9. Límites de detección de los principales métodos para la cuantificación de proteínas, sus interferencias y sus aplicaciones.....	108
Tabla 10. Metodología para la cuantificación de proteínas. ....	113
Tabla 11. Concentración de proteína en las muestras problema.....	113

**Lista de Figuras**

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Rombo o diamante de la NFPA.....	46
Figura 2. Lectura del volumen de un líquido en una probeta. ....	54
Figura 3. Montaje para la filtración por gravedad .....	70
Figura 4. Montaje para la vaporización del agua de la solución acuosa de CuSO <sub>4</sub> pentahidratado .....	71
Figura 5. Montaje de bureta en el soporte universal. ....	77
Figura 6. Curva de titulación y punto de equivalencia de un ácido fuerte con NaOH. ....	87
Figura 7. Estructura de los aminoácidos y formación de enlaces peptídicos.....	93
Figura 8. Comportamiento zwitterion o ion híbrido de un aminoácido.....	93
Figura 9. Curva de titulación de la glicina 0,1 M a 25 °C. ....	94
Figura 10. Fenómenos de absorbancia y transmitancia. ....	99
Figura 11. Estructura del azul de Coomassie Blue G-250 .....	109
Figura 12. Reacción de Biuret .....	110
Figura 13. Estructura general de un triacilglicerol.....	123
Figura 14. Estructura química general de los esteroides.....	124
Figura 15. Estructura química general de un fosfolípido.....	125
Figura 16. Constituyentes de un nucleótido.....	131
Figura 17. Representación esquemática de la estructura del ADN.....	132
Figura 18. Diagrama sobre las etapas de la división celular.....	137

Figura 19. Montaje para la germinación de la cebolla..... 140

**Lista de Apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A. Contenido de la asignatura Biociencias I de la escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Industrial de Santander.....	150
Apéndice B. Contenido de la asignatura Biociencias II de la escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Industrial de Santander.....	153
Apéndice C. Contenido de la asignatura Bioquímica de la escuela Ingeniería Biomédica, Universidad Industrial de Santander.....	154

## Resumen

**Título:** Manual de laboratorio de Química General para estudiantes del área de la salud\*

**Autor:** Daniel Andrés Lopera Riaño\*\*

**Palabras Clave:** Química, Ciencias de la Salud, Bioquímica, Seguridad en el laboratorio, Análisis crítico, Resolución de problemas

**Descripción:** El presente trabajo de grado consiste en la redacción de un manual de laboratorio orientado a estudiantes de los primeros semestres de carreras del área de la salud. Este compendio está conformado por catorce prácticas experimentales relacionadas con conceptos teóricos fundamentales de Química general, Bioquímica, y Biología celular, además de dos guías complementarias orientadas al fortalecimiento de la habilidad en redacción científica. El objetivo principal de este recurso educativo es facilitar la comprensión de conceptos teóricos a través de prácticas contextualizadas, y alineadas con las competencias requeridas por el futuro profesional. Este proyecto se enmarca en un proceso de investigación documental y experimental, realizando una revisión bibliográfica del material utilizado actualmente en diferentes instituciones de educación superior, con la intención de seleccionar y diseñar guías fundamentadas en la seguridad en el laboratorio, la disponibilidad de materiales y de tiempo, manteniendo un nivel educativo acertado para los estudiantes de primeros semestres.

Cada práctica cuenta con objetivos, marco teórico, materiales y reactivos, metodología y preguntas de discusión que fomenten un aprendizaje significativo en los estudiantes mediante la aplicación de conceptos teóricos de la Química en situaciones correlacionadas con el área de la salud. Este manual busca ser una herramienta didáctica, flexible, segura y científica para los estudiantes, incorporando principios de seguridad en el laboratorio, el uso consciente de reactivos químicos y la correcta gestión de residuos.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Stelia Carolina Méndez Sánchez. PhD Química

### Abstract

**Title:** General Chemistry Laboratory Manual for Health Science Students\*

**Author:** Daniel Andrés Lopera Riaño<sup>1</sup>

**Key Words:** Chemistry, Health Sciences, Biochemistry, Laboratory Safety, Critical Analysis, Problem Solving

**Description:** This undergraduate thesis consists of a laboratory manual aimed at first-semester students in health-related academic programs. The compendium includes fourteen experimental practices related to fundamental theoretical concepts in General Chemistry, Biochemistry, and Cell Biology, as well as two complementary guides focused on strengthening scientific writing skills. The main objective of this educational resource is to facilitate the understanding of theoretical concepts through contextualized laboratory practices aligned with the competencies required by future professionals.

This project is framed within a process of documentary and experimental research, involving a literature review of materials currently used in various higher education institutions, with the aim of selecting and designing guides based on laboratory safety, availability of materials and time, and an appropriate level of difficulty for first-semester students.

Each practice includes objectives, theoretical framework, material and reagents, methodology, and discussion questions that promote meaningful learning through the application of chemistry concepts in health-related scenarios. This manual aims to be a didactic, flexible, safe, and scientifically sound tool for students, incorporating laboratory safety principles, conscious use of chemical reagents, and proper waste management.

---

\* Degree Work

<sup>1</sup> Faculty of Sciences. School of Chemistry. Advisor: Stelia Carolina Méndez Sánchez, PhD in Chemistry

## Introducción

Actualmente en la Universidad Industrial de Santander, los estudiantes del área de la salud enfrentan un desafío en sus primeros semestres al asistir a los laboratorios de Química General, debido a la carencia de materiales educativos que respondan de manera específica a las competencias que deben desarrollar.

La ausencia de un manual de laboratorio de Química General diseñado especialmente para su perfil académico representa una limitación en su proceso de aprendizaje. Muchos de los conceptos fundamentales de la Química, esenciales para la comprensión de asignaturas como Bioquímica, Biociencias, y otras ciencias básicas, requieren de un componente práctico que permita a los estudiantes construir un conocimiento sólido desde una perspectiva teórico-práctica.

En la universidad se utilizan actualmente dos manuales para el desarrollo de los laboratorios de Química General: el *Manual de Laboratorio I de Química*, elaborado por la profesora Rosa Claudia López en colaboración con el profesor Juan Manuel Urbina, y el *Manual de Laboratorio de Química II*, del ingeniero químico Jesús Ramírez. Si bien estos textos han sido de utilidad para la enseñanza, el enfoque generalista no responde de manera adecuada a las competencias y contenidos de las asignaturas que deben reforzarse en los estudiantes del área de la salud. Es por esto por lo que existe la necesidad de contar con un manual de laboratorio adaptado a sus necesidades conceptuales, que relacione los fundamentos químicos con aplicaciones en Biociencias, Bioquímica, y otras áreas afines de la salud.

El objetivo de esta investigación es el diseño y la elaboración de un manual de laboratorio de Química General orientado a estudiantes del área de la salud. Este compendio de

guías busca facilitar la aprehensión de los conceptos fundamentales de la Química, Bioquímica, y la Biología celular, promoviendo su comprensión desde una perspectiva experimental y contextualizada. Asimismo, busca estimular el pensamiento crítico, el trabajo colaborativo, y la resolución de problemas, habilidades que son desarrolladas en el laboratorio.

La importancia de este trabajo radica en el impacto positivo en la curva de aprendizaje de los estudiantes, al ofrecer un recurso educativo actualizado, estructurado y alineado con las competencias que deben desarrollar durante su formación. Estas guías prácticas representan una mejora en los recursos pedagógicos disponibles, al contar con guías complementarias sobre redacción científica, ocho guías sobre conceptos de Química General, y seis prácticas sobre Bioquímica y Biología celular; fomentando el desarrollo de habilidades científicas como la observación, el análisis, el trabajo en equipo, la toma de decisiones, y la interpretación de datos, siendo competencias fundamentales para el profesional de la salud.

## **1. Objetivos**

### **1.1. Objetivo General**

Diseñar y elaborar un manual de laboratorio de Química general orientado a estudiantes del área de la salud, que integre conceptos teóricos y guías experimentales contextualizadas a su perfil profesional, con el fin de fortalecer el desarrollo de competencias presentes en asignaturas como Bioquímica para ingenieros, y Biociencias I y II.

### **1.2. Objetivos Específicos**

- Analizar los contenidos curriculares y las competencias requeridas de las asignaturas del área de la salud relacionadas con la Química General, con el propósito de seleccionar las prácticas experimentales pertinentes ya existentes en la institución, y diseñar nuevas guías didácticas que respondan a las necesidades conceptuales de los estudiantes.
- Validar experimentalmente el contenido del manual diseñado mediante su implementación en estudiantes de primer semestre del área de la salud, evaluando su viabilidad y eficacia educativa a través de la revisión y retroalimentación de los docentes responsable del área.

## 2. Cuerpo del Trabajo

### 2.1. Marco referencial

La Química General constituye una ciencia experimental que permite la comprensión de diversos procesos biológicos, fisiológicos y farmacológicos relevantes en el área de la salud. Esta disciplina permite a los futuros profesionales adquirir conocimientos esenciales para comprender procesos como el metabolismo celular, el equilibrio ácido-base, la farmacocinética, la farmacodinámica y la preparación de soluciones de soluciones con concentraciones específicas (Brown, LeMay, & Bursten, 2014). El dominio de estos principios no solo amplía el marco conceptual del futuro profesional, sino que también fortalece su capacidad para tomar decisiones clínicas desde una posición más segura e informada.

La formación en Química General requiere una integración entre el componente teórico y las experiencias prácticas. En este sentido, el laboratorio es un ambiente en el cual los estudiantes pueden aplicar los conceptos aprendidos en un entorno experimental, seguro y controlado. Estas experiencias fomentan un aprendizaje significativo, el desarrollo del pensamiento crítico, y la adquisición de habilidades técnicas, tales como técnicas de medición, el manejo adecuado de reactivos y equipos, así como el tratamiento y análisis de datos experimentales (Bretz, 2019).

Dentro de este contexto, el manual de laboratorio representa una herramienta de aprendizaje. Su función principal consiste en orientar al estudiante en la ejecución de experimentos mediante la presentación de objetivos claros y medibles, lista de materiales y equipos, instrucciones metodológicas detalladas, y normas de seguridad. Un manual bien diseñado facilita la comprensión de diferentes temas, promoviendo el desarrollo de habilidades

como el análisis crítico, el trabajo en equipo y la resolución de problemas (Hofstein & Lunetta, 2004).

Particularmente en las ciencias de la salud, se evidencia la necesidad de contar con un manual de laboratorio adaptado a las características y necesidades de los futuros profesionales, donde puedan desarrollar las competencias y el enfoque necesario para sus actividades. Un manual de laboratorio orientado a estudiantes del área de la salud, con un lenguaje técnico pero accesible, despierta interés del estudiante a comprender las aplicaciones clínicas de la Química General.

La elaboración de materiales educativos debe fundamentarse en principios pedagógicos del aprendizaje significativo (Ausubel, 1968). Estos principios resaltan la importancia de vincular los nuevos conocimientos con los preexistentes del estudiante, generando una integración conceptual más profunda y duradera.

Asimismo, estrategias didácticas como el Aprendizaje Basado en Problemas (ABP), favorecen el contenido del manual de laboratorio, al promover la reflexión, la toma de decisiones y el pensamiento crítico, al situar al estudiante en escenarios clínicos que requieren la aplicación de principios químicos para su resolución (Hmelo-Silver, 2004).

Finalmente, un manual de laboratorio orientado a estudiantes de las ciencias de la salud debe incorporar un lenguaje técnico y claro, definiciones precisas, uso de ilustraciones explicativas y normas de seguridad. Esto bajo la consideración de que, en muchos casos, los estudiantes no poseen la formación previa en el desarrollo de prácticas de Química General. Además, debe fomentarse el desarrollo de habilidades científicas complementarias, como la lectura

crítica y la redacción técnica de texto científicos, competencias esenciales para la comunicación científica.

### **2.1.1. Método**

La elaboración del manual de laboratorio de Química General, orientado a estudiantes del área de la salud, se enmarcó en un proceso de investigación documental y experimental, con un enfoque aplicado y descriptivo. Este manual tiene como propósito fortalecer las competencias de las asignaturas Biociencias I, Biociencias II y Bioquímica, impartidas a los programas de Microbiología e Ingeniería Biomédica de la Universidad Industrial de Santander (UIS).

#### 1. Diseño del plan de trabajo

Inicialmente, se elaboró un plan de trabajo que contempló la revisión documental con el propósito de diseñar un manual actualizado, didáctico y seguro. La selección de práctica se basó en el desarrollo de habilidades esenciales para los estudiantes de primer semestre, considerando aspectos como la pertinencia académica, la aplicabilidad en contextos clínicos, la disponibilidad de recursos y medidas de seguridad.

#### 2. Población y muestra

La población objetivo estuvo conformada por estudiantes de primeros semestres de carreras del área de la salud. Como muestra referencial para la redacción del manual, se consideraron los manuales, guías y texto empleados actualmente por docentes para la enseñanza del laboratorio. Esta revisión bibliográfica permitió identificar fortalezas y oportunidades de mejora en los materiales existentes.

#### 3. Fases metodológicas

##### 3.1. Fase 1: Recolección de material bibliográfico

Se realizó una búsqueda y análisis de manuales, textos y guías utilizadas en instituciones de educación superior nacionales e internacionales, en las áreas de Química General, Bioquímica y Biología Celular. El objetivo de la búsqueda fue identificar contenidos estándar y prácticas representativas de cada disciplina. A continuación, se describen las principales fuentes consultadas:

Química General:

- a) Manual de prácticas de laboratorio de Química, Liceo Bolivariano “Libertador”: abarca temas como propiedades de la materia, cromatografía, titulaciones y saponificación.
- b) Prácticas de Laboratorio I de Química, Universidad Industrial de Santander: destaca por su enfoque preventivo y educativo, mediante prácticas de normas de seguridad, manejo de reactivos, cifras significativas y tratamiento de datos.
- c) Manual de Laboratorio de Química II, Universidad Industrial de Santander: contiene temas avanzados como punto de ebullición, soluciones amortiguadoras y electroquímica.
- d) Manual de Prácticas de Laboratorio de Química General, Universidad de la Costa: incluye las competencias a desarrollar, redacción científica y lecturas complementarias.
- e) Manual de Química Analítica, Universidad Autónoma Metropolitana: aborda volumetría, gravimetría y espectrofotometría.

Bioquímica:

- a) Manual de Prácticas de Laboratorio de Bioquímica, UNAM (McGraw-Hill): incluye temas como seguridad, pH, biomoléculas y soluciones.
- b) Manual de Bioquímica, Universidad Autónoma de Tamaulipas: orientado a prácticas clínicas como espectrofotometría, flebotomía y cadena respiratoria mitocondrial.
- c) Introducción a la Bioquímica – Prácticas de Laboratorio, Universidad Nacional de Colombia: característico por su enfoque en química orgánica aplicada a la síntesis, actividad e identificación de biomoléculas.

#### Biología Celular:

- a) Manual de Prácticas de Laboratorio, Universidad de San Buenaventura de Cali: explica el método científico, normas de seguridad, microscopía y división celular.
- b) Manual de Biología General, Universidad Nacional de Colombia: abarca microscopía, medición celular, extracción de ADN y mitosis.

### 3.2. Fase dos: Selección y diseño de prácticas

Una vez organizada la información bibliográfica, se procedió a seleccionar y diseñar las prácticas de laboratorio en función de promover el desarrollo de competencias definidas en los planes de estudio de Biociencias I, Biociencias II y Bioquímica. Para la redacción de las guías, se consideraron los siguientes criterios: pertinencia con respecto al perfil profesional, nivel académico de los estudiantes, medidas de seguridad, disponibilidad de recursos y tiempo.

Entre las competencias que se buscó desarrollar, se destacan:

- a) Comprende conceptos básicos de Química General.

- b) Entiende los conceptos generales referentes a soluciones que pueden ser explicados en el área de la salud.
- c) Explicitar los conceptos de ácido, base, pH, reacciones de neutralización y soluciones amortiguadoras.
- d) Practica la metodología fundamental necesaria para la realización de las diversas pruebas de laboratorio.
- e) Aplica los conceptos y principios con la estructura y función de biomoléculas reconociendo su importancia en los procesos fisiológicos.
- f) Escribe un texto en el que expresa claramente una idea utilizando normas gramaticales.
- g) Se expresa verbalmente con claridad y argumenta con propiedad para dar a conocer su punto de vista.

A partir de estos lineamientos, se redactaron dos guías complementarias basadas en redacción científica, y catorce guías experimentales basadas en temas esenciales de Química General, Bioquímica y Biología Celular. Con la intención de mantener un formato estandarizado para la redacción del manual, las guías se desarrollan bajo los siguientes ítems: título de la práctica, extensión y precauciones de la práctica, objetivos, marco teórico, palabras clave, materiales y reactivos, metodología, preguntas de discusión y referencias bibliográficas.

### ***2.1.2. Resultados***

A continuación, se presentan las guías y prácticas redactadas para el manual de laboratorio de Química General, orientado a estudiantes del área de la salud:

#### **Guía 1. Redacción de preinformes y preparación del cuaderno de laboratorio**

### 1.1. Objetivos

- Desarrollar habilidades básicas para la organización de la información experimental y el registro sistemático de los resultados obtenidos en el cuaderno de laboratorio, a través de una redacción clara, coherente y precisa de preinformes.

### 1.2. Introducción

Escribir y llevar un cuaderno de laboratorio es un arte que poco se enseña y es una herramienta esencial para cualquier científico. Desde la antigüedad, llevar un registro organizado de experimentos y resultados ha permitido realizar un seguimiento más fiable del diseño experimental y los resultados obtenidos.

Dentro de los científicos famosos de los que conocemos sus cuadernos de laboratorio se encuentran Leonardo da Vinci, Isaac Newton, Charles Darwin, Marie Curie, Gregor Mendel, Rosalind Franklin, entre muchos otros. Pero para quienes se preguntan si llevar un cuaderno de laboratorio es algo del siglo pasado la respuesta es no, es una práctica vigente y necesaria. En muchos laboratorios a nivel mundial los cuadernos de laboratorio de estudiantes de pregrado, posgrado e investigadores deben quedarse en el laboratorio (son propiedad del laboratorio), y son usados como guía de consulta cuando un revisor de un artículo pide algún detalle particular o cuando hay investigadores nuevos a quienes no les funciona un experimento.

El cuaderno de laboratorio es el registro oficial de todos los experimentos, observaciones, y datos obtenidos en el laboratorio. Una buena práctica en el mantenimiento del cuaderno asegura que sus experimentos sean reproducibles y confiables, y proporciona una fuente de referencia valiosa.

Esta guía está orientada a estudiantes de pregrado y tiene como objetivo enseñar cómo mantener y escribir correctamente en un cuaderno de laboratorio. Usted puede usar un cuaderno, tableta o computador, pero en este laboratorio usaremos exclusivamente cuadernos físicos (en papel). Mantener un cuaderno de laboratorio de manera correcta es crucial para el éxito en el trabajo de investigación, ya que un cuaderno bien mantenido no solo le servirá a usted, sino también a otros investigadores que puedan necesitar revisar sus experimentos. Practique estas pautas desde el principio de su formación para desarrollar un hábito que le acompañará a lo largo de su carrera científica.

### 1.3. ¿Cómo escribir y llevar un cuaderno de laboratorio?

#### 1.3.1. Selección del cuaderno

- **Tipo de cuaderno:** Elija un cuaderno encuadernado, evite los cuadernos de hojas sueltas o anillados, ya que pueden perderse o alterarse fácilmente.
- **Materiales:** Utilice bolígrafos permanentes para escribir en el cuaderno. No se deben usar lápices ni borradores, para asegurar que el contenido no sea alterado.

### 1.4. Estructura y organización del cuaderno

- **Índice:** Deje las primeras páginas en blanco para crear un índice. Esto ayudará a localizar rápidamente experimentos específicos.
- **Encabezado de página:** Incluya la fecha y título del experimento o actividad realizada.
- **Numeración de páginas:** Asegúrese de que las páginas estén numeradas secuencialmente. Si su cuaderno no tiene numeración, enumérelas usted mismo antes de comenzar.

### 1.5. Registro de Información

- **Objetivo del experimento:** Escriba una breve descripción del propósito del experimento.

- **Materiales y Metodología:** Detalle todos los materiales utilizados y los procedimientos llevados a cabo. Incluye cantidades, concentraciones y cualquier detalle relevante. En este punto es importante hacer una lista de todos los materiales y reactivos que va a usar. Describa detalles importantes como si los reactivos a usar son tóxicos, fotosensibles, termoestables, si debe usarlos puros o en solución y en qué concentraciones.

Es altamente recomendable que la metodología esté descrita por pasos ejecutables, sencillos, en secuencia lógica. En química se acostumbra a usar diagramas de flujos.

- **Observaciones:** Documente todas las observaciones durante el experimento, incluso si parecen triviales. Estos pueden incluir cambios de color, temperaturas, tiempo, accidentes, etc.

- **Resultados:** Registre todos los datos obtenidos durante el experimento. Utilice tablas, gráficos, o diagramas cuando sea necesario. La tabla de registro de resultados debe estar previamente dibujada en el cuaderno de laboratorio para que el día de la ejecución del experimento solo necesite registrarlos. Al finalizar el experimento, puede graficar los resultados, imprimirlos y pegarlos en su cuaderno.

- **Análisis y Conclusión:** Realice un análisis de los resultados obtenidos y redacte una conclusión. Reflexione sobre si los resultados cumplieron con el objetivo inicial. Como estudiante de pregrado, durante sus laboratorios realizará una única vez un experimento, sin

embargo, recuerde cuando esté realizando su trabajo de grado o sus investigaciones, el número de réplicas y experimentos independientes a realizar dependerá de su diseño experimental.

### 1.6. Buenas prácticas

- **Escritura clara y concisa:** Asegúrese de que su escritura sea legible y que las explicaciones sean claras.
- **Correcciones:** Si comete un error, no borre ni use corrector. Simplemente, tache el error con una línea y continúe escribiendo. Explique la corrección si es necesario.
- **No dejar espacios en blanco:** Si termina una sección y queda un espacio en blanco, tache el espacio o escriba “fin” para evitar que se añadan datos después.

### 1.7. Digitalización y Seguridad

- **Copia digital:** Los resultados obtenidos deben pasarse al software apropiado para análisis estadístico y elaboración de gráficas, entre otros. Si sus resultados salen directamente a un archivo de Excel, se recomienda imprimir y pegar una copia en el cuaderno de laboratorio y compartir el archivo digital con el director del laboratorio.
- **Almacenamiento seguro:** Mantenga su cuaderno en un lugar seguro cuando no esté en uso. Evite exponerlo a sustancias químicas, humedad, o cualquier otro factor que pueda deteriorarlo.

### 1.8. Cumplimiento ético

- **Veracidad:** Nunca falsifique datos o altere los resultados en su cuaderno de laboratorio. La honestidad y la integridad son fundamentales en la investigación científica.

- **Confidencialidad:** Si trabaja en proyectos que involucren datos confidenciales o propiedad intelectual, asegúrese de seguir las normativas de la institución o laboratorio.

Para reforzar los consejos esbozados en esta guía, estudie el siguiente video:

[Mantenimiento adecuado de un cuaderno de laboratorio](#)

### **¿Qué debe incluir el preinforme?**

El preinforme se debe presentar en el cuaderno de laboratorio, en donde se detalle el título del laboratorio, el objetivo, la lista de materiales y reactivos (así como observaciones importantes tomadas de su ficha de seguridad), la metodología descrita en pasos ejecutables o en forma de flujograma, la tabla en donde se registrarán los resultados, repuesta de las preguntas orientadoras (cuando estén incluidas en la guía de laboratorio) y espacio para pegar los resultados analizados y escribir la conclusión.

## **Guía 2. Redacción y presentación de informes de laboratorio**

### **2.1. Objetivos**

- Identificar las secciones generales de un informe de laboratorio en Química General.
- Comprender la secuencia lógica y el propósito de cada sección de un informe de laboratorio.

## **2.2. Introducción**

El informe de laboratorio es el reporte del proceso experimental realizado en el laboratorio, en este se describe detalladamente el desarrollo de la práctica, y se analizan y discuten sus resultados. Generalmente, la secuencia estructural de los informes comienza con la presentación los objetivos del proceso, se proporcionan las bases teóricas de la experimentación en el marco teórico, luego el diseño experimental en la metodología, para así presentar los resultados y su análisis, finalizando con las conclusiones de la práctica.

Este informe permite seguir la trazabilidad del proyecto desde el diseño experimental hasta los resultados obtenidos, permitiendo realizar una discusión y un análisis de los datos obtenidos a partir de fundamentos teóricos y de la metodología utilizada, donde se puedan identificar los resultados esperados, los no esperados, y las oportunidades de mejora en la práctica.

Esta guía tiene como propósito presentar al estudiante el orden de un informe de laboratorio y explicar el contenido de cada una de sus secciones, lo cual permitirá al aprendiz mejorar su habilidad de redacción de reportes de investigación.

## **2.3. Marco teórico**

El informe de laboratorio debe entregarse en formato PDF y con una extensión máxima de cinco (5) páginas, y debe presentar las siguientes características de presentación y contenido:

### 2.3.1. Formato:

El documento se presentará en formato PDF, utilizando uno de los siguientes estilos, a ser determinado por el docente:

- **Formato de artículo científico:** Dos columnas, simulando la estructura de una publicación científica. Se recomienda utilizar un artículo científico como guía para facilitar la correcta estructuración, e inclusión de detalles como: encabezados, pies de página, numeración, etc.
- **Formato de columna única:** Texto justificado en una sola columna, con márgenes claros, presentación clara y organizada.

### 2.4. Citaciones y referencias bibliográficas:

La correcta citación e inclusión de referencias bibliográficas es **obligatoria**, utilizando las normas de la American Psychological Association (APA), última edición.

### 2.5. Estructura del informe

La estructura básica de un informe de laboratorio está conformada por las siguientes secciones:

- **Título de la práctica**

Debe ser siempre claro, conciso y en la capacidad de describir el contenido del informe. El título debe ser breve y llamativo, de tal forma que cautive al lector y no resulte tedioso su lectura.

- **Introducción**

En la introducción se amplía la información sobre el experimento realizado, de tal forma que el lector tenga conocimiento sobre los fundamentos teóricos del procedimiento experimental, conocer el área de la Química asociada a la temática, su importancia y especialmente sus antecedentes, con el fin de conocer los experimentos realizados previamente, y si hay alguna modificación en la metodología con respecto a la utilizada por otros investigadores para el mismo experimento. La información suministrada en esta sección debe estar debidamente referenciada (Ver ítem. Referencias).

- **Objetivos**

Los objetivos son las metas que guían el desarrollo de la práctica, estos deben ser medibles y capaces de cumplir durante la práctica. Su redacción comienza con verbos en infinitivo.

- **Metodología**

En esta sección se realiza una breve descripción de la metodología realizada, donde se detallan los reactivos utilizados y los procedimientos empleados de tal forma que la práctica realizada pueda ser replicada por otro estudiante, o un experto en el tema. Su redacción es realizada en pasado y debe estar muy resumida.

Un ejemplo es presentado a continuación, donde Álvarez y colaboradores en el año 2019 definen en su artículo los materiales y los métodos utilizados en su proyecto:

“2.1. Reactivos

El ácido glutámico, el succinato de sodio, el NADH, el ADP, el EDTA, el EGTA, el HEPES, BSA, el DCPIP, el MTT, el FCCP, el DMSO, el ferricianuro de potasio, la

rotenona, el D-manitol, el fosfoenolpiruvato (PEP), piruvato quinasa, el citocromo C, la tripsina, el 2',7'-diclorofluoresceína-diacetato y el Tris se adquirieron de Sigma-Aldrich. El ATP se adquirió de Merck.

### 2.7. Medición del estrés oxidativo intracelular

Las alteraciones en el metabolismo redox se estimaron utilizando 2',7'-diclorofluoresceína-diacetato (DCFH-DA). Las células HepG2 se sembraron ( $2,0 \times 10^4$  células/pocillo) en placas de 96 pocillos. Después de una incubación de 24 h, las células se incubaron nuevamente con DCFH-DA (50  $\mu$ M) durante 30 min. Después, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se trataron con los compuestos FM53, FM49, FM50 y FM48 (25  $\mu$ M). Posteriormente, se midió la fluorescencia del DCF durante 240 min con un lector de placas Flash Spectral Scan de Varioskan (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) cuyas longitudes de onda de excitación/emisión se fijaron a 485/528 nm”.

- **Resultados**

Los resultados deben presentarse tal como fueron obtenidos. Aquellos que hayan sido sometidos a tratamiento estadístico (como desviación estándar, incertidumbre o promedios) deben incluirse junto con el detalle del proceso de análisis, indicando las ecuaciones y fórmulas utilizadas. La presentación de estos resultados debe ser clara y concisa, utilizando gráficos, tablas o imágenes que faciliten la comprensión del lector y permitan seguir adecuadamente el procedimiento realizado.

- **Análisis de resultados**

Esta sección es fundamental en el informe, ya que implica una discusión crítica y detallada de los resultados obtenidos. En este análisis, se deben identificar y contrastar los resultados experimentales con los previstos por la teoría, destacando aquellos que se desvíen de lo esperado. El objetivo es profundizar en la explicación de estos resultados inesperados, siempre que sea posible. La discusión debe redactarse de forma clara y precisa, con el propósito de que el lector comprenda cómo se obtuvieron dichos resultados y se aclaren las posibles dudas sobre su aparición en la práctica experimental.

Esta sección debe contener:

- Primero, corrobore si los resultados obtenidos son esperados teóricamente o por antecedentes, también identifique aquellos que no son acorde a la teoría. Genere comparaciones y argumente las diferencias en los resultados obtenidos versus los resultados esperados.
- Segundo, identifique una tendencia en los datos, algún tipo de correlación entre sus variables, y si a partir de estas se puede definir un nuevo modelo o se ajusta al actual. Utilice gráficos o tablas para respaldar los comportamientos identificados, los cuales deben estar justificadas estadísticamente.
- Tercero, si existen datos inesperados, explíquelos. Identifique los causales: errores instrumentales, errores humanos en la toma de datos, condiciones no estándar; es importante justificar estos datos de forma crítica y explicativa, sin ocultarlos, debido a que estos datos inesperados pueden resultar una oportunidad de profundizar en el tema del experimento, y obtener nuevos descubrimientos en esta área.

➤ Finalmente, relacione los datos obtenidos con los objetivos de la práctica, si estos pudieron confirmar o refutar las hipótesis presentadas, y qué implicaciones tienen en el área de estudio. Este proceso de validación de las hipótesis debe ser un proceso debidamente argumentado, presentando justificaciones para cada uno de sus comentarios, evitando suposiciones no fundamentadas.

- **Conclusiones**

Las conclusiones en un informe de laboratorio deben redactarse de forma clara, concisa y objetiva, basándose exclusivamente en los resultados obtenidos durante la práctica. Su propósito es destacar los hallazgos más relevantes y analizar cómo estos se relacionan con los objetivos planteados al inicio del experimento, indicando si fueron alcanzados o no. En esta sección se debe evitar repetir datos presentados previamente y enfocarse en sintetizar la información clave que respalde el cumplimiento de los objetivos. También es pertinente incluir observaciones sobre posibles limitantes del experimento y sugerir mejoras para futuras prácticas.

- **Referencias bibliográficas**

Toda información presente en el documento debe estar referenciada, en esta asignatura utilizaremos las normas APA. Existen diferentes programas para referenciar adecuadamente, por ejemplo: Paperpile en Google Drive, y Mendeley en Office. A pesar del uso de estos programas, asegúrese de la apropiada citación de las referencias, por esto es importante que el estudiante conozca las normas APA referentes a la citación.

**Práctica 1. Seguridad en el laboratorio: Normas, manejo de equipos y conducta responsable**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	2 horas	No presenta indicadores de peligro

### **1.1. Objetivos**

- Identificar las normas generales de seguridad generales en el desarrollo de prácticas en el laboratorio.
- Reconocer las normas para el manejo de materiales y equipos de laboratorio.
- Adoptar conductas seguras y responsables durante el trabajo en el laboratorio.

### **1.2. Marco teórico**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) categoriza los niveles de bioseguridad de los laboratorios de investigación y de docencia en una escala que va de 1 a 4, donde 1 corresponde al nivel más básico y de docencia, y 4 a los laboratorios de máxima contención en donde se trabaja con organismos patógenos. Trabajar en el laboratorio resulta siendo una experiencia integral para el estudiante al tener la oportunidad de poder identificar experimentalmente diferentes conceptos aprendidos de forma teórica, enriqueciendo su experticia mediante el uso de equipos, reactivos, técnicas y procedimientos. Sin embargo, el trabajo en el laboratorio debe ser regulado por normas de seguridad que permitan evitar accidentes, maximizar el correcto uso de equipos en el laboratorio y desarrollar experticia instrumental, mientras que se garantiza la integridad física del estudiante durante el desarrollo de la práctica (Bracciaforte & Echenique, 2014; Organización Mundial de la Salud, 2005; Ramírez, 2019).

En esta práctica de laboratorio se tiene como propósito dar a conocer las normas de seguridad personales y normas generales del trabajo en el laboratorio, también las disposiciones

específicas sobre el manejo de material de vidrio, equipos, cabina de extracción, balanzas, y la disposición de residuos químicos.

### **Normas de seguridad**

- Durante la estancia en el laboratorio, se deberá utilizar Elementos de Protección Personal (EPP), los cuales consisten en: bata blanca, manga larga, pantalón largo (sin rotos o desgastes), zapatos cerrados, gafas de seguridad (si usa lentes de contacto, usar gafas de sobreponerse) de forma permanente, y guantes de nitrilo durante el manejo de reactivos. Una vez se finalice el uso de los guantes, se deben retirar y lavarse las manos.
- Está prohibido el uso de gorros, cachuchas, pulseras, y cualquier otro tipo de accesorio. Se recomienda usar ropa cómoda y apropiada para el trabajo en el laboratorio, al igual que mantener recogido el cabello.
- No utilizar lentes de contacto, ya que estos pueden acumular gases tóxicos en los ojos, generando posibles daños oculares al impedir el correcto lavado en caso de emergencia.
- Está prohibido el consumo de bebidas y alimentos en el laboratorio, con el fin de evitar la ingestión de sustancias químicas.

### **Normas generales de trabajo**

- Al ingresar al laboratorio, identificar inicialmente el botiquín, los extintores, la ducha de seguridad, y las salidas de emergencia.
- Consulte previamente las Fichas De Seguridad (FDS), ya que, es importante conocer los reactivos con los que trabajará, al identificar sus componentes, primeros auxilios, reactividad, entre otros. Muchas de las fichas de seguridad se pueden encontrar en las

páginas de los fabricantes. Puede acceder a algunas de ellas a través del siguiente enlace:

[Búsqueda de FDS.](#)

- Tener precaución con el uso productos químicos, evitando cualquier posibilidad de ingestión, inhalación, absorción o contacto con la piel. Si accidentalmente sucediera, acudir a la sección 4 de la ficha de seguridad, y revisar los primeros auxilios adecuados para la sustancia.
- No devolver residuo de sustancias utilizadas a sus frascos de origen, consulte primero al profesor o al técnico de laboratorio, debido a que podría alterar la pureza de la sustancia.
- Tener precaución con los procedimientos en los cuales se requiere calentamiento de la sustancia, asegurar a través de la ficha de seguridad si es posible realizar calentamiento directo o no. Las sustancias corrosivas, volátiles, irritantes, inflamables o con olor fuerte deben manipularse en la cabina de extracción.
- Los ácidos deben tener un cuidado especial, debido a que son corrosivos. Al diluirlos, nunca vierta agua sobre ellos, debido a que se produce una reacción altamente exotérmica. Siempre vierta el ácido sobre el agua.
- Evite utilizar recipientes que estén sucios. La suciedad está conformada de compuestos que pueden reaccionar con las sustancias que utiliza, generando reacciones secundarias no deseadas.
- Todo proceso debe realizarse sobre el mesón de trabajo, evite el transporte de material con reactivos con el fin de prevenir un derrame. También recuerde mantener limpias y en orden las áreas de trabajo, dejando exclusivamente sus materiales de trabajo fuera del casillero, y manteniendo libres las zonas de evacuación.

- Prepare su práctica previamente, conociendo los materiales, equipos y reactivos a utilizar; si tiene dudas sobre el procedimiento, pregunte al docente o al técnico de laboratorio, ellos están para orientarlo.

#### **Normas referentes al material de vidrio**

- Observe el material de vidrio que utilizará, si encuentra bordes o puntas cortantes, informe inmediatamente al profesor.
- El vidrio caliente no se distingue visualmente del vidrio frío, así que tenga precaución al tomar el material si ha sido previamente calentado. Procure identificar el material caliente con un aviso.
- No realice presión con las manos sobre uniones o válvulas cuando realice un montaje, esto puede generar la ruptura del material, y una posible cortadura. Preferiblemente lubrique el material con agua, glicerina o agua jabonosa antes de realizar el empalme.
- Evite desplazarse con material de vidrio en las manos, puede resbalarse y generar un accidente. Preferiblemente utilice un soporte, como una caja, para su transporte si es necesario.

#### **Normas referentes a la utilización de equipos**

- Está prohibido la manipulación de equipos sin la autorización y capacitación del responsable del laboratorio. Todo cambio en los parámetros y accesorios del equipo, deben ser autorizados con previo aviso.
- Está prohibido abandonar el laboratorio mientras que el equipo esté encendido.
- El estudiante debe diligenciar la bitácora de uso del equipo, donde se deposite información como: nombre completo, hora y fecha de uso, observación, entre otros.

**Normas referentes al uso de la cabina de extracción**

- Encender previamente la cabina, inspeccionar de que está extrayendo adecuadamente, y permitir que funcione libremente alrededor de 15 minutos.
- Mantener dentro de la cabina cualquier material inflamable, corrosivo, volátil, irritante y con olor fuerte que pueda afectar al operario, y generar una atmósfera explosiva (compuesta por un comburente como el oxígeno, un combustible, y una fuente de ignición).
- Utilizar únicamente los materiales y equipos necesarios para la práctica dentro de la cabina, con el fin de evitar distractores.
- Evitar derrames dentro de la cabina, y si accidentalmente sucediera, informar al responsable del laboratorio y realizar la correspondiente limpieza.
- Al finalizar el trabajo en la cabina, dejarla funcionar libremente durante 10 minutos con el fin de eliminar los gases volátiles remanentes.

**Normas referentes respecto al uso de la balanza**

- No realizar pesaje directamente sobre el plato de la balanza, con el fin de evitar contaminación o un ataque de la sustancia al plato. Por el contrario, utilizar un vidrio reloj donde depositar la sustancia.
- Evitar utilizar otro equipo cerca de la balanza o sobre el mismo mesón de trabajo, con el fin de evitar vibraciones que alteren la medición. Mantenga las ventanas cerradas con el fin de evitar corrientes de aire.

**Normas referentes a la disposición de residuos químicos**

- Evite desperdiciar compuestos químicos, asegúrese de que la cantidad que utilizará es la necesaria. Si tienes dudas sobre algún cálculo, pida ayuda al profesor.
- Es fundamental conocer el procedimiento para la gestión de cada sustancia dependiendo de su clasificación y componentes. Esta información puede ser obtenida en las secciones de la ficha de seguridad 2, 7 y 13.
- No se arrojan sólidos al lavabo, si tiene mezclas sólido-líquido, separe previamente el sólido, deje que se seque, y lo dispone como residuo según su clasificación.
- Todo material contaminado con sustancias químicas, incluyendo servilletas de limpieza, serán depositadas en la caneca roja. Identifique previamente su ubicación.
- Las pipetas Pasteur, puntas, agujas y jeringas se descartan exclusivamente en el guardián del laboratorio.

**Palabras clave:** EPP, Fichas de seguridad, material de vidrio, cabina de extracción, ducha de seguridad, sustancia química.

### 1.3. Metodología

- Lea cuidadosamente cada una de las normas de seguridad en el laboratorio.
- Realice la socialización de las normas de seguridad con el docente, realizando una sesión de preguntas y respuestas.
- Presentación del laboratorio por parte del docente, donde se identifique el botiquín, los extintores, las salidas de emergencia y la ducha de seguridad.
- Cada grupo de laboratorio elaborará un ensayo máximo de dos páginas donde plantee una situación de riesgo en el laboratorio, y cómo prevenirla a través de las normas de seguridad aprendidas.

**1.4. Preguntas de discusión**

1. Identifique los Elementos de Protección Personal (EPP), y mencione tres riesgos por no portarlos adecuadamente.
2. Identifique las secciones de una ficha de seguridad, y mencione brevemente en qué consiste cada una.
3. Mencione tres responsabilidades del estudiante en el laboratorio y tres responsabilidades de los responsables del laboratorio.

**1.5. Confirmación de lectura**

Para mayor sobre normas de seguridad en laboratorios de docencia, visite el siguiente enlace: [Seguridad en los laboratorios de Química](#)

Antes de ingresar al laboratorio, escanee el siguiente código QR y llene el formulario, esta será la confirmación de la lectura y aceptación de las normas.

**1.6. Resultados**

Al finalizar la práctica de laboratorio, cada grupo de laboratorio entregará su ensayo sobre la situación de riesgo.

**Práctica 2. Identificación de materiales de laboratorio y manejo seguro de sustancias químicas: FDS y SGA**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	2 horas	No presenta indicadores de peligro

2.1 Objetivos

- Identificar y clasificar los materiales de laboratorio según su función.
- Describir la utilidad y correcto uso de los materiales de laboratorio.
- Identificar las secciones de la Ficha de Datos de Seguridad (FDS) para el manejo adecuado de reactivos químicos.

- Reconocer e los pictogramas del Sistema Global Armonizado (SGA) y sus implicaciones para la seguridad en el laboratorio.

## 2.6. Marco teórico

### **Reactivos químicos: fichas de seguridad, pictogramas de seguridad y código NFPA/diamante**

En el laboratorio, existen diferentes sustancias utilizadas como reactivos y solventes para el desarrollo de las prácticas, sin embargo, representan fuentes de peligro para el estudiante. Es por esto por lo que el conocimiento previo de sus componentes, reactividad, almacenamiento y primeros auxilios resulta de vital importancia en su manipulación; permitiendo al estudiante tener un comportamiento preventivo contra accidentes, y mantener un ambiente seguro en el laboratorio (Villegas & Borges, 2015).

Esta información sobre los reactivos se ha estandarizado debido a los efectos de la globalización y del manejo de buenas prácticas de laboratorios a nivel mundial. Los países miembros de la Unión Europea y de las Naciones Unidas, cuentan con un sistema de etiquetado de las sustancias químicas, establecido mediante el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Sustancias Químicas (SGA), o GHS como sus siglas en inglés, Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals; el cual suministra información sobre el diseño de procesos y el manejo seguro de sustancias químicas a través de la Ficha De Seguridad (FDS) (Willey, 2012; López & Urbina, 2023)

La Ficha De Seguridad (FDS) es un documento que ofrece información detallada y condensada sobre la naturaleza e instrucciones de manipulación de la sustancia, como: composición, código de identificación, propiedades físicas, toxicidad, inflamabilidad, entre otros.

Este manuscrito es suministrado en formato físico por el fabricante del reactivo, y algunos de estos pueden ser descargados en línea a través del enlace: [Búsqueda de fichas de seguridad](#) ; este documento se encuentra dividido en diferentes secciones (Willey, 2012):




1. Identificación del producto.
2. Identificación de peligros asociados al producto.
3. Composición, e información de ingredientes.
4. Primeros auxilios.
5. Medidas contra incendios.
6. Medidas contra derrames.
7. Manipulación y almacenamiento.
8. Control de exposición y protección personal.
9. Propiedades físicas y químicas.
10. Estabilidad y reactividad química.
11. Información toxicológica.
12. Información eco toxicológica.
13. Información sobre manejo de residuos.
14. Información sobre transporte.
15. Información sobre reglamentación.
16. Anexos, otra información.





En la ficha de seguridad, también encontraremos diferentes gráficos llamados pictogramas de seguridad, los cuales suministran información muy resumida sobre las medidas de seguridad y la clasificación de la sustancia. Estos pictogramas deben ser identificados

previamente a la manipulación, y su definición se encuentra descrita en la tabla 1 (Villegas & Borges, 2015).

**Tabla 1.**

*Pictogramas de seguridad.*

Pictograma de seguridad	Significado, definición, y precaución	Ejemplos de sustancias
	<p><b>C</b> Corrosivo  <b>Definición:</b> Estos productos químicos generan destrucción o daño severo a tejidos vivos y/o materiales inertes.  <b>Precaución:</b> No inhalar y evitar el contacto con la piel, ojos y ropa.</p>	<p>Ácido clorhídrico, ácido fluorhídrico</p>
	<p><b>E</b> Explosivo  <b>Definición:</b> Sustancias y preparaciones que pueden reaccionar de forma violenta y rápida bajo efecto de una llama, choques y fricciones.  <b>Precaución:</b> Evitar golpes, sacudidas, fricción, flamas o fuentes de calor.</p>	<p>Nitroglicerina</p>
	<p><b>O</b> Comburentes  <b>Definición:</b> Sustancias que tienen la capacidad de provocar o favorecer la oxidación de otras sustancias al liberar oxígeno u otros agentes oxidantes.  <b>Precaución:</b> Evitar su contacto con materiales combustibles.</p>	<p>Oxígeno, nitrato de potasio, peróxido de hidrógeno</p>

	<p><b>F</b> Inflamables</p> <p><b>Definición:</b> Sustancias y preparaciones que pueden encenderse fácilmente al contacto con fuentes de calor, chispas o llamas. Arden rápidamente.</p> <p><b>Precaución:</b> Evitar contacto con materiales ignitivos (aire, agua).</p>	<p>Benceno, etanol, acetona</p>
<p>F+</p> 	<p><b>F+</b> Extremadamente inflamable</p> <p><b>Definición:</b> Líquidos con un punto de inflamación inferior a 0°C y un punto de ebullición de máximo de 35°C. Gases y mezcla de gases, que a presión normal y a temperatura usual se encienden fácilmente.</p> <p><b>Precaución:</b> Evitar contacto con materiales ignitivos (aire, agua).</p>	<p>Hidrógeno, etino, éter etílico.</p>
	<p><b>T</b> Tóxico</p> <p><b>Definición:</b> Sustancia que genera daño a la salud e incluso la muerte por inhalación, ingesta o absorción a través de la piel.</p> <p><b>Precaución:</b> Todo contacto con el cuerpo humano debe ser evitado.</p>	<p>Cloruro de bario, monóxido de carbono, metanol</p>
<p>T+</p> 	<p><b>T+</b> Muy tóxico</p> <p><b>Definición:</b> Sustancia que genera daño a la salud e incluso la muerte por inhalación, ingesta o absorción a través de la piel.</p> <p><b>Precaución:</b> Todo contacto con el cuerpo humano debe ser evitado.</p>	<p>Cianuro, trióxido de arsénico, nicotina, mercurio, plomo, cadmio</p>

	<p><b>Xi Irritante</b></p> <p><b>Definición:</b> Sustancias y preparaciones que, bajo contacto con la piel, ojos o vías respiratorias, puede generar reacción inflamatoria y enrojecimiento.</p> <p><b>Precaución:</b> Debe ser evitado el contacto directo con el cuerpo.</p>	<p>Cloruro de calcio, carbonato de sodio</p>
	<p><b>Xn Nocivo</b></p> <p><b>Definición:</b> Sustancias y preparaciones que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, puede perjudicar la salud.</p> <p><b>Precaución:</b> Debe ser evitado el contacto con el cuerpo humano, así como la inhalación de los vapores.</p>	<p>Etanal, diclorometano, cloruro de potasio, lejía</p>
	<p><b>N Peligroso para el medio ambiente</b></p> <p><b>Definición:</b> El contacto de la sustancia con el medio ambiente, puede provocar daños significativos al ecosistema.</p> <p><b>Precaución:</b> Debido a su riesgo potencial, no debe ser liberado en las cañerías, en el suelo o el medio ambiente.</p>	<p>Benceno, cianuro de potasio, lindano</p>

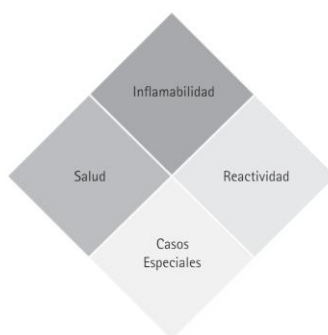
Nota. Aptado de Manual de prácticas de laboratorio de química (p.13), por J.C. Villegas y G.M. Borges, 2015, Universidad de Los Andes.

Además de los pictogramas de seguridad, contamos con el código NFPA (National Fire Protection Association), o comúnmente conocido como el código diamante, debido a que se recomienda la utilización de un rombo o un diamante dividido en cuatro secciones, donde a cada una es asignada un color y una numeración del 0 al 4. El área azul indica riesgo a la salud, el área

roja indica inflamabilidad, el área amarilla la reactividad y el área blanca a riesgos especiales; la numeración el grado de toxicidad o reactividad: 4 es riesgo severo, 3 es riesgo serio, 2 es riesgo moderado, 1 es riesgo ligero y 0 es riesgo mínimo (Ríos et al., 2017)

*Figura 1.*

Rombo o diamante de la NFPA.



*Nota.* Tomado de Rombo o diamante de la NFPA (p.4), N. Ríos Donato y colaboradores, 2017, Cengage Learning.

### **Material de laboratorio: clasificación y uso**

Conociendo previamente las medidas de seguridad de la sustancia, y manteniendo buenas prácticas en su correcta manipulación, también resulta fundamental identificar, clasificar y comprender el uso de los diferentes materiales en el laboratorio. La amplia variedad de estos materiales les permite tener diferentes utilidades: almacenamiento, medición, calentamiento, e incluso algunos serán lugar de diferentes reacciones. Es por esto por lo que el desconocimiento del correcto uso de los materiales de laboratorio conlleva a errores en las mediciones y a la exposición a accidentes en el laboratorio; así que es necesario conocer su correcto uso, sus cuidados, y su clasificación (Alcázar et al., 2015)



Los materiales del laboratorio se clasifican en:





- Volumétricos: instrumentos de vidrio calibrados, empleados para medir cantidades precisas de volúmenes.
- Calentamiento o soporte: materiales adecuados para realizar reacciones o procesos que necesiten calentamiento.
- Equipos de medición: instrumentos utilizados para comparar magnitudes físicas en un proceso de medición. Estos materiales tienen unidades de medida previamente establecidas como estándares (por ejemplo, las unidades del Sistema Internacional, SI), los cuales generan un número asociado a la unidad de referencia.





En la tabla 2, Alcázar y colaboradores (2015), nos presentan materiales básicos de laboratorio con su respectivo nombre, fotografía y uso; esto nos permitirá identificar previamente los materiales utilizados, y comprender su respectivo uso.






**Tabla 2.**






**Materiales de laboratorio.**





Instrumento	Nombre	Uso
	Erlenmeyer	Instrumento utilizado para contener líquidos, realizar procesos de calentamiento, titulaciones ácido-base, y recristalización de sólidos.
	Matraz de succión	Utilizado para procesos de filtración, presenta un brazo lateral al cual se le conecta una bomba de succión para filtraciones al vacío.





	Balón de fondo redondo o plano	Balón que contiene sustancias provenientes de procesos de destilación, permite su calentamiento. Tiene fondo redondo o plano, y es utilizado con otros materiales en diferentes montajes.
	Balón de destilación	Balones con un tubo lateral, este tubo permite la salida de vapores de destilación al condensador.
	Vaso de precipitado o beaker	Utilizado como contenedor, para preparar mezclas, realizar calentamientos, o disoluciones.
	Matraz aforado o volumétrico	Material volumétrico usado para preparar soluciones bajo determinada marca (llamada aforo) que representa un volumen específico. Hay diversos volúmenes: 100mL, 250mL, 500mL, etc.

	Probeta	Utilizada para medir volúmenes de líquidos. Tiene un amplio rango de capacidades (5mL, 100mL, 1L, etc). Las hay de vidrio o plástico.
	Embudo de separación	También llamado embudo de decantación, utilizado para separar líquidos inmiscibles.
	Bureta graduada	Utilizada para medir y liberar volúmenes utilizando su llave de paso. Por ejemplo, en titulaciones.
	Pipetas volumétricas	Transfiere volúmenes exactos de líquidos, y es utilizada con una pera de succión.

	Tubos de ensayo	Permite contener, mezclar, y calentar sustancias.
	Embudo	Utilizado para filtrar sustancias. Hay de vidrio o de plástico.
	Vidrio reloj	Utilizado para pesar sólidos en la balanza, cubrir vasos de precipitado, y procesos de evaporación.
	Tubos refrigerantes	Instrumento utilizado para condensar vapores, su estructura de tubo de vidrio y un espiral interior, en el cual circula el refrigerante.
	Espátula	Utilizada para recolección de muestras sólidas, y líquidos muy viscosos.

	Embudos Buchner	Utilizado para filtración al vacío. Se conecta a un Erlenmeyer con salida lateral, a la cual se conecta una bomba de succión. Se puede agregarle un filtro para evitar el paso de partículas sólidas.
	Crisol	Recipiente de porcelana que soporta altas temperaturas. Utilizado en procesos de calcinación.
	Cápsula de porcelana	Utilizada para la evaporación de líquidos. Soporta altas temperaturas.
	Mortero con mazo	Utilizado para trituración y homogenización de muestras sólidas.
	Soporte universal	Permite sostener diversos materiales mediante el uso de una nuez. También se pueden agregar pinzas para el aseguramiento de materiales en un montaje.

	Pinza para crisol	Utilizadas para agregar y retirar materiales al horno o placa de calentamiento.
	Aros metálicos	Permite sostener embudos y balones en diferentes montajes.
	Gradilla	Utilizada para sostener varios tubos de ensayo.
	Desecador	Material hermético que permite eliminar la humedad y mantener seca la muestra.

	Termómetro	Utilizado para medir temperaturas de sustancias en diferentes estados físicos de la materia.
	Picnómetro	Permite medir con alta precisión la densidad de líquidos.
	Balanza analítica	Instrumento utilizado para medir masas con alta precisión. Generalmente en gramos con sus múltiplos y submúltiplos.
	Campana de extracción	Cámara utilizada para extraer vapores tóxicos y nocivos para la salud. En esta se realizan soluciones altamente volátiles.

Nota. Adaptado de Manual de prácticas de laboratorio de química general (p. 28-37), por D. Alcázar y colaboradores, 2015, Universidad de la Costa.

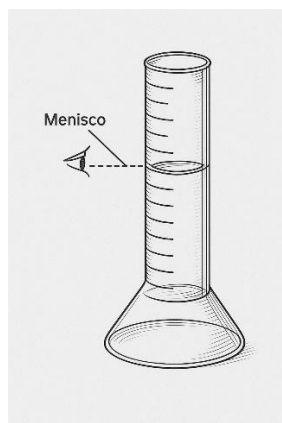
Además de familiarizarnos con los materiales presentes en el laboratorio, exploraremos diversas técnicas básicas que amplían nuestras capacidades experimentales en el laboratorio, y

que constituyen el fundamento para procedimientos técnicos más complejos. A continuación, se mencionan algunas (Alcázar et al., 2015):

- Medición de masas y volúmenes: al comparar magnitudes, se debe tener en cuenta la precisión del instrumento, los posibles márgenes de error, y el uso adecuado de cifras significativas.
- Uso de balanza: la balanza es el instrumento utilizado en el laboratorio para cuantificar materia. Existen diferentes tipos de balanza, sin embargo, la más ampliamente utilizada es la balanza analítica, siendo de utilidad sencilla, clara y precisa; su unidad es el gramo, o bien un múltiplo o submúltiplo. Es importante recordar que la masa del recipiente donde se realiza la medición, se denomina tara, y la acción de ajustar la balanza a cero con la masa del recipiente se denomina tarar.
- Lectura de volúmenes: los líquidos al entrar en contacto con las paredes del material de medición generan una curva generalmente hacia arriba, formando un menisco cóncavo. Para realizar una lectura correcta de la medición, se debe ubicar el ojo a la misma altura del menisco y realizar la lectura del número en la parte inferior, como se evidencia en la figura 2; cuando el menisco es convexo, se toma la lectura de la parte superior.

*Figura 2.*

*Lectura del volumen de un líquido en una probeta.*



Nota. Adaptado de Manual de prácticas de laboratorio de química general (p.39), por D. Alcázar y colaboradores, 2015, Universidad de la Costa.

- Medición con pipeta: Las pipetas son materiales volumétricos para líquidos, su fundamento consiste en la succión del líquido a medir; esta succión nunca se hace con la boca, debido a la aspiración de gases tóxicos, por lo tanto, se utiliza una bomba de succión plástica, denominada pera de succión. Al extraer el líquido de la pipeta, queda un volumen sobrante, el cual ya está previamente calculado en la graduación de la pipeta, por lo tanto, no se retira. Algunas recomendaciones para su uso son:
  - No supere el aforo de la pipeta.
  - No dejar las pipetas en el recipiente después de su uso, retirarla inmediatamente.
  - Sostener verticalmente la pipeta durante la medición, evitando errores en la medición por su inclinación.
  - Mantener la pipeta en un soporte, no apoyar sobre el mesón de trabajo.

**Palabras clave:** reactivo químico, ficha de seguridad (FDS), hoja de datos de seguridad del material (MSDS, Material Safety Data Sheet), código NFPA, SGA, medición, exactitud, precisión, incertidumbre

## 2.7. Metodología

- Identifique los materiales en el laboratorio presentados por el docente, clasifíquelos y mencione su uso.
- Identifique el aforo de una probeta y pipeta de diferentes tamaños, utilizando agua como líquido.

## 2.8. Preguntas de discusión

1. Realice un cuadro comparativo entre materiales refractarios y no refractarios, con sus respectivos ejemplos.
2. Identifique el código NFPA 704 del ácido clorhídrico, el hidróxido de sodio, cloruro de sodio, ácido acético, y amoníaco.
3. Descargue la ficha de seguridad de cinco sustancias químicas, y realice un mapa conceptual con sus secciones.

### **Práctica 3. Cálculos de concentración y preparación de soluciones químicas**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

#### 3.1. Objetivos

- Diferenciar y aplicar correctamente las unidades de concentración utilizadas en soluciones químicas (porcentuales, molaridad, normalidad, etc.).
- Preparar soluciones químicas de concentración conocida mediante técnicas de disolución y dilución, utilizando diferentes unidades de concentración.

- Realizar cálculos cuantitativos para determinar la cantidad de soluto y solvente requeridos para preparar una solución de concentración definida.

### 3.2. Marco teórico

Una solución es una mezcla homogénea de iones o moléculas, en la cual generalmente una sustancia de menor proporción, denominada soluto, se encuentra disuelta en una de mayor proporción, denominada solvente. Las soluciones y, por lo tanto, el soluto y el solvente, pueden presentarse en los tres estados físicos de la materia: sólido, líquido y gaseoso; permitiendo que las soluciones se presenten en diferentes formas, por ejemplo, una solución gaseosa (el aire), una solución sólida (una aleación), y una solución acuosa (agua de mar) (Chang & College, 2002).

La concentración de una solución se determina por la relación entre la cantidad de soluto disuelto en determinada cantidad solvente o el volumen total de la solución, esta es determinada por unidad de volumen. Esta relación entre las concentraciones permite expresar la solubilidad de una solución en términos cualitativos: saturada, insaturada, y sobresaturada; ya que, a determinada presión y temperatura específica, una solución saturada es aquella que contiene la máxima cantidad de soluto disuelto en un volumen determinado de solvente, si se añade más soluto, este supera el límite de saturación, y se dice que la solución está sobresaturada, manteniendo el exceso de soluto en suspensión (Chang & College, 2002).

Otros factores que afectan la solubilidad de la solución consisten en las propiedades químicas del soluto y del solvente, como su polaridad y su carácter iónico. Asimismo, hay ciertas propiedades físicas que afectan la disolución como el tamaño de partícula del soluto y su cantidad, el proceso de homogeneización, la temperatura de la solución y el pH (Change & College, 2002; Petrucci et. al., 2003).

Las concentraciones en unidades físicas son (Petrucci et al. 2003):

- Porcentaje masa a masa (%m/m): indica la cantidad de gramos de soluto disueltos en 100 gramos de solución.
- Porcentaje masa a volumen (%m/v): indica la cantidad de gramos de soluto disueltos en 100 mililitros de solución.
- Porcentaje volumen a volumen (%v/v): indica la cantidad de mililitros de soluto disueltos en 100 mililitros de solución.

Las concentraciones en unidades químicas son (Petrucci et. al., 2003):

- Molaridad (M): indica la cantidad de moles de soluto (n) en un litro de solución (L). El mol es igual a  $6.022 \times 10^{23}$  de átomos, moléculas, partículas fundamentales de esa sustancia, este valor es definido como la constante Avogadro; en el laboratorio, un mol es el peso molecular expresado en gramos.
- Molalidad (m): indica la cantidad de moles de soluto (n) en un kilogramo de solvente (kg).
- Normalidad (N): indica el número de equivalentes en un litro de solución (L). Los equivalentes del soluto representan la cantidad de sustancia que reacciona en una reacción química, y esto depende si el soluto es un ácido, una base o una sal. En un ácido depende del número de hidrógenos presentes, en una base depende de los hidroxilos presentes, y en una sal depende de la carga total positiva o negativa. El equivalente en gramos es el cociente del peso molecular entre los átomos o iones reaccionantes de la molécula.

En el laboratorio, una solución puede ser preparada de forma directa al pesar el soluto y agregar el volumen deseado de solvente, y también por dilución a partir de una solución concentrada. Esta última forma consiste en tomar una pequeña cantidad de la solución concentrada, y agregar más solvente; es importante tener en cuenta que la concentración inicial de la solución cambia, sin embargo, el número de moles del soluto se mantiene constante (Change & College, 2002).

Para realizar la dilución de una solución concentrada, es utilizada la ecuación 1, la cual es ampliamente utilizada debido a su fácil aplicación, economía de tiempo y de reactivos. Al realizar el proceso de dilución en soluciones de ácidos y bases concentradas, se debe tener precaución debido a que el proceso es exotérmico, así que, para evitar quemaduras o ruptura de recipientes, siempre se debe añadir el ácido o la base sobre el agua, y nunca al contrario (Petrucci et. al., 2003):

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

**Ecuación 1.** Ecuación de dilución (Petrucci et. al., 2003).

Donde  $V_1$  y  $C_1$  corresponden al volumen y concentración inicial respectivamente,  $V_2$  y  $C_2$  corresponden al volumen y concentración final.

**Palabras clave:** soluto, solvente, molaridad, porcentaje

### 3.3. Materiales y reactivos

1	probeta	de	100	mL	1	matraces	aforados	de	250	mL	
1	probeta	de	50	mL	1	vaso	de precipitado	de	250	mL	
1	balón	aforado	de	50	mL	1	vaso	de precipitado	de	50	mL
1	balón	aforado	de	100	mL	1	vaso	precipitado	de	100	mL
2	matraces	aforados	de	100	mL						

1			embudo	Agua			destilada
Balanza analítica				1	bureta	de	10 mL
Agitador	de		vidrio	Ácido	acético		0.2 M
Espátula				Sacarosa	(azúcar		casera)
2	vidrio	de	reloj	Cloruro de sodio (sal de cocina)			
Frasco			lavador				

### 3.4. Metodología

El profesor asignará las soluciones y concentraciones a preparar. Aquí se sugieren las siguientes:

- 100 mL de sacarosa 0.1 M.
- 50 mL de cloruro de sodio 5 % m/v.
- 25 mL de ácido acético 10 mM
- 50 mL de sacarosa 20 mM

#### 3.4.1. Preparación de una solución acuosa de porcentaje en peso, por método directo.

- Pesar un vaso precipitado vacío, limpio y seco. Tare el peso en la balanza, y proceda a pesar el soluto, previamente calculado.
- Agregar cuidadosamente, y sin ningún derrame, el volumen de solvente necesario medido en una probeta para lograr el peso de solución requerido.
- Con el fin de diluir totalmente el soluto, agite con una varilla de vidrio. Una vez completamente disuelto, tapar y rotular con el nombre de la solución, su concentración, fecha de preparación y nombre del operario.

#### 3.4.2. Preparación de 50 mL de una solución acuosa de concentración dada.

- Utilice las mismas instrucciones del paso anterior, pero utilice un vidrio de reloj para el peso del soluto.

- Traspasar el soluto pesado, a un vaso de precipitados de 50 mL, el cual contiene previamente un pequeño volumen de agua. Con el fin de no dejar rastros en el vidrio reloj, aplique un chorro de agua sobre el vidrio reloj.
- Agitar hasta disolución del soluto, pase el contenido a un balón aforado de 50 mL, y afore con agua.
- Tape el balón, y rotule debidamente.

#### ***3.4.3. Preparación de 50 mL de solución acuosa de concentración dada por dilución.***

- Con atención y precaución, mida con una pipeta el volumen inicial requerido ( $V_1$ ) de una solución de concentración conocida ( $C_1$ ).
- Transfiera este volumen a un matraz aforado de igual volumen al de la solución final ( $V_2$ ) deseada, este debe contener una pequeña cantidad de agua, con la intención de evitar salpicaduras.
- Afore cuidadosamente, tape, agite y rotule debidamente.

#### ***3.4.4. Preparación de una solución acuosa utilizando datos de densidad y porcentaje de peso.***

- Localice en la ficha de seguridad del reactivo su densidad y porcentaje de pureza.
- Realice los cálculos correspondientes para obtener una solución expresada en Molaridad o Normalidad.

- Teniendo en cuenta la concentración calculada anteriormente ( $C_1$ ), determine el volumen inicial ( $V_1$ ) que necesita tomar para obtener por dilución el volumen ( $V_2$ ) y concentración ( $C_2$ ) de la solución final.
- Mida el volumen calculado ( $V_1$ ) utilizando una bureta.
- Transfiera el volumen a un matraz aforado con el volumen deseado de la solución final, este debe contener una pequeña cantidad de agua, debido a que es una reacción exotérmica. Afore hasta la marca.
- Agite, tape, y rotule debidamente.

### 3.5. Preguntas de discusión

1. ¿Qué efectos tiene la presión y la temperatura sobre la solubilidad? ¿Es igual para todos los tipos de solución?
2. Mencione las fuerzas intermoleculares presentes en un proceso de dilución para cada una de las muestras preparadas.

## Práctica 4. Propiedades físicas: Densidad, medición de magnitudes y evaluación de errores

Tipo de práctica	Duración:	Indicaciones de peligro:
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

### 4.1. Objetivos

- Diferenciar propiedades extensivas y propiedades intensivas, y explicar el carácter intensivo de la densidad.
- Determinar experimentalmente la masa y el volumen de líquidos y sólidos a partir de medidas directas e indirectas (balanza, probeta, desplazamiento de agua, etc.).
- Analizar los tipos de errores experimentales en procesos de medición de magnitudes físicas (errores sistemáticos, aleatorios y humanos).
- Comparar los valores obtenidos experimentalmente con los valores teóricos de referencia, y calcular el porcentaje de error para evaluar la precisión del procedimiento.

#### 4.2. Marco teórico

Existen ciertas propiedades dependientes de la masa de una sustancia que permite caracterizarla con respecto a las demás, estas son las propiedades extensivas y las propiedades intensivas; donde las primeras son dependientes de la cantidad de materia y las segundas no (Petrucci et. al., 2003).

Las propiedades extensivas son aquellas que dependen de la cantidad de la materia, por ejemplo, la masa, definida como la cantidad de materia contenida en un cuerpo, y su unidad de medida es el kilogramo (kg). También está el volumen, una unidad escalar que se define como el espacio ocupado por una cantidad de materia, y su magnitud depende del estado físico de la sustancia; su unidad de medida es el centímetro cúbico ( $cm^3$ ), asimismo, es aceptado el litro (L), el cual es equivalente a un decímetro cúbico (Chang & College, 2002).

Las unidades de volumen para sólidos se determinan a partir de las medidas de la longitud elevadas a la tercera potencia, debido a que se tiene en cuenta el espacio tridimensional ocupado por el sólido y, por el contrario, las unidades de volumen para líquidos son determinados a partir del recipiente que contiene la sustancia (Chang & College, 2002).

Las propiedades intensivas se caracterizan al ser independientes de la cantidad de materia, aunque existe una unidad intensiva que relaciona la masa y el volumen: la densidad; esta unidad es el cociente de la magnitud de la masa y la magnitud del volumen, como se observa en la *ecuación 1* (Chang & College, 2002).

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Masa}}{\text{Volumen}} \text{ o } \rho = \frac{m}{v} \quad (1)$$

**Ecuación 1.** Ecuación matemática que define la densidad como el cociente entre la masa y el volumen (Chang & College, 2002).

Durante los procesos de medición, se pueden presentar errores que afectan la exactitud y precisión de los valores tomados, estos son: errores aleatorios y errores sistemáticos. Los errores aleatorios, o el azar, son errores inherentes al proceso de investigación y, por lo tanto, no pueden ser eliminados afectando la exactitud del valor; los errores sistemáticos, también conocidos como sesgo, pueden ser eliminados al no subestimar la deficiencia del diseño o ejecución del estudio, permitiendo tener una mayor precisión en la recolección de datos (Barraza et. al, 2019).

**Palabras clave:** peso, volumen, densidad, errores aleatorios, errores sistemáticos

### 4.3. Materiales y reactivos

Balanza	Muestras de sólidos con diferentes
Vaso de precipitado	proporciones (hierro, zinc, plomo, piedras,
Probeta	entre otros)
Picnómetro	Muestras líquidas

#### 4.4. Metodología

- Determine la masa, el volumen y la densidad de las muestras sólidas entregadas, siguiendo las instrucciones descritas a continuación e ingrese la información en la tabla 3:

**Tabla 3.**

**Tabla de resultados de la masa, volumen y densidad de los sólidos entregados.**

Masa sólido 1	Masa sólido 2	Masa sólido 3
Volumen sólido 1	Volumen sólido 2	Volumen sólido 3
Densidad sólido 1	Densidad sólido 2	Densidad sólido 3

- Densidad de un sólido irregular: Determine la masa de un sólido irregular en una balanza. Luego, en una probeta mida un volumen determinado de agua, asegurándose de que quede espacio para poder adicionar el sólido irregular sin generar un desborde. Agregue el sólido y determine el nuevo volumen. La diferencia entre volúmenes corresponde al volumen del sólido, y a partir de su volumen y masa, determine su densidad.
- Densidad de un sólido regular: Pese a un sólido regular, determine su volumen tomando las medidas según su fórmula geométrica. Registre los datos.
- Densidad de un líquido: Pese un picnómetro limpio y seco, con su respectiva tapa. Llénelo con la muestra problema, tápelo, seque el sobrante de las paredes externas del

picnómetro, y vuelva a pesarlo. Registre la temperatura, y con los pesos del picnómetro vacío, su volumen y el peso del picnómetro lleno, determine la densidad. También determine el porcentaje de error con respecto a la densidad reportada en la literatura para el líquido.

- Identifique los tipos de error presentes en la medición, sus causas y posibles soluciones para estos.

#### 4.5. Preguntas de discusión

1. Se introduce un sólido a una probeta con 20 mL de agua, elevando el volumen a 45.5 mL. Si su masa es de 28.5 g, ¿cuál es su densidad?
2. ¿El peso y la masa son equivalentes? Explique su respuesta, y mencione cómo se mide cada magnitud.
3. Explique cómo determinaría la densidad de una esfera de forma directa.

### **Práctica 5. Separación de mezclas: métodos físicos aplicados a mezclas homogéneas y heterogéneas.**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

### 5.1. Objetivos

- Definir el concepto de mezcla, y diferenciar sus tipos según sus criterios físicos.
- Reconocer y clasificar los principales métodos físicos de separación de los componentes en mezclas homogéneas o heterogéneas.
- Aplicar técnicas fundamentales de separación de mezclas (decantación, filtración, evaporación, etc.) en función del tipo de mezcla.
- Seleccionar y aplicar el método de separación más adecuado para separar los componentes sólidos y líquidos de diferentes mezclas.

### 5.2. Marco teórico

Una mezcla es la combinación de dos o más sustancias donde estas no reaccionan entre sí, manteniendo su naturaleza y sus propiedades. En una mezcla se pueden identificar dos tipos de sustancia: el soluto y el solvente; la solución en menor proporción es el soluto, que se encuentra disuelto en aquella de mayor proporción que corresponde al solvente (Chang & College, 2002).

Las mezclas pueden ser clasificadas en homogéneas y heterogéneas, en las mezclas homogéneas las diferentes sustancias se diluyen entre sí, generando una sola fase donde las sustancias son indistinguibles; en las mezclas heterogéneas, las sustancias solo se combinan físicamente, sin disolverse entre sí, cada componente mantiene sus propiedades y se pueden distinguir visualmente sus dos o más fases (Chang & College, 2002).

El proceso de separación de componentes provenientes de una mezcla requiere del conocimiento previo de sus propiedades, y el tipo de mezcla que se tiene, con el fin de escoger el

método adecuado para su separación. Los métodos de separación físicos separan la mezcla mediante sus propiedades físicas: el tamaño de partícula en la filtración o tamizado, el punto de ebullición en la vaporización, la densidad en la centrifugación, entre otras (Petrucci et. al., 2003)

**Palabras clave:** soluto, solvente, fases, homogéneas, heterogéneas

### 5.3. Materiales y reactivos

Limoneno (D-limoneno)	Papel filtro
Arena	Balanza
Aceite vegetal (comercial)	Agitador de vidrio
Cloruro de sodio (comercial)	Cápsula de porcelana
Vaso de precipitado	Tubo de ensayo
Erlenmeyer	Placa de calentamiento
Embudo de decantación	Mezcla arena y $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Frasco lavador	
Embudo	
Mortero	

### 5.4. Metodología

#### 5.4.1. Experimentación con variables abiertas.

##### 5.4.1.1. Primera parte

- Tome dos Erlenmeyer, y en cada uno agregue 50 mL de agua destilada, en el primero agregar 10 gramos de cloruro de sodio (NaCl) y en el segundo 10 gramos de arena. Agite suavemente durante cinco minutos, observe y registre resultados.
- Tome un Erlenmeyer, y agregue 20 mL de aceite vegetal y 50 mL de D-limoneno. Agite suavemente durante cinco minutos, observe y registre resultados. El D-limoneno es un solvente orgánico apolar, denominado solvente verde al tener baja toxicidad y ser biodegradable, por lo tanto, presenta un menor impacto ambiental.

- En un mortero, agregue cantidades iguales de sal y de arena, tritúrelas, y reserve la mezcla en un vaso de precipitado.
- En un embudo de separación, agregue 50 mL de agua y 20 mL de aceite, tapar y agitar con fuerza durante cinco minutos. Dejar reposar el embudo de forma vertical durante 20 minutos, observe, y registre el resultado.

#### 5.4.1.2. Segunda parte

En la *Tabla 4* se presentan cada una de las mezclas preparadas en la primera parte, para cada una identifique su tipo, y proponga un método de separación física. Antes de realizarlo, verifique la aprobación del docente para proceder.

**Tabla 4.**

*Tabla para la identificación de mezclas preparadas, su tipo, y método de separación.*

Mezcla		Tipo de mezcla		Método de separación
		Homogénea	Heterogénea	
1 <sup>a</sup>	Agua – sal			
1 <sup>a</sup>	Agua – arena			
1b	Aceite – limoneno			
1c	Arena – sal			
1d	Aceite – agua			

#### 5.4.2. Filtración

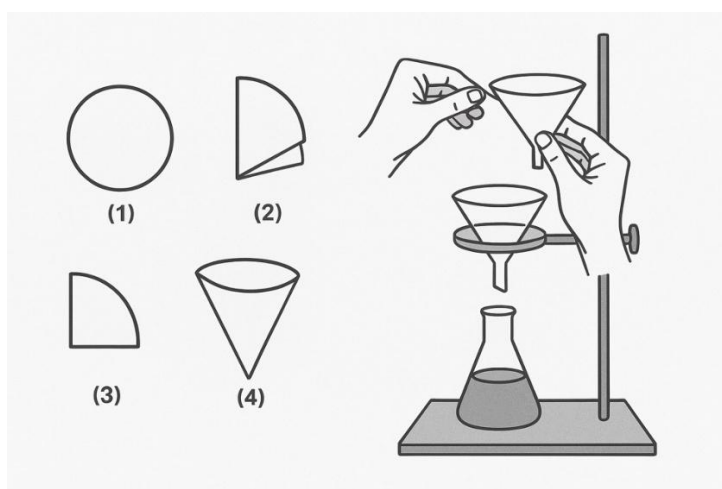
Pese entre 1 y 2 gramos de la mezcla de arena y sulfato de cobre, transfírela a un Erlenmeyer y agregue 15 mL de agua. Agite con una varilla de vidrio hasta la disolución completa de la sal en la solución.

Realice el montaje de la *Figura 3*, realizando el doblado del papel como se indica en los pasos, introdúzcalo en el embudo, y humedézcalo con agua para que se adhiera al embudo, con

el fin de evitar que la mezcla pase entre el filtro y las paredes del embudo contaminando la solución filtrada. Proceda a realizar la filtración, y agregue agua destilada caliente a las paredes del Erlenmeyer, con el fin de arrastrar los restos de la mezcla y filtrarlos, para así evitar pérdidas de la muestra inicial.

*Figura 3.*

*Montaje para la filtración por gravedad*



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial.

Adicione alícuotas de agua caliente de 3 mL hasta 12 mL, con el fin de diluir todas las partículas de sulfato de cobre en la arena. Verifique la ausencia de  $\text{CuSO}_4$  tomando muestras de los lavados, la no coloración azul indica la ausencia de la sal. No deseche las aguas de lavado.

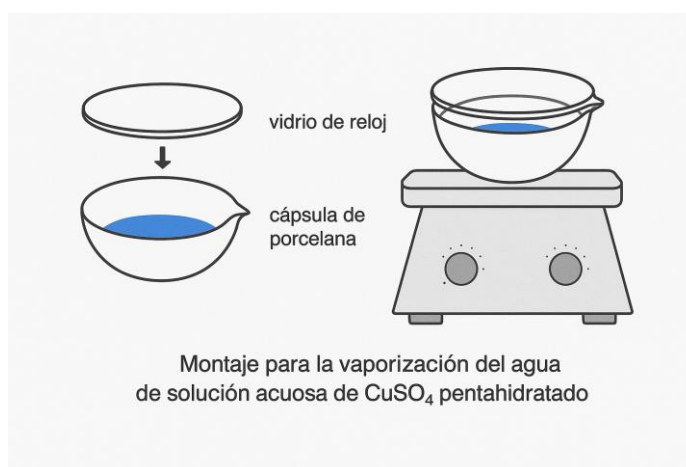
### **5.4.3. Vaporización**

Prepare el montaje de la *figura 4*, coloque el Erlenmeyer que contiene el filtrado sobre la placa de calentamiento, déjelo calentar hasta reducir su volumen a 15 mL aproximadamente. Pase el filtro a una cápsula limpia, seca, y previamente pesada junto un vidrio reloj como se

indica en el montaje. Realice la toma de medidas mínimo tres veces. Coloque la cápsula de porcelana sobre la placa de calentamiento, dejando vaporizar todo el filtrado, obteniendo la cápsula con la sal deshidratada y el vidrio reloj. Espere a que se seque, y pese la cápsula con la muestra y el vidrio reloj, registrando los datos y calculando el porcentaje de la sal en la mezcla inicial.

*Figura 4.*

*Montaje para la vaporización del agua de la solución acuosa de  $\text{CuSO}_4$  pentahidratado*



Nota. Adaptado de Manual de prácticas de laboratorio I de Química (p.75), por López & Urbina, 2023, Universidad Industrial de Santander.

Ingrese los datos recolectados durante el segundo experimento en la Tabla 5, y calcule el peso promedio. Identifique el peso de  $\text{CuSO}_4$ , su porcentaje en la muestra, y finalmente, discuta posibles fuentes de error en el experimento, como posibles pérdidas de muestra y proponga formas de recuperación del material perdido.

Tabla 5.

*Tabla de resultados para la determinación de  $\text{CuSO}_4$  media filtración y evaporación de una mezcla de arena y la sal.*

<b>Peso de la muestra</b>	<b>Peso de cápsula vacía y vidrio reloj</b>	<b>Peso de la cápsula con el vidrio de reloj y el sulfato de cobre</b>
Primera medición	Primera medición	Primera medición
Segunda medición	Segunda medición	Segunda medición
Tercera medición	Tercera medición	Tercera medición
Promedio	Promedio	Promedio
Peso del sulfato de cobre, a partir de la diferencia de pesos de la cápsula y el vidrio reloj antes y después de la vaporización		
Porcentaje del en la muestra inicial		

Nota. Adaptado de Manual de prácticas de laboratorio I de Química, por López & Urbina, 2023, Universidad Industrial de Santander.

### 5.5. Preguntas de discusión

1. ¿Cuál es el principio físico de los diferentes métodos de separación utilizados? Explíquelos.
2. Mencione por qué la mezcla 1b y 1d de la tabla 4 son diferentes entre sí.
3. Defina nivel de saturación en una mezcla, y los tipos de mezclas según nivel de saturación.

## Práctica 6. Titulación ácido-base: Estandarización de soluciones y determinación de ácido acético en productos comerciales

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

### 6.1. Objetivos

- Estandarización de una solución básica mediante una titulación ácido-base para su uso posterior en la valoración de una solución ácida.
- Aplicar los conceptos de neutralización, indicador ácido-base, y punto de equivalencia en el contexto de reacciones ácido-base.
- Determinar la concentración de ácido acético en vinagre comercial mediante una titulación ácido-base con una solución estandarizada.

## 6.2. Marco teórico:

Para Brønsted-Lowry, los ácidos son especies donadoras de un protón ( $H^+$ ), y las bases son sustancias que lo aceptan, por lo tanto, en una reacción ácido-base se debe cumplir que el ácido esté en la capacidad de ceder un hidrógeno ( $H^+$ ), y la base tenga un par de electrones libres para aceptar el protón y formar un nuevo enlace (Brown, et. al, 2014).

Los ácidos y las bases pueden clasificarse como fuertes o débiles dependiendo de su potencial de ionización en disolución ( $pK_a$ ). Sin embargo, existen ácidos débiles altamente reactivos como ácido fluorhídrico (HF), el cual se ioniza parcialmente en disolución acuosa (ácido débil), pero resulta siendo una sustancia muy reactiva que puede atacar a materiales sólidos amorfos como el vidrio, debido a que genera iones de  $H^+$  y  $F^-$ , siendo este último un ion muy electronegativo que puede reaccionar fácilmente con otros átomos (Brown, et. al., 2014).

A diferencia del ácido fluorhídrico, el ácido acético ( $CH_3COOH$ ), también conocido como ácido etanoico, es un ácido orgánico de naturaleza de baja reactividad, de apariencia líquida e incolora que genera el olor característico al vinagre comercial, además de ser un subproducto de la fermentación de carbohidratos, proceso que ha sido utilizado ampliamente a lo

largo de la historia con propósitos medicinales, alimenticios e industriales. Debido a sus diferentes aplicaciones, el estudio del ácido acético es de gran importancia y, por lo tanto, conocer su concentración en diferentes soluciones también; esta valoración puede realizarse mediante una titulación ácido-base (Parell, et. al, 2021).

En las titulaciones ácido-base, se añade progresivamente una sustancia de concentración conocida a la solución de concentración desconocida. Su fundamento consiste en una reacción de neutralización entre el ácido y la base, generando la respectiva sal del par y agua. En la titulación del ácido acético, se agrega parcialmente una base fuerte como el hidróxido de sodio (NaOH), hasta llegar al **punto de equivalencia**, en el cual todos los hidrógenos del ácido han reaccionado con todos los hidroxilos de la base (*ecuación 1*).

$$\text{Número de equivalentes del ácido} = \text{Número de equivalentes de la base}$$

**Ecuación 1.** Ecuación del punto de equivalencia en una titulación ácido-base.

Para identificar el final de la titulación, el cual se alcanza poco después del punto de equivalencia, se agrega un indicador como la fenolftaleína, el cual indica, mediante un cambio de color de transparente a rosa pálido. Este cambio de color es generado por la formación del anión del indicador, el cual se forma cuando ocurre un cambio en el pH de la solución y el ácido ha sido neutralizado por la base, generando un pH mayormente básico en la solución. En esta reacción de neutralización, el ácido acético dona un ion de hidrógeno ( $\text{H}^+$ ) y el ion de hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) de la base acepta este ion para formar agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) y acetato de sodio ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ).

**Palabras clave:** Titulación, neutralización, punto final, ácido débil, base fuerte, punto de equivalencia.

**6.3. Materiales y reactivos**

Balanza analítica

Varilla de vidrio

Probeta de 25 mL

Capsula de porcelana

Pipeta de 10 mL

Bureta de 25 mL

Balón aforado de 50 mL

Matraz Erlenmeyer de 250 mL

Soporte universal

Pinzas para bureta

Gotero

Balanza analítica

Agua destilada

Vinagre

Hidróxido de sodio

Carbonato de sodio

Ácido oxálico

Ácido clorhídrico

Fenolftaleína

Naranja de metilo

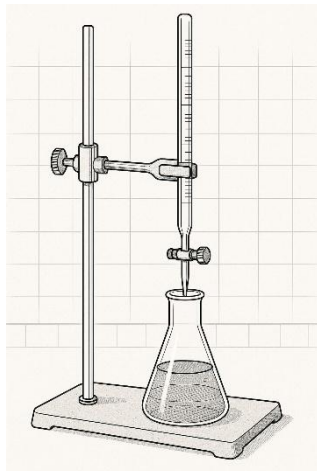
**6.4. Metodología****6.4.1. Estandarización de la solución de NaOH 0.1 M**

- Tome un Erlenmeyer de 250 mL y pese en la balanza analítica 0,2000 g de ácido oxálico ( $C_2H_2O_4$ ).
- Agregar 25 mL de agua destilada, agitar hasta que se disuelva por completo todo el ácido y agregar 3 gotas del indicador fenolftaleína.
- Realice un montaje como se indica en la Figura 5.
- En la bureta, agregue una solución de NaOH 0.1 M y empiece a titular hasta que la solución del ácido oxálico tome una coloración rosa, que persiste por al menos 30 segundos.
- Anote el volumen gastado de NaOH y calcule la normalidad a partir de la siguiente ecuación:

$$V_b * N_b = \frac{G_{\text{ácido}}}{P_{\text{equi}} - G_{\text{ácido}}}$$

Figura 5.

Montaje de bureta en el soporte universal.



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial.

#### 6.4.2. Estandarización de la solución de HCl 0.1 M

- Tome una muestra de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) y pese 0.2000 g de esta en la balanza analítica.
- Lleve la muestra a un Erlenmeyer de 250 mL, agregue 25 mL de agua destilada, agite hasta que se disuelva por completo todo el ácido y agregue 3 gotas del indicador fenolftaleína.
- Realice nuevamente un montaje para titulación y agregue en la bureta la solución de HCl 0.1 M.
- Empiece a titular hasta que la solución cambie de roja a incolora y anote el volumen gastado de ácido.
- Por último, agregue 3 gotas del indicador naranja de metilo y continúe con la titulación hasta que ocurra el cambio de color de amarillo a anaranjado.

- Registre el nuevo volumen de ácido gastado y calcule la normalidad del HCl según:

$$V_a * N_a = \frac{g_{base}}{p_{equi} - g_{base}}$$

#### **6.4.3. Valoración del ácido acético en vinagre a partir de la disolución de NaOH 0.1 M**

- Utilice una bureta y lávela con la disolución de NaOH.
- Utilice un soporte y unas pinzas para sujetar la bureta, como se muestra en la Figura 5.
- Llene la bureta con la solución de NaOH estandarizada, ajustando cuidadosamente el volumen y corroborando que no exista presencia de burbujas de aire en la llave.
- Tome una alícuota de 5 mL con una pipeta y transfiera a un balón aforado de 50 mL, afore con agua destilada, tape el balón y agite dos veces.
- Lleve a un matraz Erlenmeyer de 100 mL, una alícuota de 10 mL de la solución anterior, 10mL de agua destilada y tres gotas del indicador fenolftaleína.
- Ubique el matraz sobre el soporte y debajo de la llave de la bureta. Asegúrese de que la punta no esté a más de 3 o 4 cm por encima de la solución a titular para evitar salpicaduras.
- Mueva la perilla de la bureta cuidadosamente y no olvide agitar el Erlenmeyer durante cada adición en todo el proceso.
- Registre el volumen de la solución de NaOH utilizado en el momento en que se observe un cambio de color rosa característico, y este se mantenga por al menos 30 segundos.
- Repita el proceso por triplicado y saque un promedio.

#### **6.5. Preguntas de discusión**

1. Mencione diferentes indicadores utilizados en titulación, y su rango de detección de pH.
2. Escriba la ecuación química de neutralización entre el hidróxido de sodio y el ácido acético.
3. Escriba las reacciones que ocurren durante la estandarización del ácido y la base.
4. ¿Qué factores pueden afectar la exactitud en la medición del volumen de la solución titulante al alcanzar el punto de equivalencia?

**Práctica 7. Estudio del pH y concentración de soluciones mediante métodos de indicadores, potenciómetro y titulación**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**7.1. Objetivos**

- Medir el pH de diferentes soluciones ácidas, básicas y neutras mediante indicadores ácido-base y potenciómetro, comparando ambas técnicas.

- Analizar las variaciones cuantitativas de pH en soluciones de ácidos, bases y neutras, relacionándolas con la naturaleza química de cada solución.
- Determinar la concentración de soluciones ácidas y básicas mediante titulación ácido-base.

## 7.2. Fundamento teórico

Los ácidos y las bases son sustancias químicas, las cuales en solución están en la capacidad de liberar hidrógenos ( $H^+$ ) o hidroxilos ( $OH^-$ ), donde la proporción entre estos ayuda a determinar si una solución es ácida, cuando  $H^+ > OH^-$ , y básica cuando  $OH^- > H^+$ . En 1909, Soren Sorensen definió el pH, definido como menos el logaritmo de la concentración de iones  $H^+$  en la solución (ecuación 1) (Chang, 2020).

$$pH = -\log \log [H^+] = \log \frac{1}{[H^+]}$$

**Ecuación 1.** Ecuación de pH (Chang, 2020).

El pH es un valor adimensional que expresa la concentración de iones hidrógeno en una solución, permitiendo identificar una solución como ácida o básica a 25° C de la siguiente forma (Chang, 2020):

Disoluciones ácidas:  $[H^+] > 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $pH < 7$

Disoluciones básicas:  $[H^+] < 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $pH > 7$

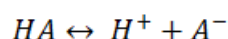
Disoluciones neutras:  $[H^+] = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $pH = 7$

Este valor numérico puede ser determinado utilizando un papel indicador o un potenciómetro, donde el primero es de carácter cualitativo al hacer cambiar el color del papel indicador: los ácidos enrojecen el papel tornasol azul, y las bases colorean de azul el papel tornasol rojo y enrojecen la fenolftaleína; a diferencia del potenciómetro o pehachímetro, ampliamente utilizado de forma cuantitativa, ya que nos proporciona un valor exacto del pH. El potenciómetro debe ser calibrado utilizando soluciones estándar de pH determinado (Chang, 2020).

El valor de pH es una variable importante en reacciones químicas a nivel industrial y también a nivel biológico, ya que los fluidos corporales deben mantenerse en un rango de 7 a 7.8, debido a que un pH fuera de este rango acarrearía alteraciones fisiológicas que causarían la muerte. Por esta razón, existen diferentes soluciones amortiguadoras, las cuales son disoluciones que resisten pequeños cambios en el pH por la adición de pequeñas cantidades de ácido o de base (Nelson & Cox, 2006).

Las soluciones amortiguadoras o también llamadas tampón o buffer, son soluciones compuestas por ácidos o bases débiles y su respectiva sal, ampliamente utilizadas en sistemas químicos y biológicos, debido a que el pH es de vital importancia para el funcionamiento de las enzimas y para la presión osmótica. Este par ácido-base, es conformado por un ácido débil y su base conjugada (suministrada por una sal), o por una base débil y su ácido conjugado (suministrado por una sal); por ejemplo, el ácido acético ( $CH_3COOH$ ) y de su sal acetato de sodio ( $CH_3COONa$ ) (Nelson & Cox, 2006).

Los ácidos y bases débiles, además de ser parte de las soluciones amortiguadoras, desarrollan un papel fundamental en la osmosis de sistemas biológicos, en el metabolismo y en la regulación de los seres vivos. Los ácidos débiles en solución tienen tendencia a perder un protón o un ion de hidrógeno, proceso comúnmente llamado desprotonación. Esta tendencia del ácido (HA) a perder su protón para formar su base conjugada ( $A^-$ ), es definida como la constante de equilibrio o de ionización ( $k_a$ ) (ecuación 2) (Nelson & Cox, 2006).



$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

**Ecuación 2.** Ecuación de la constante de equilibrio (Nelson & Cox, 2006).

Los ácidos fuertes, con alta tendencia a desprotonarse, tienen constantes de ionización altas, a diferencia de los ácidos débiles, con los cuales sucede de forma contraria. Otra alternativa de definir la tendencia de las sustancias a protonarse o desprotonarse, y análoga al pH, es el pKa, definido como el antilogaritmo del Ka (ecuación 3), de la cual podemos deducir que entre más fuerte es el ácido, menor es su pKa (Nelson & Cox, 2006).

$$pK_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

**Ecuación 3.** Relación del pKa con el Ka (Nelson & Cox, 2006).

En la curva de titulación de los ácidos que funcionan como tamponantes, existe una región plana a una unidad a cada lado de su pH medio, donde cada adición de ácido o base no

afecta considerablemente la solución como si se añadiera fuera de esta región; en esta área el pH es igual al pKa. Esta zona de tamponamiento se caracteriza por la concentración del donador de protones (ácido débil), que es equivalente a la concentración del aceptor de protones (base conjugada). Por ejemplo, el par  $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$  tiene un pka de 6,86, por lo tanto, su tamponamiento está aproximadamente entre pH 5,86 y 7,86 (Nelson & Cox, 2006).

Las leyes conjugadas de estos pares son similares, debido a que se encuentran descritas a través de la ecuación de Henderson-Hasselbach (ecuación 4) (Nelson & Cox, 2006).

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{aceptor de protones}]}{[\text{dador de protones}]}$$

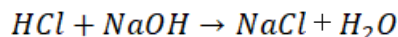
**Ecuación 4.** Ecuación de Henderson-Hasselbach (Nelson & Cox, 2006).

La ecuación de Henderson-Hasselbach permite calcular pKa a partir del pH, la relación molar entre dador y aceptor de protones, y el pH a partir del pKa. Estos pares tamponantes de donadores y aceptores de protones a nivel celular son generados por los grupos de aminoácidos presentes en la célula, debido a que los grupos carboxilo y amino, y los grupos fosfato de los nucleótidos, se comportan como ácidos o bases débiles (Nelson & Cox, 2006).

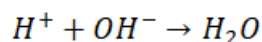
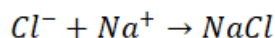
### **Reacciones de neutralización – Curvas de valoración**

Cuando un ácido reacciona con una base, se produce una reacción de neutralización que da productos como el agua y una sal, esta última es derivada de los reactivos. En el caso

específico de un ácido fuerte y una base fuerte, como el ácido clorhídrico (HCl) y el hidróxido de sodio (NaOH), la reacción se define a continuación,



Y la reacción iónica neta de la combinación de ambas es,



Esta reacción presenta el nombre de reacción de neutralización.

Cuando se usan cantidades equivalentes de ácido y de base, la concentración de  $H^+$  y de  $OH^-$  se igualan, generando un pH de 7.0. Según la teoría de Brønsted-Lowry, la reacción entre una base fuerte y un ácido fuerte consiste en una transferencia electrónica de un protón desde el ácido hacia el ion hidroxilo, como se muestra a continuación,



Ácido fuerte    Base fuerte.    Base débil    Ácido débil

### Relación valoración volumétrica y pH

La valoración es un método analítico cuantitativo que se utiliza para determinar la concentración exacta de una sustancia desconocida mediante su reacción con una sustancia de concentración conocida, denominada solución patrón o estándar. Este procedimiento es útil para analizar la acidez de las soluciones que pueden neutralizarse con una base, y viceversa.

Por ejemplo, si se desea determinar la concentración de una disolución de ácido clorhídrico (HCl), se puede añadir lentamente una solución estándar de hidróxido de sodio (NaOH). A medida que ambas sustancias reaccionan, se genera agua y una sal conjugada, hasta alcanzar el punto de equivalencia, y la neutralización sea completa.

El montaje clásico de una valoración consiste en una bureta que contiene la solución estándar, y un matraz Erlenmeyer con un volumen conocido de la solución problema. El matraz se coloca sobre un agitador magnético, y en la solución se introduce un electrodo que permite medir el pH mientras transcurre la valoración. En algunas situaciones, es suficiente identificar únicamente el punto final, y prescindir de monitorear el pH a lo largo de todo el proceso de valoración, y para esto, se utiliza un indicador colorimétrico, reemplazando el potenciómetro.

Cuando se utiliza un potenciómetro durante la valoración ácido. base, se puede monitorear el valor del pH a medida que se van añadiendo determinados volúmenes de NaOH desde una bureta. Esta información se representa gráficamente como una curva de los valores de pH vs. volumen añadido de la solución patrón, se le denomina curva de valoración.

En la figura 6, se muestra una curva de valoración correspondiente a la reacción de un ácido fuerte, como el ácido clorhídrico, con una base fuerte, como el hidróxido de sodio. En esta curva se identifica un punto medio del tramo vertical de la curva, cuyo corresponde al punto de equivalencia. Este punto se encuentra en  $\text{pH} = 7.0$ , y en este se cumple la igualdad

$$V(\text{HCl}) \times N(\text{HCl}) = V(\text{NaOH}) \times N(\text{NaOH})$$

Donde  $V$  es el volumen de cada solución y  $N$  es la normalidad. Esta ecuación permite calcular la concentración de la solución problema. Si se utiliza un indicador ácido-base, cuyo punto de viraje no coincide exactamente con el pH del punto de equivalencia, como en el caso de

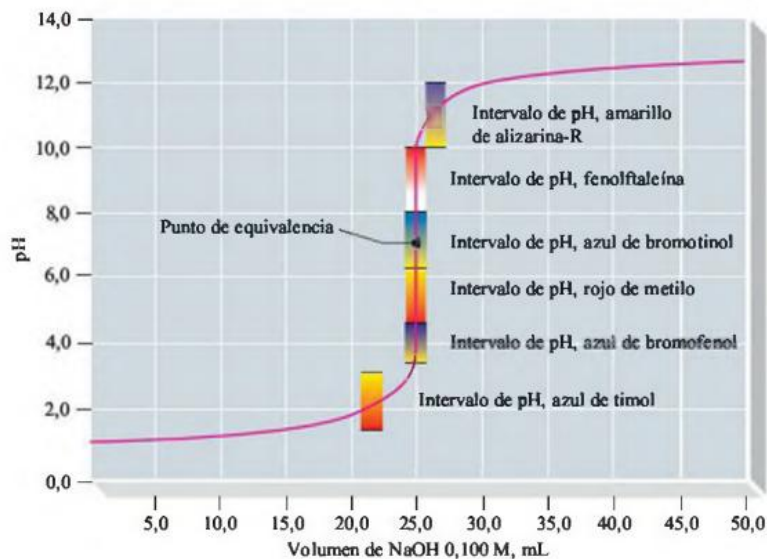
fenolftaleína cuyo punto de viraje es alrededor de pH 8.2, se produce un desfase entre el punto final de la valoración y el punto de equivalencia real.

Las curvas de valoración cambian si se valoran ácidos o bases débiles con soluciones fuertes, esto ocurre por la formación de sales que pueden hidrolizarse. Por ejemplo, cuando se valora un ácido débil como el ácido acético ( $CH_3COOH$ ), con una base fuerte NaOH, el pH inicial vendrá determinado por la constante del ácido.

Al añadir la primera gota de la base, se forma una mezcla reguladora que está compuesta por el ácido acético sin disociar ( $CH_3COOH$ ) y su sal ( $CH_3COO^-$  y  $Na^+$ ). En cualquier punto de la curva de valoración se conoce el pH mediante el potenciómetro, y se puede aplicar la ecuación de Henderson-Hasselbach para determinar la relación entre las concentraciones de ácido y de sal. Hasta acercarse al punto de equivalencia, dicha solución actúa como una solución amortiguadora al presentar resistencia a modificar su pH.

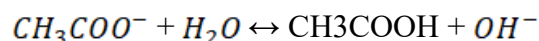
Figura 6.

Curva de titulación y punto de equivalencia de un ácido fuerte con NaOH.



Nota. Curva de titulación de un ácido fuerte, HCl 0,1 M, con una base fuerte, NaOH 0,1M. Se identifican diferentes indicadores con sus respectivos intervalos de detección. Tomado de Química general: enlace químico y estructura de la materia, Petrucci y colaboradores, 2003, Madrid: Prentice-Hall Hispanoamericana.

El punto de equivalencia se alcanza cuando la cantidad de equivalentes de la base es igual a la cantidad de equivalentes del ácido. En este punto, la solución tendrá un carácter fuertemente básico debido a la hidrólisis del anión del ácido débil:



Una vez se supera el punto de equivalencia, este proceso genera iones hidroxilo determinando el pH altamente básico de la solución, de manera similar a lo que ocurre en la valoración de un ácido fuerte con una base fuerte.

**Palabras clave:** pH, ácidos, bases, punto de equivalencia, titulación

### 7.3. Materiales y reactivos

Gradilla	Solución de 1 M de NaCl
Tubos de ensayo	Solución de $NaCO_3$
Vasos de 100 mL	
Bureta de 25 mL	Solución 0.1 M NaOH
Probeta 50 mL	Solución 0.1 M de HCl
Agitador de vidrio	Solución 0.1 M de $NH_4OH$
Potenciómetro	
Papel indicador universal	Solución 0.1 M de $CH_3COOH$
Papel tornasol azul	
Papel tornasol rojo	Solución 0.1 M de $CH_3COONa$
Solución de fenolftaleína	
Solución de metil naranja	Solución 0.1 M de $H_2SO_4$
Buffer patrón	
Solución 1 M de $NH_4Cl$	Muestra problema

### 7.4. Metodología

#### 7.4.1. Identificación de ácidos y bases

Utilizar tiras de papel indicador de tornasol azul, tornasol rojo y papel universal, aproximadamente de medio centímetro de largo. Coloque una gota en cada una de las tiras de la siguiente lista de sustancias:

- Ácido clorhídrico
- Ácido acético
- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio
- Hidróxido de amonio
- Muestra problema. Cada estudiante traerá una muestra de su casa, puede ser champú, café, blanqueador, jugo de limón, etc.

Registre sus observaciones en una tabla como la siguiente:

**Tabla 6.**

**Registro del efecto de las sustancias sobre los diferentes papeles indicadores.**

Solución	A	B	C	D	E	F
pH con papel indicador						
Color que toma el papel tornasol rojo						
Color que toma el papel tornasol azul						

- Tome dos tubos de ensayo y agregue a cada uno 3 mL de agua destilada junto con dos gotas de fenolftaleína. Adicione a uno de los tubos 1 mL de solución de 0.1 M de HCl y al otro 1 mL de solución de 0.1 M de NaOH. Anote sus observaciones e identifique algún cambio de color en los tubos.
- Repita el proceso anterior, utilizando anaranjado de metilo en lugar de fenolftaleína. Anote sus observaciones e identifique algún cambio de color en los tubos.
- Utilice soluciones diluidas de NaCl y de NaOH, y repita los pasos 2 y 3. Registre sus observaciones.

#### ***7.4.2. Medición del pH de una solución***

Determine el pH con papel indicador y con el potenciómetro, de las siguientes soluciones en la siguiente tabla:

**Tabla 7.**

**Registro del pH determinado con papel indicador y potenciómetro, y su clasificación.**

Solución	pH determinado con		¿Solución ácida o básica?
	Papel indicador	Potenciómetro	
NaCl			
HCl			
NaOH			
$H_2SO_4$			
Vinagre			
Gaseosa			
Agua			

Realice sus observaciones, interprete los resultados e identifique las diferencias entre los resultados por los dos métodos.

#### ***7.4.3. Titulación ácido fuerte con base fuerte***

- En un matraz Erlenmeyer de 100 mL, agregue 20mL de  $H_2SO_4$  0.1M, y añada 3 gotas de fenolftaleína, la cual será utilizada como indicador ácido-base.
- Verificar que la bureta esté llena con NaOH 0.1 N, y que su volumen inicial esté en 0 mL.
- Iniciar la titulación, abriendo lentamente la llave de paso de la bureta, agregue la solución de NaOH gota a gota
- Registrar el volumen de base agregada cuando la fenolftaleína se transforme a un color rosado pálido de forma constante. Esto significa que la fenolftaleína viró por el pH ligeramente básico (aproximadamente 8,2) de la solución.

- Realice la curva de valoración del ácido sulfúrico con el hidróxido de sodio.

#### ***7.4.4. Titulación ácido débil con base fuerte***

- En un vaso de precipitado de 100 mL, adicionar 20 mL de  $CH_3COOH$  0,1M.
- Mida el pH inicial de la solución utilizando un potenciómetro.
- Agregar 0.5 mL de NaOH 0.1 N de forma paulatina, midiendo el pH después de cada adición.
- Al alcanzar un pH = 4.0, continuar la titulación agregando 1 ml de NaOH 0.1N, y continúe midiendo el pH después de cada adición.
- Al llegar a un pH = 6.0, continuar la titulación nuevamente agregando 0.5 mL hasta que observar un cambio brusco a la alcalinidad.
- Realice la curva de valoración del ácido acético con hidróxido de sodio.

#### **7.5. Preguntas de discusión**

1. Identifique tres situaciones relevantes a nivel biológico en las que el pH desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de procesos fisiológicos.
2. Mencionar tres soluciones amortiguadoras que regulan el pH en sistemas biológicos.
3. Definir los conceptos de acidosis y alcalosis sanguínea, y las condiciones fisiopatológicas en las que se presentan.
4. Mencionar qué información puede ser obtenida a partir de las curvas de valoración.

**Práctica 8. Estudio del comportamiento anfotérico y capacidad amortiguadora de los aminoácidos en solución**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**8.1. Objetivos**

- Analizar el comportamiento anfotérico de los aminoácidos en solución.
- Describir la importancia del comportamiento anfotérico de los aminoácidos en procesos bioquímicos y fisiológicos.
- Determinar las estructuras iónicas predominantes de los aminoácidos en función de diferentes valores de pH, y representar sus estructuras.
- Determinar la zona de amortiguación de los aminoácidos, y evaluar su capacidad para resistir a cambios en el pH de soluciones acuosas.

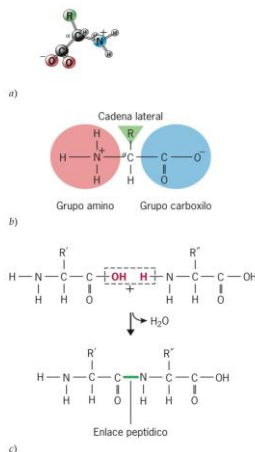
**8.2. Marco teórico**

Antes de comenzar, se recomienda leer la Guía N.º 7 “Estudio del pH y concentración de soluciones mediante métodos de indicadores, potenciómetro y titulación”, en la cual puede aprender sobre las propiedades de los ácidos y las bases.

Los aminoácidos son biomoléculas precursoras de la síntesis de las proteínas, debido a su estructura conformada por un grupo carboxilo y un grupo amino, separados por un carbono alfa, los cuales se unen mediante enlaces peptídicos generando un polímero largo, continuo y no ramificado que conforma la proteína (*Figura 7*) (Karp, 2019).

Figura 7.

## Estructura de los aminoácidos y formación de enlaces peptídicos

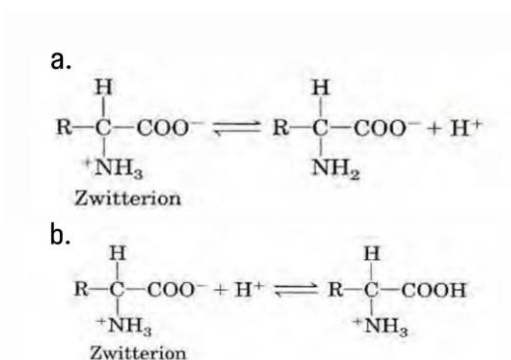


Nota. a) Estructura de los aminoácidos en forma de esferas. b) Fórmula química general de un aminoácido, donde se identifica el grupo amino, el carbono Alfa y el grupo carboxilo. c) Reacción entre dos aminoácidos formando el enlace peptídico presente en las proteínas. Tomado de Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos (p.49), Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

Las propiedades atribuidas a las proteínas provienen de algunas de las características de los aminoácidos. Una característica de los aminoácidos es su comportamiento ácido-bases, ya que, al diluirse en agua, se comportan de forma dipolar, o *zwitterion* (“ion híbrido” en alemán), ya que pueden comportarse como dadores de protones (ácidos) y aceptores de protones (bases) (Figura 8). Los aminoácidos también son denominados sustancias anfóteras, debido a su carácter ácido o básico, donde en medio ácido, su especie iónica tiene una carga neta +1, y en medio básico, la carga neta será -1 (Nelson & Cox, 2006).

Figura 8.

*Comportamiento zwitterion o ion híbrido de un aminoácido.*

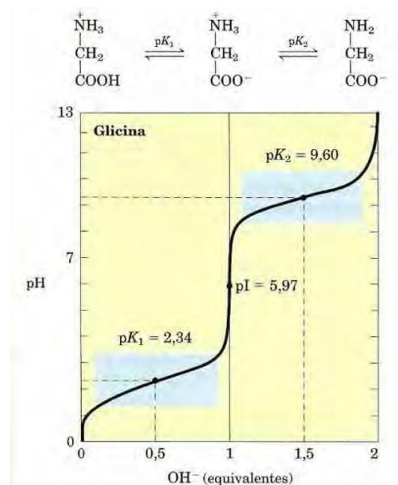


Nota. a) un ácido, o dador de protones, b) una base, o aceptor de protones. Tomado de Principios de bioquímica de Lehninger (p.81), Nelson & Cox, 2006, Omega.

Debido a su carácter anfótero, los aminoácidos presentan curvas de calibración características, las cuales depende de la cantidad de protones presentes en su estructura. Un ejemplo de esto es la curva de titulación de glicina. Esta tiene dos etapas diferentes que corresponden a la pérdida de dos protones en la estructura (*Figura 9*) (Nelson & Cox, 2006).

*Figura 9.*

*Curva de titulación de la glicina 0,1 M a 25 °C.*



Nota. Se pueden observar las especies iónicas predominantes en cada punto de inflexión, al igual que las regiones tamponantes resaltadas en azul. Tomado de Principios de bioquímica de Lehninger (p.83), Nelson & Cox, 2006, Omega.

La primera desprotonación corresponde a la pérdida del  $H^+$  del COOH, presentando concentraciones equimolares de  $^+H_3N - CH_2 - COOH$  y  $^+H_3N - CH_2 - COO^-$ , en el punto de inflexión el pH es igual al  $pK_a$  del grupo protonado que se está titulando, en el caso de la glicina el punto medio es 2,34, por lo tanto, -COOH tiene un  $pK_a$  (identificado como  $pK_1$ ) igual a 2,34. Conforme avanza la titulación, se alcanza otro punto medio a pH 5,97 (identificado como pI), donde la pérdida del primer protón es casi completa, y comienza la pérdida del segundo, asociado al grupo amino, el cual es eliminado en el punto medio 9,60, igual valor del pKa (identificado como  $pK_2$ ) del  $NH_3^+$ . Finalmente, la titulación está casi completa a un pH 12, donde la estructura predominante de la glicina es  $H_2N - CH_2 - COO^-$  (Nelson & Cox, 2006).

A partir de la curva de titulación de la glicina, podemos obtener diferente información (Nelson & Cox, 2006):

- La medida cuantitativa de los grupos funcionales ionizables: 2,34 para el grupo -COOH y 9,60 para el grupo  $NH_3^+$ .

- Las regiones con capacidad tamponante, la cual se da una unidad por arriba y por debajo de los pKa de la curva. Esto permite identificar el efecto amortiguador de los aminoácidos en diferentes situaciones biológicas.
- Predice la carga eléctrica del aminoácido mediante la relación entre su carga eléctrica y el pH de la solución, debido a que en el punto isoeléctrico (pI) o pH isoeléctrico, la carga eléctrica del aminoácido es cero a determinado pH. Esta relación se define mediante la ecuación 1.

$$pI = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2 + \dots + pK_n)$$

**Ecuación 1.** Punto isoeléctrico calculado a partir de los pKa de las especies formadas en los puntos medios de la curva de titulación.

**Palabras clave:** punto isoeléctrico, curva de titulación, efecto tamponante, zwitterion.

### 8.3. Materiales y reactivos

Aminoácidos disponibles de concentración 0.1 M	Bureta de 25 mL
Solución de NaOH 0.1 M	Vaso de precipitado de 50 mL
Solución de HCl 0.1 M	Agitador magnético
Potenciómetro	Agua destilada
Papel milimétrico	

### 8.4. Metodología

- En un vaso de precipitado de 50 mL, agregue 15 mL del aminoácido indicado por el docente de concentración 0.1 M. Anotar el pH de esta solución inicial.
- Enjuague una bureta de 25 mL con NaOH 0.1 M, y aforar con la solución de NaOH.

- Agregue 1 mL de NaOH sobre la solución del aminoácido, agite y anote el pH. Agregue 10 mL de NaOH sobre la solución, registre su pH, posteriormente, agregue volúmenes de 0.5 mL de NaOH, y registre el pH después de cada adición, hasta agregar entre 15 a 20 mL de NaOH.
- Lave con abundante agua la bureta contaminada con NaOH.
- Realice el mismo procedimiento, pero utilizando como agente titulante HCl 0.1 M.

En el papel milimétrico, grafique pH vs. mL de titulante, manteniendo una sola gráfica para las dos titulaciones; también identifique los diferentes valores de pKa y pI del aminoácido utilizado. Finalmente, escriba la reacción de la titulación del HCl y el NaOH.

### 8.5. Preguntas de discusión

1. Identificar la ecuación de Henderson-Hasselbach, y mencionar sus aplicaciones en la titulación de aminoácidos, en relación con el equilibrio ácido-base.
2. Dibujar las estructuras iónicas en función del pH de tres aminoácidos diferentes.
3. Explicar cómo el entorno químico de una sustancia influye en el valor de su pKa. Considere la presencia de grupo funcionales y la interacción con el medio circundante.

**Práctica 9. Aplicación de la espectrofotometría UV-Visible en la detección y cuantificación del ion férrico**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**9.1. Objetivos**

- Explicar los principios físicos y químicos básicos de la espectrofotometría UV-Visible, relacionándolos con la interacción entre la luz y la materia.
- Medir el espectro de absorción del complejo Tiocianato de Hierro (III) utilizando un espectrofotómetro UV-Visible.
- Construir una curva de calibración del complejo Tiocianato de Hierro (III) a partir de soluciones patrón, y utilizarla para cuantificar su concentración desconocida.
- Detectar y cuantificar la presencia del ion férrico ( $Fe^{+3}$ ) en una muestra problema mediante espectrofotometría en el visible.

**9.2. Marco teórico**

Entre las diferentes técnicas instrumentales utilizadas en el área de la salud, las técnicas espectrofotométricas resultan de gran importancia en procesos de investigación bioquímicos y biológicos. Las técnicas espectroscópicas y las técnicas espectrofotométricas son técnicas analíticas utilizadas para identificar y cuantificar analitos en solución, su fundamento consiste en la cantidad de luz absorbida y transmitida por una sustancia irradiada bajo determinada longitud

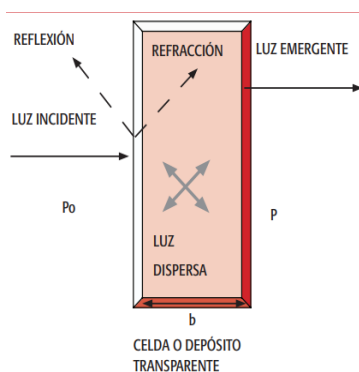
de onda, esta radiación monocromática es generada por redes de difracción o prismas (Skoog et. al., 2014)

La longitud de onda es la distancia entre las crestas de la onda electromagnética que conforman la radiación irradiada sobre la muestra. Esta es representada utilizando la letra griega llamada lambda ( $\lambda$ ), y es expresada en nanómetros ( $1nm = 10^{-9}m$ ) (Skoog et. al., 2014).

La radiación de la longitud de onda sobre la muestra en la espectrofotometría tiene como propósito cuantificar la concentración de una sustancia en determinada solución, mediante la Ley de Lambert-Beer. La ley de Lambert-Beer establece una relación directamente proporcional entre la cantidad de energía absorbida (Absorbancia), o inversamente proporcional a la cantidad de energía transmitida (Transmitancia), y la concentración de la muestra, permitiendo determinar cuantitativamente la concentración de las moléculas absorbentes, y la longitud del paso óptico o de la celda. Esta ley está descrita en la Ecuación 1 y puede ser evidenciada en la Figura 10 (Skoog et. al., 2014).

*Figura 10.*

*Fenómenos de absorbancia y transmitancia.*



Nota. A partir de la energía incidente  $P_0$ ,  $P$  energía radiante, y la longitud de la celda de la solución ( $b$ ). Tomado a partir de Manual de prácticas de laboratorio Química analítica (p.81), Verde y colaboradores, 2013, Universidad Autónoma Metropolitana.

$$A = \epsilon bc = \log \log \frac{100}{T}; T = \frac{I}{I_0} \quad (1)$$

Donde,

$A$  = Absorbancia

$\epsilon$  = Absortividad molar, específica para cada sustancia y expresada en  $M^{-1}cm^{-1}$

$b$  = Longitud de la celda que contiene la solución, expresada en centímetros (cm)

$c$  = Concentración del analito absorbente, expresada en molaridad (M)

$T$  = Transmitancia en porcentaje. Cociente de la luz transmitida  $I$ , y la luz incidente  $I_0$ .

**Ecuación 1.** Ley de Lambert-Beer, definida en función del montaje experimental o la transmitancia (Skoog et. al., 2014)

La ley de Lambert-Beer presenta ciertas limitaciones (Fernández & Rojas, 2020; Skoog et. al., 2014):

- La ley no es aplicable a altas concentraciones (generalmente superiores a 1 M), debido a que las moléculas del analito interactúan entre sí cambiando sus propiedades y, por lo tanto, afectando su absortividad molar y la linealidad de la ley.
- La radiación incidente debe ser monocromática, y evitar la existencia de luz parásito, con el fin de evitar lecturas erróneas por parte del detector.

- La absorbancia del solvente no debe ser significativa con respecto a la del analito, con el fin de evitar señales diferentes a la del soluto.
- La celda debe estar en una trayectoria recta con la incidencia del haz de luz. Esta debe ser de cuarzo, vidrio óptico o plástico, y generalmente de un centímetro de longitud.

El funcionamiento del espectrofotómetro consiste en la emisión de la radiación generada por una fuente, la cual es filtrada a una sola longitud de onda por un monocromador, y esta incidirá sobre la celda permitiendo una absorción por parte de la solución, la energía resultante después de la absorción de la muestra será identificada por el detector (Fernández & Rojas, 2020).

Para el cálculo de la concentración del analito mediante las señales traducidas por el programa, se deben tener las siguientes soluciones preparadas (Skoog et. al., 2014):

- Tubo blanco: En este tubo solo se encuentra el solvente, con el fin de identificar su absorbancia, calibrar el equipo y ajustar su absorbancia a “cero”.
- Tubo estándar: También llamado tubo patrón, el cual contiene el analito estudiado con una concentración conocida y determinada absorbancia, con el fin de generar una comparación con respecto a la absorbancia de la muestra.
- Tubo muestra: Solución problema que contiene el analito por determinar y el solvente utilizado en el tubo blanco. En bioquímica, esta solución problema, por lo general, es proveniente de líquidos biológicos, como sangre, suero, plasma, entre otros.

Conociendo la concentración y absorbancia proveniente del tubo estándar (STD), se puede calcular la concentración de la muestra (MTA), como se indica en la *Ecuación 2* (Fernández & Rojas, 2020).

$$\text{Concentración MTA} = \frac{\text{Concentración STD} \times \text{Absorbancia MTA}}{\text{Absorbancia STD}} \quad (2)$$

**Ecuación 2.** Ecuación para determinar la concentración de la muestra, conociendo la concentración del estándar, la absorbancia de la muestra y la absorbancia del estándar

(Fernández & Rojas, 2020).

**Palabras clave:** absorbancia, transmitancia, absortividad molar, longitud de onda

### 9.3. Materiales y reactivos

Balanza analítica	1 espátula
Espectrofotómetro	1 propipeta
2 celdas	1 agitador de vidrio
Papel seda	Disolución de ácido clorhídrico (HCl)
1 matraz de 50 mL	Disolución de cloruro de férrico ( $FeCl_3$ )
2 matraces volumétricos de 500 mL	
1 pipe graduada de 1 mL	Tiocianato de amonio ( $NH_4SCN$ )
1 pipeta graduada de 5 mL	
2 pipetas graduadas de 10 mL	Disolución problema de cloruro férrico (Concentración aproximada: $5 \times 10^{-5}$ M)
12 tubos de ensayo con tapones de rosca	
1 gradilla para tubos de ensayo	
4 vasos de precipitados de 100 mL	

### 9.4. Metodología

#### Preparación de disoluciones

Realice las siguientes disoluciones en la cabina de extracción:

- Ácido clorhídrico (HCl) 0.05 M
- Cloruro férrico ( $FeCl_3$ )  $1 \times 10^{-4}$  M
- Tiocianato de amonio ( $NH_4SCN$ ) 0.5 M

#### 9.4.1. Determinación del espectro de absorción del complejo Tiocianato de Hierro (III)

En un tubo de ensayo, agregue 5 mL de la disolución del cloruro férrico, 0.3 mL de la disolución de tiocianato de amonio, 4.7 mL de agua destilada, tapar y agitar vigorosamente hasta obtener una solución uniforme. Transfiera la mezcla a una celda, realice una lectura de la absorbancia en forma de barrido de 400 a 550 nm, en intervalos de 5 nm. Prepare una mezcla de 0.3 mL de disolución de tiocianato de amonio y 9.7 mL de agua destilada, con el fin de usarla como blanco.

#### 9.4.2. Elaboración de la curva de calibración del complejo de tiocianato de hierro (III)

Prepare las siguientes muestras:

**Tabla 8.**

*Soluciones para la elaboración de la curva de calibración del complejo*

Tubo	Disolución de $FeCl_3$ $1 \times 10^{-4}$ M (mL)	Disolución de $NH_4SCN$ 0.5 M (mL)	Agua destilada (mL)
1	1	0.3	8.7
2	2	0.3	7.7
3	3	0.3	6.7
4	5	0.3	4.7
5	7	0.3	2.7
6	9	0.3	0.7
7	0	0.3	9.7

Nota. Tomado a partir de Manual de prácticas de laboratorio Química analítica, Verde y colaboradores, 2013, Universidad Autónoma Metropolitana.

Lea la absorbancia a la longitud de onda máxima ( $\lambda_{max}$ ). Ajuste la absorbancia con el blanco, aquel que no tiene el analito.

#### 9.4.3. Determinación de la concentración de $Fe^{+3}$ en la disolución problema

Agregue en un tubo de ensayo 5 mL de la disolución de cloruro férrico, 0.3 mL de la disolución de tiocianato de amonio, 4.7 mL de agua destilada, tape y agite. Transfiera la mezcla a una celda, lea la absorbancia a la longitud de onda máxima absorbancia ( $\lambda_{max}$ ) reportada en la literatura. Prepare una mezcla de 0.3 mL de disolución de tiocianato de amonio y 9.7 mL de agua destilada, con el fin de usarla como blanco.

#### 9.4.4. Reporte de la práctica

Utilizando los resultados en la parte 2, construya una gráfica de absorbancia vs. Longitud de onda, identifique la longitud de onda de máxima absorbancia para el complejo. Compruebe los resultados con el docente antes de continuar.

A partir de los datos obtenidos en la parte 3, construya una gráfica de absorbancia vs. Concentración molar de  $Fe^{+3}$ . Verifique la linealidad en el intervalo, y el cumplimiento de la Ley de Beer. Calcule la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación.

Determine la media y la desviación estándar de las absorbancias tomadas en la parte 4, y con la ecuación de la recta calculada en el punto anterior, calcule la concentración de  $FeCl_3$  de la

solución problema. Solicite al docente la concentración real de la solución problema, calcule la exactitud y la precisión de su determinación.

### **9.5. Preguntas de discusión**

1. Determinar los rangos del espectro electromagnético, identificando sus aplicaciones en las áreas de investigación del área de la salud.
2. Describir el tratamiento de muestras de fluidos biológicos en espectrofotometría, detallando los procedimientos de preparación y manejo para obtener resultados precisos y reproducibles.
3. Mencionar los materiales ópticos utilizados en espectrofotometría para el paso de la luz, explicando sus propiedades y aplicaciones.

**Práctica 10. Análisis de la estructura, función y cuantificación de proteínas: estudio comparativo de métodos analíticos y aplicación en la determinación de caseína**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

### 10.1. Objetivos

- Definir los conceptos de aminoácidos y proteínas, y diferenciar sus estructuras químicas.
- Relacionar la estructura de las proteínas con sus funciones y su importancia en sistemas biológicos.
- Comparar los métodos de cuantificación de proteínas (Bradford, Biuret, Lowry, entre otros) con base en sus características analíticas como sensibilidad, aplicabilidad, robustez, entre otras.
- Determinar el rendimiento y pureza de la proteína caseína extraída de una muestra biológica.
- Aplicar técnicas espectrofotométricas para cuantificar proteínas en muestras biológicas, y evaluar su sensibilidad y efectividad.

### 10.2. Fundamento teórico

Las proteínas son macromoléculas conformadas por largas cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y conforman el grupo de biomoléculas más abundante en los seres vivos, debido a que realizan prácticamente todas las actividades celulares: actividad catalítica

como enzimas, cables estructurales y soporte mecánico, transporte, receptores de membrana, funciones reguladoras como hormonas, entre otras (Karp, 2019)

Su capacidad de realizar diferentes funciones es atribuida a su estructura única y definida conformada por diferentes combinaciones entre los 20 aminoácidos esenciales. Estas largas cadenas de aminoácidos (cadenas polipeptídicas) se caracterizan por la presencia de un enlace peptídico  $-C(=O)NH-$ . Estos aminoácidos presentan variabilidad de propiedades fisicoquímicas debido a sus tamaños, estructuras, cargas y la capacidad de formar enlaces, lo cual depende de su cadena lateral o grupo R. Los aminoácidos pueden presentar isomería óptica, existiendo en isómeros *D* y *L*, que se diferencian por la orientación del grupo amino respecto al carbono quiral. En la forma *L*, el grupo amino se encuentra en la izquierda, mientras en la forma *D*, se encuentra a la derecha, según la proyección Fischer. En las proteínas solo están presentes isómeros *L*-aminoácidos, y algunos microorganismos utilizan los *D*-aminoácidos para la síntesis de ciertos péptidos, como la pared celular y en varios antibióticos (Karp, 2019; Nelson & Cox, 2006).

Para analizar la estructura de una proteína, la actividad de una enzima o la cantidad de proteínas en un alimento es fundamental realizar su identificación cualitativamente y determinar cuantitativamente su concentración mediante procesos espectrofotométricos.

Existen diversos métodos para determinar cuantitativamente la presencia de proteínas. Muchos de estos métodos son colorimétricos, basados en la formación de complejos químicos que absorben a determinada longitud de onda, y permiten su cuantificación mediante la Ley de Lambert-Beer (Mikkelsen & Cortón, 2011).

Entre los métodos que se basan en la formación de complejos colorimétricos entre las proteínas y reactivos específicos, se destacan los siguientes:

**Tabla 9.**

*Límites de detección de los principales métodos para la cuantificación de proteínas, sus interferencias y sus aplicaciones*

Método	Límite de detección (µg)	de Interferencias	Aplicaciones
Bradford	1-15	Lípidos, fosfolípidos, detergentes, SDS	Resultados rápidos Muestras que contienen agentes reductores
Lowry	25-100 500nm 2-30 a 660 nm 1-2 a 750 nm	a Acidificantes. Agentes quelantes de cobres, Tris, HEPES, EDTA, detergentes.	Mayormente usado Útil para cuantificar proteínas de membrana
Biuret	1000-10000	Amonio, Tris, glicerina, sacarosa.	Determinación de proteínas en cereal.

Nota. Tomado a partir de Química bioanalítica: métodos y teoría analítica para el laboratorio de biología molecular, farmacia y bioquímica (p.23), Mikkelsen, 2011, EUDEBA.

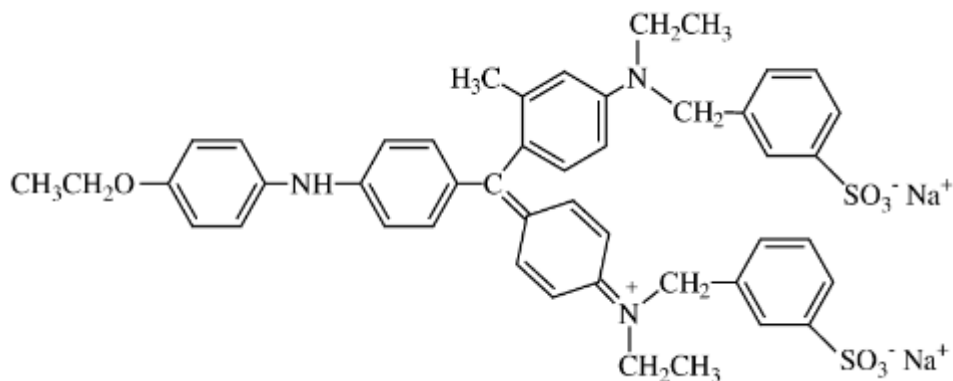
### ➤ Método de Bradford

El método se basa en la unión no covalente del colorante azul brillante de Coomassie Blue G-250 en respuesta a la estructura de las proteínas, y a algunos aminoácidos básicos, como la arginina, y algunos aromáticos, que tienen una cadena lateral positiva. Esta unión induce un cambio en el máximo de absorción del colorante, que pasa de 465 a 590 nm. El fundamento consiste en que el Azul Brillante de Coomassie puede presentarse en dos formas con colores diferentes: rojo pálido y azul. La forma roja se convierte en azul cuando el colorante se une a la

proteína. Experimentalmente, se mide la diferencia de absorbancias entre 595 y 465 nm (595-465 nm) (Figura 11) (Mikkelsen & Cortón, 2011).

*Figura 11.*

*Estructura del azul de Coomassie Blue G-250*



Nota. Tomado a partir de Química bioanalítica: métodos y teoría analítica para el laboratorio de biología molecular, farmacia y bioquímica (p.19), Mikkelsen, 2011, EUDEBA.

### ➤ Método de Lowry

Es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas. A la muestra se añade una solución alcalina de  $\text{Cu}^{2+}$ , la cual forma un complejo de color azul con las proteínas, siendo la intensidad del complejo proporcional a la concentración de proteínas, según la ley de Lambert-Beer (Mikkelsen & Cortón, 2011).

Al añadir la solución alcalina de  $\text{Cu}^{2+}$ , este formará un complejo con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos, reduciendo a  $\text{Cu}^+$ . Este ion y los grupos fenólicos de las proteínas (tirosina, triptófano, cisteína) reaccionan con el reactivo de Folin y Ciocalteu, donde

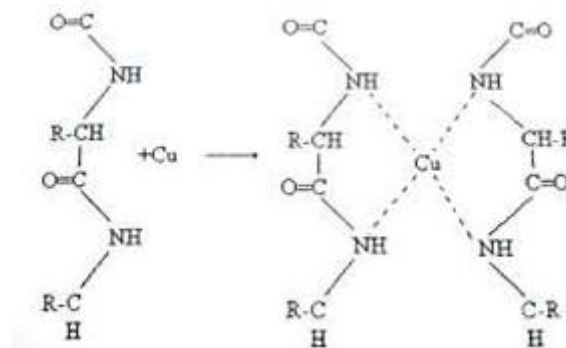
el cobre  $Cu^+$  será oxidado a  $Cu^{3+}$ , reaccionando con la cadena peptídica, y reduciendo el reactivo de Folin a un derivado de color azul, denominado molibdeno/tungsteno azul. Esta sustancia puede ser leída a 720 nm (Mikkelsen & Cortón, 2011).

### ➤ Método de Biuret

El método de Biuret permite la cuantificación de proteínas mediante la identificación de enlace peptídicos, y su fundamento consiste una reacción de color violeta generado por la formación de sales complejas de cobre en un medio alcalino en compuestos que poseen más de un enlace peptídico, como las proteínas (Figura 12) (Sánchez et. al., 2014).

*Figura 12.*

*Reacción de Biuret*



Nota. Tomado a partir de Manual de laboratorio de Bioquímica. Facultad de Química Farmacéutica Biológica (p.54), Cocotle y colaboradores, 2020, Universidad Veracruzana.

La curva de patrón es una técnica en química analítica empleada para determinar la concentración de una sustancia en una muestra desconocida, mediante comparación con una serie de soluciones estándar de concentración conocida. Este método se basa en la existencia de

una relación, generalmente lineal, entre una propiedad física medible (como la absorbancia, en los enfoques de espectrofotometría) y la concentración del analito (Skoog et. al., 2014).

Para ello, se preparan varias diluciones de una solución estándar, registrando sus absorbancias de forma experimental. A partir de estos datos, se establece una función matemática (normalmente una regresión lineal), la cual describe la relación entre la absorbancia y la concentración. Posteriormente, se mide la absorbancia de la solución problema, y mediante interpolación en la curva de calibración, se determina su concentración. Este procedimiento nos permite cuantificar de una forma precisa la concentración de un analito desconocido (Skoog et. al., 2014).

**Palabras clave:** Proteínas, isómeros, Biuret, Bradford, Coomassie

### 10.3. Materiales y reactivos

30 tubos de ensayo.

Micropipetas de 20-100  $\mu\text{l}$  y de 100-1000  $\mu\text{l}$

Reactivo de Bradford

Suero albumina sérica bovina (BSA) (1 mg/mL)

Agua destilada

NaCl al 1%

NaOH

Espectrofotómetro

Baño María

### 10.4. Metodología

#### 10.4.1. Preparación del reactivo de Bradford

Realizar la siguiente mezcla de reactivos, con las siguientes cantidades:

Reactivo	Cantidad
Azul de Coomassie G-250	5mg
Etanol	2.5mL
Ácido fosfórico	5mL

Mezclar en el orden indicado, aforar hasta 50mL con agua destilada, disolver con agitación y a continuación filtrar. **Nota:** Muy importante no confundir el Coomassie G- 250 con el Coomassie R-250.

#### ***10.4.2. Preparación de soluciones problema***

##### **Caseína**

- Pesar 0.1000 g de caseína, y transferirla a un vaso de precipitado de 100mL.
- Añadir 30mL de solución de NaCl al 1%.
- Agregar gotas de NaOH 1N hasta lograr la disolución completa de la proteína.
- Transferir la disolución a un matraz aforado de 100mL y aforar. Esta es la solución problema, de la cual se tomarán alícuotas.

##### **Leche**

- Tomar 0.05mL de leche y realizar una dilución de 1:10, completando con agua destilada hasta un volumen final de 1mL.
- Si la absorbancia no cae en el rango adecuado, preparar diluciones de 1:20, 1:100 y 1:1000 a partir la solución inicial.

#### ***10.4.3. Preparación de las soluciones para la curva de calibración.***

- A continuación, a seis tubos de ensayo adicionar los siguientes volúmenes: 0.1mL, 0.2mL, 0.4mL, 0.8mL y 1.0mL de solución de albumina sérica bovina (BSA 10 mg/mL), y completar el volumen a 3mL con la solución de cloruro de sodio, como se describe en la tabla 10. En seguida, adicionar a los tubos 7 a 10 la muestra problema, de acuerdo con lo descrito en la tabla 10.

#### ***10.4.4. Cuantificación de proteínas por el método de Bradford.***

- Tomar 0.1mL de las muestras de la curva de calibración y de las muestras problemas y adicionar cada una en un tubo de ensayo.
- Adicionar 0.9mL del reactivo de Bradford.
- Cuantificar a 595nm.
- Registre sus datos en una tabla similar a la tabla 10, en la que se evidencien las absorbancias para cada uno de los métodos de cuantificación usados, y para el caso del método de Biuret para las absorbancias pre y post calentamiento.

**Tabla 10.****Metodología para la cuantificación de proteínas.**

<b>Tubo No.</b>	<b>Solución *</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Proteína (mg)</b>
1	3mL NaCl al 0.9%,		Blanco
2	0.1mL BSA y 2.9mL NaCl		
3	0.2mL BSA y 2.8mL NaCl		
4	0.4mL BSA y 2.6mL NaCl		
5	0.8mL BSA y 2.2mL NaCl		
6	1mL BSA y 2mL NaCl		
7	0.25mL caseína y 2.75mL NaCl		
8	0.5mL caseína y 2.5mL NaCl		
9	0.05mL leche y afora a 50mL NaCl		
10	0.1mL leche y afora a 50mL NaCl		

Registrar los resultados en la tabla 11.

**Tabla 11.****Concentración de proteína en las muestras problema.**

<b>Tubo No.</b>	<b>Proteína (mg)</b>	<b>Factor de disolución</b>	<b>Proteína (mg/mL)</b>
7			
8			
9			
10			

**10.5. Preguntas de discusión**

1. Defina técnicamente el concepto de curva patrón, y su función en los métodos de análisis cuantitativo.
2. Explique por qué en el método de Biuret, la absorbancia de las proteínas se mide a una longitud de onda 540 nm, considerando el complejo formado.
3. Identifique cuál de los métodos de cuantificación de proteínas presentar mayor sensibilidad y cuál menor. Justifique su respuesta.
4. Seleccione el método de determinación de proteínas más adecuado para cada una de las siguientes muestras: suero, orina, fracciones de purificación enzimática, extracto bacteriano concentrado, y preparaciones de membranas plasmáticas o mitocondriales solubilizadas con detergentes (SDS Tritón X-100). Justifique su respuesta.

**Práctica 11. Análisis estructural y detección cualitativa de carbohidratos mediante ensayos químicos clásicos**

Tipo de práctica	Duración:	Indicaciones de peligro:
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**11.1. Objetivos**

- Analizar la estructura molecular de los carbohidratos, y clasificarlos como mono-, di- o polisacáridos según su composición y tipo de enlace.
- Describir y comparar los métodos cualitativos de identificación de carbohidratos mediante ensayos químicos sobre diferentes muestras.
- Identificar cualitativamente diferentes tipos de carbohidratos mediante ensayos químicos como: la prueba de Benedict (azúcares reductores), la prueba de yodo (almidón), y la hidrólisis ácida (polisacáridos).

**11.2. Marco teórico**

Los carbohidratos, también conocidos como hidratos de carbono o glucanos, son las biomoléculas más abundantes en la biosfera, al incluir los azúcares más simples y todas las moléculas más complejas formadas a partir de azúcares sencillos, también al representar el 0.3% del peso corporal del ser humano como material de construcción y proporcionar del 50 al 60% de su depósito de energía (Karp, 2019).

Estas moléculas están conformadas por carbono, hidrógeno y oxígeno, en una proporción 1:2:1, por lo tanto, su fórmula general es:  $C_n(H_2O)_n$ ; los azúcares presentes en el metabolismo

celular tienen valores de  $n$  de 3 a 7. Estas biomoléculas se dividen principalmente por su grupo funcional: polihidroxialdehídos (aldosas) y polihidroxicetonas (cetosas), y sus derivados por hidrólisis. Esta presencia de hidroxilos en su estructura les da una alta solubilidad en agua (Nelson & Cox, 2006; Karp, 2019).

Los azúcares que tienen más de cinco carbonos en su estructura reaccionan espontáneamente, generando una molécula en forma de anillo, los cuales se unen entre sí mediante enlaces glucosídicos covalentes formando moléculas más complejas y grandes. La clasificación de estas moléculas más grandes depende de su comportamiento al hidrolizarse (Nelson & Cox, 2006; Karp, 2019):

1. **Monosacáridos:** Este tipo de carbohidratos no son hidrolizables a azúcares más sencillos estructuralmente. Están compuestos de 3 a 8 carbonos, y su nombre depende de la cantidad: triosas para tres, tetrasas para cuatro, pentosas para cinco, hexosas para seis, entre otras. Un ejemplo de este tipo es la glucosa, una hexosa de fórmula  $C_6H_{12}O_6$ .
2. **Disacáridos:** Estas moléculas están compuestas por dos monosacáridos, o dos azúcares simples. Los disacáridos son fuentes de energía de fácil acceso para el organismo, como la sacarosa  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , componente principal de la savia que transporta energía a todas las partes de la planta, o la lactosa, presente en la leche de los mamíferos, la cual funciona como factor de crecimiento y desarrollo temprano.
3. **Oligosacáridos:** Este tipo de carbohidratos al hidrolizarse, se dividen en mínimo dos moléculas y máximo diez de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos.

Estos compuestos presentan un sabor dulce, y usualmente se unen covalentemente a lípidos y proteínas, formando glucolípidos y glucoproteínas, respectivamente. Estas cadenas cortas de azúcares se encuentran en la membrana plasmática, desempeñando un rol informativo entre células.

4. **Polisacáridos:** Estos carbohidratos al hidrolizarse generan más de diez moléculas de monosacáridos. Algunos ejemplos son el almidón y la celulosa, isómeros de la fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Estos polímeros de azúcares tienen funciones nutricionales, como almacén de energía, y función estructural.

Los carbohidratos presentan diversas funciones biológicas, ya que actúan como fuente energética, como es el caso de la glucosa para los seres humanos. También tienen una función estructural, por ejemplo, la celulosa forma parte de las paredes celulares de las plantas. Además, son precursores de biomoléculas, como la ribosa, que interviene en la síntesis del ácido ribonucleico (Karp, 2019; Sánchez et. al., 2014).

Para la identificación de estas biomoléculas, se utiliza su capacidad de reducción, al poseer un grupo aldehído o cetónico libre en su estructura, que puede reaccionar con agentes oxidantes como ácidos, iones metálicos o bases (Mikkelsen & Cortón, 2011). A continuación, se mencionan algunas pruebas utilizadas para la detección de carbohidratos totales:

➤ Prueba de Benedict

En la solución de Benedict, se encuentra una base débil que alcaliniza el medio generando que los iones cúpricos del reactivo Benedict, aportados por la solución de sulfato de cobre, se reduzcan a sus iones cuprosos, los cuales se precipitarán mediante la acción de un

agente reductor, como el aldehído del azúcar. Estos iones cuprosos son precipitados como óxido cuproso, de color rojo ladrillo (Jain et. al., 2021).

➤ Prueba de yodo

El reactivo de yodo es utilizado para distinguir el almidón de otro tipo de azúcares. En presencia de almidón, la solución se torna de color azul oscuro, y en presencia del glucógeno, de color pardo-rojizo; otros tipos de azúcares generan un color amarillo anaranjado. Este color azulado es generado por la formación del complejo amilosa-yodo, ya que el ion yoduro se posiciona en el centro de la estructura helicoidal del polímero, cambiando su longitud de onda de absorción. Esta reacción se realiza a temperatura ambiente, debido a que, a altas temperaturas, la hélice puede desenrollarse liberando el ion (Figueira & Rocha, 2014).

Las pruebas mencionadas anteriormente pueden verse comprometidas en presencia de hidrólisis del azúcar, especialmente cuando se utiliza un ácido fuerte como el ácido clorhídrico o el ácido sulfúrico. Estos ácidos generan la ruptura de polisacáridos y oligosacáridos, como el almidón, rompiendo los enlaces glucosídicos y liberando los monosacáridos constituyentes del polímero. Este cambio en la estructura puede modificar los resultados obtenidos en los ensayos colorimétricos, como en la prueba del yodo, donde la formación del complejo coloreado depende de la interacción entre la hélice del polímero y el ion yoduro (Figueira & Rocha, 2014, Mikkelsen & Cortón, 2011).

**Palabras clave:** carbohidratos, monosacáridos, oligosacáridos, polisacáridos.

### 10.3. Materiales y reactivos

1 tubo de ensayo grande (10 mL)	10 tubos de ensayo pequeños	Placa de calentamiento
	2 gradillas	
	Gotero	
<b>Prueba de Benedict</b>	Reactivo de Benedict	

Solución de glucosa  
0.1 M

Solución de Almidón 1  
%

**Prueba de Yodo**

Solución de Almidón  
1%

Solución de Yodo

**Hidrólisis de Almidón**

HCl 37%

NaOH 0.4N

Solución de Yodo

Reactivo de Benedict

**10.4. Metodología**

**10.4.1. Prueba de Benedict**

1. Adicionar 5 gotas de solución de glucosa 0.1 M y 2.5 mL de reactivo de Benedict a un tubo de ensayo. En otro tubo, agregar 5 gotas de solución de almidón 1 % y 2.5 mL de reactivo de Benedict.
2. Colocar los tubos en agua hirviendo por 5 minutos. Observe cualquier cambio de color durante el calentamiento.
3. Tomar los tubos y colocarlos en la gradilla, observar si hay formación de precipitado, el cual puede ser rojo, anaranjado o verdoso.
4. Observar si los resultados concuerdan con lo esperado teóricamente sobre los tipos de carbohidratos. Explique sus observaciones.

**10.4.2. Prueba de Yodo**

1. En tres tubos medianos preparar las siguientes soluciones, como se indica en la siguiente tabla:

Tubo	Agua (mL)	Almidón 1% (gotas)	Solución yodo (gotas)
1	5	5	1
2	5	1	1
3	5	0	1

2. Agitar vigorosamente los tubos. Registre las diferencias de color debidas a la formación de un complejo entre el almidón y el yodo.
3. Colocar los tubos en un baño de agua caliente (70°C) durante 10 minutos. Registre cualquier variación en el color.
4. Dejar enfriar los tubos a temperatura. Registre las observaciones.

#### ***10.4.3. Hidrólisis del Almidón***

1. Poner 10 mL de solución de almidón 1 % en un tubo de ensayo grande de 10 mL.
2. Añadir 1 mL de HCl concentrado al tubo. Agitar vigorosamente, y colocar en un baño de agua hirviendo.
3. Durante la hidrólisis del almidón (tarde aprox. 1:30h), realice la prueba de coloración del yodo con 0.5 mL de la solución que se encuentra en el baño de agua hirviendo. Registre el resultado.
4. Al finalizar la hidrólisis del almidón, espere 15 minutos, tome 0.5 mL de la solución que se encontraba en el baño de María hirviendo, y repita la prueba del yodo cada 15 minutos, hasta obtener una prueba negativa.
5. Posteriormente, para determinar la presencia de glucosa, efectúe la prueba de Benedict. Para realizar la prueba, añada a un tubo 0.5 mL del almidón hidrolizado, 1mL de NaOH 0.4 N (neutralizante del ácido), y 2.5 mL del reactivo Benedict. Dejar en agua hirviendo por 8 minutos. Registre las observaciones.

6. Utilice los resultados obtenidos en ambas pruebas para interpretar los resultados.

### **10.5. Preguntas de discusión**

1. Explique la diferencia estructural entre un enantiómero y un epímero. Argumente su respuesta con ejemplos representativos.
2. Analice la influencia de la configuración absoluta (D o L) de un monosacárido en su actividad biológica.
3. Describa la función del citrato de sodio en el reactivo de Benedict.

**Práctica 12. Estudio estructural, clasificación e identificación cualitativa de lípidos en muestras biológicas**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**12.1. Objetivos**

- Analizar la estructura química de los lípidos, y relacionarla con sus funciones y su importancia en sistemas biológicos.
- Clasificar los diferentes tipos de lípidos en fosfolípidos, grasas y esteroides, considerando su estructura química y función fisiológica.
- Identificar cualitativamente lípidos mediante ensayos colorimétricos como la absorción de yodo por ácidos grasos, reacción de Salkowski y reacción de Liebermann-Burchard.

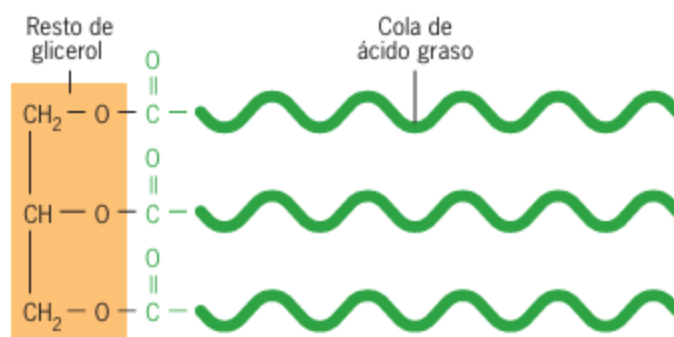
**12.2. Marco teórico**

Los lípidos son un amplio y heterogéneo grupo de moléculas que tiene como característica principal su poca o nula solubilidad en agua, a diferencia de su alta solubilidad en solventes orgánicos, como el éter y el cloroformo. Estas biomoléculas tienen diferentes funciones como: fuente y almacenamiento de energía, reguladores metabólicos y fisiológicos, precursores de la síntesis de vitaminas, estructuras de membranas celulares, entre otras; estas funciones son desarrolladas por los diferentes tipos de lípidos: grasas, esteroides y fosfolípidos (Karp, 2019).

Las grasas se conforman por una molécula de glicerol unida por enlaces éster a tres ácidos grasos formando un triacilglicerol, o comúnmente llamados triglicéridos (*Figura 13*). Los ácidos grasos que conforman el triglicérido son cadenas alifáticas de hidrocarburos de 4 a 36 carbonos ( $C_4$  a  $C_{36}$ ) con un grupo carboxilo en un extremo. Esta estructura, parte hidrofílica e hidrofóbica, recibe el nombre de anfipática. Un ejemplo de los ácidos grasos son los jabones, donde su capacidad de disolver grasa reside en que el extremo hidrofóbico interactúa con la grasa, y el extremo hidrofílico con el agua circundante (Karp, 2019; Nelson & Cox, 2006).

*Figura 13.*

*Estructura general de un triacilglicerol.*



Nota. El glicerol (color naranja) está unido por enlaces éster a grupos carboxilo de ácidos grasos de cadena hidrocarbonada (color verde). Tomando a partir de *celular y molecular*.

*Conceptos y experimentos (p.46)*, Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

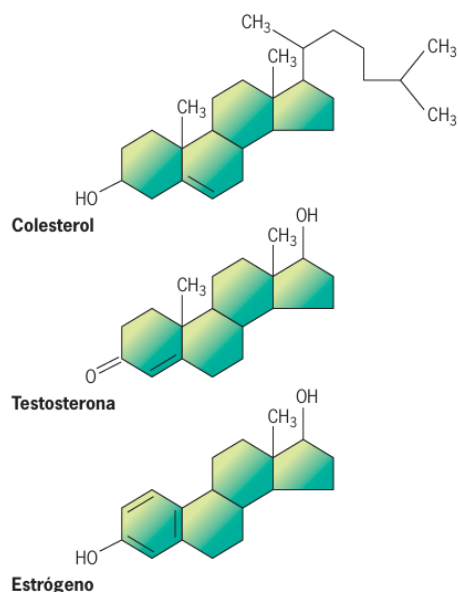
Los ácidos grasos se clasifican dependiendo de la longitud de su cadena de hidrocarburos y la posible presencia de dobles enlaces. Su fórmula se abrevia con el fin de representar estas características, por ejemplo, el ácido oleico, de 18 átomos de carbono y un enlace doble, se abrevia a 18:1. Los ácidos grasos en la célula presentan una longitud de 14 a 20 carbonos y presentan enlaces dobles en posición *cis*. Esta presencia de enlaces dobles clasifica al ácido graso

como insaturado, e insaturados para aquellos que no los posean. La presencia de enlaces dobles en la estructura genera dobleces en la cadena del ácido graso, reduciendo la temperatura en la que se licua o se funde manteniendo su estado líquido a temperatura ambiente. Estos ácidos grasos líquidos se denominan comúnmente como aceites (Nelson & Cox, 2006).

Una de las funciones de las grasas es su uso como almacenamiento de energía, ya que el organismo las usa como fuente energética a largo plazo, debido a que un gramo de grasa genera más del doble de energía que un gramo de carbohidratos. Estas reservas de grasa se mantienen en células especializadas llamadas adipocitos, cuyos citoplasmas contienen una o varias grandes gotas de lípidos. También, existen las grasas *trans*, las cuales son ácidos grasos con enlaces dobles en posición trans. Estas no son metabolizadas completamente por el organismo, siendo almacenadas y relacionadas con la obesidad, enfermedades cardiovasculares y enfermedades cerebrales (Karp, 2019; Lozano et. al., 2005).

Otra forma de lípidos son los esteroides, moléculas biológicas que se construyen alrededor de un hidrocarburo de cuatro anillos, como el colesterol, las cuales actúan como componentes de las células animales y precursores de la síntesis de hormonas esteroides, las cuales regulan el metabolismo y procesos inflamatorias, también como precursoras en el desarrollo sexual y de las funciones reproductivas (*Figura 14*) (Karp, 2019).

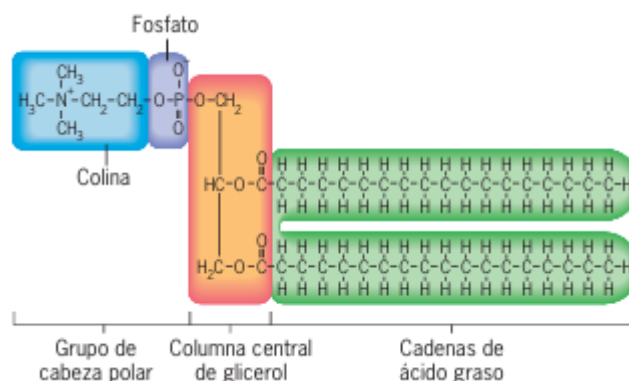
*Figura 14.*  
*Estructura química general de los esteroides.*



Nota. Se unen al esqueleto básico de un hidrocarburo de cuatro anillos. Se presenta la estructura del colesterol, el cual es el precursor de la síntesis de hormonas como la testosterona, la progesterona y el estrógeno Tomando a partir de *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos* (p.47), Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

Finalmente, otra categoría de lípidos son los fosfolípidos, los cuales son similares estructuralmente a los triacilgliceroles, sin embargo, solo tienen dos cadenas de ácidos grasos en lugar de tres, formando el diacilglicerol (Figura 15). Un grupo fosfato se une covalentemente al tercer hidroxilo de la cadena principal del glicerol, y a este grupo fosfato se une un pequeño grupo polar, como la colina. Estas moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas tienen funciones estructurales al conformar las membranas celulares (Karp, 2019).

*Figura 15.*  
*Estructura química general de un fosfolípido.*



Nota. La columna general de un glicerol (color naranja) se une a dos cadenas de ácidos grasos (color verde), y a un grupo fosfato y un grupo polar. Tomando a partir de *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos* (p.48), Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

Las propiedades físicas y químicas de los lípidos se encuentran relacionadas con su estructura química, por ejemplo, el punto de fusión de los lípidos está relacionada con la longitud y grado de saturación de la cadena, por lo tanto, la presencia de enlaces trans disminuye su punto de fusión, debido a sus grados de empaquetamiento generado por los doblamientos en la estructura inducidos por los enlaces dobles. También la longitud de la cadena y la presencia de enlaces dobles influye en su solubilidad, ácidos grasos con largas cadenas y menor número de enlaces dobles, presentan menor la solubilidad en agua; a diferencia de cortas cadenas y un mayor de enlaces dobles, los cuales permiten una predominancia de la polaridad del grupo carboxílico, permitiendo una leve solubilidad en el agua (Nelson & Cox, 2006).

Otra característica de estas biomoléculas es su análisis en la bioquímica clínica a través de muestras de sangre, donde se miden los triglicéridos, el colesterol total y sus derivados (lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL)). La determinación del perfil lipídico es importante debido a que a niveles altos de LDL, conocido

como “colesterol malo”, están relacionados con enfermedades del corazón y los vasos sanguíneos, como hipertensión, infartos y embolias. El HDL, o “colesterol bueno”, ayuda a reducir el LDL circulante, transportándolo de regreso al hígado para ser metabolizado, y excretado posteriormente (Lozano et. al., 2005).

**Palabras clave:** grasas, esteroides, fosfolípidos, enlaces cis, enlaces trans

### 12.3. Materiales y reactivos

2 vasos de precipitados de 250 mL	Gradilla
1 probeta de 100 mL	Aceites de oliva y de maíz
1 bureta	Ácidos oleico, esteárico y palmítico
5 tubos de ensayo	(25 g de cada uno)
1 pipeta graduada de 10 mL	1 gramo de Colesterol
2 pipetas graduadas de 5 mL	Solución de lugol
Soporte universal	10mL de anhídrido acético
Pinzas para bureta	10mL ácido sulfúrico concentrado
Mechero	Solución de almidón
Parilla	Disolución de urea en metano

### 12.4. Metodología

#### 12.4.1. Formación de complejos de ácidos grasos con Urea.

La formación de los complejos de ácidos grasos con urea permite la formación de cristales. Estos, mediante su forma de cristalización y su punto de fusión, permiten identificar el ácido graso original.

- Disolver 2 g de un ácido graso en 5 mL de disolución de urea en metanol.

Si el ácido graso es sólido, disuélvalo con precaución en metanol calentando levemente.

- Agitar y dejar enfriar a cero grados en baño de hielo. Filtrar, secar los cristales y observarlos al microscopio.
- Determinar su punto de fusión, y grafique los cristales

#### 12.4.2. Absorción de yodo por ácidos grasos

El índice de yodo permite determinar cualitativamente el grado de insaturación de un ácido graso, debido a que el yodo es únicamente absorbido por la presencia de enlaces dobles en ácidos grasos insaturados. Este índice se expresa como la cantidad de gramos de yodo que son absorbidos en 100 gramos de muestra.

- Colocar 2 mL de aceite de oliva o de ácido oleico en un tubo de ensayo.
- Agregar 5 gotas de Lugol y agitar. Una solución rojiza debe ser formada.
- Calentar y observar cambio de color, deje enfriar y agregue 10 gotas de disolución de almidón. Registre cambios en la solución.

#### ***12.4.3. Reacción de Salkowski***

La reacción de Salkowski es una prueba colorimétrica que detecta la presencia de colesterol, esteroides, y auxinas.

- En un tubo completamente seco, agregue 100 mg de colesterol. Agregue 3 mL de cloroformo para disolverlo.
- Divida la solución preparada en el paso 1 en dos tubos de ensayos diferentes. Al primer tubo, agregar 1 mL de  $H_2SO_4$  concentrado mediante las paredes.
- Observe el segundo tubo contra un fondo semioscuro, observando su fluorescencia. Registre lo observado.

#### ***12.4.4. Reacción de Liebermann-Burchard***

La prueba de Liebermann-Burchard es una prueba colorimétrica por la formación de complejos que permite la identificación de colesterol, triterpenos y esteroides.

- Realice una solución de colesterol en cloroformo en tubo de ensayo, agregue 5 gotas de anhídrido acético y dos gotas de  $H_2SO_4$  concentrado
- Mezclar suavemente, e identifique cambios en el color. Registre observaciones.

### 12.5. Preguntas de discusión

1. Describa las propiedades físicas y químicas de los lípidos.
2. Enuncie las vías metabólicas asociadas a los lípidos.
3. ¿Por qué los fosfolípidos son componentes clave de las membranas celulares? Argumente su respuesta.

**Práctica 13. Extracción y detección cualitativa de ADN a partir de tejido vegetal: análisis estructural y ensayo con difenilamina**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

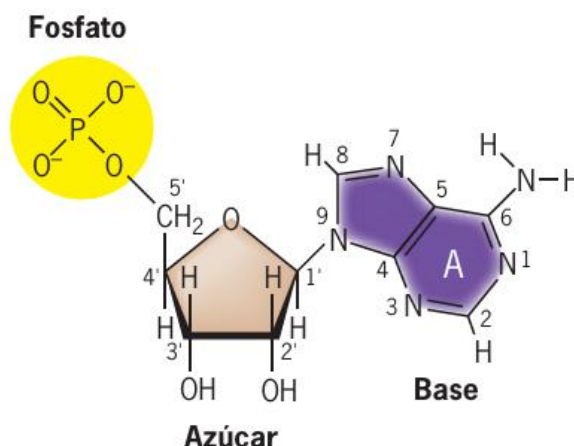
### 13.1. Objetivos

- Analizar la estructura molecular del ADN, y explicar sus propiedades fisicoquímicas utilizadas para su aislamiento experimental.
- Realizar la extracción de ADN a partir de tejido vegetal (fresas) mediante técnicas básicas de ruptura celular y precipitación.
- Detectar cualitativamente la presencia de desoxirribosa en el ADN mediante la reacción colorimétrica con difenilamina.

### 13.2. Marco teórico

Los ácidos nucleicos son macromoléculas de largas cadenas de nucleótidos unidos mediante enlaces fosfodiéster, existen dos tipos: el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). Los nucleótidos que conforman las largas cadenas de los ácidos nucleicos son constituidos por un azúcar de cinco carbonos (2'-desoxirribosa) unido al ácido fosfórico mediante un enlace éster, también a una de las cuatro bases nitrogenadas (adenina (A), guanina(G), timina(T), o citosina(C)) mediante un enlace N-glucosídico (*Figura 16*); la diferencia entre nucleótidos es determinada por la base nitrogenada, por lo tanto, la secuencia de los ácidos nucleicos se especifica mediante la secuencia de sus bases (Karp, 2019).

Figura 16.

*Constituyentes de un nucleótido*

Nota. Las partes de un nucleótido son: un azúcar, una base nitrogenada y un fosfato. Tomando a partir de *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos* (p.77), Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

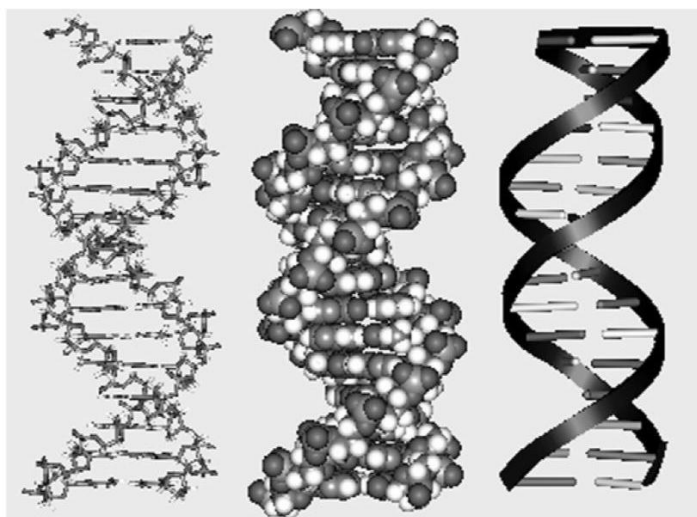
Los ácidos nucleicos son los encargados del almacenamiento, transmisión y expresión de la información genética, regulando el desarrollo y funcionamiento de los organismos vivos. La genómica, como disciplina de la biología molecular, se encarga del estudio del genoma, analizando la estructura, función y evolución del ADN y ARN. La relevancia del análisis del ADN y de los distintos tipos de ARN (ARN ribosomal [rRNA], ARN de transferencia [tRNA] y ARN mensajero [mRNA]) radica en su función en la codificación y regulación de la síntesis de proteínas, la biogénesis de organelos celulares y la respuesta adaptativa a estímulos ambientales, lo que permite una comprensión más profunda de los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a la vida, incluyendo su participación en el desarrollo de enfermedades hereditarias,

procesos de diferenciación y proliferación de células cancerígenas, y el desarrollo de mecanismos patológicos (Roca et. al., 2003).

El genoma de las células eucariotas se encuentra organizado en cromosomas, los cuales son estructuras de ADN unidos a proteínas básicas, denominadas histonas, y proteínas no histonas; la carga positiva de las histonas a pH fisiológico permite neutralizar las cargas negativas del fosfato en los nucleótidos, permitiendo la estabilidad y plegamiento de la estructura del ADN, la cual mide casi dos metros, y se empaqueta a  $10\ \mu\text{m}$  de diámetro, generando una estructura de doble hebra helicoidal de cadenas de nucleótidos unidas mediante puentes de hidrógeno. Por lo tanto, el esqueleto de la estructura está formado por grupos alternantes de fosfato y de pentosa, mientras que las bases nitrogenadas se encuentran en posiciones laterales del esqueleto con intervalo regulares (*figura 17*); cabe resaltar que la molécula del ADN es muy polar debido a la acidez de los grupos fosfato a pH fisiológico (Roca et. al., 2003).

*Figura 17.*

*Representación esquemática de la estructura del ADN.*



Nota. La estructura básica se repite cada diez residuos nucleótidos para cada cadena, alrededor de 34 Å. Tomada a partir de *Bioquímica, técnicas y métodos (p.290)*, Roca y colaboradores, 2003, Editorial Hélice.

Las muestras utilizadas para estudiar los ácidos nucleicos pueden ser muy variadas, en el diagnóstico clínico se utilizan muestras de sangre, esta contiene diferentes fracciones de las cuales se aísla el material genético: el plasma, el suero, los leucocitos. También se utilizan cultivos de bacterias, orina, saliva, entre otros. El ADN es una molécula relativamente robusta debido a su estructura helicoidal, permitiendo su preservación por largos periodos de tiempo; a diferencia del ARN, el cual es muy frágil y sensible a las ARNasas presentes en el medio ambiente, e incluso, en los dedos del ser humano (Bermúdez, 2011).

Al obtener una célula para extracción de ácidos nucleicos, inicialmente se debe romper su membrana o pared celular mediante métodos físicos, químicos o enzimáticos, liberando moléculas de ADN al espacio extracelular. Para obtener el material genético, se realiza una purificación de proteínas y lípidos mediante solventes orgánicos, para así poder precipitar los ácidos nucleicos mediante alcohol (isopropanol o etanol).

**Palabras clave:** ácidos nucleicos, genoma, cromosomas, rRNA, tRNA, mRNA

### 13.3. Materiales y reactivos

Una bolsa de plástico sellable	1 filtro de café
2 fresas (frescas o congeladas, sin hojas)	½ taza de alcohol isopropílico frío
2 cucharaditas de detergente para platos	1 varilla de vidrio
1 cucharadita de sal	Difenilamina
½ taza de agua	1 tubo de ensayo
2 vasos de precipitado de 100 mL	

### 13.4. Metodología

Antes de comenzar la práctica, se recomienda ver el siguiente video: [Extracción ADN de fresa](#)

#### ***13.4.1. Extracción del ADN***

- Colocar las fresas en la bolsa de plástico sellable, ciérrela y proceda a triturarlas. Realice la trituración durante unos dos minutos hasta lograr una solución homogénea.
- Tome un vaso de precipitado para preparar la solución de extracción, en este agregue: dos cucharadas de detergente para platos, 1 cucharadita de sal, y  $\frac{1}{2}$  taza de agua. Mezclar hasta que la sal se disuelva.
- Agregue la solución de extracción a la bolsa plástica donde se encuentra la solución de fresa. Ciérrela, y masajee suavemente durante 1 minuto, evitando formación de burbujas.
- Coloque el filtro de café sobre un vaso de precipitado, abra la bolsa plástica con las soluciones y viértalo. Espere a que la solución se filtre, dejando los residuos sólidos en el filtro.
- Agregue aproximadamente el mismo volumen de alcohol isopropílico frío al vaso de precipitado con la solución filtrada.
- Agite suavemente en forma circular el vaso de precipitado sobre el mesón del laboratorio. Observe la formación de una nata blanquecina, ese es el ADN de la fresa.
- Retire la nata blanquecina con una varilla de vidrio.

#### ***13.4.2. Identificación de la desoxirribosa***

- Agregar la nata blanquecina del ADN a un tubo de ensayo de 15 mL, lavarla cuidadosamente con agua destilada para eliminar el alcohol.
- Agregar 5 mL de difenilamina.

- Poner el tubo de ensayo en agua hirviendo durante 8 minutos.
- Identifique el cambio en la coloración.

### 13.5. Preguntas de discusión

1. Explique el papel del alcohol isopropílico en la extracción de ADN.
2. Describa la función del detergente en el proceso de extracción de ADN.
3. ¿Cómo se utiliza el ADN para la investigación en medicina y biotecnología?

Describa sus aplicaciones.

### Anexo

#### Preparación de reactivos

- Difenilamina

Disolver 5g de difenilamina en 500mL de ácido acético glacial, añadir 14 mL de ácido sulfúrico concentrado.

**Práctica 14. Observación y análisis de la mitosis en células meristemáticas de las raíces de la cebolla (*Allium Cepa*) mediante microscopía y técnicas de tinción**

<b>Tipo de práctica</b>	<b>Duración:</b>	<b>Indicaciones de peligro:</b>
Grupal (2 personas)	4 horas	No presenta indicadores de peligro

**14.1. Objetivos**

- Explicar la importancia biológica del proceso de división celular en células eucariotas, reconociendo sus fases y relevancia.
- Observar las células meristemáticas de *Allium Cepa* al microscopio y diferenciar las diferentes fases del proceso de mitosis.
- Identificar las principales estructuras visibles en cada fase mitótica, especialmente los cromosomas, mediante técnicas de tinción apropiadas.

**14.2. Marco teórico**

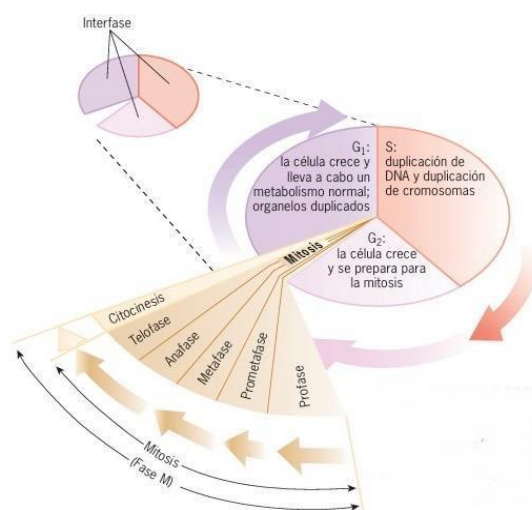
La división celular mitótica permite el desarrollo y mantenimiento de organismos multicelulares con una alta complejidad y organización celular, como el ser humano, los cuales inician su vida como una célula o un cigoto unicelular. Esta división permite el desarrollo de tejidos, órganos y sistemas que permiten su supervivencia, al igual que su regeneración para reemplazar las células que han envejecido y no funcionan igual, e incluso las que han muerto (Karp, 2019; Nelson & Cox, 2006).

En este proceso evolutivo, las nuevas células son idénticas a la célula madre, gracias a diferentes mecanismos biológicos que permiten la preservación del material genético y su

correcta segregación en los procesos de división. Las diferentes etapas de este proceso conforman el ciclo celular, y este está constituido por dos fases: la interfase (G1, S, G2) y la división celular o fase M, la cual se divide en mitosis (profase, metafase, anafase, telofase) y citocinesis (*Figura 18*). (Karp, 2019).

*Figura 18.*

*Diagrama sobre las etapas de la división celular.*



Nota. El diagrama presenta las etapas de la interfase y de la mitosis. La interfase se divide en las fases G<sub>1</sub>, S, y G<sub>2</sub>, las cuales consisten en la preparación previa de la célula para comenzar las fases de la mitosis: profase, prometáfase, metafase, anafase, telofase, citocinesis Tomando a partir de *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos (p.540)*, Karp, 2019, McGraw-Hill Education.

La mitosis es el proceso nuclear en el cual el material genético es dividido en dos núcleos genéticamente idénticos, para posteriormente dividirse físicamente, generando dos células hijas idénticas mediante la ruptura citoplasmática de la célula madre. A diferencia de la mitosis, la meiosis generará una célula hija con la mitad del material genético de la célula madre, por lo

tanto, la mitosis puede generar células de cualquier tipo para diferentes tejidos, y la meiosis es la base de producción de organismos al generar sus células sexuales, como los óvulos y espermatozoides (Karp, 2019; Nelson & Cox, 2006).

En las plantas, la división celular mitótica ocurre en los meristemos, tejidos que permiten el crecimiento y desarrollo de la planta. Las células meristemáticas se encuentran en los extremos de los tallos y de las raíces. En estas zonas se desarrollan las distintas fases del proceso de división celular (Karp, 2019):

- **Interfase:** Esta fase es la parte más larga del ciclo celular, ya que la célula pasa un 90% en la interfase y un 10% dividiéndose. En esta etapa, la célula se prepara para su división, donde consume nutrientes, los metaboliza, y crece, mientras duplica su material genético (ADN), generando una copia completa para ser transmitida a las células hijas, al igual que los duplicados de algunas estructuras celulares.
- **Profase y prometafase:** En esta fase inicial, comienza la condensación de las cromátidas a cromosomas mitóticos en el núcleo, se genera la ruptura del nucleolo y comienza el desarrollo bipolar del huso acromático. Las cromátidas se unirán mediante una fibra al centrómero formando cromosomas, también se genera la ruptura del nucleolo, lo cual permite que el material genético se oriente hacia los polos de la célula mediante el huso mitótico, desplazándose hacia el centro celular.
- **Metafase:** Esta es una de las fases con mayor duración en el ciclo de división celular, y en la cual es posible observar los cromosomas, debido a que estos normalmente no son visibles, sin embargo, durante esta fase el material genético se condensa, permitiendo

distinguir cuando los cromosomas se alinean en el proceso de división. Los cromosomas metafásicos son utilizados para el estudio de anormalidades cromosómicas.

- **Anafase:** Esta fase comienza con la separación de los centrómeros duplicados de las cromátidas hermanas, y el desplazamiento de los nuevos cromosomas a los extremos opuestos de la célula, mediante el huso mitótico. Dependiendo de la localización del centrómero en el cromosoma, su proceso de desplazamiento puede generar una forma característica: en forma de V o J. Al final, se obtiene un juego completo de cromosomas en cada polo de la célula.
- **Telofase:** Durante esta fase, se revierten los procesos realizados en la profase y prometafase, debido a que los cromosomas se despliegan formando cromatina, desaparecen las fibras del huso, y se forma de nuevo la membrana nuclear, a partir del retículo endoplasmático rugoso. Al finalizar esta fase, la célula tiene dos núcleos idénticos.

Finalmente, se genera la citocinesis, en la cual la célula madre se divide en dos células hijas, a las cuales se les administra una membrana plasmática sobre su superficie celular mediante vesículas citoplasmáticas, generando dos células genéticamente idénticas e independientes (Karp, 2019).

**Palabras clave:** mitosis, meiosis, meristemos, células madre, cromátidas

### 14.3. Materiales y reactivos

Microscopio óptico  
Portaobjetos y cubreobjetos  
Cebolla blanca o roja  
Pinzas  
Depilador

Aguja de punta fina  
Bisturí  
Gotero  
Papel absorbente  
Mecheros

Tubos de ensayo de 10 mL  
Pinzas sujetadoras de tubos de ensayo  
Algodón  
Mecheros de alcohol  
Encendedor

Medio para maceración Carnoy  
Azul de Toluidina  
Aceto orceína  
Safranina

#### 14.4. Metodología

##### *14.4.1. Preparación previa a la práctica*

Con un tiempo de anticipación de diez días a la práctica, se debe hacer germinar una cebolla blanca o morada. Esta debe dejarse suspendida en un recipiente con agua de grifo, donde solo la parte inferior esté sumergida en el agua (*Figura 19*), asegurándose de cambiar el agua diariamente. Mantener el proceso de germinación hasta que las raíces alcancen una longitud de 5 a 7 centímetros.

*Figura 19.*

*Montaje para la germinación de la cebolla*



Nota. Tomado a partir de Manual de prácticas de laboratorio de biología general (p.78), Vásquez y colaboradores, 2022, Universidad Nacional de Colombia.

##### *14.4.2. Preparación de la muestra*

1. Cortar las puntas de seis raíces, aproximadamente un centímetro cada una, y cortar un milímetro en la mitad de la cofia (cubierta protectora en la punta de la raíz) e introducirlas al tubo de ensayo.
2. Sumergir las raíces en 4 mL de la solución Carnoy (100 mL alcohol industrial:100 mL ácido acético comercial), mantener en suspensión y no adheridas a las paredes del vidrio. Tapar la boca del tubo de ensayo con una mota de algodón.
3. Tomar el tubo de ensayo con unas pinzas, y ponerlo sobre la llama del mechero durante 5 minutos. Por seguridad, no dirija la boca del tubo de ensayo hacia su cara, con el fin de evitar salpicaduras por ebullición violenta.
4. La verificación del proceso consiste en observar el cambio de color de las raíces, de color blanco a transparente. Una vez se observa el cambio, retirar el algodón y depositarlo en el recipiente de residuos sólidos, y la solución Carnoy sobrante, depositarla en el recipiente de residuos acuosos.
5. Posteriormente, en el portaobjetos depositar en el lado derecho una gota de azul de toluidina y en el lado izquierdo una gota de aceto orceína, en cada gota depositar un fragmento de raíz. Los fragmentos de raíz deben ser debidamente macerados, con el fin de que el colorante penetre hasta el núcleo celular y hagan tinción de cromosomas.
6. Colocar el cubreobjetos sobre el portaobjetos, realizar la misma presión con el dedo pulgar en cada extremo del portaobjetos, hasta que las raíces maceradas queden dispersas en las gotas de los colorantes. Limpiar excedentes de colorantes.
7. Observar las suspensiones utilizando el microscopio, comience con un objetivo de 10X, y aumente hasta 40X.

8. Identificar la morfología de las células en la muestra, y determinar las diferentes fases de la mitosis. Tomar fotografías de lo observado, y generar un cuadro donde se relacione cada imagen con cada fase mitótica.

#### **14.5. Preguntas de discusión**

- Defina el índice mitótico, y describa el procedimiento para evaluarlo. También mencione su utilidad.
- Describa las tres etapas de la interfase, explicando los procesos celulares que ocurren en cada una, y su relevancia.
- Enumere y explique las funciones de los diferentes colorantes utilizados en las pruebas de tinción celular.

### 3. Conclusiones

Como resultado del proyecto, se elaboró un manual de laboratorio conformado por ocho prácticas de Química General y seis de Bioquímica y Biología celular, complementado con dos guías de reacción científica. Para su diseño, se identificaron las competencias de asignaturas como Biociencias I y II, y Bioquímica para ingenieros, observando que estas se enfocan en adquirir conceptos fundamentales de Química General y Bioquímica. En base a esto, se redactaron guías orientadas a fomentar en los estudiantes la comprensión, aplicación, descripción y diferenciación de conceptos clave como el pH, la titulación ácido-base, la espectrofotometría, las biomoléculas y los procesos de división celular.

Finalmente, se comprobó la viabilidad y pertinencia de estas guías mediante su implementación con estudiantes de primer semestre, evidenciando su utilidad en el fortalecimiento del aprendizaje en ciencias básicas.

### Referencias Bibliográficas

- Alcázar Franco, D. J., Fuentes Gándara, F. A., Gallardo Mercado, M. A., Herrera Herrera, C. P., Linares de Moreno, I., Villarreal Villa, S. M., & Zambrano Arévalo, A. M. (2015). Manual de prácticas de laboratorio de química general. Universidad de la Costa. [https://www.researchgate.net/profile/Fabio-Fuentes/publication/312328309\\_Manual\\_de\\_Practicas\\_de\\_Laboratorio\\_de\\_Quimica\\_General/links/587aac0f08ae9275d4deede1/Manual-de-Practicas-de-Laboratorio-de-Quimica-General.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Fabio-Fuentes/publication/312328309_Manual_de_Practicas_de_Laboratorio_de_Quimica_General/links/587aac0f08ae9275d4deede1/Manual-de-Practicas-de-Laboratorio-de-Quimica-General.pdf)
- Ausubel, D. P. (1968). Educational psychology: A cognitive view. Holt, Rinehart & Winston.
- Barraza, F., Arancibia, M., Madrid, E., & Papuzinski, C. (2019). General concepts in biostatistics and clinical epidemiology: Random error and systematic error. *Medwave*, 19(7), e7687. <https://doi.org/10.5867/medwave.2019.07.7687>
- Bermúdez Q., A. (2011). *Biología molecular: principios y aplicaciones*. Corporación para Investigaciones Biológicas. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.uis.edu.co/?il=218>
- Bracciaforte, R. A., & Echenique, D. A. (2014). *Manual de química general: teórico, ejercicios y prácticos de laboratorio*. Editorial Brujas. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.uis.edu.co/?il=2321>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.

Bretz, S. L. (2019). Evidence for the importance of laboratory courses. *Journal of Chemical Education*, 96(2), 193–195.

Brown, T. L., LeMay, H. E., & Bursten, B. E. (2014). *Química: La ciencia central* (12.<sup>a</sup> ed.). Pearson Educación.

Chang, R., & College, W. (2002). *Química* (7a ed.). McGraw-Hill Interamericana.

Cocotle Ronzón, Y., Hernández Lozano, M., Ocaña Sánchez, M. F., Sánchez Medina, A., Soto Ojeda, G. A., & Vázquez Luna, A. (2020). *Manual de laboratorio de bioquímica*. Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana.  
<https://www.uv.mx/pozarica/cba/files/2017/09/9-Manual-de-practicas-de-bioquimica.pdf>

Cuervo Mulet, R. A., Gómez, R. F., & Narváez, M. (2010). *Manual de prácticas de laboratorio: biología*. Universidad de San Buenaventura Cali.  
[https://www.editorialbonaventuriana.usb.edu.co/libros/2010/pdfs/manual\\_practicas\\_biologia.pdf](https://www.editorialbonaventuriana.usb.edu.co/libros/2010/pdfs/manual_practicas_biologia.pdf)

Fernández Rojas, M., & Rojas Tenorio, E. (2020). *Manual de bioquímica*. Universidad Autónoma de Tamaulipas. <https://libros.uat.edu.mx/index.php/librosuat/catalog/book/153>

- Figueira, A. C., & Rocha, J. B. (2014). A proposal for teaching undergraduate chemistry students carbohydrate biochemistry by problem-based learning activities. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 42(1), 81–87. <https://doi.org/10.1002/bmb.20745>
- Hmelo-Silver, C. E. (2004). Problem-based learning: What and how do students learn? *Educational Psychology Review*, 16(3), 235–266.
- Hofstein, A., & Lunetta, V. N. (2004). The laboratory in science education: Foundations for the twenty-first century. *Science Education*, 88(1), 28–54.
- Hormaza Anaguano, A. (2008). *Introducción a la bioquímica: prácticas de laboratorio*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55871>
- Jain, B. P., Goswami, S. K., & Pandey, S. (2021). *Protocols in biochemistry and clinical biochemistry*. Academic Press.
- J. Willey, R. (2012). Understanding a safety data sheet (SDS) in regard to process safety. *Procedia Engineering*, 45, 857–867. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.08.250>
- Karp, G. (2019). *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos (8a ed.)*. McGraw-Hill Education.  
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2036&sectionid=153031797>

López, R. C., & Urbina, J. M. (2023). Manual: prácticas de laboratorio I de química. Universidad Industrial de Santander.

Lozano Teruel, J. A. (2005). Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud (3a ed.). McGraw-Hill Interamericana.

Mikkelsen, S. (2011). Química bioanalítica: métodos y teoría analítica para el laboratorio de biología molecular, farmacia y bioquímica. EUDEBA.

National Human Genome Research Institute. (2023). Cómo extraer ADN de una fresa. [https://www.genome.gov/sites/default/files/media/files/2023-04/C%C3%B3mo\\_extraer\\_ADN\\_de\\_una\\_fresa\\_508.pdf](https://www.genome.gov/sites/default/files/media/files/2023-04/C%C3%B3mo_extraer_ADN_de_una_fresa_508.pdf)

National Research Council. (2011). Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Management of Chemical Hazards. National Academies Press.

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2006). Principios de bioquímica de Lehninger (4a ed.). Omega.

Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. World Health Organization.

Parel, P., Burnett, L., Geoffroy, M., Parel, J., & Hao, L. (2021). Determining the acetic acid concentration in white vinegar: An at-home undergraduate chemistry experiment during the COVID-19 pandemic. <https://doi.org/10.33774/chemrxiv-2021-hxb4r>

Petrucci, R. H., Harwood, W. S., & Herring, F. G. (2003). Química general: enlace químico y estructura de la materia (8a ed.). Prentice-Hall Hispanoamericana.

Ramírez Montañez, J. (2019). Manual de laboratorio de química II. Universidad Industrial de Santander.

Ríos Donato, N., Rivera Mayorga, J. A., Villanueva García, R. S., & Blanco Aquino, A. (2017). Química experimental para ingenieros. Cengage Learning. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.uis.edu.co/?il=3787>

Roca, P. (2003). Bioquímica, técnicas y métodos (1a ed.). Editorial Hélice.

Rodríguez Esparza, B. E., & Romero Robles, L. E. (2015). Manual de laboratorio de química para ingenierías. Pearson Educación. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.uis.edu.co/?il=3537>

Sánchez Enríquez, S. (2014). Manual de prácticas de laboratorio de bioquímica (3a ed.). McGraw-Hill Interamericana.

Timberlake, K. C., Bursten, B. E., Murphy, C. J., Woodward, P. M., & LeMay, H. E. (2014). Química: la ciencia central. Pearson Educación. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.uis.edu.co/?il=971>

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2013). Fundamentos de química analítica (9a ed.). Cengage Learning.

Vásquez Araque, N. A., Guerrero Castro, W., Abril Ramírez, J. A., Escobar, I., & Orduz, S. (2022). Manual de prácticas de laboratorio de biología general. Universidad Nacional de Colombia. [https://ciencias.medellin.unal.edu.co/centros/centro-editorial/images/libros-gratis/Actualizado\\_M\\_biologa\\_23.pdf](https://ciencias.medellin.unal.edu.co/centros/centro-editorial/images/libros-gratis/Actualizado_M_biologa_23.pdf)

Verde Calvo, J. R., Vega Ávila, E., López Cruz, J. I., Malpica Sánchez, F. P., Martínez Orta, F., Pelayo Zaldívar, C., Pérez César, M. C., Ruiz Sánchez, P., Trejo Aguilar, G. M., & Tovar Castro, L. M. Z. (2013). Manual de prácticas de laboratorio química analítica. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/analitica.pdf>

Villegas Febres, J. C., & Borges A., G. M. (2015). Manual de prácticas de laboratorio de química. Universidad de los Andes. <http://web.ula.ve/servicio-comunitario/wp-content/uploads/sites/5/2018/06/Manual-Laboratorio-de-Qu%C3%ADmica.pdf>

## Apéndices

**Apéndice A.** Contenido de la asignatura Biociencias I de la escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Industrial de Santander.

Parte: Química General y Orgánica

- Generalidades: - Estructura de la materia (protones, neutrones y electrones), núcleo, masa atómica, isótopos, abundancia relativa, peso isotópico y peso atómico. Átomos, iones y moléculas. Medición en química, unidades de medición y cifras significativas. Tabla periódica: configuración electrónica, propiedades periódicas de los elementos, grupos y períodos, elementos representativos y de transición, gases nobles, metales y no metales. Generalidades del enlace: iónico, covalente polar y no polar. Tipos de enlace y orden de enlace. Concepto de mol.
- Soluciones: Definición, tipos de soluciones, concepto de solubilidad, factores que afectan la solubilidad. Unidades de concentración de las soluciones (% en masa, % en volumen, M, m, N, fracción molar, ppm). Dilución.
- Termoquímica y cinética química: Flujo de energía y cambio químico. Reacciones exotérmicas y endotérmicas. Cinética química: Concepto de velocidad de reacción, factores que afectan la velocidad de una reacción química (naturaleza de los reactivos, temperatura y catálisis). Ley de velocidad y orden de reacción. Teoría de colisiones y teoría del complejo activado. Energía de activación y catalizadores.
- Equilibrio químico: Concepto de equilibrio químico homogéneo y heterogéneo. Constante de equilibrio en función de concentraciones. Factores que afectan el equilibrio químico: Principio de Le Chatelier.
- Soluciones de electrolíticos: Definición de electrolitos. Electrolitos fuertes y electrolitos débiles. Grado de disociación de los electrolitos débiles (ácidos y bases). Osmolalidad.

Disoluciones fisiológicas. Presión osmótica para solutos covalentes no ionizables y para solutos electrolitos. Concentración de electrolitos en el plasma. Unidades de concentración meq/L y posmoles /L.

- Ácidos y bases: Definición de ácidos y bases (según Arrhenius y según Bronsted-Lowry). Reacciones de neutralización. Medida de la concentración de iones H<sup>+</sup>. Cálculos del pH de soluciones de ácidos y bases fuertes y débiles. Soluciones amortiguadoras.
- Introducción a la química orgánica: Propiedades del carbono. Estructuras moleculares de los compuestos orgánicos, fórmulas estructurales: condensadas y desarrolladas. Clasificación de los compuestos orgánicos. Concepto de grupo funcional. Isomería estructural, geométrica y óptica.
- Grupos funcionales. Carbohidratos, lípidos, aminoácidos: Grupos funcionales: Alcoholes y fenoles, ácidos carboxílicos, aminas, amidas, aldehídos y cetonas, éteres.  
**Carbohidratos:** Clasificación. Estereoisómeros. Monosacáridos. Mutarrotación. Disacáridos: estructura. Azúcares reductores. Polisacáridos: almidón, glucógeno y celulosa. **Lípidos:** Clasificación. Ácidos grasos, triacilglicéridos. Fosfolípidos. Esteroides: colesterol, testosterona y progesterona. Aminoácidos: Características químicas y estructurales. Clasificación. Formación del enlace peptídico. Características del enlace peptídico.

#### **Parte: Bioquímica, Biología celular y origen de la vida**

- **Origen de la vida:** Teoría de la generación espontánea (Aristóteles, Lamarck, van Helmont). Refutación a la teoría de la generación espontánea: Redi, Nedham, Spallanzani y Pasteur. Teoría de la panspermia. Origen y evolución de los compuestos

químicos (Oparín, Millar y Urey). Árbol de la vida y la filogenia, visión darwiniana y cladística de la clasificación.

- **Estructura y función celular:** Célula. Membranas celulares: Estructura y función. Núcleo: División celular. Interfase (cromatina). Organelas subcelulares: Estructura y función.
- **Estructura y función de los ácidos nucleicos:** Introducción. Bases nitrogenadas. Nucleótidos. Estructura y funciones de los nucleótidos. Polinucleótidos. Estructura primaria y secundaria de los ácidos nucleicos. El ADN como material genético. La doble hélice de Watson y Crick (ADN-B); propiedades y relación estructura- función. Otras estructuras alternativas del ADN. Organización y empaquetamiento del ADN en células eucariotas. Estructura y tipos de ARN; función biológica. Código genético, mutaciones. Flujo de la información genética. Replicación, transcripción y traducción.
- **Genética Mendeliana:** Gen, alelo, genotipo, fenotipo, locus, homocigoto, heterocigoto. Leyes de Mendel. Retrocruzamiento. Herencia ligada al sexo. Dominancia, recesividad y codominancia.
- **Interacciones intermoleculares. La molécula del agua: puentes de hidrógeno y propiedades del agua:** Fuerzas intermoleculares. Interacciones intermoleculares. La molécula del agua y puentes de hidrógeno.
- **Estructura tridimensional de las proteínas:** Estructura primaria Estructuras secundarias regulares: hélice alfa, estructura beta. Regiones con estructura no repetitiva: bucles, giros. Motivos estructurales. Estructura terciaria y dominios estructurales. Estructura cuaternaria. Plegamiento y estabilidad de las proteínas.

- **Relación estructura-actividad:** Proteínas estructurales (colágeno), proteínas transportadoras (hemoglobina), proteínas de defensa (inmunoglobulinas), proteínas catalíticas (enzimas) y proteínas integrales de membrana (acuaporinas). Errores innatos del metabolismo.

**Apéndice B.** Contenido de la asignatura Biociencias II de la escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Industrial de Santander.

- Proteínas-estructura y propiedades fisicoquímicas
- Enzimas, clasificación, cinética, regulación y relevancia clínica
- Vitaminas hidrosolubles y liposolubles. Fuentes, función, importancia clínica y sus deficiencias
- Bioenergética: principios, las leyes de la termodinámica, el concepto de energía libre, flujo de la energía, fosforilación oxidativa. Relevancia en la supervivencia celular.
- Metabolismo de los carbohidratos: glucólisis, ciclo de Krebs, metabolismo del glucógeno, gluconeogénesis y vía de las pentosas.
- Metabolismo de lípidos: síntesis de colesterol y ácidos grasos, oxidación de ácidos grasos, metabolismo de lipoproteínas, cetogénesis
- Metabolismo de proteínas y aminoácidos: recambio proteico, ciclo de la urea, catabolismo de los aminoácidos, síntesis de moléculas nitrogenadas.
- Bioquímica genética: estructura de los ácidos nucleicos, síntesis y degradación de los nucleótidos, replicación, transcripción y traducción del ADN, sistemas de

reparación génicos, regulación de la expresión génica, mutación y polimorfismo, causas de mutación, características de los mutagenos

- Bases moleculares del cáncer: epidemiología del cáncer, agentes mutagénicos, vías supresoras y mutadoras, tumor benigno y maligno, herramientas moleculares para el diagnóstico del cáncer.

**Apéndice C.** Contenido de la asignatura Bioquímica de la escuela Ingeniería Biomédica, Universidad Industrial de Santander.

- Fundamentos de Química: estructura y organización de la materia.
- Fundamentos de Química: propiedades de la materia, mediciones y cálculos.
- Soluciones y Soluciones de electrolitos.
- Termoquímica y cinética Química básica.
- Introducción a la Química Orgánica, interacciones moleculares.
- Biomoléculas: carbohidratos, lípidos, aminoácidos. Metabolismo de biomoléculas.
- Normas de seguridad aplicado a manejo de productos químicos.
- Método científico aplicado a procesos químicos.
- Estudio de problemas de química empleando técnicas básicas de Bioquímica.