



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**LICENCIATURA: QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**



**ÁREA ESPECÍFICA DE: QUÍMICA INORGÁNICA**

**NOMBRE DE LA ASIGNATURA:** LABORATORIO DE QUÍMICA BIOINORGÁNICA

**CÓDIGO:** QUI 240L

**FECHA DE ELABORACIÓN:** MARZO 2001

**NIVEL EN EL MAPA CURRICULAR:** FORMATIVO

**TIPO DE ASIGNATURA:** CIENCIA DISCIPLINARIA

**PROFESORES QUE PARTICIPARON EN SU ELABORACIÓN:**

M.C. MARÍA ASTORGA CANTÚ  
M.C. ISMAEL SOTO LÓPEZ  
M.C. JAVIER SOSA RIVADENEYRA  
M.C. LEONCIO AVENDAÑO MARTÍNEZ  
M.C. LEOPOLDO CASTRO CABALLERO  
DR. GEOLAR FETTER

**HORAS DE TEORÍA:**      **HORAS PRÁCTICA: 2**      **CRÉDITOS:**

**PRE-REQUISITOS:** Sin requisitos

**RECOMENDACIONES:** Química General, Análisis cualitativo y Cuantitativo, Biología, Bioquímica, Química Orgánica I .

## PRACTICA METAL COMESTIBLE

### INTRODUCCIÓN

El hierro es un bioelemento que se haya en los protoplasmas de las células, en las que se llevan a cabo funciones catalizadoras y de transporte de oxígeno, gracias a su propiedad de pasar fácilmente del estado de oxidación bivalente a trivalente y viceversa. Esto le permite concentrar cargas positivas que, al debilitar los enlaces covalentes, los hace susceptibles de ruptura. En las células hay dos tipos de compuestos de hierro: por un lado los *hemínicos*, en los que el hierro está combinado con una porfirina en cuya molécula hay cuatro núcleos pirrólicos y un átomo del metal (como la *hemoglobina*); por otro lado, los *no hemínicos*, compuestos muy variados y con diversas funciones, a menudo sólo característicos de ciertos grupos de organismos como lo son los "siderocromos", factores de crecimiento de las bacterias y en algunos hongos; "siderofilina", proteína vehículo del hierro en el plasma de animales; enzimas (ferrodoxinas), acenitasa, oxigenasas de los fenoles; formas de reservas (ferritinas, hemosiderinas), etc.

El hierro es un nutrimento inorgánicos que se encuentra indistintamente en alimentos de origen vegetal y animal, como son: las vísceras, las carnes, las leguminosas, los cereales, el huevo, los mariscos y las frutas secas. Debido a que el organismo carece de mecanismos eficientes de excreción, tiene una capacidad limitada para absorber el hierro proveniente de los alimentos. Normalmente un adulto sano absorbe entre el 5 y el 10% del hierro que ingiere mientras que las personas con deficiencia, las mujeres embarazadas y los niños llegan a absorber alrededor de un 25% o más.

El hombre y los animales superiores ingieren el hierro de los alimentos, en los que se haya en estado férrico que es poco soluble. Al llegar al estómago, el ácido clorhídrico lo reduce a ferroso, haciéndolo apto para ser absorbido, más adelante, en el intestino delgado, en cuya mucosa se forma la *ferrina* (como un depósito intestinal), en cuya virtud el ión ferroso se va liberando a la circulación. En la sangre se oxida a férrico y se combina con una  $\beta$ -globulina (partícula esférica cuyas lipoproteínas actúan como vehículos de productos no solubles), lo que da lugar a la *transferrina*. Ésta en los órganos de depósito (hígado, bazo, médula de los huesos) se acumula en forma de *hemosiderina* o es utilizada directamente para la formación de la *hemoglobina*.

En el organismo de un hombre adulto hay de tres a cinco gramos de hierro, más de la mitad se halla en la hemoglobina y el resto en la mioglobina y en algunas enzimas celulares. El hierro contenido en la *hemoglobina* y *mioglobina*, conocido como hierro hémico, esta presente exclusivamente en las carnes, el hígado y la moronga, se caracteriza por absorberse en una proporción más o menos constante de cerca del 10%, sin que existan factores que ayuden o impidan que

esto suceda. Ésta forma de hierro se encuentra englobada o circundada por un grupo prostético llamado *Hemo* (de ahí "hemínico") que protege al hierro de los factores que intervienen con su absorción. El hierro que proviene de las demás fuentes (cereales, leguminosas, huevo, etc.) e incluso sales de hierro administradas con el propósito de corregir un problema de deficiencia, sí está sujeto al control de los factores que facilitan o impiden que se absorba en mayor o en menor proporción.

Existen diversos factores que pueden alterar la absorción del hierro por el intestino; algunos de ellos ayudan a que se absorba eficientemente, mientras que otros impiden que se absorba en cantidad suficiente. Entre los factores que ayudan a que se absorba eficientemente se encuentran el estado de oxidación del hierro (la forma reducida -ión ferroso- se absorbe mejor que la forma oxidada -ión férrico-), la acidez, la presencia de vitamina C, la presencia de algunos monosacáridos o de algunos aminoácidos, la ausencia de enzimas pancreáticas, la deficiencia de hierro y, estados fisiológicos como el embarazo y el crecimiento; entre los factores que interfieren se pueden mencionar: el hierro en forma férrica, el consumo de antiácidos, la presencia de fitatos, fosfatos, oxalatos y taninos, geofagia o "pica" (que es el consumo de tierra, gis, cal, etc.), los carbonatos, el consumo excesivo de fibra, la mala absorción en general, el vómito, la diarrea y la esteatorrea (excreción anormalmente alta de grasas en las heces).

La falta de hierro en el organismo repercute en la *hematopoyesis* (del griego *poieesis*, "hacer", "producir", "crear"), que descende, lo cual es causa de una anemia *ferropénica* (del griego *penía*, "carencia"), o *siderepenia*, insuficiencia de hierro. Por el contrario, una excesiva acumulación de ese metal en los órganos da lugar a la *hemocromatosis*, afección no muy frecuente, que tiene su manifestación clásica en la triada: cirrosis hepática, diabetes y una característica pigmentación cutánea causada por alteración de los compuestos ferruginosos de la *hemoglobina*.

## OBJETIVO

El alumno observará las propiedades químicas del hierro y cuantificará la concentración de hierro en algunos vegetales.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- El alumno aprenderá a preparar muestras para análisis.
- El alumno aprenderá a cuantificar iones metálicos.

## MATERIALES

Cápsula de porcelana	Mechero, tripie
Vaso de precipitado	Bureta de 25 ml.
Matraz erlemeyer	Matraz volumétrico de 50 ml.
Tres tubos de ensayo	10 g. De vegetal seco (frijoles, acelgas, espinacas, etc)

## REACTIVOS

EDTA 0.01 M	Acido sulfosalicilico en solución
Ácido nítrico	Solución de ácido salicílico
Solución de ácido sulfúrico al 10%	Solución de yoduro de potasio
Soluciones de cloruro férrico y ferroso	Solución de permanganato de potasio

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### PARTE A. Química del hierro

1.- Poder oxidante: A un ml de solución de cloruro férrico añadir tres gotas de solución de ácido sulfúrico y tres gotas de solución de yoduro de potasio. Observe lo que ocurre.

2.- A un ml de solución de sulfato ferroso añadir tres gotas de permanganato de potasio y tres gotas de ácido sulfúrico. Observe lo que ocurre.

3.- Formación de compuestos de coordinación: Coloque cinco gotas de solución de cloruro férrico y tres ml de agua en dos tubos de ensaye, al primer tubo añada unas gotas de ácido salicílico, al segundo tubo añada unas gotas de ácido sulfosalicílico. Observe lo que ocurre.

### PARTE B. Valoración del hierro con EDTA.

1.- Calcinar 10 gramos de vegetal previamente secado y deshidratado

2.- Disolver con un ml de ácido nítrico, calentar ligeramente, en caso de que se evapore añadir un poco mas de ácido y continuar calentando hasta obtener una disolución completa. Evaporar casi a sequedad.

3.- Añadir un poco de agua destilada, vaciar a un matraz aforado y aforar con agua destilada.

4.- Tomar una alícuota de 10 ml , colocar en un matraz erlemeyer y añadir 10 ml mas agua destilada, y unas gotas del indicador.

5.- Valorar con EDTA 0.01 M hasta vire del indicador

6.- En caso necesario repita la valoración.

7.- Calcule la cantidad de hierro presente en su solución sabiendo que un ml. de EDTA 0.01 M equivale a 0.558 mg de hierro.

## CUESTIONARIO

\*Investigue el contenido de hierro en al menos cinco de los alimentos que usted consume.

\*¿Qué cantidad de hierro es requerido para una mujer embarazada?

\*¿Qué alimentos contienen mayor cantidad de hierro por gramo?

\*¿Cuál es el estado de oxidación que debe presentar el hierro para ser absorbido por el hombre?

¿Cómo explica lo ocurrido en los experimento de la parte A?

¿Qué cantidad de hierro en % contiene el vegetal que analizó?

\*Mencione algunas enfermedades más comunes causadas por la deficiencia de hierro en el organismo.

\*Mencione algunas enfermedades causadas por una acumulación excesiva de hierro en el organismo.

Nombre del alumno:

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

### *BIBLIOGRAFÍA*

1. Coen, A. *El hierro y la vida*. Cuadernos de Nutrición. Vol. 16. No. 3, pág. 6-7. Mayo-Junio (1993).
2. Kaufer, H. Martha. *Cómo sacarle jugo al hierro*. Consejos para mejorar la absorción de hierro en la dieta. Cuadernos de Nutrición. Vol. 16. No. 3. pág. 45- 47. Mayo-Junio (1993).

### *BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.*

## *PRACTICA* *IDENTIFICACIÓN DE LOS BIOELEMENTOS*

### *INTRODUCCIÓN*

El análisis químico de la materia viva revela que los seres vivos están formados por una serie de elementos y compuestos químicos. Los elementos químicos que forman parte de la materia viva se denominan bioelementos.

La mayoría de los Bioelementos se encuentran distribuidos muy ampliamente entre todo tipo de alimentos, de tal modo que cualquier dieta que no sea aberrante incluye una cantidad suficiente de la mayoría de ellos. Los únicos elementos de los que pueden producirse carencias son el calcio, el hierro, el yodo y esto solamente basadas en determinados alimentos que no los contienen o que los contienen en una forma no asimilable por el organismo.

En cualquier ser vivo se pueden encontrar alrededor de setenta elementos químicos, pero no todos son indispensables ni comunes a todos los seres. Los bioelementos se pueden clasificar como primarios, secundarios y oligoelementos.

a) Bioelementos primarios: que aparecen en una proporción media del 96% en la materia viva, y son carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo y azufre. b) Bioelementos secundarios: aparecen en una proporción próxima al 3.3% y son calcio, sodio, potasio, magnesio, cloro, y c) Oligoelementos: micro constituyentes, que aparecen en la materia viva en proporción inferior al 0.1% siendo esenciales para la vida: hierro, manganeso, cobre, zinc, flúor, yodo, boro, silicio, vanadio, cobalto, selenio, molibdeno y estaño.

El catión extracelular principal es el sodio y el catión intracelular es el potasio. Los seres humanos pueden conservar el sodio, pero obligatoriamente pierden en la orina cerca de 40 miliequivalentes al día de potasio.

El mineral más abundante en el hombre es el calcio, aunque el calcio se encuentra sobre todo fuera de la célula, teniendo como función reguladora importante dentro de las células.

### *OBJETIVO*

Identificación de bioelementos en muestras biológicas.

### *OBJETIVOS PARTICULARES*

1.- El alumno identificará por medio de análisis a la gota algunos de los elementos químicos más importantes a nivel biológico en muestras de origen estructural y funcional.

### MATERIALES

10 Tubos de ensayo	1 vaso de precipitado
1 Gradilla	1 capsula de porcelana
1 Mechero	1 papel filtro

### REACTIVOS

Oxalato de Potasio	
Hidróxido de Amonio	
Cobaltinitrito de sodio: acetato de sodio 2.8 g., Agua 10 ml., Ac. Acético 1.25 ml., Cobaltinitrito de sodio 0.5 g., en ese orden)	Solución de EDTA al 1.0%
Tiocianato de potasio o sodio	
Cloruro de amonio	Cloruro o sulfato de magnesio

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### PARTE A: PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras biológicas de origen animal o vegetal se preparan para el análisis químico de acuerdo al tipo de muestra, que puede ser por calcinación o digestión ácida.

- 1.- Las muestras de vegetales deben ser calcinadas, para cual coloque porciones de muestra en una cápsula de porcelana y calcine con el mechero.
- 2.- Posteriormente añada un ml de ácido nítrico para disolver las cenizas, calentando ligeramente, hasta disolución completa. Añada 10 ml de agua destilada
- 3.- Para la preparación de la muestra de hueso, triture un pedazo de hueso de pollo coloquelo en un frasco de vidrio, añadale ácido clorhídrico al 10 %, solamente para cubrir el hueso, caliente ligeramente para acelerar el proceso de disolución. Deje reposar por varias horas. Finalmente añada 20 ml de agua destilada.

#### PARTE B: IDENTIFICACIÓN DE BIOELEMENTOS

1.-Identificación de Ca: A un mililitro de solución problema agregar unas gotas de oxalato de potasio, si hay calcio presente se formará un precipitado de color blanco.

2.- Identificación de Mg: a un mililitro de solución problema se agregan unas gotas de solución concentrada de Hidroxido de amonio o de sodio, hasta que se obtenga un gel característico. Para poder comprobar la reacción, se agrega una gota de amarillo de titanio lo cual dará un color rojo.

3.- Identificación de K: a la solución problema se le agrega algunas gotas del reactivo de Cobaltinitrito de sodio (soln., de acetato de sodio 56 g., Agua 75 ml., Ac. Acético 25 ml., Cobaltinitrito de sodio 20 g., en ese orden) y una gota de sal de EDTA al 10% un precipitado amarillo característico indica prueba positiva.

4.- Identificación de Na: La identificación de sodio puede realizarse por coloración la llama con una asa bacteriológica, el cual da una coloración amarillo intenso.

5.- Identificación de Fe: a un ml., de soln. Problema añadir unas gotas de Tiocianato de potasio. La coloración roja es característica de la presencia de hierro.

7.- Identificación de Fosfatos: A un ml de solución problema agregar unas gotas de cloruro de amonio y cloruro de Mg, en presencia de fosfatos se formará un precipitado blanco.

#### REPORTE.

- 1.- Que es un bioelemento?
- 2.- ¿qué es un elemento traza?
- 3.- Describa las funciones del calcio en sistemas vivos
- 4.- ¿En que tipo de compuestos se encuentra el fósforo?
- 5.- ¿Qué elementos identifiqué en sus muestras?
- 6.- ¿Qué reacciones ocurren en la identificación de cada uno de los elementos estudiados?

Nombre del alumno:
--------------------

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA PIGMENTOS DE LA VIDA

### INTRODUCCIÓN

Los iones metálicos en biología usualmente están unidos a ligantes mucho más grandes y complicados que los relativamente usuales encontrados en la química de coordinación. De hecho tales ligantes complicados son usados en biología para controlar la función y reactividad de un metal en particular, por ejemplo, el hierro en las hemoproteínas. Así, el ligante puede controlar el número de coordinación, la detallada geometría de coordinación, el estado de espín, el potencial redox y la velocidad de transferencia de electrones de un ión metálico de transición al que está unido. Puede proveer un medio ambiente hidrofóbico alrededor del metal central que controlará varias interacciones electrostáticas y la reactividad de el grupo.

Los iones metálicos pueden estar enlazados a los ligantes mediante diferentes formas: proteínas, vía cadenas laterales de aminoácidos; ácidos nucleicos y nucleótidos; varios ligantes macrocíclicos tetrapirrólicos; metales que pueden ocurrir como dímeros o clusters teniendo sulfuro ( $S^{-2}$ ) u oxo ( $O^{-2}$ ) como ligantes enlazantes. En las dos últimas clases, el número de coordinación de el metal puede ser alcanzada por grupos de ligantes provenientes de proteínas.

Ciertos residuos de aminoácidos en las proteínas son particularmente importantes, notablemente cisteína e histidina los cuales proveen grupos tiol (SH) e imidazol respectivamente.

Algunos ligantes macrocíclicos como la porfirina y sistemas de anillos corrina son bien conocidos, de los de más reciente interés son las *Hidroporfinas*. El *Sirohemo* (en isobacterioclorina) es el grupo prostético de la sulfito y nitrito reductasas, las cuales catalizan la reducción de seis electrones de sulfito y nitrito a  $H_2S$  y  $NH_3$ , respectivamente. La forma desmetalada del sirohemo, sirohidroclorina, es un intermediario en la biosíntesis de la vitamina  $B_{12}$ , así une los macrociclos porfirina y corrina. El factor 430 es una tetrahidroporfirina, y su complejo con níquel es el grupo prostético de metilcoenzima M reductasa. El factor 430 muestra similitud estructural tanto con el sirohemo como con la corrina.

Debido a que muchos macrociclos están unidos a iones metálicos, éstos les proporcionan color a sus complejos y hacen que la naturaleza se vista de colores. De los siete pigmentos respiratorios producidos en la naturaleza, cuatro de ellos contienen un grupo Hemo: *hemoglobina*, *mioglobina*, *eritrocruorina* y *clorocruorina*, y transportan una molécula de oxígeno por cada átomo metálico. Dentro de éstos podemos citar a la clorofila, que imparte el color verde a las plantas, la hemoglobina que da el color rojo a la sangre. Los otros tres: hemocianina, hemoritrina y hemovanadina, no poseen el grupo hierro-hemo. Esta molécula al igual que la hemocianina, toma una molécula de oxígeno por cada dos átomos metálicos. Otro caso es el de la hemovanadina, en donde se ha

especulado sobre la posibilidad de un comportamiento similar a la hemocianina, pero hasta la fecha no se ha podido establecer este comportamiento. por ejemplo, la hemoritrina, ha sido encontrado en algunos animales marinos primitivos. Éstos ligantes macrociclos son esencialmente macrociclos tetrapirrólicos, que actúan como quelantes tetradentados. Especialmente importantes y ampliamente difundidos en la naturaleza son las Porfirinas. De ellas se pueden derivar otros sistemas similares como son las clorina, macrociclo presente en las clorofilas; la corrina, el ligante de la vitamina B<sub>12</sub>.

El ojo humano responde sólo a fotones comprendidos dentro de una gama limitada de energías (o longitudes de onda), casi siempre de 3800 a 7500 Å (Å=10<sup>-8</sup> cm). Los fotones con longitudes de onda cercanas al extremo bajo (de energía más alta) se perciben con una coloración azul o violeta, y las que se acercan a 7000 Å (de menor energía), de color rojo. La luz que se compone de cantidades casi iguales de fotones de todas las longitudes de onda comprendidas en la gama visible es de color blanco. Cuando la luz blanca atraviesa una substancia que absorbe fotones de ciertas longitudes de onda (energías) y no absorbe otros de energías distintas, la luz que emerge de ella tiene más fotones de los que no han sido absorbidos que aquellos cuyas energías se pueden retener y, entonces, la luz aparece con una coloración.

La siguiente tabla muestra la relación entre los colores de la luz absorbida y no absorbida.

Si se absorbe luz de este color:	La longitud de onda de la luz absorbida es:	Y la luz transmitida será:
Violeta	4000 Å	Amarilla verdosa
Azul	4500 Å	Anaranjada
Verde	5100 Å	Morada
Amarillo	5500 Å	Azul violeta
Anaranjado	5900 Å	Azul
Rojo	6400 Å	Azul verde

### OBJETIVO

\*El alumno obtendrá los espectros de absorción ultravioleta visible de tres sustancias conocidas como los "pigmentos de la vida"

\*Determinará las longitudes de onda características de cada sustancia.

\*Con ayuda del espectro de absorción, el alumno explicará el color de los complejos metalicos de los macrociclos..

**MATERIALES**

3 vasos de precipitados de 50 ml	3 agitadores de vidrio
----------------------------------	------------------------

**REACTIVOS**

Hemina comercial	Clorofilina
1 ampolleta de vitamina B <sub>12</sub>	Agua destilada
Metanol	

**DESARROLLO EXPERIMENTAL**

\*Disolver un poco de hemina en 5 ml de metanol y obtener su espectro UV-Vis.

\*Disolver un poco de clorofilina en 5ml en agua y obtener su espectro UV-Vis.

\*Agregar a 5ml de agua aproximadamente 1ml de vitamina B<sub>12</sub> y obtener su espectro UV-Vis.

**CUESTIONARIO**

\*¿Calcule de los espectros obtenidos lo siguiente?

Sustancia	Soret	Longitud de onda	Color del complejo
Hemina			
Clorofilina			
Vitamina B <sub>12</sub>			

\*¿Qué es un compuesto o complejo de coordinación?

\*¿Qué es el número de coordinación de un ión metálico?

\*¿Qué se entiende por esfera de coordinación?

\*¿Qué es el estado de espín de un ión metálico?

\*¿Qué se entiende por un quelante?

\*¿De qué depende el que pueda unirse un ligante a un ión metálico mediante uno o más enlaces?

\*¿Cual es la estructura de la porfirina y la corrina (dibújelas o péguelas)?

\*Escriba o pegue la estructura de las tres sustancias que se utilizaron en la práctica (hemina, clorofila y vitamina B<sub>12</sub>).

### BIBLIOGRAFÍA

1. The chlorophylls. J. Chem. Editorial Libros de Bioquímica y Bioinorgánica.
2. Martin N. Hughes. *Coordination compounds in biology*. Academic Press. Cap. 26. (1986.)

### BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Nombre del alumno:
--------------------

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA HEMOPROTEÍNAS: MIOGLOBINA

### INTRODUCCIÓN

La mioglobina de los mamíferos (Mb) es una proteína monomérica enlazada al oxígeno, que se encuentra en el músculo cardíaco y esquelético. Su principal función es la de almacenar oxígeno hasta que éste sea requerido por el tejido. La proteína tiene un solo grupo hemo (Fe-protoporfirina IX) que está unido a una proteína a través del residuo de histidina 93 (His-93).

El hierro de la mioglobina puede presentar dos estados de oxidación:

Meta-mioglobina:  $\text{Fe}^{3+}\text{-H}_2\text{O-Mb}$  (Meta-Mb) (fig. 1a)

Oxi-mioglobina:  $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2\text{-Mb}$  (Oxi-Mb) (fig. 1b)

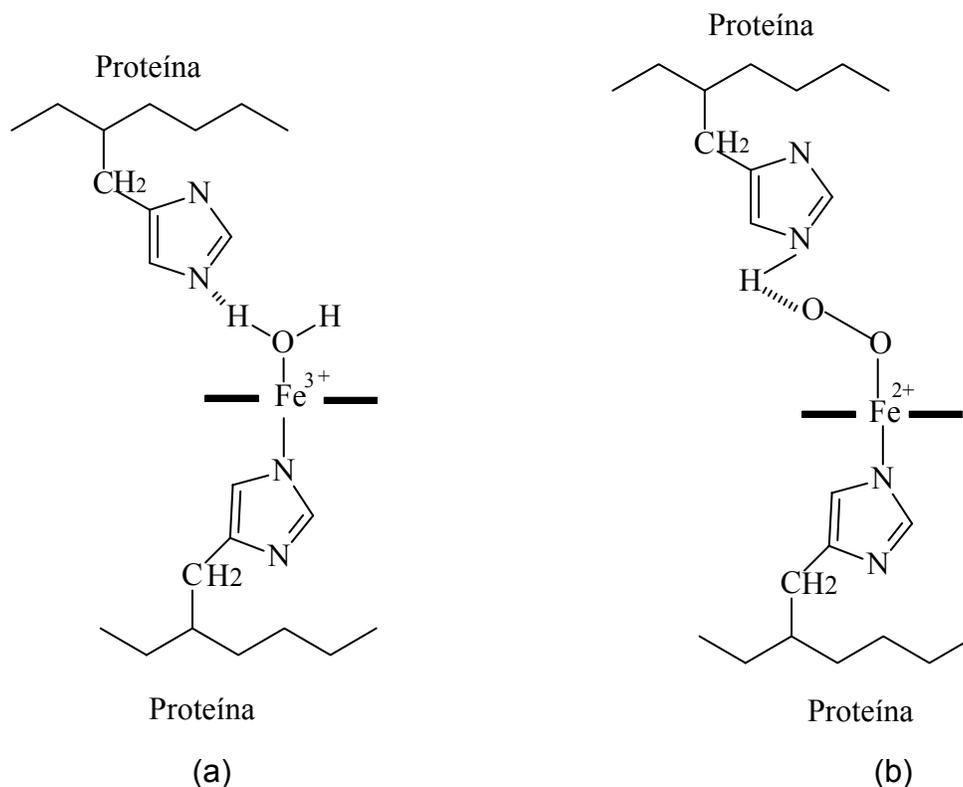


Figura 1. Representación del grupo hemo para los dos estados de oxidación de la mioglobina: (a) Meta-mioglobina y (b) Oxi-Mioglobina

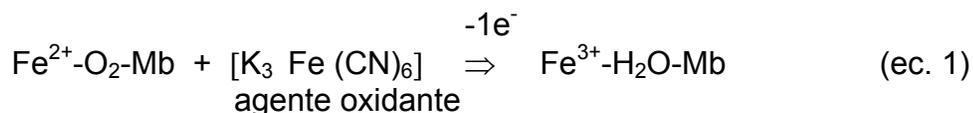
En los sistemas vivos, la oxi-Mb y la desoxi-Mb, son las formas más comunes. Sin embargo, en sistemas no vivos, la Oxi-Mb es convertida lentamente a Meta-Mb, mientras el hemo unido a la molécula de oxígeno es liberado, entonces en el sitio activo de la molécula el agua es enlazada.

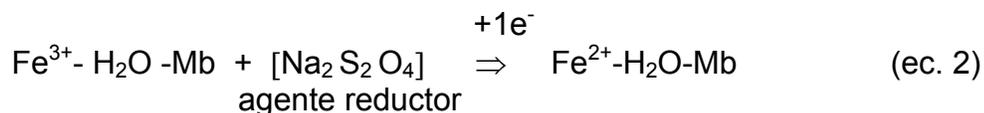
La carne contiene altos niveles de Oxy-Mb y Meta-Mb, los cuales tienen propiedades espectrales únicas (ver Tabla 1) que pueden ser usadas para identificar y caracterizar la identidad de una muestra con respecto a cambios de estados de oxidación y estados funcionales.

Tabla 1. Bandas de absorción para los complejos de Mioglobina			
Muestra	Región Visible <sup>b</sup>		Región de Soret <sup>b</sup>
Meta-Mb	635	504	409 (179)
Oxi-Mb	580	542	417(128) 348

<sup>b</sup>Longitud de onda, en nm; el coeficiente de extinción esta entre paréntesis en unidades de mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>

Uno puede usar agentes químicos para duplicar las reacciones de oxidación y reducción de los sistemas vivos. El estado funcionalmente importante, la Oxi-Mb, puede ser convertida a la forma inactiva, Meta-Mb por oxidación en una reacción donde un electrón del Fe<sup>2+</sup> es donado al agente oxidante (ecuación 1). Alternativamente, la Meta-Mb puede ser convertida a Oxy-Mb por una reacción de reducción en la cual el hierro del hemo gana un electrón del agente reductor (ecuación 2).





### OBJETIVO

El alumno determinará el estado de oxidación de la mioglobina mediante espectroscopía ultravioleta-visible

### MATERIALES

2 vaso de precipitados de 50ml	Jeringa de 3ml
6 tubos de ensaye de 10ml	Agitador de vidrio
Papel filtro	Pipetas Pasteur
Pipeta graduada de 1ml	

### REACTIVOS

Carne molida de res sin grasa 3 gramos	Ditionito de sodio
Solución buffer de fosfato de sodio 100mM, pH 7.0	Peróxido de hidrógeno 12.3mM
Ferricianuro de potasio (dos cristalitos)	Guaiacol 20mM

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### 1. Extracción de mioglobina.

Colocar la carne molida de res en un vaso de precipitados de 50ml. Agregar 6 ml de solución buffer de fosfato. Mezclar la muestra lentamente con un agitador de vidrio por aproximadamente 1min, para romper las células y liberar a la Mioglobina. El mezclado debe realizarse con mucho cuidado, ya que una agitación fuerte puede liberar las grasas y los ácidos nucleicos contenidos en la muestra de carne.

Decantar el sobrenadante en un vaso de precipitados y dejar en reposo de 10 a 20 minutos o hasta que se observe la formación de dos capas. Con cuidado extraer la solución roja con una pipeta Pasteur y colocarla en un tubo de ensaye (puede presentarse una capa de grasa en la parte superior que puede ser extraída

previamente con una pipeta Pasteur). Ésta solución roja es una evidencia visual clara de que la mayoría del color de la carne proviene de la hemoproteína soluble.

Filtrar la mioglobina extraída con la jeringa y el papel filtro.

### *2. Oxidación y reducción de la mioglobina.*

Tomar una alícuota de 1ml de mioglobina y agregarle 4ml de buffer de fosfato de sodio 100mM, pH 7.0 (dilución de 1:5). De esta solución colocar en tres tubos de ensaye previamente etiquetados A, B y C) una alícuota de 0.5ml y agregarle a cada uno 2.5 ml de buffer de fosfato.

A la solución del tubo A, realizarle su espectro de absorción ultravioleta-visible.

A la solución del tubo B, agregarle dos cristalitos de ferricianuro de potasio y agitar. Realizar su espectro de absorción UV-Vis

A la solución del tubo C, agregarle dos cristalitos de ditionito de sodio. Realizar su espectro de absorción UV-Vis.

### *3. Espectroscopía de absorción electrónica.*

Las curvas de absorbancia se obtendrán en un rango de longitudes de onda de 700 a 300nm y se utilizará como disolvente de referencia el buffer de fosfato de sodio.

Para la obtención de los espectros se requiere de un espectrofotómetro de absorción ultravioleta-visible y celdas de cuarzo. Al espectrofotómetro deberá realizarsele previamente la línea base colocando en ambas celdas solución buffer de fosfato de sodio.

## **CUESTIONARIO**

\*¿En los moluscos, artrópodos, en ciertos escorpiones y arañas como se le denomina a la molécula encargada de transportar al oxígeno?. Dibuje o pegue su estructura.

\*Dibuje o pegue la estructura de la mioglobina.

\*Investigue cual es la función principal y el ión metálico que contiene en su centro activo, de al menos otras tres hemoproteínas.

Hemoproteína	Ión Metálico	Función principal

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Sheri A. Bylkas, Anderson A. Laura. *Microburger Biochemistry: Extraction and spectral characterization of myoglobin from Hamburger*. Journal of Chemical Education. Vol. 74. No. 4. Abril (1997).
2. Martin N. Hughes. *Coordination compounds in biology*. Academic Press. Cap. 26. (1986.)

### **BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

Nombre del alumno:

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA

### HEMOPROTEÍNAS: HEMOGLOBINA

#### INTRODUCCIÓN

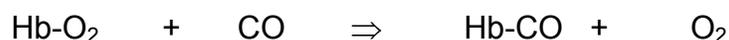
La hemoglobina (Hb) es el principal componente de la sangre roja y es el compuesto responsable de transportar al oxígeno desde los pulmones a los tejidos, así como la de transportar el bióxido de carbono hasta los pulmones.

La hemoglobina es una proteína conjugada de peso molecular de 64,450 daltons. La hemoglobina consta de cuatro grupos *HEMO*. Cada *hemo* consiste de un ión Fe (II) en el centro de una molécula de porfirina y está envuelto por cadenas de aminoácidos. Las cuatro cadenas de la porción prostética pertenecientes a la molécula son denominadas *GLOBINAS* y consisten en dos cadenas idénticas.

El grupo hemo por sí solo no enlazará al oxígeno, pero la combinación específica de hemo con la globina permite que los cuatro iones Fe(II) dentro de la molécula se activen para captar oxígeno.

Debido a que el grupo hemo está formado por el ligante tetradentado de la *Protoporfirina IX* y *Fe(II)*, tiene un *número de coordinación de seis*, formando con ligandos un compuesto octaédrico. La quinta posición de coordinación está ocupada por un grupo imidazol de una histidina proveniente de la globina de la molécula. La sexta posición puede ser ocupada por una molécula de *oxígeno* para producir la *Oxihemoglobina (Hb-O<sub>2</sub>)*, por *NO* para formar la *Nitrosilhemoglobina (Hb-NO)*, con *CO* para generar la *Carbonilhemoglobina (Hb-CO)*, con *CO<sub>2</sub>* para constituir la *Carboxihemoglobina (Hb-CO<sub>2</sub>)*, con el ión *CN<sup>-</sup>* para formar la *Cianohemoglobina (Hb-CN)* y con *agua* para producir la *Metahemoglobina (Hb-H<sub>2</sub>O)*, donde el hierro se encuentra en el estado de oxidación de III.

La toxicidad del  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{CN}$ , se debe a que se une al átomo de hierro del grupo hemo como la hace la molécula de oxígeno pero con una mayor afinidad, por ejemplo el  $\text{CO}$  desplaza a la molécula de oxígeno según la reacción:



### OBJETIVO

El alumno  
 \*formará los complejos de hemoglobina con los gases presentes en la respiración  
 \*podrá determinar la fuerza de enlace de diferentes ligandos tóxicos con hemoglobina mediante métodos espectrofotométricos

### MATERIALES

2 pipetas graduadas de 10ml	2 agitadores de vidrio
10 tubos de ensaye de 10 ml	vaso de precipitados de 250ml
2 celdas de cuarzo	vaso de precipitados de 25ml
papel filtro	

### REACTIVOS

3 ml de sangre carnero	reactivo ferroso tartárico amoniacado
agua destilada	nitrito de sodio 0.5M
reactivo ferroso tartárico	nitrito de sodio 0.025M
amoniaco	ferricianuro de potasio al 10%
gas $\text{CO}$	ácido ascórbico 0.5M (pH 4.5)
reactivo ferroso amoniacado	amortiguador de fosfato de potasio pH 7.0

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 1. FORMACIÓN DE DIFERENTES HEMOGLOBINAS

a) *Solución A:*

Extraer 3ml de sangre venosa. Tomar 2 ml de esta sangre y agregarlos a 100ml de agua destilada, agitar vigorosamente por algunos minutos. Filtrar la solución resultante, que es la Oxigemoglobina. Anotar sus observaciones.

b) Etiqueta cinco tubos de ensaye del 1 al 5.

A cada tubo agréguele 5ml de la solución A . El tubo 1 servirá como testigo.

c) *Desoxihemoglobina.* Al tubo 2 agregue 2 gotas del reactivo ferroso tartárico, 2 gotas de amoniaco y mezcle por inversión. Compare con el tubo 1. Anote sus observaciones.

Posteriormente agite vigorosamente con un agitador de vidrio la desoxihemoglobina formada hasta regenerar la oxihemoglobina, por comparación con el testigo.

d) *Carbonilhemoglobina.* Al tubo 3 pasarle un flujo de gas de CO. Anotar sus observaciones. Compruebe como en el caso anterior si el proceso es reversible.

e) *Nitrosilhemoglobina.* Al tubo 4 agregarle tres gotas de ácido ascórbico 0.5M (pH 4.5) y dos gotas de nitrito de sodio 0.5M. Agitar un poco y compare con el tubo testigo. Anotar sus observaciones.

f) *Metahemoglobina.* Al tubo 5 agregar tres gotas de ferricianuro de potasio al 10%, mezclar con agitador de vidrio y espere a que la reacción se complete. Anotar sus observaciones al comparar con el testigo.

g) *Desprendimiento de oxígeno al formarse metahemoglobina.* Preparar en el vaso de precipitados una solución concentrada de Hb-O<sub>2</sub>, agregando 0.5ml de sangre sin diluir a 10ml de agua destilada y agitar vigorosamente. En tubo de ensaye coloque 8 ml de esta solución (no requiere ser filtrada). En otro tubo de ensaye coloque 3 ml de ferricianuro de potasio.

Mezcle lentamente el ferricianuro con la Hb-O<sub>2</sub>, sin utilizar agitador de vidrio ni inversión del tubo, sino inclinándolo y girando el tubo. Anote sus observaciones.

## 2. CINÉTICA DE METAHEMOGLOBINA.

a) Preparar una solución de Hb-O<sub>2</sub> de absorbancia 0.5 a 500nm., diluyendo con agua destilada si es necesario.

b) Mezclar 7.5ml de la solución de Hb-O<sub>2</sub> 0.5 de absorbancia y agregarle cuidadosamente la misma cantidad de amortiguador de fosfatos de pH 7.0.

c) Coloque en una celda \_\_\_\_ ml de la solución anterior y al tiempo cero agregarle 0.3ml de la solución de nitrito de sodio 0.025M inmediatamente mezcle e inicie la toma de lecturas de absorbancia cada 30 segundos. Use como blanco la Hb-O<sub>2</sub> en el amortiguador de fosfatos. Grafique el tiempo vs la absorbancia.

d) La longitud de onda que se utilizará para la cinética es de \_\_\_\_ nm.

## 3. ESPECTROS DE ABSORCIÓN.

Obtener los espectros de absorción en el rango de 450 a 650nm de la oxihemoglobina, desoxihemoglobina, y metahemoglobina. Se usará la solución de Hb-O<sub>2</sub> de absorbancia de 0.5 unidades a 500nm preparada en el apartado 2.

a) *Oxihemoglobina.*

Celda de muestras: 13 ml de Hb-O<sub>2</sub> y 2ml de agua destilada.

Celda de referencia: 15 de agua destilada.

b) *Desoxihemoglobina.*

Celda de muestras: Mezclar 12ml de Hb-O<sub>2</sub> , 2.5ml de reactivo ferroso amoniacado y dejar en reposo durante 10 minutos.

Celda de referencia: 12ml de agua destilada y 2.5ml de reactivo ferroso tartárico amoniacado.

c) *Metahemoglobina.*

Celda de muestras: 12ml de Hb-O<sub>2</sub> y 2.5ml de ferricianuro de potasio al 0.2%

Celda de referencia: 12ml de agua destilada y 2.5ml de ferricianuro de potasio al 0.2%.

## CUESTIONARIO

\*¿Cómo se clasifican a las proteínas?

\*¿Qué se entiende por una proteína conjugada?

\*¿Cómo se define una unidad Dalton?

\*Escriba el nombre, fórmula abreviada, estado de oxidación del hierro y el color de cada una de las hemoglobinas formadas.

NOMBRE	FÓRMULA	ESTADO DE OXIDACIÓN	COLOR

\*¿Qué diferencia existe entre oxidación y oxigenación de la hemoglobina?

\*¿Qué diferencia existe entre plasma y suero sanguíneo?

\*Pega la gráfica (en excell) de la cinética de metahemoglobina.

\*Explica a partir de la gráfica de la cinética de metahemoglobina a que se debe que la absorbancia permanezca constante en determinado intervalo de tiempo.

\*Pega los espectros de absorción obtenidos indicando las longitudes de onda de máxima absorción:

*Oxihemoglobina*

*Desoxihemoglobina*

*Metahemoglobina*

\*Investigue y describa brevemente el método para determinar la cantidad de Hb presente en sangre.

## BIBLIOGRAFÍA

Nombre del alumno:

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA

### METALES Y PROTEÍNAS

#### INTRODUCCIÓN

La ovotransferrina o conalbúmina es una proteína que se encuentra presente en el huevo. La transferrina es una proteína muy parecida a la conalbúmina, pero ésta se encuentra en el organismo humano. En ambos la función de ésta proteína es la del transporte de hierro.

El hombre y los organismos superiores ingieren éste metal en los alimentos, en éstos se haya en estado férrico poco soluble, pero al llegar al estómago se reduce para poder ser absorbido y en la sangre se vuelve a oxidar y se combina con una beta-globulina para dar lugar a la transferrina. El hierro se acumula en forma de Hemosiderina y de ahí se utiliza directamente para la formación de hemoglobina.

La falta de éste metal en el organismo se manifiesta rápidamente en un estado anémico, pero su acumulación excesiva puede provocar trastornos muy graves.

#### OBJETIVO

Observar la interacción de proteínas con iones metálicos.  
Al terminar la practica el alumno habra observado la interacción de la conalbumina con el hierro tres.  
Con ayuda del maestro interpretara el espectro U.V visible.

#### MATERIALES

2 Vasos de precipitados de XXml	Agitador de vidrio
---------------------------------	--------------------

#### REACTIVOS

Agua destilada	Bicarbonato de sodio	Sulfato ferroso
Clara de huevo	Cloruro férrico	

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### PARTE 1. OBTENCIÓN DEL COMPUESTO DE Fe-CONALBUMINA

- 1.- Separe una clara de huevo y colóquela en un vaso de precipitado de 250 ml
- 2.- Añada 100 ml de agua y agite hasta obtener una mezcla homogénea.
- 3.- Añadir 0.5 g de bicarbonato de sodio y agitar. Dividir la solución en dos partes iguales.
- 4.- A una parte añadir 2 ml de solución de cloruro férrico, agitar y dejar reposar, observar.
- 5.- A la segunda fracción añadir 0.5 g de sulfato ferroso, agitar y observar lo que ocurre. Dejar reposar y separar por decantación.
- 6.- Prepara una solución testigo para comparar sus resultados.
  - a) A 20 ml de una solución de bicarbonato de sodio añada 2 ml. de solución de cloruro férrico.
  - b) A otros 20 ml de solución de bicarbonato de sodio añada una pequeña cantidad de sulfato ferroso.
  - c) Observe y compare sus resultados.

#### PARTE 2. ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO

- 1.- A la solución de color naranja obtenidas en los puntos 4 y 5 de la primera parte, obtenga el espectro UV-Vis y compare.
- 2.- En caso necesario obtenga los espectros de las soluciones testigo.

### CUESTIONARIO

\*¿Qué moléculas captan, transportan y acumulan al hierro?

\*Dibuje o pegue la estructura de la conalbúmina.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Martin N. Hughes. *Coordination compounds in biology*. Academic Press. Cap. 26. (1986.)

Nombre del alumno:
--------------------

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA

### COLORFILAS

#### INTRODUCCIÓN

Hay un número de biomoléculas en las cuales el ión metálico se encuentra encerrado dentro de una cavidad correspondiente a una estructura molecular. Algunos ejemplos de estas, son enzimas como la anhidrasa carbónica, antibióticos como la valinomicina o monensina, las cuales actúan en el transporte activo de cationes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) a través de la membrana celular; también compuestos que transportan oxígeno como la hemoglobina; o bien, la clorofila, encargada de *atrapar* la energía solar para nosotros y también responsable del color verde las plantas.

Las clorofilas son un grupo muy importante de biomoléculas metálicas localizadas en los organelos intracelulares denominados cloroplastos.

La clorofila tiene un magnesio tetrapirrólico de la clase de la clorina que tiene un anillo alicíclico único. La figura 1 muestra la estructura de la clorofila, junto con partes de la estructura de la clorofila *b* y bacterioclorofila *a*. La quinta y sexta posición de coordinación pueden ser ocupadas por el solvente agua, y también ofrecen la posibilidad de la formación de dímeros o agregados de mayor tamaño.

La estructura, función y organización de la clorofila ha sido bien estudiada. En un tiempo se pensó que la clorofila estaba presente en la forma *a* o *b*, la *b* teniendo presente el grupo formilo en la posición 3 más que el grupo metilo. Sin embargo, clorofilas del tipo *c*, *d*,  $c_1$  y  $c_2$  han sido conocidas. Los dos últimos ejemplos involucran porfirinas más que clorinas.

#### OBJETIVO

El alumno:

- Aislará y caracterizará mediante espectroscopía ultravioleta-visible a una clorofila
- Determinará mediante espectroscopía ultravioleta-visible la influencia de la sustitución del ión magnesio por otros iones metálicos en el anillo de la clorofila

### MATERIALES

mortero	lámpara de luz ultravioleta	tira de papel filtro
vaso de precipitados de 50ml	4 tubos de ensaye de 10ml	tira de papel aluminio
vaso de precipitados de 250ml	Pipeta Pasteur	regla y lápiz
espátula		

### REACTIVOS

acetona al 80%	éter etílico	Sol'n concentrada de una sal de Zinc	ácido acético al 10%
gis blanco semicompa cto	HCl 0.1N	Sol'n concentrada de una sal de Cobre (II)	1 hoja de acelga u hoja verde
mezcla de elución: éter de petróleo:acetona:n-propanol (90:10:0.5)			

### DESARROLLO EXPERIMENTAL.

#### 1. EXTRACCIÓN LAS CLOROFILAS.

Despedace finamente una hoja de acelga o cualquier otra hoja verde tierna.

Macháquela en un mortero con un poco de acetona al 80%. Decante la mezcla. El extracto es una mezcla impura de clorofila a y b.

Coloque el extracto obtenido ante una lámpara de luz UV. Anote sus observaciones.

#### 2. SEPARACIÓN DE LAS CLOROFILAS.

Marque en el gis una escala de 0.5 en 0.5cm comenzando a aproximadamente unos 6mm del extremo grueso.

Con una pipeta Pasteur coloque una pequeña franja del extracto de clorofila justo sobre la marca inicial del gis y déjelo secar.

Prepare una cámara de elución colocándola en el vaso de precipitados de 10 a 15 ml de la mezcla de elución, coloque la tira de papel filtro dentro del vaso y sobre las paredes.

Introduzca con cuidado el gel con la muestra seca a la cámara de elución.

Tape la cámara de elución con el papel aluminio el cual tendrá una perforación para detener al gel.

Cada tres minutos anote la distancia recorrida por cada uno de los componentes de la muestra. Registre el gráfico correspondiente tiempo contra distancia de desplazamiento.

Pare el desarrollo de la cromatografía cuando el eluyente se encuentre a 0.5cm del límite superior del gel.

### *3. INTERCAMBIO DEL IÓN MAGNESIO POR LOS IONES ZINC Y COBRE EN EL ANILLO DE FEOTININA.*

Reemplazo por etapas:

A 2 ml de extracto crudo de clorofila añada 0.5ml de HCl 0.1N. Caliente un poco para acelerar la reacción. Esta solución irradíela con luz UV. Observe y describa los cambios.

Obtenga el espectro de absorción ultravioleta visible de la solución obtenida en el rango de 700 a 250nm.

Divida la solución anterior que contiene a la feofitina divídala en dos partes.

A una de las partes agréguele 1ml de solución concentrada de una sal de zinc y a la otra parte 1 ml de una solución concentrada de cobre (II). Cada una de ellas irradíela con luz UV. Observe y describa los cambios.

Obtenga los espectros de absorción UV-Vis para las dos soluciones en el rango de 700 a 250nm.

Reemplazo directo:

Tomar una hoja de acelga u otra hoja verde y colocarla en tubo de ensaye y añadir ácido acético al 10% y 1ml de una solución concentrada de acetato de zinc o de cobre.

Comparar con las soluciones respectivas del apartado anterior.

Si dispone de tiempo en el laboratorio realice la separación mediante el método cromatográfico descrito anteriormente.

### *CUESTIONARIO*

¿Cuál es el papel del magnesio en la fotosíntesis?

\*Describa el ciclo correspondiente a la fotosíntesis.

\*¿Qué otros metales están asociados al proceso de la fotosíntesis?

\*Explique por qué es posible la sustitución del ión magnesio por otros iones metálicos usados.

\*¿Qué problemas puede presentar una planta si el ión magnesio es reemplazado por otros iones metálicos.

\*Puede ser reemplazado el magnesio por iones metálicos pesados ¿Sí por qué y no por qué?. Cite ejemplos.

\*Proponga la estructura de como se encuentran unidos los iones metálicos que sustituyeron al magnesio.

\*Explique por qué es posible realizar la separación de un gis de los componentes de la mezcla obtenida de la hoja verde.

\*Escribir la traducción de la hoja en inglés de esta práctica

### *BIBLIOGRAFÍA*

1. The chlorophylls J. Chem.

Libros de bioquímica y bioinorgánica  
Separaciones cromatográficas. Pedro J. Nathan ANUIES.

Nombre del alumno:
--------------------

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## *PRACTICA*

### *COMPLEJOS METÁLICOS CON EL EDULCORANTE ASPARTAME*

#### *INTRODUCCIÓN*

En los últimos 50 años se ha notado una marcada tendencia hacia el incremento en el consumo de azúcares en la dieta de un gran número de países. Esta tendencia ha sido asociada a problemas de salud principalmente como la obesidad, enfermedades cardiovasculares y caries dental.

Los edulcorantes de bajo contenido energético están siendo empleados en los países desarrollados y algunos comienzan a ser utilizados a nivel mundial para sustituir en parte el azúcar de caña o de remolacha de la dieta humana.

Sin lugar a dudas el edulcorante más importante que se introdujo al mercado en la década de los ochentas es el Aspartamo (APM).

En México este edulcorante sintético conocido con el nombre de Canderel, se utiliza en la preparación de refrescos o bien como sustituto del azúcar de mesa.

Desde el punto de vista químico APM es el éster metílico del dipéptido L-aspartil-L-fenilalanina. Dicha molécula posee un gran poder edulcorante, sin embargo, es susceptible a la hidrólisis con la subsecuente pérdida de su poder edulcorante.

La interacción de iones metálicos con este dipéptido es interesante desde el punto de vista biológico ya que provee un interesante sistema de estudio para entender a nivel molecular la interacción de metales esenciales con péptidos y proteínas. En la figura 1, se muestran los probables sitios de coordinación de esta molécula: el nitrógeno del grupo amino y el oxígeno del grupo carboxilo del ácido aspártico, el oxígeno y nitrógeno del enlace peptídico y el oxígeno del grupo carbonilo del éster.

El aspartamo es un polvo blanco el cual es ligeramente soluble en agua y etanol (1g/ml y 0.4g/100ml, respectivamente), y cuyo peso molecular es de 294.3 g/mol. Las constantes de disociación (pKa) son 3.1 y 7.9 a 25°C, y su punto isoeléctrico es de 5.2.

La estabilidad del APM es afectada por la temperatura, humedad y pH. Como el APM es un dipéptido, este no puede existir definitivamente en agua, ya que el enlace del ester metílico es hidrolizado produciendo metanol y el dipéptido L- $\alpha$ -aspartil-L-fenilalanina (DIP). Posteriormente la hidrólisis del dipéptido de los componentes aminoácidos L-aspartico y L-fenilalanina, además, es posible obtener metanol y 3-bencil-2,5-piperacina-diona-6-ácido acético, que es la dicetopiperacina (DCP) del dipéptido aspartilfenilalanina.

El aspartamo proporciona 4 kilocalorias por gramo, pero únicamente 0.04 gramos de éste (0.1 kcal) son necesarios para reemplazar una cucharadita de sacarosa (16kcal). APM, es un potenciador de algunos sabores, en particular sabores de frutas.

### *OBJETIVO*

- \*Sintetizar los compuestos de coordinación de Cobre (II), Niquel(II) y Cobalto (II) con el edulcorante Aspartamo.
- \*Observar la influencia del ión metálico en las propiedades espectroscópicas del ligante aspartamo.
- \*Determinar mediante espectroscopía ultravioleta visible las bandas de absorción características de cada compuesto sintetizado

## MATERIALES

5 vasos de precipitados de 50 ml	Parrilla de calentamiento
5 Espátulas	Cajas Petri

## REACTIVOS

Sulfato de cobre pentahidratado	Cloruro de cobre (II) dihidratado
Sulfato de níquel (II)	Cloruro de cobalto (II) hexahidratado
Sulfato de cobalto (II) heptadidratado	Cloruro de níquel (II)
Canderel 3 sobres	Glicilglicina

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### *\*Obtención del aspartamo a partir de Canderel.*

Vaciar el contenido de un sobre de Canderel en 5ml de agua destilada, agitar durante 5 minutos con un agitador magnético.

Dejar en reposo por 10 minutos.

Filtrar la solución con mucho cuidado con ayuda de una jeringa y como filtro algodón.

Al sobrenadante realizarle un espectro de absorción Ultravioleta-visible en el rango de 300a 230nm.

Adicionar HCl 0.5M (dos gotas) hasta obtener un pH de aproximadante 3.0 (medir con papel pH).

### *\*Síntesis de los complejos de coordinación.*

Disolver 0.1248g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ó 0.0852g de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 0.1248g en 3.0ml de agua destilada y mezclar con 3ml de la solución de aspartamo. Obtener su espectro UV-Vis.

Incrementar el pH hasta 7.0 con NaOH 0.5M, hasta que se obtener un precipitado de color azul. Obtener su espectro UV-vis.

Colocar la mezcla en una caja de petri, para evaporar el agua. Observar después de dos días.

Disolver 0.1315g de  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ó 0.1189g de  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en 3ml de agua y mezclar con 3ml de la solución de aspartamo.

Incrementar el pH hasta 9.9 o hasta obtener un precipitado color verde claro. Obtener su espectro UV-vis.

Colocar la mezcla en una caja petri para evaporar el solvente. Observe después de dos días.

Disolver 0.1406g de  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ó 0.1189g de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en 3ml de agua destilada y mezclar con 3 ml de solución de aspartamo.

Incrementar el pH hasta 8.33 hasta obtener un precipitado de color rosa. Obtener su espectro UV-vis.

Colocar la mezcla en una caja petri para evaporar el solvente. Observe después de dos días.

*\*Caracterización mediante espectroscopía ultravioleta visible de los complejos obtenidos.*

Obtener los espectros de absorción UV-Vis en el rango de 900 a 30nm. Para la obtención de la línea base se usará como solución de referencia agua.

Los espectros deberán ser obtenidos usando celdas de cuarzo.

### CUESTIONARIO

\*Investigue que otros tipos de endulcorantes existen en el mercado de alimentos.

\*Haga una tabla comparativa del valor energético de los endulcorantes encontrados.

\*Mencione cual es la importancia de utilizar endulcorantes bajo en calorías.

\*¿Qué beneficios da al paciente diabético el utilizar endulcorantes bajo en calorías?

### BIBLIOGRAFÍA

1. Martin N. Hughes. *Coordination compounds in biology*. Academic Press. Cap. 26. (1986.)

2. Hernández, A. Guadalupe y González V. Enrique. Síntesis y caracterización de complejos de coordinación de Cobre (II), Níquel (II) y Cobalto (II) con el edulcorante asparatamo. Tesis de Licenciatura. BUAP. Abril (1990).

Nombre del alumno:
--------------------

CALIFICACIÓN:	Número	Letra

## PRACTICA

### CATALASAS

#### INTRODUCCIÓN

Las enzimas son catalizadores biológicos involucrados en las reacciones químicas que suceden en el organismo. Estas ejercen un papel importante en los procesos biológicos debido a tres propiedades importantes que ellas tienen: a) poder catalítico, b) poder selectivo y c) control sobre la reacción.

Las catalasas están ampliamente distribuidas en organismos vivos que presentan metabolismo aeróbico y catalizan la reacción:



La molécula de catalasa puede descomponer cerca de  $10^7$  moles de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por segundo, siendo una de las reacciones enzimáticas más rápidas que se conocen.

La catalasa existe en general como un tetrámero y cada subunidad tiene una cadena polipeptídica sencilla conteniendo un grupo protohemo IX. La actividad catalasa no lleva ningún cambio en el estado de oxidación del Fe(III) contenido en el grupo prostético.

De acuerdo con la naturaleza del grupo prostético, la catalasa es inhibida en forma irreversible por sustancias que forman complejos con el hierro y que continen ligantes como  $\text{CN}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ , etc.

## OBJETIVO

Estudiar A la enzima catalasa y la relación que tiene con las condiciones de reacción.

## MATERIALES

2 vaso de precipitados de 100ml	1 probeta de 50 ml
Tubo de desprendimiento	1 agitador de vidrio
Pizeta	

## REACTIVOS

2 trozos pequeños de hígado	solución de cloruro férrico
5 ml de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 10%	agua destilada

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

- a) Etiquete cada vaso de precipitados y coloque un trozo de hígado (previamente pesado).
- b) A uno de los vasos de precipitados agréguele 3 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10%.
- c) Al otro trozo de hígado agréguele 1 ml de la solución de cloruro férrico y la misma cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10%.
- d) Repita la experiencia del inciso anterior, pero ahora coloque los reactivos en un tubo de desprendimiento, que estará conectado a una probeta llena de agua.

## CUESTIONARIO

1. Investigue la estructura de alguna catalasa ya estudiada y pague una copia de su estructura.
2. ¿Qué acción tiene la catalasa sobre el peróxido de hidrógeno?
3. ¿Por qué solamente se inhibe la catalasa con algunos complejos como el ferricianuro de potasio y otros como los mencionados anteriormente?
4. ¿Cómo explica dicha acción, en base a las dos respuestas anteriores?
5. ¿Qué grupo activo tiene la catalasa y qué estructura tiene?

Es el grupo protético de la catalasa es el

\_\_\_\_\_.

6. ¿En qué otras partes además del hígado se encuentran localizadas las catalasas?
7. En base al peso del hígado utilizado ¿cuál es el volumen del gas obtenido?

## BIBLIOGRAFÍA

1. Metaloproteins, chemical properties and biological effects. S. Otsuka & T. Yamanaka. Ed. ELSEVIER. 1988.
2. Hemeproteins 7. Gunther L. Eichhorn . Ed. ELSEVIER. 1988.

CALIFICACIÓN	NÚMERO	LETRA

## *PRACTICA PROPIEDADES PERIÓDICAS*

### *INTRODUCCIÓN*

Los elementos químicos presentan propiedades específicas cada uno, las cuales son representadas en la Tabla Periódica en forma de periodos y grupos de elementos con variaciones sistemáticamente definidas en sus energía como son: Energía de ionización, Afinidad electrónica, Electronegatividad, etc.

### *OBJETIVO*

Observar cómo varían las propiedades de los elementos químicos conforme se avanza en los períodos 2 y 3 de la Tabla Periódica.

### *MATERIALES*

1 vaso de precipitados de 250 ml	1 mechero de Bunsen
asa microbiológica	6 tubo de ensayo

### *REACTIVOS*

Diferentes trozos de metales del grupo Y-A y del grupo II-A	fenolftaleína
HCl	oxalato de potasio
agua destilada	hidróxido de amonio
Etilendiamina	carbón
ioduro de potasio	cloro

### *DESARROLLO EXPERIMENTAL*

- a)** En el vaso de precipitados colocar 250ml de agua destilada y una gota de fenolftaleína, y agregar cuidadosamente uno de los trozos de los metales entregados. Repita este procedimiento con el otro metal del grupo A y II-A
- b)** Someter a la flama un trozo de cada uno de los metales, mediante el uso del asa microbiológica.

- c) Tomar un trozo de algún metal de transición (Fe, Cu, etc) y repita los procedimientos anteriores. Posteriormente en un tubo de ensayo se le agrega un poco de HCl. Dividir la solución resultante en cuatro partes y agregarles agua destilada.
- d) A uno de los tubos de ensayo agregarle oxalato de potasio, al segundo tiocianato de potasio, al tercero hidróxido de amonio y al cuarto etilendiamina.
- e) Utilizando carbón, azufre o silicio, repetir los ensayos del inciso (d).
- f) A 10 ml de agua destilada, agregarle unas gotas de solución de potasio y burbujear un poco de cloro.

### CUESTIONARIO

- a) Explicar las diferencias entre Energía de ionización, afinidad electrónica y electronegatividad.
- b) En base a los conceptos anteriores identificar los metales de los primeros ensayos.
- c) ¿Qué valencia y qué estados de oxidación presentaron cada una de las especies químicas utilizadas durante cada uno de los ensayos, antes y después de la reacción?
- d) Explicar por qué son diferentes los espectros de emisión de los elementos estudiados.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Química inorgánica Avanzada. Cotton and Wilkimsos. De. Limusa
2. Modern Inorganic Chemistry. William L. Jolly. Ed. Mc-Graw Hill.

CALIFICACIÓN	NÚMERO	LETRA

## *PRACTICA*

### *COMPUESTOS DE COORDINACIÓN*

#### *INTRODUCCIÓN*

Los compuestos de coordinación los podemos definir como aquellos compuestos (complejos) que constan básicamente de un metal de transición unido a otras especies denominadas ligandos, a través de enlaces covalente coordinados, entre los que podemos mencionar al agua, amoníaco, carbonilo, etc.

En la naturaleza existe un conjunto de compuestos de coordinación cuyas funciones son básicas para los organismo, dentro de los cuales podemos mencionar al grupo prostético hemo, forma de la hemoglobina, mioglobina; a la corrina en los derivados de la vitamina B12; a la clorofila, etc.

El cobre esta comunmente distribuido en los sistemas vivos a niveles traza. Niveles más altos en el hombre se han encontrado en el hígado, cerebro, pulmones y en riñones a niveles más bajo. Altas concentraciones también han sido encontradas en pigmentos que forman parte de el ojo asociado con melaninas. Niveles altos de cobre están asociados con ciertos estados de enfermedades, notablemente como la enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular), la enfermedad de Menke, que se presenta por un error de nacimiento en el metabolismo del cobre que conduce a una esperanza de vida menor a los tres años, y donde los síntomas clínicos pueden ser observados grandemente en términos de la baja actividad de las enzimas que requieren de cobre. El mayor efecto letal es la deficiencia de cobre en el cerebro. Una característica muy notable de la enfermedad de Menke es una estructura muy rizada del cabello.

El cobre tiene un papel esencial en un ngran número de enzimas, notablemente con aquellas involucradas en al catálisis de la transferencia de electrones y en el transporte de dioxígeno y en la catálisis de sus reacciones. La hemocianina, es un acarreador de dioxígeno que contiene cobre, mientras que el papel del cobre en

oxidadas es ilustrado por la citocromo oxidasa, el miembro terminal de la cadena de transferencia de electrones mitocondrial (62.1.12.4), existen oxidadas azules multicobre como por ejemplo la laccase, ascorbato oxidasa y ceruloplasmina (62.1.12.6) y las oxidadas no azules (62.12.7). El cobre también está involucrado en las superóxido dismutasas que contienen Cu/Zn y en un gran número de hidrolasas, tales como la tirosinasa (62.1.12.11.2) y dopamina- $\beta$ -hidroxilasa (62.1.12.11.3). Tirosinasa y hemocianina tienen centros binucleares de cobre similares.

El cobre está presente también en un número de proteínas pequeñas, caracterizadas por un color azul intenso, que catalizan la transferencia de electrones.

Los centros de cobre en las oxidadas azules multicobre han sido clasificados en tres grupos. Esta clasificación puede ser extendida para incluir otras proteínas de cobre.

*Cobre tipo 1.* Este es el centro de cobre responsable del profundo color azul de las oxidadas azules y de las proteínas azules que transfieren electrones. Los centros de cobre del tipo 1 tienen una banda de absorción muy intensa cercana a los 600nm, con un coeficiente de extinción de cerca de 100 veces más que los encontrados comúnmente para complejos de coordinación de Cu(II), junto con otras bandas cerca de 450 y 750nm.

*Cobre del tipo 2.* Este centro presente en oxidadas azules multicobre, es similar a los sitios típicos de Cu (II) de la geometría tetragonal encontrada en complejos de coordinación de cobre. El cobre en oxidadas no azules es frecuentemente registrado como cobre del tipo 2, aunque esto no fue considerado en la definición original.

*Cobre del tipo 3.* Este centro consiste de un par de iones de Cu (II), los cuales son diamagnéticos como resultado de un efecto de interacción antiferromagnética.

Esta caracterizado por una fuerte absorción alrededor de los 330nm con coeficientes de extinción en el rango de 3000 a 5000  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ . El centro del tipo 3 esta asociado con reacciones redox de dioxígeno, así puede transferir dos electrones y así pasar por alto la formación del reactivo superóxido. Han sido reportado un gran número de sistemas modelo de cobre del tipo 3.

*Proteínas azules de cobre.* Se pueden citar algunos ejemplos de este tipo de proteínas como: Azurina, Plastocianina, Plantacianina, Laccase, Ceruloplasmina, etc. Dentro de este grupo de proteínas pueden existir cobre del tipo 1, 2 ó 3.

*Proteínas azules que transfieren electrones.* Estas proteínas han sido aisladas de una gran variedad de fuentes y tienen bajos pesos moleculares. Ellas forman un círculo entre Cu(II) y Cu(I).

### OBJETIVO

Observar las propiedades físicas y químicas de los metales de transición y sus complejos, así como sintetizar un complejo con un aminoácido.

Al terminar la práctica el alumno:

- a) Tendrá una visión general de las características fisicoquímicas de los metales de transición y sus complejos.
- b) El alumno aprenderá el manejo del equipo UV-Vis.

### MATERIALES

10 tubos de ensayo y gradilla	Agitadores y pipetas
Dos vasos de precipitado de 10 ml.	Balanza analítica, Equipo UV- Vis.

### REACTIVOS

Sol'n de ferrocianuro	Solución de HCl concentrada	Solución de sulfato cúprico
NH <sub>4</sub> OH concentrado	Zinc en polvo	Sol'n de cloruro férrico
Sol'n de Tiocianato de potasio		Sol'n de cloruro de níquel
Sol'n de ácido salicílico		Sol'n de dicromato de potasio
Acetato de cobre	Glicina	

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### PRIMERA PARTE. FORMACION DE COMPLEJOS

- a) El agua como ligando: Coloque un ml de cada una de las soluciones de las sales de cobre, níquel y hierro. Observe el color característico que proporciona el agua como ligando, ya que en estas soluciones varias moléculas de agua están unidas al ión metálico a través de enlaces de coordinación.
- b) Amoníaco como ligando: A la solución de cobre y a la solución de níquel agregue un ml de solución de hidróxido de amonio concentrado, en caso de que aún persista un precipitado añada más amoníaco. Observe el cambio de color debido a la sustitución de las moléculas de agua por moléculas de amoníaco
- c) Coloque un ml de solución de cloruro férrico en tres tubos de ensaye agregar al primer tubo unas gotas de solución de tiocianato de potasio. Al segundo tubo añadir unas gotas de solución de ácido salicílico. Al tercer tubo añada unas gotas de solución de ferrocianuro. Observe los cambios de color debidos a la sustitución del agua por los ligandos tiocianato, salicilato y cianuro, cuando se mantiene constante el ión metálico.
- d) Número de oxidación variable: Coloque un ml de una solución de dicromato de potasio en un tubo de ensaye, añada una pequeña cantidad de zinc en polvo y cinco gotas de ácido clorhídrico. Observe los cambios de color de la solución debida a los cambios en el número de oxidación del cromo, el cual pasa de Cr(VI) a Cr(III) y finalmente a Cr(II).

### SEGUNDA PARTE

Síntesis de bisglicinato cobre (II).

- 1.- Disolver 0.100 g de acetato de cobre monohidratado en 2.0 ml de agua caliente.
- 2.- Disolver aparte 0.075 g de glicina en 2.0 ml de agua caliente.
- 3.- Mezclar ambas soluciones y dejar enfriar hasta que se formen cristales de color azul claro.

4.- Filtrar y dejar secar al aire.

5.- Disolver una pequeña cantidad del compuesto obtenido en 5 ml de agua caliente. Con esta solución obtenga el espectro Visible.

### CUESTIONARIO

1. Escriba cada una de las reacciones ocurridas en los distintos experimentos realizados de la primera parte.
2. Dibuje la estructura del complejo formado con cobre y glicina.
- 3.- Que puede deducir del espectro de este complejo.

CALIFICACIÓN	NÚMERO	LETRA

## *PRACTICA*

### *EL pH METABÓLICO*

#### *INTRODUCCIÓN*

El bióxido de carbono es un gas que esta cumpliendo con diversas funciones fundamentales en el metabolismo general del organismo humano, debido a que está relacionado con el proceso de respiración, control del pH respiratorio y metabólico, formación de sustancias base del tejido óseo, etc.

La acidosis es una alteración que tiende a producir un pH ácido al menos que haya un alcalosis oponente dominante. La alcalosis es lo opuesto y tiende a producir un pH alcalino al menos que exista un acidosis oponente dominante.

La alcalosis es una condición provocada por el exceso de base (alcali) en los líquidos del cuerpo. Los pulmones y los riñones regulan el estado ácido/base del cuerpo la disminución en el bióxido de carbono o el aumento del nivel del carbonato crea un exceso del estado alcalino llamado alcalosis.

La alcalosis respiratoria es ocasionada por los niveles bajos de dióxido de carbono. La hiperventilación (aumento en la frecuencia respiratoria) hace que el cuerpo pierda dióxido de carbono. La altitud o una enfermedad que produzca una reducción de oxígeno en la sangre obliga al individuo a respirar más rápido, reduciendo los niveles de dióxido de carbono, lo que provoca una alcalosis respiratoria.

La alcalosis metabólica es ocasionada por un exceso de bicarbonato en la sangre y la alcalosis hipoclorémica es causada por una deficiencia o pérdida extrema de cloruro (que puede ser debido a un vómito prolongado). Los riñones compensan la pérdida de cloruros mediante la conservación de bicarbonato.

El dióxido de carbono es el ácido respiratorio, es el único ácido que puede ser exhalado. Estrictamente hablando el dióxido de carbono es un gas, no un ácido. El ácido carbónico solo se forma cuando se combina agua. La acidosis respiratoria es una presión de CO<sub>2</sub> elevada.

El término “ácidos metabólicos” incluye a todos los ácidos del cuerpo a excepción del dióxido de carbono. Los ácidos metabólicos no son eliminados por

la respiración; ellos tienen que ser neutralizados, metabolizados, o excretados a través del riñón. Acidosis metabólica es cuando el pH es más ácido que el apropiado para la presión de CO<sub>2</sub>. Esta definición enfatiza la importancia del componente respiratorio en el pH global. El pH es siempre un producto de dos componentes, respiratorio y metabólico, y el componente metabólico es juzgado, calculado, o computado de acuerdo a los efectos de la presión de CO<sub>2</sub>, por ejemplo, cualquier cambio inexplicable en el pH por la presión de CO<sub>2</sub>, indica una normalidad metabólica.

### OBJETIVO

Estudiar el comportamiento del CO<sub>2</sub> en agua y sus reacciones.

### OBJETIVOS PARTICULARES

El alumno comprobará la importancia que tiene el pH en el metabolismo.

### MATERIALES

Phmetro	Jeringa de 5ml
Matraz de 100ml	Sistema para medición de CO <sub>2</sub>

### REACTIVOS

Agua mineral	Solución de NaOH recién preparada libre de CO <sub>2</sub>
HCl concentrado	Refrescos embotellados de diferentes sabores (dos al menos)
Solución de Ca(OH) <sub>2</sub>	

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

- a) Utilizando un pHmetro, medir el pH del agua mineral recién salida del envase, el cual fue destapado en el momento previo a ser utilizado.

Posteriormente agitar el vaso y medir nuevamente el pH.

Asociar estos fenómenos con los procesos de acidosis y alcalosis tanto respiratorias como metabólicas que ocurren en nuestro organismo.

- b) Construir un sistema de medición de  $\text{CO}_2$  (según instrucciones del profesor). Coloque en el matraz erlemeyer 10ml de solución de NaOH, agitar el matraz hasta que se establezca la columna de agua. Tome nota de la altura de la columna de agua.
- c) Una vez estabilizado el sistema, un voluntario aspirará aire y retendrá la respiración unos segundos y a continuación por uno de los tubos latex soplará dentro del sistema e inmediatamente sellará el sistema, agitar nuevamente por 30 segundos, dejar que se establezca la columna de agua, anotar la nueva altura de la columna. NOTA: Con estos datos se calculará el volúmen de  $\text{CO}_2$  expirado, 6.
- b) Instalar un sistema para obtener  $\text{CO}_2$ , según instrucciones del maestro: Colocar en el matraz un poco de carbonato de calcio industrial,. Agregar al matraz que contiene el mineral, solución de HCl y burbujear el gas resultante primero en un vaso con agua. Mida el pH de la solución resultante.
- f) Burbujee el  $\text{CO}_2$  en una solución de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , que ocurre.
- g) Aspirar aire y mantenerlo por unos segundos, burbujear el aire en un vaso conteniendo solución de hidroxido de calcio. Que ocurre.

### CUESTIONARIO

- 1.- ¿Cuál es el pH sanguíneo de una persona normal?
- 2.- ¿Cuál es el sistema de regulación del pH más comun en el organismo humano?
3. - ¿Cómo se produce la acidosis y alcalosis respiratorias y metabólicas?
- 4.- ¿Cuál es el origen del carbonato de calcio en estructuras como huesos, dientes y caparazones como los cascarones de huevo?
- 5.- ¿Que pH produce la disolución de  $\text{CO}_2$  en agua?
- 6.- ¿Qué cantidad aproximada de  $\text{CO}_2$  se produce durante una aspiración?

CALIFICACIÓN	NÚMERO	LETRA

## ANEXOS

El reporte de cada una de las prácticas deberá ajustarse al siguiente formato.  
En todos los casos la escritura deberá ser legible (letra de molde si es a mano) y ordenada, guardando el orden que se especifica abajo.

### OBSERVACIONES

--

### RESULTADOS

--

## COMENTARIOS Y/O CONCLUSIONES

## CUESTIONARIO.

Cada pregunta que incluye el cuestionario deberá anotarse junto con su respuesta, en un recuadro.

Pregunta 1

Respuesta:

Pregunta 2

Respuesta:

Pregunta 3

Respuesta:

Etc.