Ocozocoautla; Chiapas

04 de Noviembre del 2014

Titular: Dra. Ana Olivia Cañas Urbina

Integrantes:  
Coutiño Hernández Diana Cristal  
Domínguez Velázquez Zuleima Natali  
Pérez Hernández Florinda  
Ruiz Moreno Valeria Guadalupe

Práctica 1-buffers

Curso de Bioquímica I

BUFFER

Bioquímicamente, un Buffer es un reactivo imprescindible para las diferentes manipulaciones en los laboratorios sobre experimentos fisiológicos, esto se debe a que el organismo mantiene un control estricto en las diferentes reacciones y sus componentes, debido a esto cuando se realizan manejos al exterior, es necesario de un regulador de esa homeostasis que el organismo controla, el Buffer actúa como controlador de factores tales como pH, Temperatura y la estructura de lo que se manipula, una de las biomoleculas con relevancia en diseños experimentales son las proteínas, para el manejo de estas es necesario mantenerlas muy estables debido a que cualquier modificación en diferentes factores altera su composición, para ello es necesario de algo que pueda resguardarla en este caso el buffer realiza este papel, pero esto no significa que es algo estandarizado, por el contrario depende del compuesto que se esté trabajando para la concentración a la que se prepare.

BUFFER (Investigación)

En el área de la bioquímica, siempre se necesita de la manipulación de moléculas biológicas con un pH adecuado, entre una de ellas las proteínas (Wiley, 2014), por lo tanto es necesario mantener una situación de equilibrio dinámico favorable para estas, en este fenómeno tiene gran importancia los sistemas amortiguadores cuyo objetivo es equilibrar la presencia de sustancias ácidas y básicas para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos.

La importancia del control del pH en los diseños experimentales, es determinante ya que en condiciones fisiológicas, la acción enzimática y las transformaciones químicas que las células realizan están dentro de unos estrictos márgenes de pH, en humanos los valores oscilan entre 6,8 y 7,8 (Tuunez, Galvan, & Fernández , 2010), sin embargo en la manipulación en el laboratorio hay sistemas que se encargan de evitar las variaciones del valor de pH (Buffer o tampones), que son por lo general soluciones de ácidos débiles y de sus bases conjugadas o de bases débiles y sus ácidos conjugados, lo que permite la resistencia a la adición de ácidos como de bases.

Medios de Cultivo

* Agar Mueller Hinton (Cajas)

Objetivo: para el aislamiento y desarrollo de gonococos, meningococos y pruebas de susceptibilidad de microorganismos a los antimicrobianos (antibiogramas)

Formula aproximada\* por litro:

Extracto de carne-----------------2.0 g

Peptona de caseína acida------17.5 g

Almidón-----------------------------1.5 g

Agar-----------------------------------17.0 g

pH final: 7.3 +/- 0.2 a 25° C. \*Ajustada y/o suplementada para cumplir criterios de desempeño.

* Mueller Hinton Broth

Función: Base para los medios de uso general, para procedimientos microbiológicos.

Formula aproximada\* por litro:

Extracto de carne bovina-------------3.0 g

Hidrolizado acido de caseína--------17.5 g

Almidón------------------------------------1.5 g

pH final: 7.3 +/- 0.1. \*Ajustada y/o suplementada para cumplir criterios de rendimiento.

* Agar de Hierro y Lisina

Función: Diferenciación temprana de Salmonella y Shigella spp

Formula aproximada para 1000 ml:

Peptona de gelatina------------5.0 g

Extracto de levadura------------3.0 g

Dextrosa----------------------------1.0 g

L-Lisina------------------------------10.0 g

Citrato de hierro y amonio-----0.50 g

Tiosulfato de sodio---------------0.04 g

Purpura de Bromocresol--------0.02 g

Agar-----------------------------------13.50 g

pH final 6.7 +/- 0.2. Ajustar y/o suplementar como se requiera para cumplir los criterios de funcionalidad.

KITS en el Laboratorio Clínico

* Determinación Cuantitativa de Calcio

Significado Clínico: el Calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99% se halló en los huesos. Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción.

|  |  |
| --- | --- |
| Reactivos | |
| R1- Tampón | Etanolamina 500 mmol/L |
| R2. Cromógeno | a-Cresolftaleína  8-Hidroxiquinoleína |
| Calcium Cal | Patrón primario acuoso de clacio |

* Determinación Cuantitativa de Glucosa

Significado Clínico: La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina.

|  |  |
| --- | --- |
| Reactivos | |
| R1- Tampón | Tris pH 7,4 92 mmol/L  Fenol 0,3 mmol/ L |
| R2. Enzima | Glucosa Oxidasa (GOD) 15000 U/L  Peroxidasa (POD) 100 U/L  4.Aminofenazona 2,6 mmol/L |
| Glucose Cal | Patrón primario acuoso de Glucosa 100 mg/dL |

Conclusión:

Los buffers son imprescindibles en muchas área del laboratorio incluyendo la bioquímica, es necesario conocer su función y su importancia, como vimos en la clase tiene muchos aspectos de donde abordarlo, el objetivo de aprender de ello es como QFB podamos entender el comportamiento que tienen este tipo de soluciones en diferentes diseños experimentales, las reacciones que se llevan a cabo en el laboratorio son muy sensibles a la naturaleza debido a que fisiológicamente mantienen un pH, es por esta razón que los amortiguadores (buffers) controlan y mantienen este pH para poder manipular con las diferentes moléculas que se estén investigando, además también en los kits y en los medios de cultivo de acuerdo a la actividad necesitan controlar un pH, como QFB al conocer el comportamiento de cada uno de ellos podemos realizarlos y a su vez mejorarlos para tener un buen resultado en los análisis clínicos, pero no solamente macroscópicamente están presentes los buffers, porque las células del organismo funcionan de manera adecuada cuando se mantienen dentro de ciertos parámetros como son la temperatura, la adecuada producción de energía, los niveles de sales, agua y nutrientes, así como el pH de los fluidos corporales. Sin embargo son susceptibles a tener variaciones en su pH dependiendo de los alimentos que se ingieran o de reacciones metabólicas normales del organismo, si estos cambios son bruscos pueden llegar a afectar al organismo, por lo tanto también los sistemas amortiguadores nos ayudan a mantener la vida, lo que más nos gustó de esta clase fue que pudimos comprender la importancia de estas soluciones, también que no son soluciones estándares si no que depende mucho de lo que se trabaje para obtener una concentración a la que se realice, esta clase nos ayudó a reforzar un poco sobre lo que habíamos trabajado en nuestra estancia, debido a que los buffers los manejábamos de manera constante, pero no teníamos noción de la gran amplitud que tienen.

# Referencias

Tuunez, I., Galvan, A., & Fernández , E. (2010). *Universidad de Cordoba.* Obtenido de pH y amortiguadores: http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/06%20pH%20AMORTIGUADORES.pdf

Wiley, J. (2014). *Essential Biochemistry*. Obtenido de Acidos, Bases y pH: http://www.wiley.com/college/pratt/0471393878/student/review/acid\_base/7\_buffers.html