



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA 502504**

GUÍA No 1.3- VALORACIÓN DE GLUCOSA EN SUERO O PLASMA POR EL MÉTODO GOD / POD

I. EL PROBLEMA

Determinar por espectrofotometría el contenido de la glucosa en suero y/o en plasma sanguíneo humano y/o de cordero.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO.

La glucosa es la principal fuente de energía en los seres vivos. Por tal razón es un metabolito fundamental en los procesos biológicos.

La determinación cuantitativa de este biocompuesto, ha sido objeto de muchos estudios y la literatura ofrece diversas técnicas de análisis que varían de acuerdo con diferentes factores como la naturaleza de la muestra, los contenidos de glucosa y la viabilidad experimental.

Uno de los métodos, utilizado actualmente a nivel clínico y de investigación, para valorar glucosa en el plasma y/o suero sanguíneos es el enzimático calorimétrico desarrollado por Bayer, conocido SERA - PAK[®] PLUS para glucosa, en el que la glucosa presente en el suero o plasma sanguíneo, es transformada por la glucosa oxidasa (GOD) en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el cual en presencia de peroxidasa (POD) oxidada el cromógeno 4-aminoantipirina / fenol convirtiéndolo en un compuesto de color rojo que absorbe entre 492 y 550 nm, con un pico de máxima absorbancia a 500 nm.

III. BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN.

Elabore el preinforme, según lo pre-establecido desde primer semestre y que contenga los resultados de las siguientes consultas:

- ❖ Composición promedio de la sangre humana
- ❖ Composición promedio de la sangre de cordero
- ❖ Niveles normales de glucosa en sangre humana
- ❖ Niveles de riesgo de glucosa en sangre humana
- ❖ Enfermedades asociadas a los niveles altos de glucosa en sangre
- ❖ enfermedades asociadas a los niveles bajos de glucosa en sangre
- ❖ Fuentes endógenas de glucosa

- ❖ Fuentes exógenas de glucosa

IV. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

- ❖ **Equipos**

Espectrofotómetro
Micropipetas de 50 y/o 100 µL
Termostato

- ❖ **Material por grupo de trabajo**

Tubos de ensayo	8
Gradilla para tubos	1
Pipeta graduada de 5 mL	2

- ❖ **Material biológico**

Plasma heparinizado y/o suero sanguíneo humano	1.0 mL
Plasma heparinizado y/o suero sanguíneo de cordero	1.0 mL

- ❖ **Reactivos**

Reactivo SERA – PAK® PLUS

Composición.

	Buffer de Fosfato, pH = 7.4	13.8	mmol/L
	Fenol	10	mmol/L
	4-aminoantipirina	0.3	mmol/L
	Glucosa oxidasa	≥ 210	U/L
	Peroxidasa	≥ 700	U/L
	Azida de sodio	0.05	%
Estándar	Glucosa	100	mg/dL
		1	g/L
		5.56	mmol/L

PRECAUCIONES:

- ❖ **UTILIZAR GUANTES.**
- ❖ **NO DESECHAR LOS RESIDUOS EN EL LAVADERO**

V. PROCEDIMIENTO.

Sacar el kit de la nevera y dejarlo a temperatura ambiente por lo menos 30 minutos antes de utilizarlo.

En cuatro tubos de ensayo, limpios y secos, marcados como blanco, estándar, suero y plasma, proceder según la secuencia de la siguiente tabla.

TABLA DE PROCEDIMIENTO – DETERMINACION DE GLUCOSA

		TUBO→	BLANCO	ESTÁNDAR	SUERO	PLASMA
↓SECUENCIA -SOLUCIÓN						
1°	REACTIVO SERA-PAK® PLUS, PARA GLUCOSA		3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
2°	AGUA DESTILADA		30 µL	-	-	-
3°	ESTÁNDAR		-	30 µL	-	-
4°	MUESTRA		-	-	30 µL	30 µL
5°	Mezclar bien e incubar a 37°C por 10 minutos					
6°	Leer absorbancia a 500nm en celda de 1 cm de paso de luz, el color es estable mínimo 1 hora					

VI. TABLAS DE DATOS

El estudiante debe elaborar la tabla de datos con base en el procedimiento e incluirla en preinforme correspondiente.

VII. PARA EL ANÁLISIS DE LA PRÁCTICA.

- ❖ Realizar los cálculos correspondientes, según:

$$\text{Glucosa en mg/dL} = \frac{\text{ABSORBANCIA DE LA MUESTRA}}{\text{ABSORBANCIA DEL ESTANDAR}} \times 100 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Glucosa en mmol/dL} = \frac{\text{ABSORBANCIA DE LA MUESTRA}}{\text{ABSORBANCIA DEL ESTANDAR}} \times 5.56 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucosa en g/dL} = \frac{\text{ABSORBANCIA DE LA MUESTRA}}{\text{ABSORBANCIA DEL ESTANDAR}} \times 1 \text{ g/L}$$

- ❖ Analizar los resultados obtenidos, por comparación con los niveles promedio de glucosa consultados para el preinforme, y establecer si hay alguna condición de enfermedad y de que clase
- ❖ Plantear todas las ecuaciones químicas de las reacciones en las que se fundamenta el análisis.
- ❖ Consultar sobre las familias de enzimas a las que pertenecen las enzimas empleadas por este método.
- ❖ Complementar según las instrucciones adicionales del docente.

VIII. BIBLIOGRAFÍA.