



# MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOQUÍMICA

ABRIL 2011





## ÍNDICE

	<b>Pág</b>
<b>Índice</b>	
<b>Presentación</b>	
<b>Práctica 1</b>	
<b>Práctica 2</b>	
<b>Práctica 3</b>	
<b>Práctica 4</b>	
<b>Práctica 5</b>	
<b>Práctica 6</b>	
<b>Práctica 7</b>	
<b>Práctica 8</b>	
<b>Práctica 9</b>	
<b>Práctica 10</b>	
<b>Práctica 11</b>	
<b>Bibliografía</b>	
<b>Anexo.- Preparación de Reactivos</b>	





## **PRACTICA No. 1**

### **IDENTIFICACIÓN DE MATERIALES DE USO COMÚN EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA.**

#### **INTRODUCCIÓN**

El uso del material para llevar a cabo una prueba, cualquiera que sea, es de suma importancia para que se realice en forma adecuada. La elección de los materiales estará de acuerdo con las características y funciones que éste tenga. En general, los materiales de vidrio se pueden clasificar como material de medición y de contención.

#### **OBJETIVOS**

El discente conocerá el material de laboratorio más comúnmente utilizado en el laboratorio de Bioquímica.

#### **MATERIAL**

- Pipetas (terminales, no terminales, volumétricas)
- Matraces volumétricos
- Bureta
- Probeta
- Matraces erlenmeyer
- Vaso de precipitado
- Tubos de ensaye

#### **MÉTODO**





Los alumnos llevarán a cabo la medición de agua utilizando los diferentes materiales de laboratorio así como una discusión dirigida en el laboratorio.

## **CUESTIONARIO**

1. ¿Cómo se clasifica el material empleado en las prácticas de laboratorio?
2. ¿Cuáles son los cuidados que se deben tener en cuanto a bioseguridad?
3. ¿Qué precauciones debes tener en el laboratorio?





## **PRACTICA No. 2**

### **IDENTIFICACIÓN Y MANEJO DE EQUIPOS DE USO COMÚN EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA.**

#### **INTRODUCCIÓN**

El uso del equipo para llevar a cabo una prueba, cualquiera que sea, es de suma importancia para que se realice en forma adecuada. La elección del equipo estará de acuerdo con las características y funciones que éste tenga y nos sea útil para una práctica determinada que queramos realizar.

#### **OBJETIVOS**

El discente identificará y manejará el equipo comúnmente utilizado en el laboratorio de Bioquímica.

#### **EQUIPOS**

- Balanza analítica
- Balanza granataría
- Espectrofotómetro
- Potenciómetro
- Centrífuga
- Baño maría
- Estufa de laboratorio
- Microscopio óptico

#### **MÉTODO**

Se llevará a cabo una demostración práctica de cada uno de los equipos y una discusión dirigida en el laboratorio.





## CUESTIONARIO

1. ¿Que medidas de seguridad para el uso correcto del equipo crees que se deban llevar a cabo?
2. Menciona y describe brevemente que otros equipos consideras que sean de importancia en el laboratorio médico.
3. ¿Solamente en el laboratorio de medicina se pueden utilizar los equipos mencionados anteriormente? Si escribes como respuesta “si o no”, menciona porque y en que otras disciplinas se podrían utilizar.

## PRÁCTICA # 3.- PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

### INTRODUCCIÓN

Una solución es una dispersión homogénea (en forma iónica o molecular) de un sólido, líquido o gas, en el seno de un líquido, y pueden ser Molares, Normales, Saturadas, Amortiguadoras o Buffer, Porcentuales, Hipertónicas, Isotónicas, etc.

### OBJETIVO:

El alumno llevará a cabo la preparación de soluciones normales, molares y porcentuales.

### MATERIAL:

• Probeta graduada de 100 mL	• Balanza
• frasco de 100 ml con tapón de rosca	• matraz aforado de 100 mL
• vaso de precipitado de 250 mL	• matraz aforado de 50 mL
• pipeta graduada de 10 mL	• espátula
• pipeta graduada de 1 mL	

### REACTIVOS:





<ul style="list-style-type: none"><li>• HCl concentrado</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• NaCl</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• NaOH granular</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada</li></ul>

### MÉTODO:

A: Preparación de soluciones normales, molares, porcentuales

1. Preparar 100 mL de una solución normal de HCl, guardar y etiquetar correctamente.
2. Preparar 100 mL de una solución molar de NaOH, guardar y etiquetar correctamente.
3. Preparar 100 mL de una solución porcentual de NaCl, guardar y etiquetar correctamente.
4. En el reporte a entregar describir cómo se elaboró cada solución
  - Anotar observaciones

### CUESTIONARIO:

1. Escribir las definiciones de solución normal y molar.
2. ¿Qué significa y cómo se preparan las soluciones porcentuales v/v, v/p y p/v?
3. Describa y exprese la diferencia entre unidades físicas y unidades químicas en las soluciones.
4. ¿Cómo se elabora una solución amortiguadora?

## PRÁCTICA # 4.- TITULACIÓN DE SOLUCIONES

### INTRODUCCIÓN

La titulación es el proceso en el cual un reactivo de la solución (el titulante) se añade cuidadosamente a la solución de otro reactivo y se determina el volumen del titulante necesario para que la reacción se complete.

### OBJETIVO





El discente realizará reacciones para demostrar las propiedades físicas y químicas de los carbohidratos.

## MATERIAL

• Pipeta volumétrica de 10 ml	• soporte universal
• Pipetas volumétrica de 5 ml	• Embudo
• Vaso de precipitado de 100 ml	• Matraces erlenmeyer de 50 ml
• Agitador	•
• Bureta de 25 ml	•
• Pinzas de 3 dedos	•

## REACTIVOS

• Fenolftaleína
• NaOH1 N
• HCl 1 N

## MÉTODO

1. Utilizando una pipeta volumétrica, medir 10 ml de la solución a titular en un matraz erlenmeyer de 50 ml.
2. Adicionar 2 gotas de fenolftaleína y agitar.
3. Agregar gota a gota la solución con la que se titula hasta neutralizar la solución.
4. Realizar los cálculos de acuerdo con la fórmula y determinar la concentración de la solución titulada:

$$N1V1 = N2V2$$

## CUESTIONARIO

1. ¿Qué es un indicador?







2. Menciona al menos 3 indicadores con el rango de pH en el que se utilizan.

## **PRÁCTICA NO. 5**

### **MEDICIÓN DEL pH EN DIFERENTES LÍQUIDOS**

#### **INTRODUCCIÓN**

Los límites de la escala de pH habituales se han colocado en 0 y 14, que corresponden aproximadamente a la realidad de las posibilidades prácticas de tener soluciones con ésta concentración de pH  $[H^+]$ . Aunque teóricamente sería posible tener pH menores de 0 o mayores de 14, en la práctica las soluciones muy concentradas o álcalis fuertes tienden a disociarse relativamente menos que las diluídas, y es difícil tener en una solución más de 1 g (1 equivalente) de  $[H^+]$  libre por litro, o más de 17 g (1 equivalente) de  $[OH^-]$  por litro.

#### **OBJETIVO**

El discente comprobará por diferentes métodos el pH (papel pH, potenciómetro) y determinará el pH de algunas sustancias y líquidos corporales.

#### **MATERIAL**

- vasos de precipitado de 50 mL
- pipetas graduadas de 5 mL
- Potenciómetro
- Gasas
- Tiras reactivas para pH
- Papel secante





## REACTIVOS

- Agua destilada
- Muestras de diferentes líquidos

## MÉTODO

1. Determinar el pH de las diferentes muestras utilizando tiras reactivas.
2. Colocar los líquidos en un vaso de precipitado, y medir el pH con el potenciómetro previamente calibrado.

## CUESTIONARIO

1. Defina pH
2. ¿Qué significa solución ácida, básica y neutra?
3. ¿Cuál es el pH que presentan la mayoría de los líquidos corporales?





## **PRÁCTICA # 6.- EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CLORURO DE SODIO SOBRE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS**

### **INTRODUCCIÓN**

En general, las membranas celulares son permeables al agua y a algunos solutos e impermeables a otros, pero las concentraciones molares en equilibrio y por lo tanto las presiones osmóticas, de un lado a otro de la membrana, son iguales. Una situación fisiológica dada se define en relación a la concentración de las soluciones en ambos lados de una membrana, las soluciones son isoosmóticas o isotónicas, cuando una solución tiene concentración mayor que la del otro lado es hipertónica y, en cambio, la solución con menor concentración, es hipotónica.

### **OBJETIVO**

El discente describirá los efectos de la concentración de cloruro de sodio en una solución sobre los eritrocitos.

### **MATERIAL**

- tubos de ensayo de 10X100 mm
- gradilla
- Pipeta pasteur
- Bulbo de plástico
- Microscopio óptico
- portaobjetos
- cubreobjetos

### **REACTIVOS**

- Sangre completa con anticoagulante (EDTA)

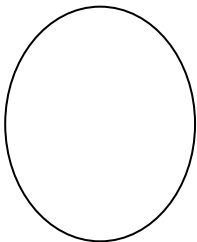




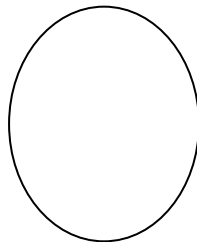
- Soluciones de cloruro de sodio: hipotónica, isotónica e hipertónica

## MÉTODO

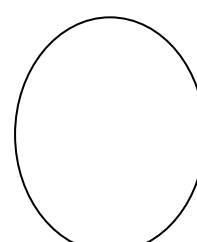
1. Rotular cada uno de los tubos con el nombre de la solución que contendrá y colocarlos en la gradilla.
2. Adicionar 1 ml de la solución correspondiente en cada tubo.
3. Añadir utilizando la pipeta pasteur 4 gotas de sangre completa a cada tubo, agitar y dejar en reposo.
4. Colocar 1 gota de la solución en un portaobjetos, cubrir con un cubreobjetos y observar bajo el microscopio con el objetivo seco débil y seco fuerte.
5. Repetir el procedimiento anterior para cada solución.
6. Dibujar y anotar los resultados de las observaciones.



Sol. Isotónica



Sol. Hipotónica



Sol. Hipertónica





## CUESTIONARIO

3. Defina el concepto de solución
4. Describir brevemente que le sucede a los glóbulos rojos al contacto con la solución de cloruro de sodio.
5. Defina el concepto de hemólisis
6. Defina qué es la presión osmótica y la difusión.





## PRÁCTICA # 7.- REACCIONES DE IDENTIFICACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS

### INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son compuestos polihidroxiados aldehídicos o cetónicos y de acuerdo a su cadena pueden ser monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los azúcares son compuestos caracterizados por desviar la luz polarizada, por lo que aquellos compuestos que desvían la luz a la derecha son considerados como dextrorrotatorios o que su rotación es positiva y las sustancias que desvían la luz polarizada a la izquierda son levorrotatorios o bien su rotación es negativa. Esto es posible determinarlo con un polarímetro.

Los carbohidratos representan el mayor suministro en la alimentación y la principal fuente de energía para la población mundial. A pesar de su mayor utilización como fuente energética, sólo una pequeña cantidad se almacena en el cuerpo. Cuando la ingestión calórica sobrepasa el consumo diario, los carbohidratos en exceso se convierten fácilmente en grasas las cuales se almacenan en el tejido adiposo.

Desde el punto de vista clínico y nutricional es importante identificar y cuantificar algunos carbohidratos importantes, tanto en raciones alimenticias como en productos elaborados y materiales biológicos.

### OBJETIVO

El discente realizará reacciones para demostrar las propiedades físicas y químicas de los carbohidratos.

### MATERIAL

• gradilla	• tela de alambre
• pipetas graduadas de 5 ml	• baño maría a 20°C
• tubos de ensaye de 13X100 mm	• baño maría a ebullición
• mechero bunsen	• baño maría de hielo
• soporte universal	• pinza para tubo de ensaye
• tripié	• bureta de 100 ml

### REACTIVOS

• Reactivo de Mollish	• Solución coloidal de almidón
• Reactivo de Benedict	•





• Lugol	•
• Ácido sulfúrico concentrado	•
• Acetona	•
• Hidróxido de sodio 0.1 N	•
• Agua destilada	•
• Solución de diferentes azúcares	•

## MÉTODO

### REACCIÓN CON EL REACTIVO DE BENEDICT

El ión  $\text{Cu}^{+2}$  se estabiliza en medio alcalino para formar un quelato con el citrato de sodio dando un precipitado rojo-naranja en presencia de azúcares reductores.

1. Colocar 1 ml de cada solución de azúcares en diferentes tubos de ensaye.
2. Añadir a cada tubo 1 ml de NaOH 0.1 N
3. Verter 1 ml de reactivo de Benedict.
4. Mezclar los tubos al mismo tiempo.
5. Calentar todos los tubos a baño en ebullición por 1 min.
6. Sacar del baño y dejar enfriar en baño de hielo, observar y anotar el resultado.

### REACCIÓN DE YODO

Ésta prueba se utiliza para caracterizar a los almidones según sea el tipo (amilosa o amilopectina) dando una coloración característica para cada uno.

1. Colocar en diferentes tubos de ensaye 1 ml de las diferentes soluciones de azúcares y llevar a ebullición por dos minutos, dejar enfriar 1 minuto.
2. Agregar a cada tubo 1 gota de lugol.
3. Mezclar y anotar el color que se observa.

Una reacción positiva dará una coloración azul intensa.





## REACCIÓN CON EL REACTIVO DE MOLLISH

Los glúcidos se deshidratan con ácido sulfúrico concentrado dando origen a furfurales. Éstos se condensan con componentes fenólicos como el  $\alpha$ -naftol, para dar sustancias químicas coloreadas.

1. Colocar en diferentes tubos 1 ml de cada una de las soluciones de carbohidratos.
2. Añadir a cada tubos 2 gotas de reactivo de Mollish, 1 ml de acetona y 1 ml de agua destilada.
3. Mezclar los 10 tubos al mismo tiempo.
4. Agregar lentamente 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo de ensaye.
5. Anotar lo observado

## CUESTIONARIO

7. Mencionar las funciones de los carbohidratos.
8. Defina la palabra disacárido.
9. Explique las propiedades físicas y químicas de los carbohidratos.
10. Explique que diferencia hay entre los almidones y el glucógeno.
11. ¿Cuál es el carbohidrato más abundante en el reino vegetal?







## PRÁCTICA NO. 8.- REACCIONES DE IDENTIFICACIÓN DE LÍPIDOS: PROPIEDADES GENERALES.

### INTRODUCCIÓN:

Éstas biomoléculas se encuentran en todos los tejidos de los animales, vegetales y en la flora y fauna microscópicas. Todos los lípidos contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, y algunos nitrógeno, fósforo y azufre. El metabolismo intermedio de los lípidos en animales superiores está íntimamente relacionado con el de los glúcidos y con algunas degradaciones de las proteínas, pues sus vías metabólicas tienen diversos puntos en común; forman la parte principal de los combustibles productores de energía del cuerpo.

Lípido

a.- Sustancias insolubles en agua pero solubles en los disolventes (de las grasas) como éter, cloroformo, éter de petróleo, etc.

b.- Son ésteres reales o potenciales de los ácidos grasos

### OBJETIVO:

El discente observará y realizará diferentes pruebas para la identificación de los lípidos.

### MATERIAL:

• tubos de ensaye de 13X100 mm	• mechero Fisher
• Gradilla	• pipetas gradadas de 5 ml
• gotero	• pinzas portatubos
• perilla	• tripié
• tela de alambre	•

### REACTIVOS:

• NaOH en solución	• Sales biliares
• Al(OH) <sub>3</sub> en solución	• Aceite de cocina
• NaCl	• Éter





• Aceite oliva	• Cloroformo
• Agua destilada	• Alcohol
• Manteca de cerdo	•

### EMULSIFICACIÓN:

Cuando un aceite es agitado vigorosamente con el agua, el primero se separa en porciones más pequeñas dando como resultado la formación de una emulsión. Por lo tanto podríamos decir que una emulsión es una dispersión de un líquido en otro, en el que no es miscible. Ésta emulsión no es estable, ya que después de transcurrido poco tiempo, los 2 líquidos se separan nuevamente. Si al agua se le agregan sales biliares, se estabiliza por más tiempo.

### MÉTODO

1. En un tubo de ensaye agregar 5 ml de agua y 10 gotas de aceite vegetal.
2. Agitar fuertemente y observar cuanto tiempo dura la emulsión.
3. En otro tubo de ensaye, depositar 5 ml de agua destilada, 2 gotas de sales biliares y 10 gotas de aceite vegetal, mezclar y observar cuanto tiempo dura la emulsión.

### SAPONIFICACIÓN:

Hidrólisis de una grasa por medio de un álcali. Los productos resultantes de ella son el glicerol y las sales alcalinas de los ácidos grasos, que reciben el nombre de jabones (son agentes limpiados debido a su acción emulsificante)

### MÉTODO

1. Colocar 3 ml de NaOH en un tubo de ensaye y 3 ml de  $Al(OH)_2$  en otro.
2. Agregar 10 gotas de aceite de oliva a cada tubo y mezclar bien
3. Hervir a fuego directo 4 veces cada uno de los tubos, por dos minutos
4. Vaciar en tres tubos el contenido de NaOH y  $Al(OH)_2$  por separado, dejando en ellos el precipitado formado.





5. Agregar a cada uno de los tubos con el precipitado 3 ml de agua destilada. Agitar y observar.
6. Agregar a cada uno de los tubos NaCl a saturación
7. Observar la formación de precipitado que se aglomera en la parte inferior del tubo (después de un breve reposo).
8. Decantar el líquido y observar el precipitado en el mismo tubo
9. Agregar 3 ml de agua destilada, agitar y observar si se disuelve y forma espuma jabonosa.

### INDICE DE YODO:

Mide el número de gramos de yodo fijados en cada 100 g de grasa.

### MÉTODO

1. Tomar 3 tubos de ensaye y colocar a cada uno de ellos 2 ml de alcohol en cada uno y 1 g de una muestra de lípido diferente en cada tubo (manteca, aceite de cocina y aceite de oliva).
2. Colocar en baño María a ebullición por un minuto cada tubo y dejar enfriar.
3. Agregar 10 gotas de lugol a cada tubo y mezclar.
4. Agitar perfectamente y observar el resultado anotando cuales son los cambios para cada una de las muestras.

### SOLUBILIDAD:

Todas las grasas son insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos

### MÉTODO

1. Tomar 4 tubos de ensaye y colocar a cada uno de ellos 2 ml de los diferentes solventes (éter, cloroformo, alcohol y agua).
2. Agregar 10 gotas de aceite vegetal a cada uno, repetir la prueba para el aceite de cocina.
3. Agitar perfectamente y observar el resultado anotando cuales son los mejores solventes, para cada una de las muestras.

### CUESTIONARIO:

1. Mencione cual de los solventes es el mejor disolvente de lípidos.
2. Explique por qué la emulsión con sales biliares es más estable que sin ellas.
3. ¿Cuál es la función de los lípidos en el organismo?
4. Describa la clasificación de los lípidos.
5. ¿Cuáles son las principales zonas de reserva de lípidos en el organismo?







## **PRÁCTICA NO. 9.- DEMOSTRACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA CATALASA**

### **INTRODUCCIÓN**

La catalasa pertenece junto con las peroxididasas al grupo de las hidropoxididasas. El papel fisiológico de la catalasa consiste en la destrucción del peróxido de hidrógeno funcionando como resguardo fisiológico para impedir su acumulación, localizándose en la mayor parte de los tejidos animales. Ésta enzima aumenta bruscamente en los enfermos con anemia perniciosa y su disminución se observa en adolescentes enfermos con hepatitis viral o con neoplasias malignas.

### **OBJETIVO**

El discente observará el índice de la actividad de la catalasa en el desprendimiento de oxígeno molecular que se forma con la descomposición del peróxido de hidrógeno.

### **MATERIAL Y REACTIVOS**

- Gradilla
- Pipetas graduadas
- Baño maría
- Perilla de plástico
- Mechero
- Tubos de ensaye
- Sangre nitratada
- Peróxido de hidrógeno
- Agua destilada

### **MÉTODO**

1. Enumerar los tubos de ensaye
2. Agregar a los tubos 2 ml de agua destilada
3. Introducir uno de los tubos en baño en ebullición (tubo 2)





4. Añadir a los tubos 2 gotas de sangre (tubos 2, 3, 4 y 5)
5. Introducir los tubos 2 y 3 al baño maría a 37°C, el 4 en ebullición, y el 1 y 5 en ninguno
6. Agregar a todos los tubos 0.5 ml de peróxido de hidrógeno

## CUESTIONARIO

1. ¿En qué casos se puede encontrar alguna alteración de la enzima catalasa?
2. ¿Sirve la determinación de la catalasa del plasma para apoyar el diagnóstico en procesos inflamatorios severos?
3. ¿En qué casos aumenta la fosfatasa alcalina?
4. ¿Qué órganos están relacionados con las enzimas ALT y AST?

## PRÁCTICA # 10.- DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS EN LECHE

### INTRODUCCIÓN

Las proteínas de la leche están constituidas por las caseínas y por las proteínas del suero o proteínas solubles. La proporción varía de una raza lechera a otra pero es el componente más constante dentro de un mismo hato lechero. Los valores normales se sitúan entre 28 y 35 g/L.

### OBJETIVO

El discente realizará la determinación del contenido proteico en diversas muestras de leche.

### MATERIAL

- Pipetas volumétricas de 10 y 5 ml
- Vasos de precipitado de 250 ml





- Agitador

## REACTIVOS

- Oxalato de potasio
- Sulfato de cobalto
- Fenolftaleína
- Solución de NaOH
- Formaldehído
- Leche

## MÉTODO

7. Con pipeta volumétrica medir 25 ml de muestra y vertir en dos vasos de precipitado (problema y testigo).
8. Adicionar 1 ml de oxalato de potasio a cada vaso.
9. Agregar al testigo 0.5 ml de sulfato de cobalto.
10. Agregar a la muestra problema 4 gotas de fenolftaleína y titular con la solución de NaOH hasta obtener una coloración igual al testigo.
11. Adicionar a la muestra problema 6 ml de formaldehído, agitar y titular nuevamente con NaOH.
12. Realizar los cálculos correspondientes





## **PRÁCTICA # 11.- MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, UREA Y CREATININA EN SANGRE**

### **INTRODUCCIÓN**

La determinación de metabolitos en sangre es un indicador del estado metabólico del organismo. Dentro de las pruebas de laboratorio más sencillas dentro de ésta área se encuentran la determinación de glucosa, urea y creatinina por métodos espectrofotométricos.

### **OBJETIVO**

El discente realizará la determinación de la concentración de glucosa, urea y creatinina en suero

### **MATERIAL**

- Micropipetas
- Tubos de ensaye
- Kits comerciales de diagnóstico
- Espectrofotómetro
- Baño maría

### **REACTIVOS**

Los indicados en los insertos para cada uno de los metabolitos.







## MÉTODO

Se seguirán las indicaciones de los insertos para cada uno de los metabolitos, tanto para la realización de las determinaciones como para los cálculos de las concentraciones.

## CUESTIONARIO:

1. ¿Qué indica un nivel alto de glucosa en sangre?
2. ¿Cómo se relacionan los resultados de urea y creatinina con las rutas metabólicas?





## BIBLIOGRAFÍA

- Díaz Zagoya JC; Leonés Oropeza MA. Bioquímica: un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida. Mc Graw-Hill. México. 2007.
- Hicks, J.J. Bioquímica. Mc Graw-Hill. 2ª edición. México. 2007.
- Mathews, D.K; Van Holde, KE; Ahern KG. Bioquímica. Pearson Prentice Hall. 4ª edición. España.m 2002.
- McKee, T y McKee JR. Bioquímica. Mc Graw-Hill. 3ª edición. México. 2009.
- Murray RK, Bender DA, Bothanik M, Kennely, PJ. Bioquímica Ilustrada de Harper. Mc Graw-Hill Lenga. México. 2010.

## ACTUALIZACIÓN

Manual de Prácticas de Fisiología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México; 4 de junio de 2013.

## FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTEENIA

### Director:

Dr. en C. Mauro Victoria Mora

### Elaboró:

Dra. María Uxúa Alonso Fresán  
IA María Lourdes García Bello  
M. en C. Susana Goñi Cedeño  
QFB Héctor Roberto Díaz Guadarrama

### Revisó:

Dra. María Uxúa Alonso Fresán  
IA María Lourdes García Bello  
M. en C. Susana Goñi Cedeño  
QFB Héctor Roberto Díaz Guadarrama

