

BIOHACKING PEPTIDOS

RECONSTITUCIÓN DE PÉPTIDOS

Guía de laboratorio para pasar de material liofilizado a una solución reproducible

Solubilidad | Diluyente | Concentración | Estabilidad | Trazabilidad

MÉTODO | CONTROL DE VARIABLES | CALIDAD | REPRODUCIBILIDAD

ALCANCE DE ESTA GUÍA

Reconstituir significa devolver un material liofilizado a una solución definida para un ensayo de laboratorio. No existe un volumen, diluyente o tiempo de estabilidad universal para todos los péptidos. Esta guía explica el razonamiento técnico y la documentación que deben acompañar el proceso; no ofrece instrucciones de administración humana ni esquemas de dosificación.

BIOHACKING PEPTIDOS

Documento editorial · Agosto 2026

No es solo “agregar agua”

Un péptido liofilizado contiene muy poca agua y se presenta como un sólido seco. **La reconstitución consiste en añadir un solvente compatible para obtener una solución cuya concentración, composición y condiciones sean adecuadas para el ensayo previsto.**

Por qué se liofilizan los péptidos

La liofilización elimina agua después de congelar el material y aplicar vacío. Para muchas moléculas sensibles, reducir el agua disponible puede mejorar la estabilidad durante almacenamiento y transporte. Aun así, cada secuencia conserva vulnerabilidades propias frente a humedad, temperatura, oxidación, pH y agregación.

UNA DIFERENCIA ESENCIAL

“Liofilizado” describe el estado físico del material; no significa que sea estéril, que tenga estabilidad ilimitada o que pueda reconstituirse con cualquier líquido. Esas características requieren documentación y validación por separado.

Antes de reconstituir, el laboratorio debería conocer

- La identidad y forma química del péptido.
- La cantidad nominal y, cuando sea posible, el ensayo de contenido.
- La solubilidad esperada de la secuencia.
- El diluyente compatible con el método experimental.
- La concentración final requerida para el ensayo.
- Las condiciones de estabilidad y almacenamiento posteriores.

Agua bacteriostática no es la respuesta universal

La selección del diluyente depende de la secuencia del péptido y del uso experimental. Muchos péptidos son solubles en agua o buffers acuosos, pero otros requieren ajustes de pH, soluciones salinas, ácidos o bases suaves, o pequeñas cantidades de cosolventes compatibles con el ensayo.

Agua bacteriostática

Bacteriostatic Water for Injection es agua estéril para inyección que contiene habitualmente 0,9% de alcohol bencílico como conservante. En productos farmacéuticos, su uso depende de la etiqueta específica del medicamento. No debe convertirse en un diluyente estándar para todo péptido de investigación.

Agua estéril, agua ultrapura y buffers

En investigación pueden utilizarse agua estéril, agua ultrapura, PBS u otros buffers, dependiendo del objetivo. El solvente que funciona para un ensayo de HPLC puede no ser apropiado para cultivo celular; un conservante útil en un vial multidosis puede interferir con un experimento biológico.

CORRECCIÓN DEL TEXTO ORIGINAL

El alcohol bencílico puede limitar crecimiento bacteriano en determinados contextos, pero no “estabiliza” químicamente todos los péptidos ni garantiza varios usos. Tampoco convierte una preparación en estéril si la materia prima o el proceso no lo eran.

Un flujo de trabajo reproducible

01

Revisa documentación

Confirma lote, COA, cantidad nominal, solubilidad y condiciones de almacenamiento. Si existe una ficha técnica específica, esa información prevalece.

02

Equilibra la temperatura

Si el vial está congelado, deja que alcance gradualmente la temperatura de trabajo antes de abrirlo para reducir condensación sobre el sólido.

03

Prepara el área

Trabaja en una superficie limpia con material volumétrico adecuado al ensayo. Para trabajo estéril se requiere el entorno y la técnica aséptica correspondientes.

04

Mide el solvente

Usa una pipeta o dispositivo volumétrico calibrado para medir el volumen definido por el protocolo experimental.

05

Añade de forma controlada

Introduce el solvente lentamente. La forma exacta de mezcla debe adaptarse a la secuencia y al proveedor; algunas moléculas toleran vortex suave y otras requieren manipulación más conservadora.

06

Observa la solución

Registra claridad, color, partículas, precipitación o espuma. No asumas que toda solución debe ser completamente transparente.

07

Homogeneiza según método

Mezcla solo lo necesario para obtener homogeneidad sin someter innecesariamente la muestra a calor o estrés mecánico.

08

Etiqueta y documenta

Registra lote, solvente, volumen, concentración calculada, fecha/hora, operador y condiciones de almacenamiento.

Cuando el péptido no se disuelve como esperabas

La solubilidad está determinada en gran medida por la secuencia de aminoácidos, la carga neta, la hidrofobicidad, el pH, la concentración y la composición del solvente. Por eso, dos péptidos visualmente similares pueden necesitar condiciones de reconstitución completamente diferentes.

Buenas prácticas

- Consultar la ficha de solubilidad antes de disolver todo el material.
- Cuando sea posible, probar primero una pequeña cantidad representativa.
- Ajustar pH de forma gradual y documentada cuando el protocolo lo requiera.
- Evitar introducir solventes orgánicos incompatibles con ensayos celulares o bioquímicos.
- No interpretar precipitación como prueba automática de baja pureza: puede ser un problema de solubilidad o condiciones.
- No elevar temperatura de manera improvisada; algunos péptidos son sensibles a calor u oxidación.

SI QUEDAN PARTÍCULAS

No se debe asumir que “esperar unos minutos” resolverá cualquier precipitado. Primero hay que confirmar si el material debería ser soluble a esa concentración y pH. Forzar la disolución puede alterar el compuesto o el ensayo.

La aritmética es simple; la metrología es lo que le da valor

La concentración se expresa como cantidad de sustancia por volumen. Para un material de investigación, la fórmula básica es:

Concentración (mg/mL) = cantidad de material (mg) ÷ volumen final (mL)

Ejemplo analítico

Si un estándar de referencia contiene 2 mg de material y el protocolo indica preparar un volumen final de 4 mL, la concentración nominal es 0,5 mg/mL, equivalente a 500 µg/mL. Una alícuota de 100 µL contendría nominalmente 50 µg del material.

MATERIAL	VOLUMEN FINAL	CONCENTRACIÓN	EJEMPLO DE ALÍCUOTA
1 mg	10 mL	0,1 mg/mL = 100 µg/mL	100 µL = 10 µg
2 mg	4 mL	0,5 mg/mL = 500 µg/mL	100 µL = 50 µg
5 mg	10 mL	0,5 mg/mL = 500 µg/mL	200 µL = 100 µg
10 mg	20 mL	0,5 mg/mL = 500 µg/mL	1 mL = 500 µg

POR QUÉ NO USAMOS “UNIDADES DE JERINGA” COMO DOSIS

Las marcas U-100 pertenecen a jeringas calibradas para insulina. En un laboratorio es más claro y reproducible documentar volumen en µL o mL y concentración en µg/mL o mg/mL. Además, convertir una tabla de concentración en instrucciones de extracción con jeringa puede confundirse con una guía de administración.

El número de la etiqueta no siempre es el número del ensayo

Los cálculos anteriores utilizan la cantidad nominal del vial. Para experimentos cuantitativos exigentes, la concentración real debería basarse en el ensayo de contenido o en una estandarización analítica, no únicamente en la cifra impresa en la etiqueta.

Por qué puede haber diferencia

- Contenido de agua residual en el material liofilizado.
- Sales, contraiones o excipientes.
- Variación del contenido real respecto a la cantidad nominal.
- Pérdidas por adsorción al vial o al material de laboratorio.
- Degradación durante almacenamiento.
- Errores volumétricos en la preparación.

EJEMPLO DE TRAZABILIDAD

Si el vial declara 10 mg pero el COA informa un ensayo de 9,6 mg de material activo por vial, un protocolo cuantitativo debería documentar cuál de las dos cifras se utilizó para calcular la concentración y por qué.

Qué registrar en el cuaderno de laboratorio

- Código y lote del vial.
- Cantidad nominal y dato de ensayo disponible.
- Solvente y lote del solvente.
- Volumen añadido y volumen final.
- Instrumento volumétrico utilizado.
- Concentración nominal calculada.
- Fecha, hora, operador y observaciones visuales.

“Refrigerar por semanas” no es una especificación científica

En solución, muchos péptidos son más susceptibles a hidrólisis, oxidación, agregación, adsorción y contaminación. La velocidad de esos procesos depende de la secuencia, el pH, el solvente, la concentración, la luz y la temperatura.

No existe una ventana universal

Una formulación farmacéutica aprobada puede tener un tiempo de uso después de reconstitución respaldado por estudios específicos. Un reactivo de investigación diferente no hereda automáticamente esa estabilidad. Si el proveedor no dispone de datos, el laboratorio debe establecer un criterio conservador o validar la estabilidad para su propio método.

Estrategias de laboratorio

- Mantener la solución bajo las condiciones recomendadas para la secuencia.
- Reducir exposición a luz cuando exista fotosensibilidad.
- Preparar alícuotas para evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación cuando sea compatible.
- Utilizar recipientes compatibles y considerar adsorción a superficies a bajas concentraciones.
- Definir una ventana de uso basada en datos, no en una regla genérica de internet.

EL CONSERVANTE NO SUSTITUYE ESTABILIDAD

Un conservante antimicrobiano puede reducir crecimiento microbiano bajo condiciones definidas, pero no previene oxidación, hidrólisis, desamidación, agregación u otras rutas de degradación del péptido.

Los problemas más frecuentes son de método, no de matemáticas

Usar un diluyente por costumbre

Seleccionar agua bacteriostática, PBS u otro solvente sin comprobar solubilidad ni compatibilidad.

Confundir pureza con contenido

Calcular concentración real usando “99% HPLC” como si fuera masa activa por vial.

No controlar el volumen final

Añadir un volumen aproximado impide reproducir la concentración.

Ignorar el pH

Una solución puede precipitar o degradarse aunque la cantidad de solvente sea correcta.

No documentar

Sin lote, solvente, volumen y fecha, el experimento deja de ser trazable.

Generalizar almacenamiento

Aplicar 2-8 °C o -20 °C a toda secuencia sin datos específicos.

Asumir esterilidad

Un vial liofilizado y un COA químico no demuestran que el material sea estéril.

Usar jeringas médicas como instrumento volumétrico principal

Para medición analítica, pipetas calibradas ofrecen una documentación metrológica más clara.

REGLA DE ORO

La reconstitución correcta es aquella que el laboratorio puede repetir y explicar: qué se disolvió, con qué, cuánto, cómo se midió, qué concentración se obtuvo y cómo se verificó la estabilidad.

Reconstitución: precisión antes que recetas universales

¿Cuánta agua debo añadir?

No existe una cantidad universal. El volumen se define por la concentración necesaria para el ensayo, la solubilidad, el rango de medición y la estabilidad de la solución.

¿Siempre se usa agua bacteriostática?

No. El diluyente depende de la molécula y del protocolo. En investigación pueden utilizarse agua, buffers u otros sistemas; un producto farmacéutico solo debe reconstituirse con el diluyente indicado en su etiqueta.

¿Hay que inyectar el agua contra la pared del vial?

Añadir solvente suavemente puede ser útil para minimizar espuma o estrés, pero no existe una regla universal. La técnica debe seguir la documentación específica del producto.

¿Está prohibido agitar?

No como regla absoluta. Algunas secuencias son sensibles al estrés mecánico y otras toleran vortex suave. La ficha técnica debe prevalecer.

¿Cuánto dura reconstituido?

Depende de la secuencia, formulación, pH, solvente, temperatura y concentración. Sin datos de estabilidad específicos, no es responsable prometer un número fijo de días o semanas.

¿Cómo calculo concentración?

Cantidad dividida por volumen final. Para investigación, documenta preferentemente mg/mL o µg/mL y los volúmenes en mL o µL.

¿Un vial reconstituido es automáticamente estéril?

No. La esterilidad depende del material, proceso y ambiente; no se demuestra mediante HPLC o COA químico convencional.

Referencias seleccionadas

1. U.S. Food and Drug Administration. Lyophilization of Parenterals. Inspection Technical Guide. FDA.
2. Thermo Fisher Scientific. Custom Peptide Storage and Dissolution / peptide handling guidance. Recommendations on storage, equilibration before opening and sequence-dependent solubility.
3. Thermo Fisher Scientific. General Protein Expression - Reconstitution/Solubility: peptide solubility depends on amino-acid composition and may require water, PBS, mild acid/base or other solvent systems.
4. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriostatic Water for Injection, USP labeling/recall information: sterile water containing 0.9% benzyl alcohol, intended as a diluent only according to instructions for the drug being administered.
5. U.S. Food and Drug Administration. Approved drug labeling examples demonstrating product-specific reconstitution and post-reconstitution stability requirements.
6. Zapadka KL, et al. Factors affecting the physical stability (aggregation) of peptide therapeutics. Interface Focus. 2017;7(6):20170030.
7. Al Musaimi O, et al. Strategies for Improving Peptide Stability and Delivery. Pharmaceuticals. 2022.
8. Hoofnagle AN, et al. Recommendations for generation, quantification, storage and handling of peptides used for mass-spectrometry-based assays. Clin Chem. 2016.
9. ICH Q1A(R2). Stability Testing of New Drug Substances and Products. International Council for Harmonisation.
10. ISO 8655 series. Piston-operated volumetric apparatus: metrological requirements for laboratory pipettes and related equipment.