

DIFUSIÓN Y ÓSMOSIS

10 grupos de estudiantes

1. OBJETIVO DEL EXPERIMENTO

El objetivo de este experimento es desarrollar una comprensión de las bases moleculares de la difusión y la ósmosis y su importancia fisiológica. Los estudiantes analizarán cómo el tamaño y la forma de las células determinan la velocidad de difusión, y cómo el tamaño del soluto y la concentración afectan la ósmosis en las membranas semipermeables.

También se puede realizar un tercer experimento opcional en donde los estudiantes también examinarán el potencial de agua en células de plantas vivas.

2. COMPONENTES para 10 grupos de estudiantes

Investigación I: área de superficie y tamaño de la célula

COMPONENTES	Conservación
A. Polvo de agar	Tª ambiente
B. Solución de fenolftaleína	Tª ambiente
C. Pellets de Hidróxido de Sodio (NaOH)	Tª ambiente

Investigación II: modelado de difusión y ósmosis

COMPONENTES	Conservación
D. Sacarosa en polvo	Tª ambiente
E. NaCl	Tª ambiente
F. Glucosa en polvo	Tª ambiente
G. Ovalbúmina	Tª ambiente
Tubos de diálisis	Tª ambiente

Investigación III: observación de la ósmosis en células vivas

COMPONENTES	Conservación
Soluciones de la Investigación II	Tª ambiente
Portaobjetos	Tª ambiente
Cubreobjetos	Tª ambiente
Pipetas de transferencia	Tª ambiente

NOTA: Tras la recepción, almacenar los componentes a las temperaturas indicadas.

NOTA: ESTE EXPERIMENTO NO CONTIENE ADN HUMANO. Ninguno de los componentes de este kit se ha preparado a partir de material humano.

NOTA: Todos los componentes de este kit están destinados a la investigación educativa. No pueden ser utilizados con fines de diagnóstico o médicos, ni pueden ser administrados o consumidos por seres humanos o animales.

2.1 Material requerido y no suministrado

Investigación I

- Vaso de precipitados *
- Regla
- Cuchillo sin filo y sin sierra, tira delgada de plástico duro o navaja de afeitar
- Placa caliente o microondas
- Cuchara de plástico
- Toallas de papel
- Temporizador o cronómetro
- HCl
- Bandeja poco profunda
- Agua destilada

Investigación II

- Balanzas
- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Papel cuadriculado
- Agua destilada
- Vasos de precipitados * (400 ml)

Investigación III

- Elodea o musgo **
- Microscopio

* Los vasos de precipitado pueden sustituirse por vasos de plástico desechables transparentes.

** La Elodea se puede comprar en compañías de suministros biológicos. El musgo se puede obtener de un invernadero o del bosque.

NOTA: Asegúrense que el material de vidrio esté limpio, seco y libre de residuos de jabón. Para mayor comodidad, se pueden comprar pipetas de transferencia desechables adicionales.

3. INTRODUCCIÓN

DIFUSIÓN

La **difusión** es el flujo neto de moléculas desde una región de alta concentración a una región de baja concentración. Esta diferencia en la concentración de una sustancia en el espacio se denomina **gradiente de concentración**. La difusión se debe al movimiento aleatorio de las partículas. Este fenómeno fue observado por primera vez por Robert Brown en 1827 y se llama **movimiento browniano**. Todos los objetos en movimiento tienen **energía cinética** o energía de movimiento. Las partículas de materia se mueven en líneas rectas hasta que colisionan con otras partículas.

Después de colisionar, las partículas se reblandecen, se mueven en línea recta hasta la siguiente colisión. No hay pérdida de energía. La difusión continuará hasta que no haya un gradiente de concentración (**Figura 1**).

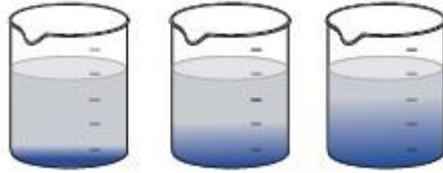


Figura 1: Difusión de moléculas. El movimiento aleatorio de soluto (partículas disueltas) y solvente (moléculas de agua) dará como resultado una solución distribuida uniformemente

En difusión, las moléculas se mueven aleatoriamente colisionando entre sí hasta que se distribuyen uniformemente. Por ejemplo, si uno pone una cucharadita de un tinte púrpura, permanganato de potasio, en un vaso de precipitados con agua, entonces las moléculas de tinte o soluto (moléculas disueltas) colisionarán aleatoriamente con las moléculas de agua o solvente. Estas colisiones aleatorias dentro de la solución dispersarán las moléculas de soluto y solvente hasta que estén uniformemente mezcladas. Sin embargo, las moléculas seguirán colisionando entre sí y se moverán aleatoriamente. En este punto, no hay un cambio general en la concentración. Esta condición se conoce como **equilibrio dinámico**. Un sistema es más estable cuando ha alcanzado el equilibrio. Un sistema tenderá a ir al equilibrio (estado energético más bajo y accesible) en ausencia de energía añadida (**Figura 2**).

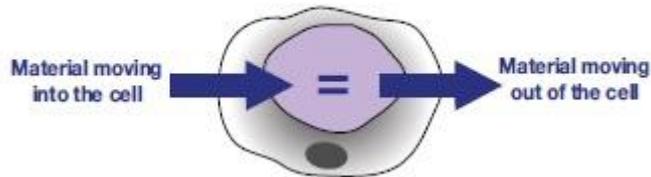


Figura 2: Equilibrio dinámico. Las moléculas todavía están en movimiento, pero no hay un cambio neto cuando se alcanza el equilibrio dinámico.

ÓSMOSIS

La **ósmosis** es un tipo especial de difusión. Es la difusión de solvente o agua a través de una **membrana semipermeable** (una membrana que permite la difusión de ciertos solutos y agua) desde un área de elevada concentración a una de baja concentración. Por ejemplo, si una solución acuosa de almidón 1 M se separa de una solución acuosa de almidón 0,5 M por una membrana semipermeable, las moléculas de agua se moverán desde la solución acuosa de almidón 0,5 M (concentración de molécula de agua más alta) hacia el almidón 1M más concentrado solución (concentración de molécula de agua más baja) hasta que exista un equilibrio de moléculas de agua entre las dos soluciones. Dado que la membrana semipermeable no permitió el paso de las moléculas de almidón, la solución de almidón 1 M aumentará en volumen a medida que el agua se mueva (**Figura 3**).

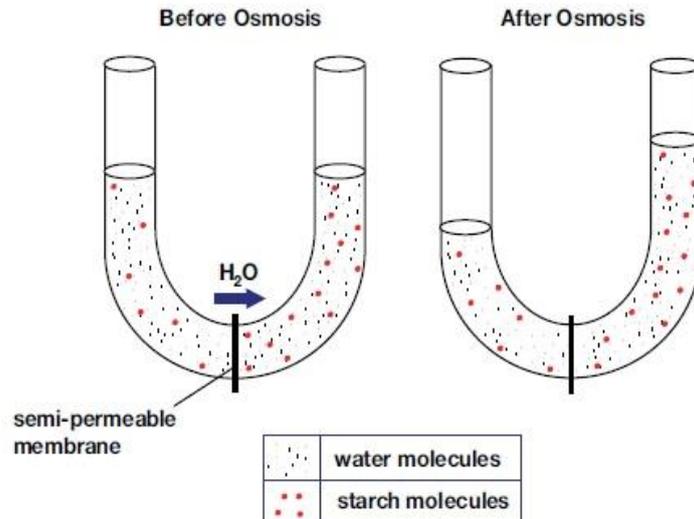


Figura 3: Ósmosis. Las moléculas de agua se moverán a través de una membrana semipermeable durante la ósmosis a una concentración más alta de una sustancia disuelta (soluto) que no puede pasar a través de la membrana (desde una solución hipotónica a una solución hipertónica).

Todos los organismos unicelulares y multicelulares están rodeados de soluciones de agua. Una solución en la que la concentración de sustancias disueltas o solutos es la misma que la concentración dentro de la célula es una **solución isotónica**. También significa que la concentración de agua es la misma que dentro de la célula. La célula está en equilibrio dinámico en una solución isotónica. Estas células vivas no se dañarán por una ganancia o pérdida de agua.

Una solución en la que la concentración de solutos es menor que la concentración dentro de la célula se denomina **solución hipotónica**. En esta situación, la concentración de agua es menor dentro de la célula. Una célula colocada en una solución hipotónica obtendrá agua por ósmosis y se hinchará en tamaño. Esto resulta en una presión interna. Una célula animal, que carece de una pared celular, se hinchará y puede lisarse, o estallar, en una solución hipotónica. Una célula vegetal, que tiene una pared celular rígida, será capaz de resistir la presión. Este aumento dentro de una célula vegetal se conoce como **presión de turgencia**. La **presión de Turgor** proporciona soporte y forma a las células de la planta (**Figura 4**).

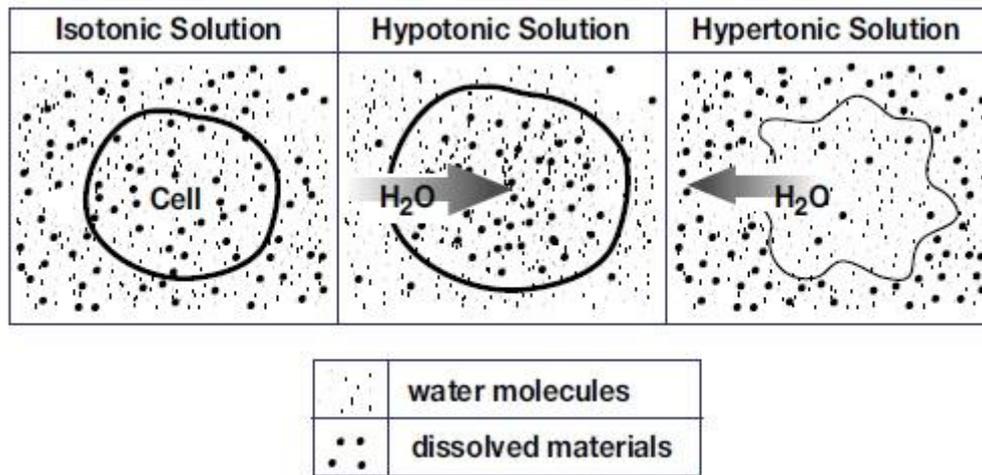


Figura 4: El efecto de la concentración en una célula. La cantidad de agua que entra y sale de las células colocadas en soluciones isotónicas es la misma. Las células seguirán siendo del mismo tamaño y forma. Las células colocadas en soluciones hipotónicas ganarán agua y se hincharán, mientras que las ubicadas en soluciones hipertónicas perderán agua y se reducirán.

Una **solución hipertónica** es una solución en la que la concentración de solutos es mayor que la concentración dentro de la célula. Por lo tanto, la concentración de agua es menor que dentro de la célula. Las células animales colocadas en una solución hipertónica perderán agua y se marchitarán debido a la disminución de la presión dentro de la célula. Una célula de planta colocada en una solución hipertónica perderá agua de su gran vacuola central. La membrana plasmática y el citoplasma se contraerán alejándose de la pared celular. El resultado final en las células vegetales es la pérdida de agua y una disminución en la presión de la turgencia, y se conoce como **plasmólisis**. Esto se conoce comúnmente como marchitamiento.

TRANSPORTE PASIVO Y ACTIVO

La membrana plasmática es una barrera altamente selectiva que consiste en dos capas de lípidos. Incrustadas en estas capas hay una gran variedad de proteínas, glicoproteínas y glicolípidos. Los componentes de la membrana están siempre en un estado dinámico de flujo, que puede crear poros transitorios. Los solutos pueden moverse a través de la membrana mediante transporte pasivo o activo. El **transporte pasivo** ocurre cuando una molécula de soluto se difunde por un gradiente de concentración. No hay gasto de energía. No se usa ATP. Aquellas moléculas que son menos polares (más solubles en lípidos) generalmente penetrarán la membrana más rápidamente que las moléculas polares (más solubles en agua). Sin embargo, pequeñas moléculas polares como el agua pasan directamente a través de los poros de la membrana (**Figura 5**).

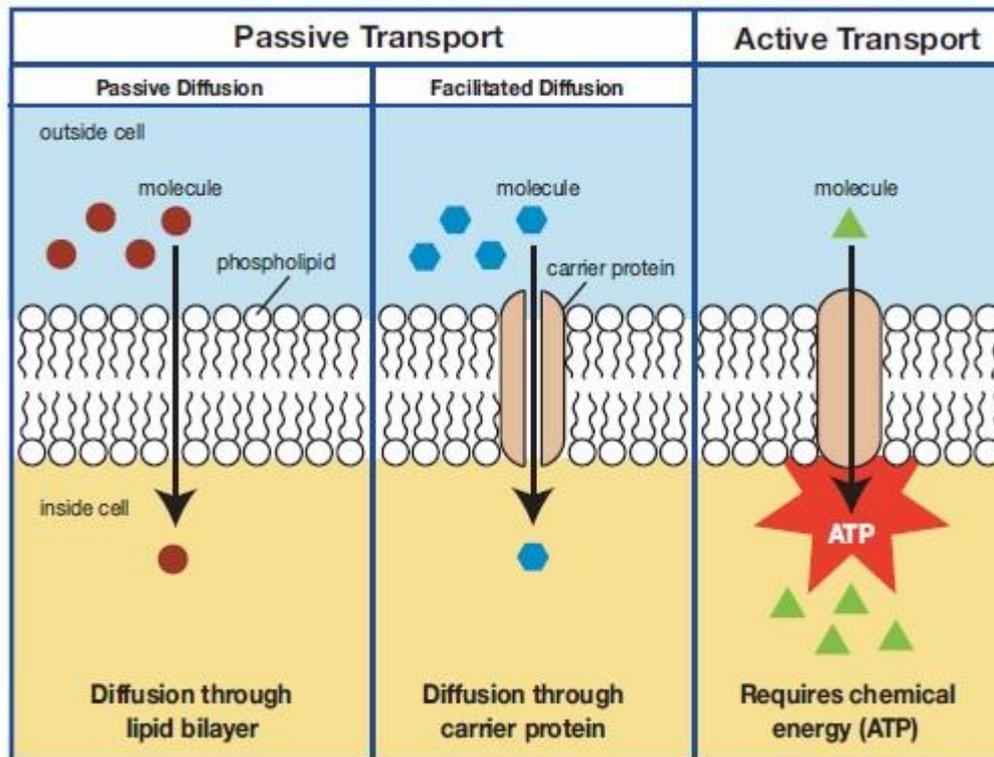


Figura 5: Comparación entre difusión pasiva, difusión facilitada y transporte activo. En la difusión pasiva, las moléculas hidrófobas y las moléculas pequeñas sin carga bajan su gradiente de concentración directamente a través de la membrana sin el gasto de energía. En la difusión facilitada, las moléculas hidrófobas se difunden a través de una proteína de transporte por su gradiente de concentración a través de la membrana. El transporte activo mueve las moléculas contra su gradiente de concentración por medio de una proteína de transporte, este tipo de transporte requiere el gasto de ATP.

La difusión de moléculas polares y / o cargadas más grandes, como aminoácidos o azúcares, es asistida por proteínas de transporte específicas. El proceso conocido como **difusión facilitada** utiliza una proteína transportadora en la membrana plasmática para facilitar el movimiento de moléculas grandes desde una región de alta concentración a baja concentración. Una proteína transportadora se une selectivamente a una molécula de soluto en un lado de la membrana, experimenta un cambio conformacional y libera la molécula de soluto en el otro lado de la membrana. Las moléculas de azúcar se transportan de esta manera. Otras proteínas de transporte proporcionan pasadizos por los que las moléculas selectivas pueden entrar y salir de una célula. La mayoría de estos materiales biológicos disueltos no podrían difundirse a través de la bicapa lipídica (**Figura 5**).

El **transporte activo** ocurre cuando una molécula de soluto se mueve a través de una membrana contra el gradiente de concentración mediante la utilización de energía química o ATP. El transporte activo puede crear concentraciones intracelulares de azúcares y aminoácidos de 2 a 50 veces más altas que las concentraciones extracelulares. Una bomba de protones utiliza ATP para bombear iones de hidrógeno fuera de la célula y producir un gradiente de protones con una concentración mayor fuera de la célula.

POTENCIAL DE AGUA

La absorción o pérdida neta de agua por parte de la célula depende de qué componente, los fluidos extracelulares o celulares, tengan el mayor potencial de agua. El potencial de agua se abrevia con la letra griega psi (Ψ). El potencial hídrico se ve afectado por dos factores físicos, es decir, la concentración de soluto (potencial de soluto, Ψ_s) y el componente de presión aplicada (potencial de presión, Ψ_p). Recuerde que el agua siempre se mueve a través de una membrana desde la solución de mayor potencial hídrico a otra con un potencial de agua más bajo. Los efectos de la presión y la concentración de solutos en el potencial hídrico están representados por esta ecuación:

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p$$

Potencial agua = potencial soluto + potencial presión

La adición de solutos produce un mayor potencial osmótico y una disminución en el potencial hídrico del sistema en el rango negativo. Un aumento en la presión eleva el potencial de agua del sistema al rango positivo. El movimiento del agua es directamente proporcional a la presión en un sistema. Cuanto menor es el potencial hídrico de una solución, mayor es la tendencia de las moléculas de agua a moverse por la ósmosis. Por ejemplo, si las células de patata se colocan en agua pura habrá una entrada neta de agua en las células, ya que el agua pura tiene un potencial de agua cero y el potencial de agua en la célula es más bajo o más negativo debido a los solutos citoplásmicos. Las células de patata se hincharán y ganarán en masa. Habrá un aumento en la presión de turgencia. Cuando el potencial de agua de la célula es igual al potencial de agua del agua pura fuera de la célula, se alcanza un equilibrio dinámico y no habrá movimiento neto del agua.

Del mismo modo, si las células de patata se colocan en soluciones de sacarosa donde el potencial de agua de las células es mayor que el potencial de agua de las soluciones de sacarosa, habrá un flujo de agua fuera de las células. Las células se encogerán y perderán masa. Por lo tanto, la adición de sacarosa al agua fuera de las células de la patata produce una disminución en el potencial hídrico de las soluciones que rodean las células. Se puede agregar una cantidad de azúcar al agua, de modo que el potencial de agua fuera de la célula sea el mismo que el potencial de agua dentro de la célula. No habrá movimiento neto de agua. Sin embargo, debido a que el potencial de agua dentro de la célula resulta de la combinación del potencial de presión y el potencial de soluto, las concentraciones de soluto dentro y fuera de la célula no serán iguales. Si uno continúa agregando azúcar a la solución fuera de la célula, el agua saldrá de las células a medida que se mueve de un área de mayor potencial hídrico a un área de menor potencial hídrico. Se producirá una plasmólisis de las células.

El **potencial de agua** se puede calcular calculando primero el potencial de soluto de una solución de sacarosa usando la siguiente fórmula:

$$\Psi_s = - ICRT$$

I = Constante de ionización (dado que la sacarosa no se ioniza en agua, es 1.0).

C = Concentración molar de soluto

R = Constante de presión (R = 0,0831 bares litro/mol K).

T = Temperatura °K (°C de solución + 273)

El potencial hídrico de la solución puede calcularse conociendo el potencial de soluto de la solución y sabiendo que el potencial de presión de la solución es cero. El potencial de agua será igual al potencial de soluto de la solución.

$$\Psi = \Psi_s$$

4. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

El objetivo de este experimento es comprender las bases moleculares de la difusión y la ósmosis y su importancia fisiológica. Los objetivos específicos del estudiante son:

1. Comprender que el tamaño y la forma de la célula son factores importantes para determinar la tasa de difusión.
2. Comprender los mecanismos y la importancia fisiológica de la difusión y la ósmosis.
3. Comprender cómo el tamaño del soluto y los gradientes de concentración afectan la difusión a través de las membranas semipermeables.
4. Comprender el concepto de potencial hídrico y cómo se ve afectado por la concentración de soluto y el potencial de presión.
5. Comprender cómo las células vegetales responden a soluciones de alta concentración de solutos (soluciones hipertónicas) y se relacionan con la plasmólisis.

Hay tres partes en este experimento. La **Investigación I** permite a los estudiantes utilizar células artificiales para estudiar las relaciones entre las áreas de superficie, los volúmenes y las tasas de difusión. Para la **Investigación II**, los estudiantes crearán modelos de células vivas para explorar la ósmosis y la difusión. Los estudiantes completan el ejercicio al observar la ósmosis en las células vivas en la **Investigación III**.

Investigación I: Área de superficie y tamaño de célula. En esta parte del experimento, debido a que el tamaño y la forma de la célula son factores importantes para determinar la velocidad de difusión, los estudiantes investigarán el movimiento de las moléculas a través de las membranas celulares explorando la relación entre el área de la superficie y el volumen.

Investigación II: Simulación de difusión y ósmosis. En esta parte del experimento, los estudiantes crearán un modelo de una célula viva utilizando tubos de diálisis. Los poros microscópicos en el tubo de diálisis permiten el paso de solutos de tamaño pequeño, imitando la permeabilidad selectiva de una membrana celular. Los estudiantes seleccionarán un par único de soluciones para colocar dentro y fuera de su célula, y luego observarán el cambio en la masa de su célula a lo largo del tiempo.

Investigación III (OPCIONAL): Observación de la ósmosis en células vivas. En esta parte del experimento, los estudiantes observarán el proceso de plasmólisis en células vegetales vivas que están expuestas a diferentes soluciones. Al observar los cambios en las paredes de la célula y la vacuola central, los estudiantes deberían ser capaces de clasificar cada solución como hipertónica o hipotónica en relación con la célula de la planta.

4.1 Precauciones

1. Se deben usar los guantes y gafas de protección de forma rutinaria como buenas prácticas de laboratorio durante todo el procedimiento.
2. Deben tener mucho cuidado al trabajar con equipos que utilizan calor y/o fusión de los reactivos.
3. NO PIPETEAR LOS REACTIVOS CON LA BOCA - PIPETEAR CON PERAS DE SUCCIÓN.
4. Lavarse bien siempre las manos con agua y jabón después de manipular reactivos o materiales biológicos del laboratorio.
5. Tener cuidado al usar cualquier equipo eléctrico en el laboratorio.
6. Si no está seguro de algo, ¡PREGÚNTELE AL PROFESOR DE PRÁCTICAS!

4.2 Requisitos de tiempo (aproximado) de los procedimientos de la práctica

El horario de cada profesor y los requisitos de tiempo determinarán cuándo se deben preparar.

4.3 Preparaciones previas

Organización e implementación de la práctica

El tamaño de la clase, la duración de las clases de prácticas y la disponibilidad de los equipos son factores que deben ser considerados en la planificación e implementación de esta práctica con sus alumnos. Estas directrices pueden adaptarse para encajar en sus circunstancias específicas.

Registro de las actividades de laboratorio

Los científicos documentan todo lo que ocurre durante un experimento, incluyendo condiciones experimentales, pensamientos y observaciones durante la realización del experimento y, por supuesto, cualquier información recopilada. Hoy, los estudiantes documentarán su práctica en una libreta de laboratorio o en una hoja de trabajo separada.

Los alumnos deben registrar en su libreta de prácticas las actividades indicadas a continuación.

Antes de iniciar la práctica:

- Escribir una hipótesis que refleje la práctica.
- Predecir los resultados experimentales.

Durante la práctica:

- Registrar (dibujar) sus observaciones, o fotografiar los resultados.

Al finalizar la práctica:

- Formular una explicación de los resultados.
- Determinar lo que podría cambiar en la práctica si la repites.
- Escribir una hipótesis que refleje este cambio.

Instrucciones generales

PREPARATIVOS ANTES DE LA PRÁCTICA

Investigación I - Área de superficie y tamaño de célula

A. Preparación de la solución de agar/fenolftaleína

1. Agregar todo el contenido de agar (componente A) a un matraz o vaso de precipitados (tamaño de 1 L o más).
2. Añadir 500 ml de agua destilada al agar en polvo. Agitar y remover la solución para disolver el polvo (es aconsejable utilizar una placa calefactora con agitación).
3. Llevar la solución de agar a punto ebullición. Remover con frecuencia hasta que la solución esté transparente.
4. Retirar de la fuente de calor. A medida que la solución de agar se enfría, agregar todo el contenido de la solución de fenolftaleína (componente B) a la solución de agar. Mezclar bien.

NOTA: Si la mezcla queda de color rosa, agregar unas gotas de ácido clorhídrico diluido hasta que desaparezca el color rosado.

5. Ajustar a un volumen final de 750 ml con agua destilada. Mezclar bien.

6. Verter la solución de agar/fenolftaleína en una bandeja con una altura de 3 cm (también se puede utilizar una bandeja poco profunda asegurándose que la altura del gel formado tendrá una altura de 3 cm) y dejar que fragüe.

NOTA: Una bandeja que mida 10x20 cm que tenga al menos 3 cm de profundidad se acomodará a la solución de agar/fenolftaleína. Los ajustes de volumen pueden ser necesarios dependiendo de la bandeja utilizada.

7. Cortar el agar en bloques de 3x3x5 cm, uno por grupo de laboratorio.



Figura 6: Bloque de agar.

B. Preparación de la solución de NaOH 0,1M

1. Disolver todos los gránulos de Hidróxido de Sodio (NaOH) (componente C) en 750 ml de agua destilada.
2. Mezclar bien y llevar el volumen final a 1,2 l con agua destilada.
3. Cada grupo usará 100 ml de esta solución de NaOH 0,1 M.

Investigación II: Simulación de difusión y ósmosis

A. Preparación de tubos de diálisis

1. Cortar el tubo de diálisis en secciones de 18 cm. Uno o dos días antes de la práctica, sumergir el tubo de diálisis en agua destilada:
 - a. Colocar el tubo de diálisis cortado en un vaso de precipitados de 600 ml y cubrir con 400 ml de agua destilada.
 - b. El tubo debe quedar cubierto por el agua destilada.
2. Cada estudiante usará una sección del tubo de diálisis para crear las células simuladas.

B. Preparación de soluciones

Se necesitan cinco soluciones diferentes (1 litro cada una): solución de sacarosa 1 M, solución de NaCl 1 M, solución de glucosa 1 M, solución de ovoalbúmina al 5% y agua destilada. Estas cinco soluciones producen suficiente material para 15 vasos (300 ml cada uno) de la solución del "exterior de la célula". El volumen restante de estas cinco soluciones se puede compartir entre los grupos de estudiantes para usar como soluciones del "interior de la célula".

Elegir hasta 10 pares de soluciones diferentes para los 10 grupos de prácticas. Una solución de cada par estará en el interior del tubo de diálisis, y la otra estará en el exterior de la célula en el vaso de precipitados.

Además, uno de los grupos de estudiantes o el propio profesor de prácticas puede preparar una célula modelo de control para toda la clase, que tendrá agua dentro y fuera. Preparar las soluciones como se indica a continuación* e identificar cuidadosamente los vasos para indicar qué solución contiene.

1. **Solución de sacarosa 1M:** disolver toda la sacarosa (componente D) en 750 ml de agua destilada. Mezclar bien y llevar el volumen final a 1 L con agua destilada.
2. **Solución de NaCl 1M:** disolver todo el NaCl (componente E) en 750 ml de agua destilada. Mezclar bien y llevar el volumen final a 1 L con agua destilada.

NOTA: Se deben utilizar gafas de seguridad y guantes desechables siempre que se manipule NaOH.

3. **Solución de glucosa 1M:** disolver toda la glucosa (componente F) en 750 ml de agua destilada, para facilitar la disolución añadir la glucosa al agua destilada en agitación. Mezclar bien y llevar el volumen final a 1 L con agua destilada.

4. **Solución de Ovoalbúmina 5%:** disolver toda la ovoalbúmina (componente G) con 750 ml de agua destilada, para facilitar la disolución añadir poco a poco la ovoalbúmina al agua destilada con una fuerte agitación. Mezclar bien y llevar el volumen final a 1 L con agua destilada.

NOTA: Si la solución de ovoalbúmina 5% no se utiliza inmediatamente se debe almacenar a 4°C.

NOTA: La quinta solución es agua destilada.

5. Alicuotar 300 ml de cada solución en uno, dos o tres vasos de tamaño 400 ml.

6. Guardar 10 ml de las soluciones de sacarosa, NaCl y glucosa para el apartado **Investigación III** (30 ml en total). Los volúmenes y las soluciones restantes se deben proporcionar a los grupos de estudiantes para utilizarlas en las células.

Investigación III (OPCIONAL): Observación de la ósmosis en células vivas

1. Repartir y preparar los microscopios de clase con un aumento 400x.

2. Repartir una muestra de musgo, portaobjetos, cubreobjetos, pipeta y toalla de papel a cada grupo o alumno.

3. Repartir las soluciones preparadas en la **Investigación II**: solución de sacarosa 1M, solución de NaCl 1M y solución de glucosa 1M. Los estudiantes también necesitarán un pequeño volumen de agua del grifo para preparar el soporte mojado.

4.4 Material que debe recibir cada grupo

Cada grupo de prácticas debe recibir los siguientes materiales antes de iniciar el procedimiento experimental:

Investigación I - Área de superficie y tamaño de célula

PARA CADA GRUPO
Bloque de agar
Cuchillo sin filo ni serrado (o tira delgada de plástico duro)
Vaso de precipitado con solución de NaOH
Cuchara o pinzas
Toalla de papel
Regla
Guantes desechables

Investigación II: Simulación de difusión y ósmosis

PARA CADA GRUPO
1 vaso de precipitado con la solución externa de la célula (variará en cada grupo)
1 pieza de tubo de diálisis hidratado (húmeda) de unos 18 cm
Pipetas de 10 ml
Guantes
Volumen restante de las soluciones preparados (sacarosa 1M, NaCl 1M, glucosa 1M, ovoalbúmina y agua) para usar como solución del interior de la célula (a compartir entre los grupos)

Investigación III - Observación de la ósmosis en células vivas

PARA CADA GRUPO
1 microscopio con aumento 400x
Muestra de musgo
Porta y cubreobjetos
Pipeta
Toalla de papel
Agua del grifo
Volumen restante después de la Investigación II de las soluciones preparados (sacarosa 1M, NaCl 1M glucosa 1M) para usar (a compartir entre los grupos)

4.5 Evitar los errores más comunes

1. Seguir las instrucciones cuidadosamente.

5. PRÁCTICA

5.1 Procedimientos

Investigación I - Área de superficie y tamaño de célula

OBJETIVO

En la **Investigación I**, debido a que el tamaño y la forma de la célula son factores importantes para determinar la velocidad de difusión, los estudiantes investigarán el movimiento de las moléculas a través de las membranas celulares explorando la relación entre el área de la superficie y el volumen.

La fenolftaleína en los cubos de agar reacciona con la solución de hidróxido de sodio (NaOH), cambiando el color del cubo a rosa. Después de que los cubos estén expuestos a NaOH, los estudiantes podrán ver qué tan lejos se difundió el NaOH en función del cambio de color que causó. Esto permitirá a los estudiantes determinar la relación entre la difusión y el área de superficie y el volumen de los cubos.

PROCEDIMIENTO

¡ATENCIÓN! ¡Se debe tener extremada precaución cuando se trabaje con cuchillos, hojas de afeitar o cualquier otro utensilio cortante!

¡ATENCIÓN! Se debe tener extremada precaución cuando se manipule NaOH.

¡ATENCIÓN! Usar gafas y guantes de seguridad y trabajar en un área bien ventilada.

1. Cada grupo debe CORTAR tres cubos de agar: un cubo de 3 cm, un cubo de 2 cm y un cubo de 1 cm. Cortar con cuidado y con la mayor precisión posible.



Figura 7: Cubos de agar de 3, 2 y 1 cm.

2. VERTER cuidadosamente 100 ml de solución de NaOH 0,1 M en el vaso de precipitados de 200 ml.

NOTA: Se deben utilizar gafas de seguridad y guantes desechables siempre que se manipule la solución de NaOH 0,1M.

3. ANOTAR el tiempo y SUMERGIR los tres cubos de agar en la solución de NaOH. Llenar el vaso con más NaOH, si es necesario, para que los cubos estén completamente sumergidos en la solución.

4. DEJAR remojar los cubos de agar durante 10 minutos con agitación suave periódica.

5. Después de 10 minutos, usar una cuchara o pinzas para SACAR los cubos de agar del vaso. Dejar SECAR en una toalla de papel.

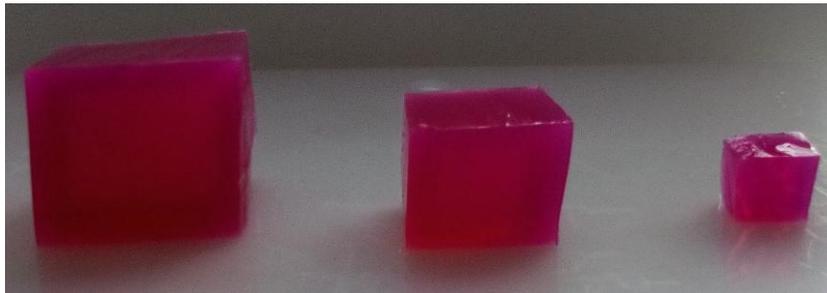


Figura 8: Cubos de agar después del baño de NaOH 0,1M.

6. Cuidadosamente CORTAR cada cubo por la mitad.

7. Usando una regla, MEDIR las longitudes de los bordes de las porciones transparentes y rosadas del cubo.

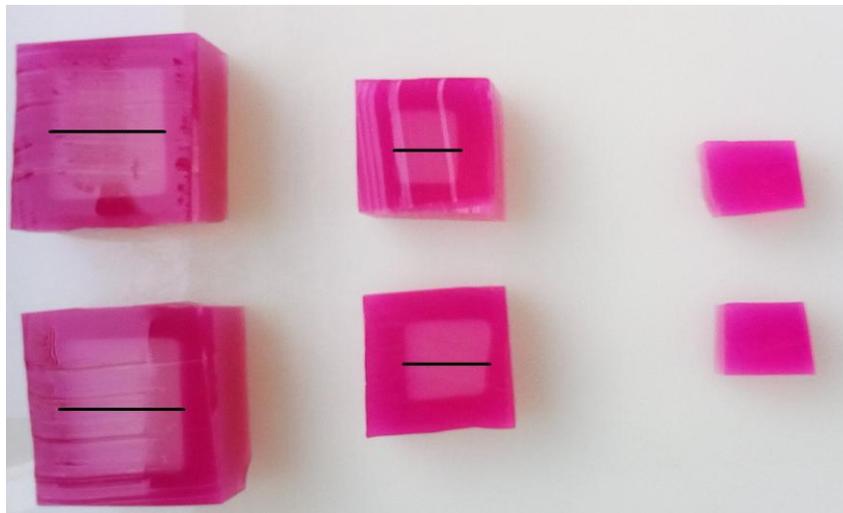


Figura 9: Cortar los cubos de agar y medir la zona transparente.

8. COMPLETAR la siguiente tabla de datos (calculando los datos que se piden)

a. Calcular el área de superficie original, el volumen y la relación entre la superficie y el volumen de cada cubo y anotar estos valores en la **Tabla I**.

b. Calcular el volumen de la porción libre (transparente) de cada cubo usando la medida obtenida en el punto 7 de este apartado.

c. Calcular el volumen de la porción rosada de cada cubo restando el volumen de la parte transparente de los volúmenes originales.

Tamaño Cubo (cm)	Área superficie (cm ²)	Volumen Cubo (cm ³)	Relación <u>Sup/Vol</u>	Longitud borde transparente	Volumen porción transp. (cm ³)	Volumen porción rosada (cm ³)
1						
2						
3						

Tabla I - Área de superficie y tamaño de la célula

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. ¿Qué solución se añadió? ¿Qué se esperaba que sucediera?
2. Si se aumenta la longitud del lado de un cubo, ¿aumentará o disminuirá la relación entre el área de superficie y el volumen del cubo?
3. La velocidad de difusión en los cubos es el volumen de la porción rosa dividida por el tiempo que transcurrido desde que se introduce en el vaso con NaOH hasta que se saca. Calcular la tasa de difusión para cada uno de los cubos.

Cubo # 1:

Cubo # 2:

Cubo # 3:

4. ¿En cuál de los cubos la tasa de difusión fue máxima?

Investigación II: Simulación de difusión y ósmosis

OBJETIVO

En la **Investigación II**, los estudiantes crearán un modelo simulado de una célula viva utilizando tubos de diálisis. Para explorar los efectos de las membranas selectivas en el movimiento del agua y la ósmosis, seleccionarán un par único de soluciones para colocarlas dentro y fuera de su célula, y observarán el cambio en la masa de su célula a lo largo del tiempo.

PROCEDIMIENTO

A. Identificación de las soluciones por grupo de estudiantes

- Se proporcionan cinco soluciones diferentes en el procedimiento de ósmosis: solución de sacarosa 1 M, solución de NaCl 1 M, solución de glucosa 1 M, solución de ovoalbúmina al 5% y agua destilada.
- Teniendo en cuenta el número de grupos de la clase, elegir hasta diez pares de soluciones diferentes para probar. Las primeras soluciones en cada par estarán dentro de la célula simulada (tubos de diálisis) mientras que la segunda solución actuará como líquido fuera de la célula (en el vaso de precipitados).
- Cada grupo realizará el experimento de ósmosis utilizando su par asignado. Además, se puede asignar un grupo para diseñar la célula del modelo de control, que tendrá agua dentro y fuera de la célula simulada. Rotular los vasos para indicar qué solución hay dentro de la célula y en el interior del vaso de precipitados. Registrar esta información en la **Tabla II.A**.

Solución	Grupo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Interior célula										
En vaso precipitado										

Tabla II.A - Identificación de la solución

B. Realización del procedimiento de difusión y ósmosis con el tubo de diálisis

1. HACER un nudo en un extremo de tubo de diálisis. Comience aproximadamente a una distancia de 2-3 cm desde el final. NO ATAR EL NUDO DEMASIADO FUERTE, de lo contrario los tubos podría romperse o perforarse. MANTENER el tubo húmedo pero evitar que quede demasiada agua dentro (se podría diluir la solución interna en exceso).

NOTA: Se debe manipular el tubo de diálisis con mucha precaución para evitar romperlo o perforarlo, ya que esto provocaría un falso resultado en la práctica.

2. LLENAR cada tubo de diálisis con 10 ml de la solución elegida para el interior de la célula. HACER un nudo en el extremo abierto de la tubería como se indica en el punto 1 de este mismo apartado. RECORDAR que se debe dejar suficiente espacio para que el agua se difunda dentro de la célula.

3. PESAR cada célula y ANOTAR el peso inicial.

4. SUMERGIR la célula simulada (el tubo de diálisis) llenando cada vaso con la segunda solución (exterior célula) para ese par.

5. Después de 30 minutos, RETIRAR la célula simulada y SECARLA con una toalla de papel. Volver a PESAR cada célula y registrar el peso final.

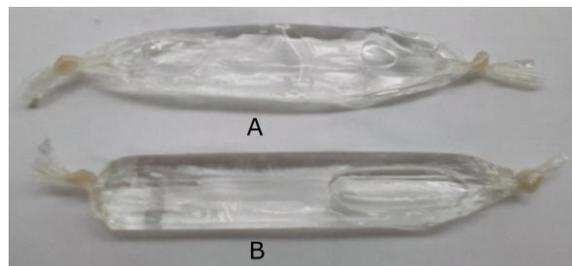


Figura 10: Tubos de diálisis, inicial (A) y final (B).

6. CALCULAR la variación porcentual entre el peso inicial y el peso final:

$$[(\text{Peso final} - \text{Peso inicial})/\text{Peso inicial}] \times 100 = \% \text{ variación}$$

7. ANOTAR los resultados de cada grupo en la **Tabla II.B.**

	Grupo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Peso inicial										
Peso final										
Diferencia de peso										
% variación de peso										

Tabla II.B - Resultados de la ósmosis (Datos de la clase)

ANÁLISIS DE RESULTADOS

1. Dibujar la gráfica con los resultados de la **Tabla II.B**. En esta investigación, la variable independiente fue el número de cada grupo/combinación de soluciones y la variable dependiente fue el cambio de peso porcentual. Recordar que se deben indicar ambos ejes y poner un título a la gráfica (**ANEXO 1**).

2. ¿Qué par(es) de soluciones probada(s) no tuvieron cambios en el peso? ¿Cómo se puede explicar esto?

Investigación III (OPCIONAL): Observación de la ósmosis en células vivas

OBJETIVO

En la **Investigación III**, los estudiantes observarán el proceso de plasmólisis en células vegetales vivas que están expuestas a diferentes soluciones. Al observar los cambios en las paredes de la célula y la vacuola central, los estudiantes deberían ser capaces de clasificar cada solución como hipertónica o hipotónica en relación con la célula de la planta.

PROCEDIMIENTO

1. COMENZAR mirando la estructura en forma de hoja del musgo debajo del microscopio óptico.

- COLOCAR el musgo en un portaobjetos de microscopio.
- OBSERVAR y DIBUJAR las células a 400x de aumento total.

2. PREPARAR un montaje de musgo mojado, de la siguiente manera:

- COLOCAR el musgo en un portaobjetos de microscopio. AGREGAR una o dos gotas de agua del grifo en la muestra de musgo.
- COLOCAR el cubreobjetos. OBSERVAR y DIBUJAR las células a 400x de aumento total. DESCRIBIR la apariencia de las células del musgo.

3. Pruebe el musgo con una de las cuatro soluciones preparadas en la **Investigación II**: solución de sacarosa 1 M, solución de NaCl 1 M, solución de glucosa 1 M, solución de ovoalbúmina al 5%.

- Usando el montaje de musgo húmedo preparado en el paso 2, AGREGAR dos o tres gotas de la solución a uno de los bordes del cubreobjetos.
- COLOCAR un trozo de toalla de papel a lo largo del borde opuesto del cubreobjetos. El líquido se empapará en la toalla de papel, ayudando a la solución a pasar por debajo del cubreobjetos.
- OBSERVAR y DIBUJAR las células a 400x. DESCRIBIR lo que ha ocurrido.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

1. ¿Qué solución se añadió? ¿Qué se esperaba que sucediera?

2. Describir lo que le sucedió a la célula cuando se agregó la solución. Prestar atención a los orgánulos clave como los cloroplastos, la vacuola central y la pared celular, así como a la forma general, el tamaño y la apariencia de la célula.

3. Durante el paso tres, ¿en qué dirección se movía el agua? ¿Sugiere esto que la solución elegida es hipertónica o hipotónica en relación con las células?

4. ¿Qué impidió que las células explotaran o colapsaran?

6. RESULTADOS Y PREGUNTAS DE LA PRÁCTICA

6.1 Resultados

Investigación I - Área de superficie y tamaño de célula

A continuación se muestran resultados representativos. Las mediciones exactas pueden diferir dependiendo de factores adicionales como la temperatura de la sala de clases y la solución.

Tamaño Cubo (cm)	Área superficie (cm ²)	Volumen Cubo (cm ³)	Relación <u>Sup/Vol</u>	Longitud borde transparente	Volumen porción transp. (cm ³)	Volumen porción rosada (cm ³)
1	6	1	6 a 1	0	0	1
2	24	8	3 a 1	1,5	3,375	4,625
3	54	27	2 a 1	2,6	17,576	9,424

Tabla I - Área de superficie y tamaño de la célula

1. ¿Qué solución se añadió? ¿Qué se esperaba que sucediera?

Las respuestas variarán, los estudiantes deben esperar que la ósmosis ocurra cuando la célula está expuesta a su solución y deben esperar que la célula experimente plasmólisis si creen que la solución es hipertónica o si muestran signos de presión de turgencia si creen que la solución es hipotónica.

2. Si se aumenta la longitud del lado de un cubo, ¿aumentará o disminuirá la relación entre el área de superficie y el volumen del cubo?

Si se aumenta la longitud del lado de un cubo, la relación entre el área de superficie y el volumen del cubo disminuye.

3. La velocidad de difusión en los cubos es el volumen del área coloreada dividida por el tiempo que tomó. Calcular la tasa de difusión para cada uno de los cubos.

Cubo	Velocidad de difusión
#1	0.1 cm ³ /min
#2	0.4625 cm ³ /min
#3	0.9424 cm ³ /min

4. ¿En cuál de los cubos fue la tasa de difusión máxima?

Cubo # 3

Investigación II: Simulación de difusión y ósmosis

1. Dibujar la gráfica con los resultados de la **Tabla II.B**. En esta investigación, la variable independiente fue el número de cada grupo/combinación de soluciones y la variable dependiente fue el cambio de peso porcentual. Recordar que se deben indicar ambos ejes y poner un título a la gráfica (**ANEXO 1**).

Los resultados variarán

2. ¿Qué par(es) de soluciones probada(s) no tuvieron cambios en el peso? ¿Cómo se puede explicar esto?

El par de control (agua-agua) no tuvo cambios en el peso, ya que no hay diferencia de concentración entre los fluidos de ambos lados de la membrana. Los tubos que contienen 5% de albúmina y sumergidos en agua también pueden no presentar ningún cambio de peso.

Investigación III - Observación de la ósmosis en células vivas

1. Describir lo que le sucedió a la célula cuando se agregó la solución. Prestar atención a los orgánulos clave como los cloroplastos, la vacuola central y la pared celular, así como a la forma general, el tamaño y la apariencia de la célula.

Las respuestas variarán, cuando se expone a una solución con una mayor concentración de azúcar o sal, se produce la plasmólisis y la membrana celular se contrae alejándose de la pared celular, la vacuola central se colapsa y los cloroplastos se concentran en el centro de la célula. Sin embargo, la célula en sí misma no se hace más pequeña. Cuando se exponen a una solución con una concentración menor de azúcar o sal, las células de la planta pueden aparecer un poco más grandes o abultadas en los lados. Este ligero aumento en el volumen también se puede observar cuando las células de las plantas están expuestas al agua pura.

2. Durante el paso tres, ¿en qué dirección se movía el agua? ¿Sugiere esto que la solución elegida es hipertónica o hipotónica en relación con las células?

Las respuestas variarán, cuando se expone a una solución con una concentración más alta de azúcar o sal, el flujo neto de agua saldrá de la célula indicando una solución hipertónica. Cuando se expone a una solución con una concentración más baja de azúcar o sal o al agua pura, el flujo neto de agua entra en la célula indicando una solución hipotónica.

3. ¿Qué impidió que las células explotaran o colapsaran?

La célula no explota porque a medida que aumenta el volumen también lo hace la presión de la turgencia. Esto conduce a un mayor potencial de agua en la célula y, en consecuencia, a una disminución del flujo de agua en la célula. Del mismo modo, la pared celular permanece intacta incluso cuando el agua sale de la célula y evita que la célula colapse.

6.2 Preguntas

1. ¿Qué es la difusión? ¿Qué es ósmosis?

2. ¿Qué es la plasmólisis?

3. Explicar las diferencias entre hipotónico, hipertónico e isotónico en términos de concentración de agua dentro y fuera de la célula, movimiento neto del agua y cambios en el tamaño de la célula.

4. Explica cómo se produce la presión de turgencia.

Para cualquier duda o consulta adicional, por favor, contacte con nosotros info@bioted.es

ANEXO 1: Cuadrícula para la gráfica.

