

Práctico 5

Laboratorio:

Ósmosis

Sección Biofísica y Biología de Sistemas
Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción

Dentro de los fenómenos provocados por la presencia de solutos en solución, se encuentra la aparición de presión osmótica. La ósmosis implica el flujo de un solvente entre dos puntos, por ejemplo, a ambos lados de una membrana, dependiendo de la diferencia de concentración de solutos totales entre estos. Este flujo de solvente, en general agua, ocurre porque las diferentes concentraciones de solutos causan que la **actividad** de agua sea diferente en diferentes regiones. En particular, cuanto mayor es el número de partículas disueltas en el solvente, menor es la actividad química del solvente. Esto ocurre porque las partículas disueltas forman interacciones con las partículas de solvente, impidiendo que éstas últimas se muevan con libertad. Por lo tanto, si bien en general la concentración de solvente se mantiene más o menos invariable, al aumentar la concentración de partículas disueltas, se reduce la actividad química del mismo.

En otras palabras, la osmosis ocurriría por diferencias en el potencial químico de solvente, de ahora en adelante, el agua.

El flujo observado se dará de mayor a menor potencial químico de agua. El potencial químico depende de la actividad en la forma:

$$\mu_{H_2O} = RT \ln a_{H_2O}$$

Donde R es la constante universal de los gases, T la temperatura absoluta (en la escala de Kelvin) y a_{H_2O} la actividad del agua.

En general para soluciones diluidas, puede asumirse razonablemente que la actividad química de un soluto es igual a su concentración.

Con el flujo de solvente aparece una presión hidrostática que genera ciertas consecuencias en la solución y puede ser medida.

La presión osmótica se define como la presión necesaria para detener el flujo de solvente a través de una membrana semipermeable. Es una propiedad coligativa y por tanto depende de la actividad de solvente y no de la naturaleza de este o de los solutos disueltos. Puede calcularse a partir de la ley de Van't Hoff:

$$\pi = iRT[\text{solute}]$$

Donde i representa el número de partículas osmóticamente activas asociadas a la disolución del soluto. Por ejemplo, sustancias como el agua o la glucosa, que

no se disocian en solución, tienen un coeficiente i igual a 1. Mientras que, solutos que se disocian tienen un coeficiente igual al número de partículas en las que se separan (partículas osmóticamente activas), por ejemplo, NaCl tiene un $i = 2$

Cualquier célula viva presenta una cierta concentración de solutos disueltos en su citosol. A su vez, es esperable que el medio externo de una célula presente también una cierta cantidad de solutos en solución. Al tener dos soluciones separadas por una membrana semipermeable (en este caso, la membrana celular), es posible que exista un flujo osmótico, ya sea entrante o saliente a la célula. Ignorando los efectos del transporte pasivo y activo de solutos, se puede decir de una forma general que cuando se expone una célula o tejido a una solución con una concentración de solutos que lleva a la entrada de agua al interior celular, dicha solución es *hipotónica*. Así, una solución *hipertónica* causará un flujo de agua hacia el exterior de la célula, mientras que una solución *isotónica* idealmente no presentará ningún flujo de agua desde o hacia el interior celular.

Para cualquier célula, un flujo de agua puede modificar considerablemente su volumen, incluso pudiendo conducir a la muerte de la misma. En este sentido, distintos grupos de organismos utilizan estrategias diferentes para contrarrestar los cambios de volumen celular. Así, en las células animales, la $Na^+ - K^+$ ATPasa resulta crucial dada la estequiometría de su intercambio de iones a ambos lados de la membrana celular. Esto es, exporta 3 iones Na^+ e importa dos K^+ por cada molécula de ATP que hidroliza, generando un flujo neto de un mol de catión monovalente hacia afuera por mol de ATP hidrolizado. Esto tiene como resultado la imposición de una concentración externa de solutos que contrarrestaría (potencialmente) el efecto osmótico de una solución hipotónica. Por otro lado, las células vegetales y muchas bacterias están protegidas contra el hinchamiento excesivo y la rotura mediante paredes celulares semirrígidas que rodean sus membranas plasmáticas; en las amebas el exceso de agua que penetra por ósmosis se recoge en unas vacuolas contráctiles que vierten periódicamente su contenido al exterior.

En esta práctica se llevarán a cabo dos actividades independientes, basadas en el fenómeno de la ósmosis. Se recomienda prestar mucha atención a los detalles de cada una de las actividades para que no se genere ninguna confusión entre ambas y se puedan analizar los resultados obtenidos en cada caso.

OBJETIVOS:

- Medir la tasa de cambio de la presión de gas sobre una solución desacarosa con un sensor de presión.
- Estudiar el efecto del gradiente de concentración en el flujo osmótico.
- Determinar el potencial de agua de una muestra de tejido vegetal.

Materiales

Interfaz Vernier

Sensor de presión de gas Vernier

Tubo plástico

Programa Logger Pro

Dispositivo experimental (Figura 1)

Soporte

Agua destilada

Solución de Sacarosa 2,0 M

Membrana de celulosa

Vasos de Bohemia 100 mL

Jeringa

Balanza

Muestras de tejido vegetal (trozos de papa) en agua destilada y soluciones de sacarosa de 0,33 M, 0,67 M y 1,00 M.

Actividad 1

Fundamento experimental

En esta actividad se dispondrán dos compartimientos separados por una membrana semipermeable de celulosa. En uno de los compartimientos se colocará agua destilada mientras que en el otro se dispondrá una solución de sacarosa de concentración conocida. Las características de la membrana permiten el pasaje de agua pero no el de sacarosa, por lo cual aparecerá un flujo osmótico de agua desde el compartimiento con agua destilada hacia el compartimiento que contiene la solución de sacarosa, aumentando el volumen de la solución.

Si se procura capturar el aire que queda por encima de la solución de sacarosa de forma que no haya fugas, al aumentar el volumen de la solución, disminuirá el volumen del gas, lo que aumentará su presión, según lo indica la Ley de

Boyle. De esta forma, la medida de los cambios en la presión de gas por encima de la solución de sacarosa permitirá un registro indirecto del aumento del volumen de la solución debido al flujo osmótico.

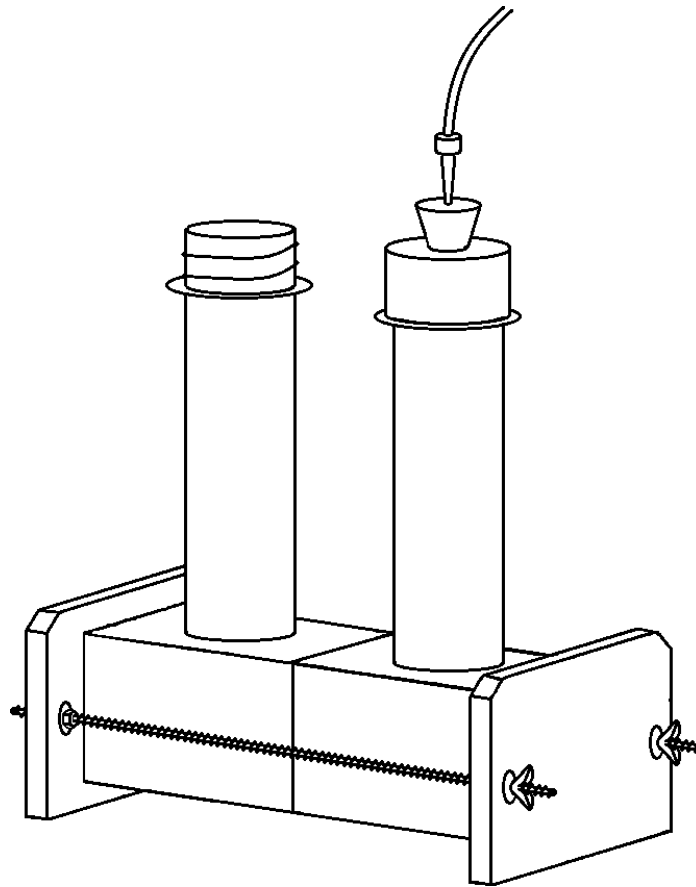


Figura 1. Esquema del dispositivo experimental. Se omite el sensor de presión, el cual está conectado al otro extremo del tubo plástico que sobresale del dispositivo.

Procedimiento

1. Conectar el sensor de presión de gas a la interfaz Vernier y esta al ordenador. Suspender el sensor sirviéndose de un soporte. Conectar un extremo del tubo plástico al sensor y el otro a la tapa del dispositivo experimental.
2. Abrir el programa Logger Pro y establecer las especificaciones para la toma de datos de este protocolo en el icono "Data Colection". En esta práctica se tomarán medidas cada 30 segundos (dos medidas por minuto), por un período total de 25 minutos cada vez.
3. Preparación del dispositivo experimental: separar los compartimientos una pequeña distancia y colocar la membrana de celulosa en el espacio entre ellos. Asegurarse que la membrana cubra totalmente la abertura de contacto entre los compartimientos. Finalmente, ajustar los compartimientos utilizando los tornillos (Figura 1). Para esto es muy importante que la presión ejercida sobre ambos tornillos sea similar, así

como la mínima indispensable para sellar el espacio entre los compartimientos de forma que no haya pérdidas de agua (de otro modo, el dispositivo experimental puede romperse). La membrana debe haber sido hidratada en agua destilada por al menos dos horas previo a su utilización para su correcto funcionamiento.

4. Preparación de las soluciones: A partir de una solución de sacarosa 2,0 M, preparar 40 mL de solución 1,5 M, 40 mL de solución 1,0 M y 40 mL de solución 0,5 M en vasos de Bohemia.
5. Inicio de la toma de datos: Colocar en uno de los compartimientos del dispositivo experimental los 40 mL de solución de sacarosa 2,0 M y en el otro 40 mL de agua destilada. Si las columnas de agua en cada tubo tienen diferente altura, igualarlas retirando el exceso con una jeringa. Inmediatamente conectar el extremo libre del sensor de presión y comenzar con la colecta de datos clickeando el botón "Collect", en la ventana del programa.
Nota: al conectar el tubo plástico al dispositivo experimental es necesario asegurarse de que no haya fugas, pero procurando no ejercer presiones excesivas sobre las distintas partes del mismo.
6. Una vez finalizada la colecta de datos añadir un ajuste lineal al gráfico obtenido clickeando el botón "Linear Fit" y registrar la pendiente de la misma en la Tabla 1.
7. Descartar el contenido del dispositivo experimental y lavarlo por dentro con agua destilada.
8. Repetir los pasos del 5 al 7 con las soluciones de 1,5 M, 1,0 M y 0,5 M.
9. Una vez se hayan realizado las medidas para todas las concentraciones y obtenido las tasas de variación de presión correspondientes, proceder a graficar dichos datos tomando en cuenta los valores obtenidos por todos los grupos, a efectos de realizar estadísticamente un mejor análisis. Asimismo, realice un ajuste lineal con los datos obtenidos.

Actividad 2

Fundamento experimental

Para predecir el movimiento de agua hacia o desde el interior de una célula puede utilizarse el concepto de *potencial de agua*. El agua siempre se moverá desde un lugar de alto potencial a uno de bajo potencial. El potencial de agua (Ψ) consiste en un componente de presión hidrostática llamado *potencial de presión* (Ψ_P), y un componente dado por el efecto de los solutos llamado potencial de solutos (Ψ_S). Entonces, el potencial de agua se calcula como:

$$\Psi = \Psi_P + \Psi_S \quad (1)$$

Agua destilada en un recipiente abierto tiene un potencial de agua igual a cero. La adición de soluto disminuye el potencial de agua, mientras que el incremento de presión aumenta el mismo.

En este experimento, mediremos el cambio porcentual de la masa de muestras de tejido vegetal (trozos de papa) después de que han sido sumergidas en soluciones de sacarosa de concentración conocida. Utilizaremos los datos obtenidos para calcular el potencial de agua de las células de la muestra.

Procedimiento

1. El cuerpo docente pondrá a disposición de los grupos muestras de papa sumergidas por 24 horas en agua destilada y soluciones de sacarosa de 0,33 M, 0,67 M y 1,00 M. Las muestras tendrán una referencia de color para diferenciarlas, con la cual se podrá conocer la masa inicial de dichas muestras (antes de ser sumergidas) de una tabla también suministrada por los docentes. A cada grupo se le asignará un color de referencia con el cual trabajar.
2. Registrar en la Tabla 2 la masa inicial de las muestras de papa suministrada por los docentes.
3. Retirar los trozos de papa de las soluciones y eliminar el exceso de agua con una toalla de papel. Eliminar también la marca de color.
4. Masar las muestras de papa y registrar la lectura obtenida en la Tabla 2.
5. Calcular el porcentaje de cambio de la masa de las papas (tomar como referencia el valor inicial de masa).
6. Construya un gráfico de porcentaje de cambio de la masa en función de la concentración de la solución.
7. Realizar un ajuste lineal a los datos obtenidos y extraer la ecuación de la recta correspondiente.
8. Calcular el valor de concentración (expresada en molaridad) de soluto para el cual el cambio en masa de las muestras sería cero. Registrarlo en la Tabla 3.
9. Para el valor de concentración calculado, deducir el potencial de agua de las células de papa, mediante la ecuación:

$$\Psi_s = -iCRT^1 \quad (2)$$

donde: i es el coeficiente de ionización (para la sacarosa $i=1$)

C es la concentración molar de soluto (M)

R es la constante de los gases (8,31 kPa.L/mol.K)

T es la temperatura absoluta (K)

Registrar el potencial de soluto calculado en la Tabla 3.

¹ Notar que esta expresión es la ley de Van'tHoff aplicada a nuestro sistema

10. A partir de la ecuación 1, calcular el potencial de agua, tomando el potencial de presión $\Psi_P = 0$ kPa debido a que la muestra de tejido y la solución se encuentran en equilibrio. Registrar el valor obtenido en la Tabla 3.

Resultados

Tabla 1

| Concentración de sacarosa (M) | Tasa de variación de la presión osmótica (kPa/h) |
|-------------------------------|--|
| 0,5 | |
| 1,0 | |
| 1,5 | |
| 2,0 | |

Tabla 2

| Concentración de sacarosa (M) | Masa inicial (g) | Masa final(g) | Porcentaje de cambio en masa |
|-------------------------------|------------------|---------------|------------------------------|
| 0,00 | | | |
| 0,33 | | | |
| 0,67 | | | |
| 1,00 | | | |

Tabla 3

| | |
|--|--|
| Concentración de sacarosa de equilibrio osmótico | |
| Potencial de soluto | |
| Potencial de agua | |

Discusión

- 1- Es sabido que la ósmosis no depende de la naturaleza de los solutos, sino de su concentración. Sin embargo, para esta práctica en particular, la elección de sacarosa como soluto único no es arbitraria. ¿Qué características deben tenerse en cuenta al momento de seleccionar el soluto más conveniente para una experiencia como esta?
- 2- ¿Qué relación se observa entre la concentración inicial de la solución y la tasa de variación de la presión de gas en la Actividad 1? ¿Es esto razonable? Discuta.

- 3- Si en lugar de muestras de tejido vegetal se hubiesen escogido muestras de origen animal para la Actividad 2, ¿podría haber ocurrido alguna consecuencia no deseada sobre las células de la misma? Explique.
- 4- Discuta y explique las razones potenciales para explicar la variación en las tasas de cambio de presión, registradas por los diferentes grupos a concentraciones específicas de sacarosa.
- 5- Prediga el efecto del aumento y la disminución de la temperatura inicial en las tasas de cambio de presión. De la misma forma, prediga el efecto del aumento y la disminución del volumen de la columna de agua destilada sobre dichas tasas. ¿En qué escenario una variable podría compensar a la otra? Explique.