



Unidad temática I: sesión III

Ósmosis y difusión

Propósito general

Comprender las leyes que rigen el comportamiento de los electrólitos y líquidos en el organismo.

Propósito específico

Definir los términos difusión, ósmosis y tonicidad.

Explicar las características estructurales de la membrana celular y los mecanismos de transporte a través de ella.

1. Introducción

Debido a sus características fisicoquímicas el agua se considera como el disolvente universal, en los sistemas biológicos esta premisa es importante ya que el agua corresponde al principal componente. El agua constituye del 50 al 70 % de peso corporal total (PCT), en el varón adulto promedio. Dicho porcentaje se puede dividir en líquido intracelular (LIC = 40% de PCT) y líquido extracelular (LEC = 20 % de PCT), subdividida a su vez en agua plasmática (5% del PCT) y agua intersticial (15% de PCT).

El contenido de agua y solutos en estos compartimentos no es estático; los procesos de difusión y ósmosis están constantemente en marcha y producen cambios en los volúmenes y concentraciones de estos compartimentos.

La difusión simple es el proceso por el cual un gas o un soluto disuelto se expanden como consecuencia del movimiento aleatorio (energía cinética) de sus moléculas hasta llenar todo el espacio disponible. Un soluto difundirá libremente por medio de proteínas transportadoras si el movimiento es a favor de su gradiente de concentración, de lo contrario, sólo será posible su traslado por medio de transporte activo.

El movimiento de agua a través de la membrana plasmática determina el volumen celular. La regulación de dicho volumen es muy importante ya que las células animales no pueden soportar la entrada de grandes cantidades de agua debido a que entran en un estado de turgencia (es decir se hinchan), e inclusive, pueden llegar a lisarse. Si una célula es colocada en un medio con una concentración de solutos mayores que aquellos que hay en el espacio intracelular y la membrana es poco permeable a dicho soluto, el agua intracelular saldrá de la célula. En cambio, si es colocada en una solución con menor concentración de solutos en comparación con los que están presentes en el interior celular, el agua de la solución entrará en la célula. El movimiento del agua en estas condiciones se denomina ósmosis, la presión



necesaria para evitar dicho movimiento se denomina presión osmótica y se calcula con la ecuación de Van't Hoff.

Los solutos que promueven el movimiento de agua de un lado a otro de la célula son denominados osmóticamente activos. Es importante aclarar que la cantidad de partículas osmóticamente activas no siempre son iguales a la concentración de dicho soluto; por ejemplo, la sal común (cuya fórmula química es NaCl) tiene por cada molécula de sal dos partículas osmóticamente activas, los iones sodio y cloruro. La cantidad de partículas osmóticamente activas por litro de agua se denomina osmolaridad.

Los iones que se mueven a través de la membrana celular además poseen carga eléctrica, el Na⁺ por ejemplo tiene carga positiva, mientras que el Cl⁻ está cargado negativamente. Los iones presentes al interior y exterior celular se encuentran por lo tanto en diferente concentración química y con diferentes cargas (eléctricas). La diferencia de concentración química en ambos lados de la membrana promueve el movimiento de los iones, generando así cambios rápidos en las cargas acumuladas a ambos lados de la membrana (polarización de la membrana), dichos cambios provocan una diferencia de voltaje que se conoce como potencial de membrana. Así, el movimiento de los iones provoca un potencial de membrana generado por difusión.

Por ejemplo, el compuesto NaCl se encuentra más concentrado en el lado extracelular. Si la membrana plasmática fuera sólo permeable a Na⁺, pero no a Cl⁻, el sodio tendería a difundir al interior celular debido a la diferencia de concentraciones. Debido a las cargas iónicas esto generaría una electropositividad dentro de la membrana y electronegatividad en el exterior. En milisegundos, la diferencia de potencial entre el interior y el exterior, denominada potencial de difusión, se hace tan grande que bloquea el paso de más iones Na⁺ al interior, a pesar de que se mantenga el gradiente de concentración. Al valor del potencial de difusión a través de una membrana que se opone exactamente a la difusión neta de un ion particular a través de la membrana se le llama potencial de Nernst o potencial de equilibrio para ese ion.

Cuando una membrana es permeable a varios iones diferentes, el potencial de difusión que se genera depende de tres factores: 1) la polaridad de la carga eléctrica de cada uno de los iones; 2) la permeabilidad de la membrana a cada uno de los iones (que tan fácil puede pasar), y 3) las concentraciones de los respectivos iones en el interior y en el exterior de la membrana. Estas tres condiciones en conjunto ayudan a determinar el voltaje del potencial de membrana.

2. Actividades de aprendizaje

Metodología

a) Material y equipo

- Vasos de precipitado
- Agua destilada
- Azul de metileno (100 mM, 0.32 g en 10 ml)
- Permanganato de potasio (100 mM, 0.16 g en 10 ml)
- Caja Petri con Gelatina al 3% o agar al 1%



- Huevos (se tendrá un número limitado de huevos, favor de solicitar a los alumnos traer algunos)
- Popotes transparentes
- Tijeras
- Pistolas de silicón
- Bolsas de celofán
- Ligas
- Disoluciones estándar para calibrar el osmómetro
- Osmómetro
- Balanza
- Voltímetro
- NaCl
- Sucrosa

3. Procedimiento experimental

Se recomienda dividir al grupo en equipos para que cada equipo realice un experimento.

Experimento 1. Factores que influyen en la difusión de una molécula en solución.

Temperatura

Coloque en uno de los vasos 40ml de agua destilada a 20°C, en otro vaso coloque 40 ml de agua destilada a 40-50 °C (pedir al laboratorista). Adicione a cada uno una gota de colorante azul de metileno.

Después de esto: Observe, y registre el tiempo en que ocurre la difusión del colorante.

Experimento 2. Factores que influyen en la difusión de una molécula en solución.

Masa molar

Tome dos cajas Petri que contienen gelatina al 3% o agar al 1%, el centro de la caja Petri realice un pequeño agujero utilizando un palillo de madera o una pipeta Pasteur. Adicione a uno de los orificios azul de metileno (20 µl) y al otro permanganato de potasio (20 µl).

Determine el diámetro de difusión para cada colorante a los 5, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 minutos (fig. 1).

Construya una gráfica radio al cuadrado versus tiempo de difusión para cada colorante y a partir de ella obtenga el coeficiente de difusión D considerando que para la difusión en dos dimensiones la relación entre el radio de difusión y el tiempo está determinada por la expresión $x^2 = 4Dt$ donde x es la distancia desplazada en cm (debe corresponder al radio y no al diámetro de difusión), D es el coeficiente de difusión en cm/s, y t es el tiempo de difusión en segundos. La pendiente de la gráfica construida corresponde a 4D por lo que al dividir la pendiente sobre 4 se obtiene el valor de D (fig. 4).

Experimento 3a. Ósmosis en una membrana biológica



Tome un huevo y retire cuidadosamente un poco del cascarón sin romper la membrana que separa el cascaron de la clara (en extremo más ancho es más fácil romper el cascarón sin romper la membrana) (Fig. 2A).

Perforar el vértice opuesto completamente de manera que sea posible introducir un popote al interior del huevo. Introducir, por el orificio formado, el popote en el huevo a una profundidad tal que esté en contacto con la clara, sin romper la yema.

Sellar herméticamente (el espacio entre el popote y el huevo) con ayuda de la pistola de silicón, y poner un poco de solución salina con azul de metileno en el popote hasta ver con claridad un nivel de agua en el popote) (Fig. 2B).

Colocar el huevo con la membrana expuesta hacia abajo dentro del vaso o caja Petri previamente llenado con agua destilada. Es importante que la membrana esté sumergida en el agua (Fig. 2C).

Marque el nivel de agua al inicio y cada 10 minutos por una hora, registre sus datos y construya una gráfica (mm/minutos) (Fig. 2).

Experimento 3b. Ósmosis en una membrana sintética

Prepare una solución de azúcar (sucrosa) en agua destilada al 2.5% y al 5% (m/v), verifique los cálculos con su profesor. Una vez calibrado el equipo, determine la osmolaridad del agua destilada y posteriormente la de las soluciones de azúcar.

¿La osmolaridad teórica difiere de la experimental? ¿a qué puede deberse dicha diferencia?

Tome una bolsita de celofán y llénela de las soluciones de azúcar, amarre el extremo de la bolsita de tal forma que quede sellada. Determine con la báscula el peso de la bolsa de celofán llena con la solución.

Coloque las bolsitas en un vaso de precipitados de 500 ml con 200 ml de agua destilada.

A los 30 minutos retire las bolsitas del vaso, séquelas y determine su peso, repita este paso cada 30 min. hasta que pasen 2 horas, construya una gráfica con esos 6 puntos, y determine la velocidad de flujo de agua hacia el huevo.

Determine la osmolaridad del líquido dentro de las bolsitas de celofán después de que finalizó el experimento y compárela con la osmolaridad inicial. ¿Hay diferencias entre ambos valores? ¿a qué se debe la diferencia?

Experimento 4. Potenciales de difusión en una membrana biológica

Tome un huevo y retire cuidadosamente un poco del cascarón del extremo más ancho, tenga cuidado de no romper la membrana. Vacíe el contenido del huevo.

Perforar el vértice opuesto completamente de manera que sea posible introducir un electrodo, aproximadamente 1 cm de ancho (fig. 3).



Ponga en el interior del huevo una disolución concentrada de Cloruro de Sodio (NaCl) y ponga agua destilada en el exterior del huevo.

Coloque un electrodo del multímetro en el interior del cascarón y otro afuera, asegurándose que ambos estén completamente sumergidos en el medio.

Registre el valor del voltaje que muestra el multímetro cada 10 min o hasta que se alcance un valor estable.

3. Instrumento de evaluación/Evidencia

Elabora un reporte de práctica que contemple los puntos vistos en la práctica 1.

4. Referencias

1. Sharyn A. Endow, Adam P. Russell, Basics:Biophysics-A-step-by-step Introduction to concepts for students. Lesson plan: Diffusion. 2015.
2. Ganong, Fisiología Médica. Barret, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. L., 25ª edición. McGraw Hill - Lange, México, 2016.
3. Hall, John E., Guyton & Hall Tratado de Fisiología Médica, 12ª edición, Elsevier – Saunders, Barcelona, 2011.

5. Anexos

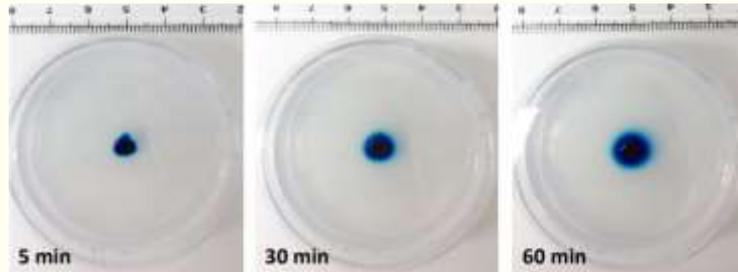


Fig. 1. Experimento 2. Factores que influyen en la difusión de una molécula en solución.

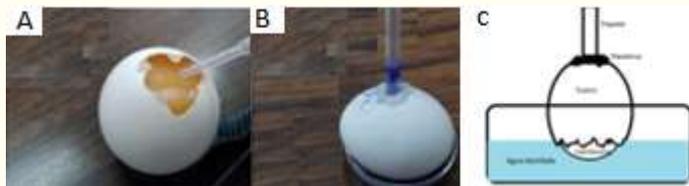


Figura 2. Experimento 3a. Ósmosis en una membrana biológica

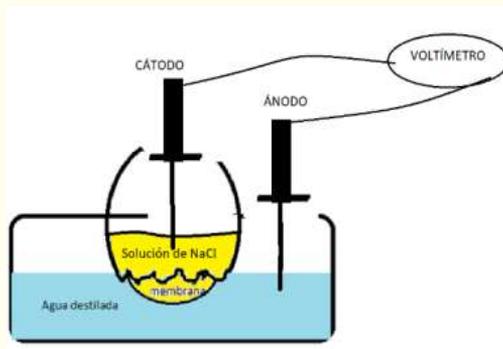


Figura 3. Experimento 4. Potenciales de difusión en una membrana biológica

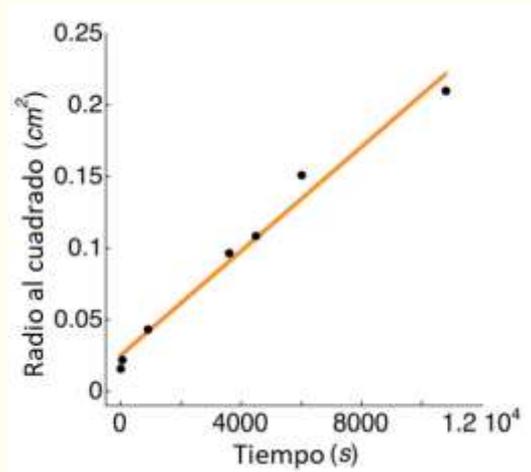


Figura 4. Ejemplo de gráfica de resultados