



MECANISMOS DE TRANSPORTE A TRAVÉS DE MEMBRANA

OBJETIVOS

- Comprender los conceptos de transporte pasivo y transporte activo y su importancia en las células vivas.
- Evidenciar y reconocer las diferencias entre los tipos de transporte presentes en la célula.
- Entender el papel de la membrana celular y su comportamiento en los diferentes procesos de transporte celular.
- Introducir al estudiante en la aplicación de pruebas analíticas para la determinación de compuestos de importancia biológica.

MATERIALES QUE SE DEBEN LLEVAR A CLASE (por grupo)

1. Colores
2. Guantes
3. Gafas protectoras

I. MARCO TEÓRICO

1. Biomoléculas

En el estudio de la biología es de gran importancia la determinación de compuestos que están involucrados en las reacciones bioquímicas o que están

presentes en la célula. En muchos de los casos la presencia o ausencia, o el aumento o detrimento de alguna sustancia, son indicadores del estado metabólico del organismo y por lo tanto de la expresión de características que pueden estar codificadas genéticamente.

Entre las biomoléculas de importancia a nivel general están los carbohidratos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos. Por otra parte, entre las sustancias inorgánicas que también poseen importancia biológica tenemos las sales y algunos elementos. Para efectos de esta práctica nos enfocaremos en los grupos de carbohidratos y las sales para analizar procesos de transporte a través de membrana.

1.1. Carbohidratos

Los hidratos de carbono son un grupo diverso de compuestos que contienen principalmente átomos de carbono flanqueados por grupos hidrógeno e hidroxilo (H-C-OH). En los monosacáridos las proporciones relativas de carbono, hidrógeno y oxígeno son 1:2:1, tal como lo indica la fórmula CH_2O . Para los disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, estas proporciones difieren levemente ya que en las reacciones de condensación se pierden dos hidrógenos y un oxígeno (Sadava *et al.*, 2008).

Monosacáridos: más conocidos como azúcares sencillos, son los monómeros a partir de los cuales se construyen los azúcares más complejos (Sadava *et al.*, 2008). Los monosacáridos no se hidrolizan. Ej. Galactosa, glucosa y fructosa.

Los azúcares que presentan en su constitución molecular una función aldehído, como en el caso de la glucosa, se conocen con el nombre de azúcares reductores; debido al comportamiento que tienen en presencia de agentes oxidantes. Este hecho es utilizado en varias pruebas de reconocimiento de azúcares tales como las reacciones de Fehling y Benedict, que presentan en su composición compuestos de cobre que permiten visualizar la reacción (Curtis *et al.*, 2008). Los azúcares reductores en soluciones salinas (pH alto) reducen los iones Cu^{++} a Cu^+ indicando esto la oxidación del azúcar por la acción del óxido cúprico, reduciéndose este último al estado del óxido cuproso. Este estado se observa como un compuesto de color amarillo ladrillo. La aparición de un color amarillo ladrillo indica que la prueba es positiva para azúcares reductores.

Disacáridos: En hidrólisis ácida forman dos moles de uno o dos monosacáridos. Ej: Sacarosa (glucosa + fructosa), lactosa (glucosa + galactosa). La sacarosa no posee

carbonos glucosídicos libres que presenten propiedades reductoras pero los demás disacáridos sí (Sadava *et al.*, 2008).

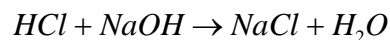
Polisacáridos: están conformados por **polímeros de monosacáridos**, su hidrólisis conlleva a la formación de un gran número de moléculas de monosacáridos. Esos y sus derivados son solubles en alcohol. Ej.: almidón, glucógeno y celulosa.

El almidón es insoluble en agua fría y en agua caliente forma una pasta conocida como engrudo de almidón. En presencia de polvo de yodo da una coloración azul que desaparece en caliente. El almidón está formado por dos subunidades: amilosa (15-30%) y amilopectina (70-85%) (Sadava *et al.*, 2008).

La amilosa es un polímero de cadena lineal que resulta de la condensación de unidades de dextrosa formando enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$. Este polímero se caracteriza por la proyección periférica de los hidroxilos, mientras que la vaina central presenta numerosos puntos hidrófobos en los cuales se forman los complejos al adicionar yodo que se caracteriza por la aparición de un color azul oscuro, lo cual indica que la prueba es positiva.

1.2. Sales

Son compuestos iónicos inorgánicos formados por el anión de un ácido y el catión de una base:



Las sales forman compuestos estables con metales pesados (como la plata). Así, en presencia del $AgNO_3$, las sales se combinan con la plata formando un precipitado blanco.

2. Diseños experimentales y controles

En los diseños experimentales siempre se deben contemplar **resultados de referencia** conocidos como **controles**, cuya respuesta a la prueba se conoce y con los cuales se compara el resultado obtenido de las muestras sometidas a estudio. De esta manera, en una prueba, el **control positivo** es un experimento cuyo resultado se conoce que es positivo, y se utiliza para evaluar posibles errores durante el procedimiento. Por su parte un **control negativo** es un experimento cuyo resultado

se conoce que es negativo y es utilizado para descartar contaminación de reactivos, o artefactos que puedan generar falsos positivos.

3. Transporte a través de membranas

Casi todas las células vivas se encuentran en un medio líquido, que puede ser el fluido extracelular del cuerpo humano o el pozo de agua en el cual una ameba se desarrolla. La membrana plasmática separa el citoplasma (fluido de la célula) del ambiente (fluido que la rodea).

El transporte de sustancias a través de las membranas ocurre por mecanismos de transporte pasivo y transporte activo.

3.1. *Transporte Pasivo*

En el transporte pasivo no hay gasto de energía en forma de ATP ya que las sustancias se mueven a favor de un gradiente de concentración, es decir, de una región de mayor concentración a una de menor concentración. El gradiente provee la energía potencial necesaria para el movimiento y controla la dirección de este mismo hacia afuera o adentro de la célula, en este tipo de movimiento la membrana plasmática actúa como un filtro. Los lípidos y las proteínas regulan el tipo de molécula que atraviesa la membrana y pueden influenciar la tasa y el tiempo en que ocurre el transporte pero no influyen en la dirección del movimiento (Audesirk *et al.*, 2008).

Dentro de este tipo de transporte se encuentra la difusión, que es el movimiento neto de solutos en un fluido de una región de alta concentración a una región de baja concentración. La difusión puede ocurrir desde una región de un fluido a otra región del mismo fluido (dentro de una misma célula) o a través de una membrana que separa dos compartimientos fluidos (hacia afuera o hacia adentro de la célula) (Audesirk *et al.*, 2008).

3.1.1. **Difusión Simple y Difusión Facilitada**

La **difusión simple** es el movimiento de moléculas sin ayuda y a favor de un gradiente de concentración. Ejemplos de lo anterior son gases disueltos como el dióxido de carbono y oxígeno y también moléculas solubles en lípidos (alcohol etílico

y vitamina A). La **difusión facilitada** es el movimiento de moléculas que únicamente pueden difundirse a través de la membrana con ayuda de proteínas transportadoras y a favor de un gradiente de concentración; este tipo de difusión transporta moléculas solubles en agua que debido a las características lipídicas de la membrana no pueden atravesarla y necesitan de la ayuda de las proteínas transportadoras. Dentro de tales moléculas encontramos los iones (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}), los aminoácidos y los monosacáridos (Audesirk *et al.*, 2008).

3.1.2. Ósmosis

La **ósmosis** es otro tipo de transporte pasivo que consiste en la difusión de agua a través de membranas diferencialmente permeables, de una región de alta concentración de agua a otra de menor concentración. Con el flujo de agua por ósmosis se arrastran iones o moléculas con características eléctricas compatibles a las de las membranas y de menor diámetro que los poros celulares. Lo anterior causa una presión sobre la membrana celular denominada **presión osmótica** (Audesirk *et al.*, 2008). Adicionalmente, la presión que ejerce el contenido celular sobre la pared celular (plantas) se denomina **presión de turgencia** mientras que la presión que ejerce la pared sobre el contenido celular es la **presión parietal**.

El flujo de agua a través de la membrana plasmática depende de la concentración de agua en el líquido que “baña” la célula. Teniendo como referencia la concentración celular, la concentración de las soluciones que bañan una célula, tejido u órgano se pueden clasificar en:

- **Solución Isotónica:** Cuando la concentración del fluido extracelular es igual a la concentración del fluido celular. Los fluidos extracelulares de los animales son usualmente isotónicos.
- **Solución Hipertónica:** Cuando la concentración del fluido extracelular es mayor a la concentración del fluido celular.
- **Solución Hipotónica:** Cuando la concentración del fluido extracelular es menor a la concentración del fluido celular.

El proceso de ósmosis mantendrá el flujo neto de agua hacia afuera o hacia adentro de la célula hasta que las concentraciones de soluto adentro y afuera de la célula sean iguales; si se toma esto en cuenta, una célula sumergida en una solución isotónica mantendrá su volumen, pero una célula sumergida en una solución

hipertónica perderá agua, volumen y por lo tanto se arrugará debido a la salida de agua por ósmosis. En plantas, este fenómeno se conoce como *plasmólisis*. Por el contrario, una célula sumergida en una solución hipotónica aumentará de volumen debido a la entrada de agua por ósmosis (Audesirk *et al.*, 2008).

3.2. Transporte Activo

Es un tipo de transporte con requerimiento de energía en el cual las **proteínas de membrana** usan energía celular (ATP), para mover moléculas individuales a través de la membrana celular usualmente en contra de un gradiente de concentración. El ATP dona energía a la proteína causando un cambio en la forma de ésta, lo que permite el movimiento de la molécula o del ión a través de la membrana. Este tipo de proteínas transportadoras usualmente son denominadas bombas, debido a que “bombean” iones o moléculas hacia adentro o hacia afuera de la célula sin importar el gradiente de concentración. Un ejemplo de esto son las bombas de sodio y potasio presentes en las neuronas (Audesirk *et al.*, 2008).

4. Definiciones de importancia

- **Fluido:** Un líquido o un gas que puede moverse o cambiar de forma en respuesta a fuerzas externas sin romperse.
- **Concentración:** El número de moléculas en un fluido en una unidad dada de volumen.
- **Gradiente:** Diferencia física entre dos regiones del espacio. Debido a estas diferencias físicas, las moléculas tienden a moverse de una región a otra. En el sistema celular se encuentran gradientes de concentración, presión y carga eléctrica.
- **Diálisis:** Proceso por el cual se pueden separar las moléculas en una solución a través de una membrana artificial semipermeable. La separación de las moléculas se da gracias a la diferencia en sus índices de difusión.

¡PRECAUCIÓN!

En este laboratorio se usará Nitrato de Plata (AgNO_3), considerado como un compuesto tóxico. Es importante conocer sobre los riesgos que implica el manejo de este tipo de compuestos y las precauciones que se deben tener en cuenta.

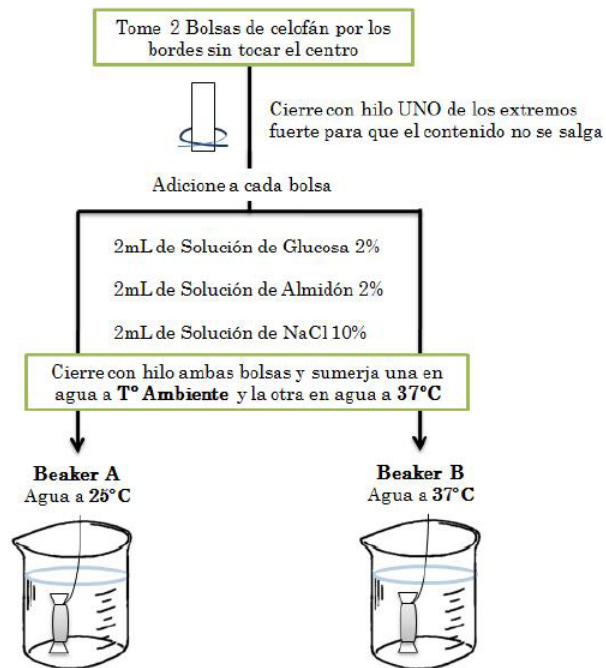
COMPUESTO	RIESGOS/PELIGRO	EQUIPO DE PROTECCIÓN
Nitrato de Plata	Irritante Tóxico si se ingiere o se inhala Mancha	Guantes Gafas de seguridad

II. PROCEDIMIENTO

1. Diálisis: Difusión a través de una membrana artificial.


MATERIALES		
INSTRUMENTAL BÁSICO	SOLUCIONES	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none">• Tubos de ensayo.• Mechero y soporte.• Gradilla.• Bolsa de diálisis.• Hilo o cauchos.• 2 Beakers.• Goteros o Pipetas 2 ml.	<ul style="list-style-type: none">• Glucosa 2%.• Almidón 2%.• NaCl 10%.	<ul style="list-style-type: none">• Lugol.• AgNO_3 (Nitrato de plata).• Reactivo de Benedict (disolver 1.73g de sulfato de cobre, 17.3g de citrato de sodio y 10g de carbonato de sodio anhídrido en 100ml de agua destilada)

Diagrama de flujo




Luego de 30 minutos realice las siguientes pruebas para **determinar cuáles sustancias atravesaron la membrana** para las dos temperaturas.

Pruebas



Muestra Beaker A
Agua a 25°C



Muestra Beaker B
Agua a 37°C

a. Prueba de Azúcares Reductores

Tome cuatro tubos de ensayo y adicione a cada tubo 2 mL de:

Tubo	Muestra
1	Agua
2	Glucosa 2%
3	Agua beaker A
4	Agua del beaker B

Adicione a cada tubo :

↓

2 gotas de **Reactivo Benedict**
Calentar a 37°C por 1 min

↓

Observe el color en cada tubo :
Prueba negativa: Azul
Prueba positiva: Naranja

b. Prueba de Sales

Tome cuatro tubos de ensayo y adicione a cada tubo 1 mL de:

Tubo	Muestra
1	Agua
2	NaCl 10%
3	Agua beaker A
4	Agua del beaker B

Adicione a cada tubo :

↓

4 gotas de **Nitrato de Plata**

↓

Observe en cada tubo :
Prueba negativa: Sin cambio
Prueba positiva: Formación de precipitado blanco

c. Prueba de Almidones

Tome cuatro tubos de ensayo y adicione a cada tubo 1 mL de:

Tubo	Muestra
1	Agua
2	Almidón 2%
3	Agua beaker A
4	Agua del beaker B

Adicione a cada tubo :

↓

8 gotas de **Lugol**

↓

Observe el color en cada tubo :
Prueba negativa: Amarillo
Prueba positiva: Morado negro

2. Ósmosis

2.1. Eritrocitos como Osmómetros

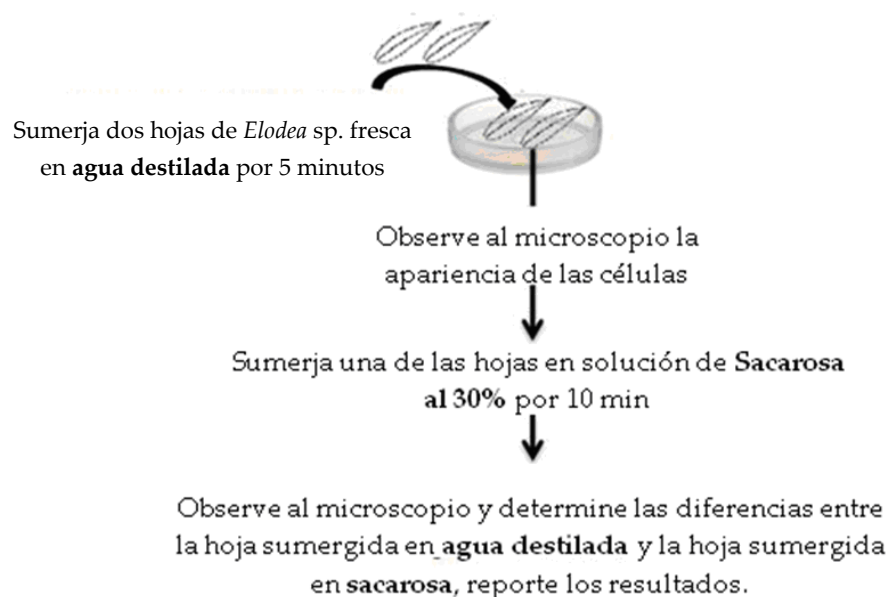
MATERIALES		
INSTRUMENTAL BÁSICO	SOLUCIONES	MATERIALES
<ul style="list-style-type: none"> Láminas. Laminillas. Palillos. Algodón y alcohol. Lancetas. 	<ul style="list-style-type: none"> Soluciones salinas: 0.4%, 0.9%, 2.0%. 	<ul style="list-style-type: none"> Sangre.

Tome cuatro láminas y coloque en cada una de ellas una gota de sangre. Luego adicione 2 gotas de solución salina así:

Lámina	Solución salina
1	0.4%.
2	0.9%.
3	2.0%.
4	Control (Sin solución).

2.2. Plasmólisis en células vegetales

MATERIALES		
INSTRUMENTAL BÁSICO	SOLUCIONES	MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> Láminas. Laminillas. 2 cajas de Petri. Goterros o Pipetas 2 ml 	<ul style="list-style-type: none"> Solución de Sacarosa 30%. Agua destilada. 	<ul style="list-style-type: none"> Hojas de <i>Elodea</i> sp. frescas.

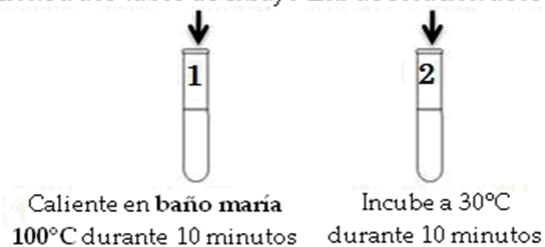


3. Transporte activo

MATERIALES		
INSTRUMENTAL BÁSICO	SOLUCIONES	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> • Tubos de ensayo. • Mechero. • Gradilla. • Láminas. • Laminillas. • Goteros o pipetas 2 ml. • Pinzas de madera. • Colores 	<ul style="list-style-type: none"> • Solución de levadura 0.2%. • Glucosa 2%. 	<ul style="list-style-type: none"> • Rojo Congo

Diagrama de flujo

Adicione a dos tubos de ensayo 2ml de solución de levadura 0,2%



Agregue a cada tubo
4ml de solución de Glucosa 2%

Deje enfriar y añada
6 gotas de Rojo congo a cada tubo

Agite los tubos suavemente y deje
reposar por 5 minutos

Montar en una lamina dos gotas de cada muestra,
asegúrese de poner laminilla

Observe al microscopio y reporte las diferencias

BIBLIOGRAFÍA

Audesirk, T.; Audesirk, G. & Byers, B. (2008). *Biology : life on earth with physiology* (8th Ed.). USA: Editorial Pearson Prentice Hall.

Curtis, H.; Barnes, S.; Schneek, A. & Massarini, A. (2008). *Curtis Biología* (7ma. Ed.). España: Editorial Médica Panamericana.

Sadava, D; Heller, H.C.; Orians, G.; Purves, W. K.; & Hillis, D.M. (2008). **Life: the science of Biology (8th Ed.)**. U.S.A: Editorial W.H. Freeman.

Referencias Relacionadas

Cooper, G. (2000). *The Cell* (2nd Ed.). Washington D.C., USA: ASM Press. pp.81-84.

De Duve, C. H. (1998). *La Célula Viva*. (1ra Ed.). Barcelona: Prensa científica. Editorial Labor. pp. 53-61; 225-241.

Stryer, L. (2000). *Bioquímica*. (5ta. Ed.) Valencia, España: Editorial Reverte. pp. 753-758.

➔ **BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA PARA ESTA PRÁCTICA:**

La bibliografía que encontrará a continuación puede hallarla en la biblioteca. Recuerde que usted es libre de llevar otros textos, adicionales a la bibliografía recomendada, que le permitan responder las preguntas del informe. No olvide que es OBLIGATORIO llevar libros de consulta al laboratorio.

Sadava, D; Heller, H.C.; Orians, G.; Purves, W. K.; & Hillis, D.M. (2008). **Life: the science of Biology (8th Ed.)**. U.S.A: Editorial W.H. Freeman.

Purves, W. K.; Sadava, D.; Orians, G. & Heller, C. (2002). **Vida: La Ciencia de la Biología** (6^a Ed.). España: Editorial Médica Panamericana.

Audesirk, T. & Audesirk, G. (2004). *Biology* (5th. Ed.). New Jersey: Prentice Hall. pp. 109-118.