

2ej
50



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**"REESTRUCTURACION Y ACTUALIZACION DEL
PROGRAMA EXPERIMENTAL DE FISICOQUIMICA
FARMACEUTICA (292)"**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
Químico Farmacéutico Biólogo**

P R E S E N T A :

PAULINO CARLOS GONZALEZ HERNANDEZ



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION.

I.- CINETICA QUIMICA.- Cinética de oxidación de vitamina C con ferri-
cianuro de potasio.

1.0 Introducción. (6)

1.1 Efecto de la concentración de reactivos sobre la velocidad
de reacción. (27)

1.2 Efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción.(33)

1.3 Efecto de la fuerza iónica sobre la velocidad de reacción.(37)

1.4 Efecto del pH sobre la velocidad de reacción. (41)

II.- CINETICA ENZIMATICA. Hidrólisis de almidón con una α -amilasa
bacteriana.

2.0 Introducción (45)

2.1 Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad
de reacción. (60)

2.2 Efecto de la concentración de enzima sobre la velocidad
de reacción. (67)

2.3 Efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción.(71)

III.- FISICOQUIMICA DE COLOIDES

Introducción de presión osmótica. (75)

3.1 Determinación de la presión osmótica de un compuesto macro-
molecular. (88)

Introducción de viscosidad.(91)

3.2 Determinación de la viscosidad de soluciones de agar en dife-
rentes valores de pH. (102)

IV.- FISICOQUIMICA DE SUPERFICIES

IV

4.0 Introducción. (108)

4.1 Determinación de la tensión superficial de soluciones de etanol y penicilina por el método de doble capilar. (129)

4.2 Determinación de la tensión interfacial del sistema agua-aceite de cártamo empleando el estalagmómetro. (133)

COMENTARIOS (137)

BIBLIOGRAFIA. (138)

INTRODUCCION

El presente trabajo es una colección de experimentos que tienen dos objetivos fundamentales. El primero de ellos es enfatizar la relación que existe entre la Físicoquímica con las Ciencias Biológicas. Este aspecto es importante ya que muchos de los eventos que ocurren en los sistemas biológicos pueden analizarse y explicarse empleando los principios que proporciona la Físicoquímica. No obstante, debe tenerse presente que el funcionamiento de los sistemas biológicos no siempre es fácil, por ello su estudio no es quehacer de una disciplina aislada, sino que es una tarea que requiere la integración de los conocimientos de diversas disciplinas como son la Bioquímica, la Fisiología, la Físicoquímica, etc.

El segundo objetivo que se persigue con este trabajo es reestructurar y actualizar el programa de prácticas del último curso de Físicoquímica en las carreras de Q.F.B., es decir el curso de "Físicoquímica Farmacéutica". Para lograr este objetivo se integrarán los experimentos aquí presentados al actual programa de prácticas de la asignatura.

Los experimentos que se presentan en este trabajo tienen la estructura que se muestra en el cuadro 1. En la introducción se pretende, por una parte, sentar las bases teóricas necesarias para comprender el experimento que se va a realizar. Probablemente para un manual de prácticas sea muy extensa esta introducción, pero con ella se puede tener una idea de los conceptos que se manejarán en el experimento y que pueden ser temas de investigación bibliográfica para el estudiante. Por otra parte, al principio, en la introducción de cada experimento se presentan pequeños análisis de los temas presentados en el experimento en donde se muestra su importancia y relación con las Ciencias Biológicas. En algunos casos estos pequeños análisis pueden parecer incompletos o inconclusos, pero lo que se busca con ello es despertar la curiosidad del lector e invitarlo a que siga investigando sobre los temas presentados.

En el objetivo del experimento, simplemente se puntualiza qué es lo que se busca probar o ilustrar con el experimento.

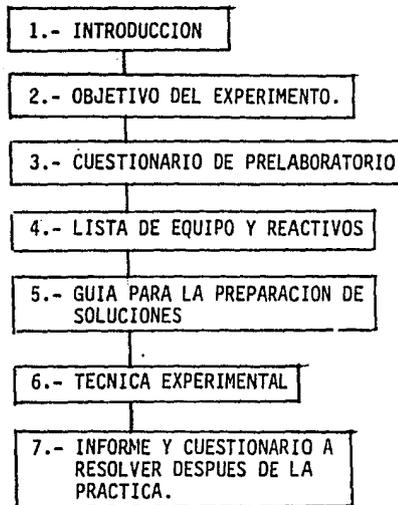
Con el cuestionario de prelaboratorio se trata que el estudiante investigue los conceptos que manejará, en forma directa, en el experimento y que le ayudarán a comprender el mismo. Este cuestionario esta estrechamente relacionado con la introducción teórica.

En la lista de equipo y reactivos se indican cuáles son los necesarios para la realización de la práctica y para la preparación de las soluciones.

En la guía para la preparación de soluciones y en la técnica experimental se detalla el trabajo de laboratorio que es necesario hacer para la ejecución del experimento.

Con el informe y cuestionarios a resolver después de la práctica se pretende afianzar los conceptos manejados en el experimento.

Cuadro 1



La reestructuración que se propone al programa de prácticas se muestra en los cuadros 2 y 3. Como se observa en estos cuadros se propone reemplazar en el ciclo de Cinética Química el estudio de la reacción de oxidación de yoduro de potasio por la oxidación de la vitamina C, por considerarla más ilustrativa desde el punto de vista biológico. En ambas reacciones se estudian algunos efectos similares, pero considero que trabajar con un compuesto de interés biológico, como la vitamina C, es más atractivo para los estudiantes de las carreras de Q.F.B.

Se propone que el segundo tema del curso sea uno de Cinética Enzimática, contemplado como complemento al de Cinética Química. Cabe mencionar que una vez aprendidos los fundamentos de Cinética Química podrá abordarse firmemente el campo de la Cinética Enzimática.

Los experimentos propuestos para el ciclo de Físicoquímica de Coloides se integran como prácticas alternativas a las ya existentes, haciendo hincapié en el trabajo con compuestos macromoleculares.

En el cuarto ciclo, de Físicoquímica de Superficies, se integran dos experimentos. Uno de ellos es una variante del método del capilar para medir Tensión Superficial y consiste en emplear un sistema de doble capilar que tiene como ventaja, sobre el de un sistema monocapilar, una mejor precisión y exactitud en las mediciones que se realicen. El segundo experimento es la medición de la Tensión Interfacial utilizando el estalagmómetro; se seleccionó este segundo experimento dada la importancia de la Tensión Interfacial en el campo de las emulsiones.

Cuadro 2

EXPERIMENTOS
PRESENTADOS
EN ESTE TRA-
BAJO

ESTRUCTURA
ACTUAL

I.- Cinética Química

Oxidación de vitamina C con ferricianuro de potasio. Efectos de: concentración, temperatura, pH y fuerza iónica.

II.- Cinética Enzimática

Hidrólisis de almidón con una α -amilasa bacteriana. Efectos de: concentración de sustrato, concentración de enzima (orden respecto al catalizador) y temperatura.

III.- Fisicoquímica de Coloides

- a) Determinación de la π de un compuesto macromolecular (agar).
- b) Determinación del efecto electroviscoso en un compuesto macromolecular.

IV.- Fisicoquímica de Superficies

- a) Medición de la Tensión Superficial por el método de doble capilar.
- b) Medición de la Tensión Interfacial por el método del estalagmómetro.

I.- Cinética Química

Oxidación de yoduro de potasio con persulfato de potasio. Efectos de: concentración, temperatura, catalizador y fuerza iónica.

II.- Fisicoquímica de Coloides

- a) Equilibrio de Donnan.
- b) Medición de π de soluciones de almidón.
- c) Determinación de la viscosidad intrínseca y volumen de hidratación de la molécula de glicerol.
- d) Determinación de la constante reparto del ácido acético en los sistemas $H_2O/\text{éter}$ y H_2O/CCl_4 .

III.- Fisicoquímica de Superficies

- a) Medición de la Tensión Superficial empleando el sistema monocapilar.
- b) Determinación de la isoterma de adsorción del ácido acético sobre carbón activado.
- c) Preparación de emulsiones de uso farmacéutico y/o alimentario.

Cuadro 3

REESTRUCTURACION

I.- Cinética Química. Oxidación de vitamina C con ferricianuro de potasio. Efectos de: concentración, temperatura, pH y fuerza iónica.

II.- Cinética Enzimática. Hidrólisis de almidón con una α amilasa bacteriana. Efectos de: concentración de sustrato, concentración de enzima y temperatura.

III.- Fisicoquímica de Coloides

a) Equilibrio de Donnan.

b) Determinación de la π de un compuesto macromolecular (agar).

c) Determinación de la viscosidad intrínseca y volumen de hidratación de la molécula de glicerol

o Determinación del efecto electroviscoso en un compuesto macromolecular.

d) Determinación de la constante de reparto del ácido acético en los sistemas $H_2O/éter$ y H_2O/CCl_4 .

IV.- Fisicoquímica de Superficies

a) Medición de la Tensión Superficial por el método de doble capilar.

b) Medición de la Tensión Interfacial por el método del estalagmómetro.

c) Determinación de la isoterma de adsorción del ácido acético sobre carbón activado.

d) Preparación de emulsiones de uso farmacéutico y/o alimentario.

CAPITULO I

CINETICA QUIMICA

CINETICA QUIMICA

OXIDACION DE VITAMINA C CON FERRICIANURO DE POTASIO

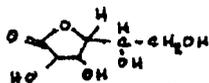
INTRODUCCION

La velocidad de las reacciones químicas está determinada por factores tales como la naturaleza y concentración de las especies reaccionantes, presión, temperatura, presencia de catalizadores, pH, fuerza iónica, naturaleza del disolvente en el que se lleva a cabo la reacción, etc.

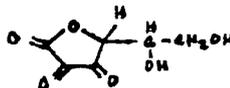
Los conceptos empleados por la cinética química no se encuentran restringidos a un determinado tipo de procesos sino que también son aplicables a procesos biológicos aún cuando estos sistemas suelen ser más complejos y sofisticados que los usualmente estudiados. Las aproximaciones realizadas con los conceptos cinéticos son válidas, por ejemplo, para comprender procesos como el crecimiento de poblaciones microbianas, la degradación biológica de desperdicios, los procesos de contracción muscular, la rapidez con la que una droga se descompone o reacciona con los constituyentes de un organismo, etc., es decir, procesos que conducen al crecimiento o cambio de dichos sistemas.

Para ilustrar las anteriores ideas se realiza en esta práctica un estudio cinético de la reacción de oxidación de la vitamina C con ferricianuro de potasio.

La vitamina C (o ácido ascórbico), que simbolizaremos por H_2A , es una vitamina hidrosoluble que tiene propiedades de agente reductor en solución acuosa perdiendo fácilmente electrones para transformarse en ácido deshidroascórbico (simbolizado como A). Las formulas estructurales de estos compuestos son las siguientes:



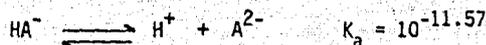
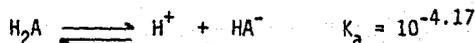
ácido ascórbico



ácido deshidroascórbico

Fig. 1.1

Como puede observarse en las anteriores fórmulas esta vitamina presenta dos átomos de hidrógeno que pueden liberarse como protones, lo cual le confiere a la molécula propiedades ácido-base. De acuerdo con estas consideraciones el potencial normal de estas especies se modificará por influencia de la concentración de H^+ presente en el medio de reacción. El par redox, ácido ascórbico (H_2A) / ácido deshidroascórbico (A), tiene un potencial normal $E_o = + 0.402$ volt a pH cero. Los equilibrios ácido-base involucrados son los siguientes:



La oxidación de la vitamina C se realizará con ferricianuro de potasio ($K_3Fe(CN)_6$) que actúa como agente oxidante, siendo el potencial normal del par $K_3Fe(CN)_6 / K_4Fe(CN)_6$ $E_o = + 0.364$ V que es prácticamente independiente del rango de pH en que se trabaje. Otra característica de interés de este compuesto es su absorción máxima de radiación a una $\lambda = 418$ nm y puesto que el ferrocianuro de potasio ($K_4Fe(CN)_6$), el ácido deshidroascórbico y el ácido ascórbico no presentan absorción de radiación en esta longitud de onda, es posible seguir el curso de la reacción midiendo la disminución de absorbancia del ferricianuro de potasio conforme transcurre la reacción. Los parámetros que se estudiarán en este experimento son los siguientes:

- a).- Influencia de la concentración de los reactivos sobre la velocidad de reacción.
- b).- Influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción.
- c).- Influencia de la fuerza iónica sobre la velocidad de reacción.
- d).- Efecto del pH sobre la velocidad de reacción.

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE REACTIVOS SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

La Cinética química puede definirse como el estudio de los aspectos de la velocidad con que un sistema químico alcanza la condición de equilibrio. La velocidad de una reacción química se define como la variación de la concentración, C_i , de uno o más de los reactivos o de los productos de reacción en función del tiempo, en otras palabras:

$$\text{velocidad de reacción} = - \frac{dC_i}{dt} = v \dots (1.1)$$

En general para un proceso del tipo:



donde a, b, c, etc. son los coeficientes estequiométricos y A, B, C, etc., las especies químicas. Puesto que las sustancias de partida se consumen y los productos de reacción se forman en proporción estequiométrica, entonces la velocidad de la reacción puede ser definida considerando los coeficientes estequiométricos de la manera siguiente:

$$v = - \frac{1}{a} \frac{dC_A}{dt} = - \frac{1}{b} \frac{dC_B}{dt} = + \frac{1}{c} \frac{dC_C}{dt} = + \frac{1}{d} \frac{dC_D}{dt} \dots (1.2)$$

en donde el signo negativo indica una disminución de la concentración de los reactivos conforme transcurre el tiempo.

Para muchas reacciones v adopta la forma

$$v = k C_A^\alpha C_B^\beta \dots (1.3)$$

Esta ecuación es conocida como ley o ecuación de velocidad. En esta expresión la constante de proporcionalidad k es llamada constante de velocidad de la reacción. Los exponentes α , β ... son los ordenes parciales de reacción y pueden ser números enteros o fraccionarios. En este caso general se dice que la reacción es de orden α con respecto a A y de orden β respecto a B.

La suma $\alpha + \beta + \dots = n$ es el orden total o simplemente, orden de reacción. El orden de reacción representa la forma en que la variación de la concentración modifica la velocidad de reacción; por ejemplo, si n es cero la velocidad es independiente de la concentración de los reactivos y se dice que la reacción es de orden cero; si n es uno la velocidad depende de la concentración de A (o de B) elevada a la primera potencia. El orden de reacción y la constante de velocidad son los parámetros que se determinan experimentalmente; los métodos integral y diferencial permiten calcular estos dos parámetros.

METODO INTEGRAL.- En este método se emplean, para determinar la constante de velocidad y el orden de reacción, las ecuaciones cinéticas de las velocidades de reacción en su forma integrada. Para aplicar este método se supone que la reacción que se estudia es de un orden determinado. Por ejemplo si se supone que la reacción es de primer orden, del tipo



entonces la velocidad de la reacción se expresa por la ecuación:

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A \quad \dots \quad (1.4)$$

que significa que conforme transcurre el tiempo la concentración de la especie A va disminuyendo de manera proporcional a la concentración inicial de A. Esta última ecuación también puede escribirse como:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a-x) \quad \dots \quad (1.5)$$

donde:

x = cantidad de reactivo consumida en el tiempo $t \neq 0$.

a = concentración inicial del reactivo A.

$a-x$ = concentración de A en el tiempo $t \neq 0$.

k_1 = constante de velocidad para una reacción de primer orden.

Para obtener una expresión de la concentración como función del tiempo se integra la ecuación de velocidad 1.5 para el orden anteriormente supuesto.

$$\int_{x=0}^x \frac{dx}{(a-x)} = \int_{t=0}^t k_1 t$$

al integrar se obtiene:

$$\ln \frac{a}{(a-x)} = k_1 t$$

o bien

$$\ln(a-x) = -k_1 t + \ln a \quad \dots (1.6)$$

Esta ecuación representa una línea recta de pendiente $-k_1$ y ordenada al origen $\ln a$. Para comprobar si la reacción estudiada es de primer orden se traza la gráfica $\ln(a-x)$ vs. t , con los datos experimentales, en caso de tratarse de una reacción de primer orden se obtendrá una recta de pendiente $-k_1$ y ordenada al origen $\ln a$. (ver fig.1.2)

Otra forma de emplear el método integral es calculando la constante de velocidad en diferentes tiempos utilizando para ello la ecuación de velocidad en su forma integrada, esto es:

$$k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} \quad \dots (1.7)$$

Si la reacción es de primer orden se deberán obtener valores similares de k_1 a diferentes tiempos.

En el caso que la reacción estudiada no sea del orden supuesto se probará para otros ordenes, haciéndole consideraciones análogas a las realizadas en el caso anteriormente analizado. Como se podrá apreciar este método es un método de ensayo y error.

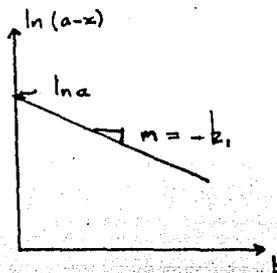


FIGURA 1.2

TABLA 1.1 ECUACIONES DE VELOCIDAD INTEGRADAS

ORDEN (n)	REACCION	ECUACION DE VELOCIDAD	ECUACION INTEGRADA	$t_{1/2}$
0	$A \longrightarrow P$	$dx/dt = k_0$	$k_0 t = x, x \leq a$	$a / 2k_0$
1	$A \longrightarrow P$	$dx/dt = k_1(a-x)$	$k_1 t = \ln \frac{a}{a-x}$	$\ln 2 / k_1$
2	$2A \longrightarrow P$	$dx/dt = k_2(a-x)^2$	$k_2 t = \frac{x}{a(a-x)}$	$1/ak_2$
2	$A + B \longrightarrow P$	$dx/dt = k_2(a-x)(b-x)$	$k_2 t = \frac{1}{b-a} \ln \frac{a(b-x)}{b(a-x)}$	-----
2	$A + \epsilon B \longrightarrow P$	$dx/dt = k_2(a-x)(b-\epsilon x)$	$k_2 t = \frac{1}{b-\epsilon a} \ln \frac{a(b-\epsilon x)}{b(a-x)}$	-----
3	$A + 2B \longrightarrow P$	$dx/dt = k_3(a-x)(b-x)^2$	$k_3 t = \frac{a-b}{ab(2a+b)} + \left(\frac{1}{2a-b}\right)^2 \ln \frac{a(b-2x)}{b(a-x)}$	-----
$n \neq 1$	$A \longrightarrow P$	$dx/dt = k_n(a-x)^n$	$k_n t = \frac{1}{n-1} \left(\frac{1}{(a-x)^{n-1}} - \frac{1}{a^{n-1}} \right)$	-----

METODO DIFERENCIAL.- En este método se emplea para determinar el orden y la constante de velocidad, la ecuación de velocidad de una reacción de orden n -ésimo.

$$v = k C^n \quad \dots (1.8)$$

en esta ecuación v representa la velocidad de reacción, k la constante de velocidad, C la concentración de los reactivos y n el orden de la reacción. Aplicando logaritmos en ambos miembros de la ecuación se obtiene la expresión

$$\ln v = \ln k + n \ln C \quad \dots (1.9)$$

que representa la ecuación de una línea recta con pendiente igual al orden de reacción, " n ", y ordenada al origen igual a $\ln k$. Esta curva se obtiene graficando $\ln v$ vs. $\ln C$ (ver fig 1.3)

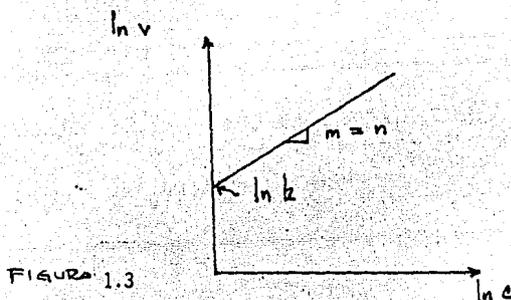


FIGURA 1.3

La velocidad de reacción, v , en cualquier tiempo se determina trazando la tangente a la curva C vs. t , es decir se realiza una diferenciación gráfica para determinar $-dC/dt$. (fig 1.4). De esta forma se puede determinar la velocidad inicial o la velocidad en cualquier otro tiempo.

En el método diferencial existen dos variantes, las cuales se mencionaran a continuación.

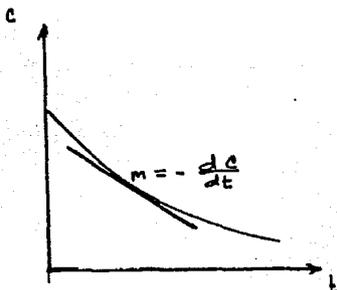


FIGURA 1.4

1).- Determinación del orden respecto a la concentración.- En esta variante se determinan las velocidades iniciales de reacción a diferentes concentraciones iniciales de reactivos. Para determinar las velocidades iniciales, v_0 , se traza sobre las curvas C vs. t la tangente en el punto que corresponda al momento del inicio de la reacción. (ver fig1.5)

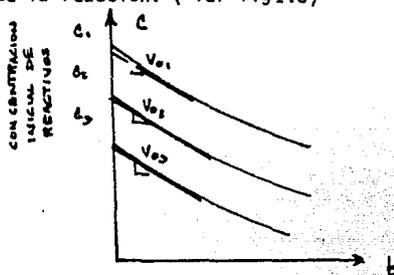
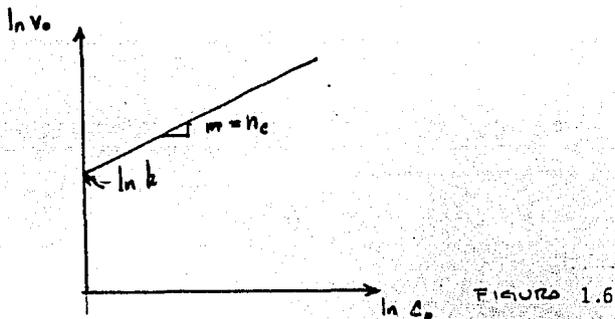
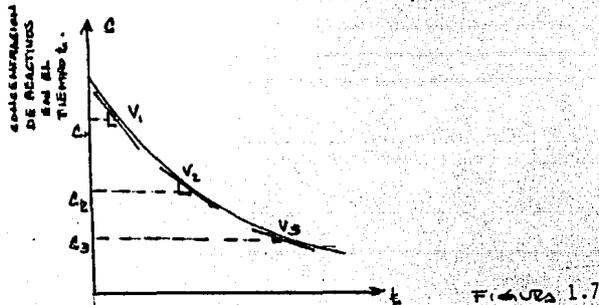


FIGURA 1.5

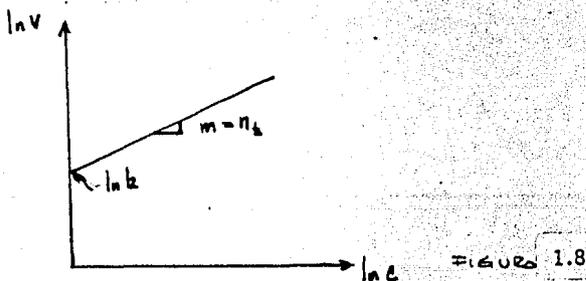
Los logaritmos de las velocidades iniciales se trazan en la gráfica de $\ln v_0$ vs. $\ln C_0$ (C_0 = concentración inicial de reactivo). La pendiente de la recta obtenida corresponde al orden de reacción respecto a la concentración, n_c , conocido también como "orden verdadero". Cuando se determina n_c los productos intermedios que se pudieran formar en el transcurso de la reacción no influyen sobre la velocidad de la misma. (VER FIG 1.6)



2).- Determinación del orden respecto al tiempo.- En este caso se determina la velocidad de reacción en diferentes tiempos a partir del inicio de la reacción. Para determinar la velocidad de reacción en diferentes tiempos se trazan tangentes sobre la curva cinética C vs. t (ver fig 1.7)



Con los puntos $(\ln C_i, \ln v_i)$ se traza la curva $\ln v = \ln k + n_t \ln C$. La pendiente representa el orden de reacción respecto al tiempo, n_t , y la ordenada al origen el $\ln k$ (ver fig. 1.8)



Con esta variante del método diferencial puede descubrirse el efecto de catálisis o de inhibición que pudieran ejercer los productos intermedios sobre la velocidad de reacción.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

La mayoría de las reacciones químicas proceden más rápidamente conforme se incrementa la temperatura, es decir, ocurre un incremento de la velocidad de reacción y por lo tanto un aumento en las constantes de velocidad. En 1880 Svante Arrhenius propone una teoría para explicar este comportamiento. De acuerdo a esta teoría el desarrollo de la reacción está condicionado por el choque de las moléculas reaccionantes, no obstante no todos los choques conducen a una interacción química sino solamente aquellos en donde las moléculas alcancen un nivel energético conocido como energía de activación de la reacción (E_a). Esta energía, E_a , es la energía mínima que deben adquirir las moléculas reaccionantes para que el choque entre ellas provoque reacción. El choque será efectivo si las moléculas reaccionantes adquieren energía igual o mayor que la energía de activación E_a . El curso de la reacción se puede representar en un diagrama de energía contra coordenada de reacción (ver fig. 1.9)

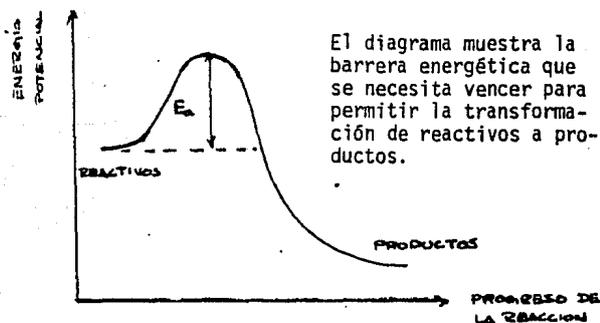


FIGURA 1.9

Mediante la ecuación de Arrhenius la variación de la velocidad de reacción en función de la temperatura se expresa como:

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \dots \dots (1.10)$$

donde:

k = La constante de velocidad de reacción.

T = temperatura absoluta.

R = constante universal de los gases.

E_a = una constante empírica que tiene dimensiones de energía y que se conoce como energía de activación.

Integrando la ecuación 1.10 se obtiene:

$$\ln k = - \frac{E_a}{R T} + \text{constante}$$

o bien

$$\ln k = - \frac{E_a}{R T} + \ln A$$

expresada en forma exponencial

$$k = A e^{-E_a/RT} \dots \dots (1.11)$$

donde A es una constante empírica denominada factor preexponencial y tiene las mismas unidades de k .

Al considerar la ecuación de Arrhenius en su forma logarítmica:

$$\ln k = - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \ln A$$

se observa que es la ecuación de una recta de pendiente igual a $-(E_a/R)$ y con ordenada al origen igual a $\ln A$. Por lo tanto si se dispone de valores de k a diferentes temperaturas es posible evaluar la energía de activación de la reacción construyendo una gráfica de $\ln k$ vs. $1/T$ y calculando la pendiente de la recta.

Por otra parte la teoría de las colisiones considera que el factor preexponencial A (la constante empírica de la ecuación de Arrhenius) representa un factor de choques, denominado Z, que indica el número de colisiones entre las moléculas en un segundo en un volumen de 1 cm^3 . La magnitud de Z puede ser determinada a partir de la teoría cinético molecular. Por ello al sustituir A por Z es posible calcular la constante de velocidad, k, mediante la ecuación:

$$k = Z e^{-E_a/RT} \quad \dots \quad (1.12)$$

sin embargo esta ecuación conduce a valores elevados en el valor de k, particularmente para reacciones en solución. Para hacer concordar los datos calculados con los experimentales se introduce en esta ecuación un factor adicional, "p", denominado factor estérico o factor de probabilidad:

$$k = Zp e^{-E_a/RT} \quad \dots \quad (1.13)$$

como consecuencia

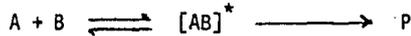
$$A = Zp$$

De acuerdo con estos resultados la teoría de las colisiones considera que además de la E_a que deben adquirir las moléculas reaccionantes durante el choque debe introducirse un factor estérico que toma en consideración la probabilidad de que al chocar las moléculas posean una orientación estérica determinada que es necesaria para que se lleve a cabo la reacción. No obstante la teoría de las colisiones no permite calcular los factores A y p. El factor A solo puede ser determinado experimentalmente por la medición de constantes de velocidad a diferentes temperaturas.

La posibilidad del cálculo teórico de las velocidades de reacción sin su estudio experimental, basado en las propiedades de las moléculas reaccionantes se logra mediante la teoría de las velocidades absolutas de reacción (conocida también como teoría del estado de transición o del complejo activado). Esta teoría fue propuesta por Eyring en 1935 y postula que existe una etapa intermedia en la transformación de reactivos a productos que involucra la formación de un complejo activado. Este complejo activado es un intermediario

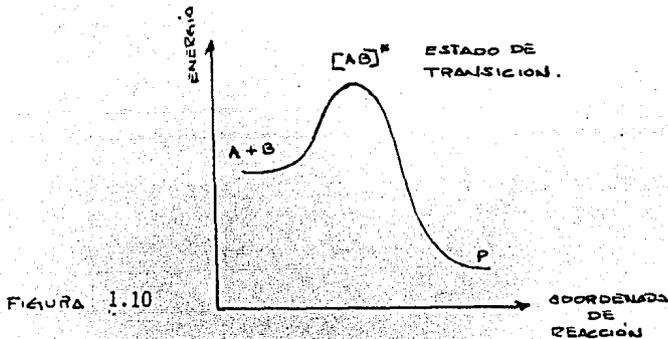
inestable que esta en equilibrio con los reactivos y su descomposición para formar los productos es el paso determinante de la velocidad de reacción.

Considerando la reacción entre las moléculas A y B los pasos postulados se pueden representar de la siguiente manera:



donde $[AB]^*$ representa el complejo activado. Los corchetes con asterisco indican que AB no es una especie estable ni una reacción intermedia sino que es un nivel de transformación entre los reactivos y los productos.

La variación de energía en la transformación de reactivos a productos se ilustra mediante la siguiente figura:



La expresión de la constante de equilibrio entre el complejo activado y los reactivos será:

$$K^* = \frac{[AB]^*}{C_A C_B} \quad \dots (1.14)$$

donde C_A y C_B representan las concentraciones de las especies reaccionantes A y B.

El complejo activado es un agregado de átomos que puede concebirse como similar a una molécula ordinaria, excepto que tiene una vibración especial respecto a la cual es inestable. Esta vibración conduce a la disociación del complejo en productos.

Si la frecuencia de vibración es ν , entonces, la velocidad a la cual se forman los productos es:

$$v = \nu [AB]^* \quad \dots (1.15)$$

Esta consideración se hace porque la constante de velocidad, involucrada en esta ecuación de velocidad, está en función de la energía vibratoria de la molécula del complejo activado.

Por otra parte, de la ecuación 1.14 se sabe:

$$[AB]^* = K^* C_A C_B$$

sustituyendo esta igualdad en la ecuación 1.15 se tiene:

$$v = \nu C_A C_B K^* \quad \dots (1.16)$$

Para la reacción global $A + B \longrightarrow P$ la velocidad de reacción se expresa como:

$$v = k C_A C_B \quad \dots (1.17)$$

donde k es la constante de velocidad de la reacción.

Al comparar las ecuaciones 1.16 y 1.17 se tiene:

$$\nu K^* = k \quad \dots (1.18)$$

Si se considera que la energía de vibración es lo suficientemente baja, entonces es posible igualar su valor con el valor clásico:

$$h \nu = k_B T \quad \dots (1.19)$$

donde h es la constante de Planck, k_B la constante de Boltzman y $k_B T$ la energía vibracional.

De la ecuación 1.19 se obtiene, para la frecuencia de vibración el valor:

$$\nu = \frac{k_B T}{h} \quad \dots (1.20)$$

sustituyendo el valor de ν en la ecuación 1.18 se obtiene para la constante de velocidad:

$$k = \frac{k_B T}{h} K^* \quad \dots (1.21)$$

que es la ecuación obtenida por Eyring para calcular la constante de velocidad de una reacción. La ecuación de Eyring se puede expresar de otra forma, si se considera que la constante de Boltzman es igual a:

$$k_B = \frac{R}{N_0} \quad \dots (1.22)$$

donde N_0 es el número de Avogadro y R la constante de los gases. Sustituyendo el valor de la constante de Boltzman en la ecuación 1.21 se obtiene:

$$k = \frac{RT}{N_0 h} K^* \quad \dots (1.23)$$

Esta ecuación permite calcular la constante de velocidad de cualquier reacción independientemente de la molecularidad o del orden de reacción.

Por consideraciones termodinámicas se sabe que la constante de equilibrio del complejo activado es igual a:

$$K^* = \mathcal{Q}^{-\Delta G^*/RT} \quad \dots (1.24)$$

además

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* \quad \dots (1.25)$$

por lo tanto K^* se puede expresar como:

$$K^* = \mathcal{Q}^{-\Delta H^*/RT + \Delta S^*/R} \quad \dots (1.26)$$

donde ΔG^* , ΔH^* y ΔS^* son respectivamente, la energía libre, la entalpía y la entropía de activación.

Sustituyendo la ecuación 1.26 en la 1.23

$$k = \frac{RT}{N_0 h} e^{-\Delta H^*/RT + \Delta S^*/R} \dots (1.27)$$

o bien

$$\frac{N_0 h k}{RT} = e^{-\Delta H^*/RT + \Delta S^*/R}$$

expresando esta ecuación en forma logarítmica:

$$\ln \frac{N_0 h k}{RT} = \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \dots (1.28)$$

La ecuación anterior representa una línea recta de pendiente $-\left(\frac{\Delta H^*}{R}\right)$ y con ordenada al origen $\Delta S^*/R$. Con esta ecuación es posible calcular el valor de las funciones ΔH^* , ΔS^* y ΔG^* si se grafica $\ln(N_0 h k/RT)$ vs. $1/T$.

La ecuación 1.27 también puede expresarse como:

$$k = (RT/N_0 h) e^{-\Delta H^*/RT} e^{\Delta S^*/R} \dots (1.29)$$

donde se aprecia que la función ΔH^* aparece en lugar de la energía de activación, E_a , de la teoría de Arrhenius. A este valor de ΔH^* se le conoce también como calor de activación.

Comparando la ecuación 1.29 con la ecuación de Arrhenius 1.11 el factor de A tiene un valor de :

$$A = \frac{RT}{N_0 h} e^{\Delta S^*/R} \dots (1.30)$$

EFFECTO DE LA FUERZA IONICA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

La constante de velocidad de las reacciones que involucran iones se ven afectadas por la variación de la fuerza iónica de la solución. La forma como se modifica la velocidad de reacción depende de la carga de los iones reaccionantes. Bronsted y Bjerrum propusieron una teoría en 1922 para explicar este fenómeno. Esta teoría postula que los iones reaccionantes forman un complejo activado que se encuentra en equilibrio con los reactivos, de forma análoga a la teoría del estado de transición:



donde A y B son las especies reaccionantes, $[AB^{(Z_A+Z_B)}]^*$ el complejo activado, Z_A y Z_B las cargas de las especies reaccionantes y P los productos formados (ver nota).

La velocidad de reacción se puede expresar mediante la ecuación 1.15.

$$v = \nu [AB]^*$$

donde ν es la frecuencia de vibración de la molécula del complejo activado (ver teoría del estado de transición).

Como el complejo activado está en equilibrio con los reactivos, la constante de equilibrio K^* se expresa:

$$K^* = \frac{a_{AB}^*}{a_A a_B} \dots (1.31)$$

donde a_{AB}^* , a_A y a_B representan las actividades del complejo activado, de la especie A y de la especie B respectivamente.

Una expresión equivalente de K^* es:

$$K^* = \frac{C_{AB}^*}{C_A C_B} \left(\frac{f_{AB}}{f_A f_B} \right) \dots (1.32)$$

NOTA: Para simplificar la escritura se omitirán de aquí en adelante la carga de los iones reaccionantes

donde C representa la concentración de cada especie y f su respectivo coeficiente de actividad. De la ecuación 1.32 se deduce que el valor de C_{AB}^* es:

$$C_{AB}^* = K^* C_A C_B \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}} \right)$$

que al sustituirla en la ecuación 1.15 se obtiene:

$$v = \gamma K^* C_A C_B \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}} \right)$$

comparando esta ecuación con la ecuación de velocidad de la reacción global, $v = k C_A C_B$, se obtiene:

$$k = \gamma K^* \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}} \right) \dots \quad (1.33)$$

Además si se considera el valor de k obtenido por la teoría del estado de transición (Ec. 1.23)

$$k = \frac{RT}{N_0 h} K^* = \gamma K^*$$

se deduce la igualdad:

$$\gamma = \frac{RT}{N_0 h} \dots \quad (1.34)$$

que al sustituirla en la ecuación (33):

$$k = \frac{RT}{N_0 h} K^* \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}} \right) \dots \quad (1.35)$$

se obtiene una ecuación que permite conocer el valor de k como una función de los coeficientes de actividad. Si se trabaja a dilución infinita los coeficientes de actividad son iguales a la unidad y por lo tanto se puede definir una nueva constante de velocidad, bajo estas condiciones,

$$k_0 = \frac{RT}{N_0 h} K^* \quad \text{si } f = 1$$

sustituyendo esta expresión en la ecuación 1.35

$$k = k_0 \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}^*} \right) \dots (1.36)$$

donde se observa que la constante de velocidad de reacción es función de los coeficientes de actividad. De acuerdo a la ley límite de Debye-Hückel f_i a su vez es función de la fuerza iónica, y se expresa como:

$$\log f_i = -A Z_i^2 \sqrt{I} \dots (1.37)$$

donde A es la constante de Debye-Hückel que en agua a 25 °C tiene un valor de 0.5; Z_i es la carga de la especie i, e I es la fuerza iónica de la solución, que está definida como:

$$I = (1/2) \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2 \dots (1.38)$$

siendo C_i la concentración de la especie i.

Expresando en forma logarítmica la ecuación 1.36:

$$\log k = \log k_0 + \log \left(\frac{f_A f_B}{f_{AB}^*} \right)$$

desarrollando los logaritmos:

$$\log k = \log k_0 + \log f_A + \log f_B - \log f_{AB}^* \dots (1.39)$$

sustituyendo la ley límite de Debye-Hückel (Ec.1.37) y considerando que la carga del complejo activado es igual a:

$$Z^* = Z_A + Z_B$$

entonces la ecuación 1.39 se expresa:

$$\log k = \log k_0 - AZ_A^2 \sqrt{I} - AZ_B^2 \sqrt{I} + A(Z^*)^2 \sqrt{I}$$

o bien

$$\log k = \log k_0 - AZ_A^2 \sqrt{I} - AZ_B^2 \sqrt{I} + A(Z_A + Z_B)^2 \sqrt{I}$$

desarrollando y simplificando términos:

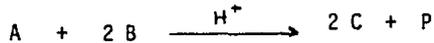
$$\log k = \log k_0 + 2 AZ_A Z_B \sqrt{I} \quad \dots (1.40)$$

En esta ecuación se observa la dependencia de la constante de velocidad de reacción con la fuerza iónica. Al graficar $\log k$ vs. \sqrt{I} se obtiene una recta de pendiente $2 AZ_A Z_B$ y con ordenada al origen $\log k_0$.

EFFECTO DEL pH SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION

Existen reacciones químicas en donde alguna de las especies involucradas modifica de manera apreciable la velocidad de reacción. Un ejemplo de este tipo de reacciones es la oxidación de la vitamina C con ferricianuro de potasio, la cual es muy sensible a la concentración de H^+ del medio de reacción, de manera que al variar la concentración de H^+ se modifica la velocidad de reacción.

Para ilustrar estas ideas se considera la siguiente reacción hipotética:



La velocidad de esta reacción depende de la concentración de protones del medio de reacción. En este caso H^+ interviene en la reacción provocando la formación de un intermediario por medio del cual es posible explicar el curso de la misma. Las etapas propuestas para el mecanismo de esta reacción son las siguientes:

- 1) $A + H^+ \rightleftharpoons AH^+$ etapa rápida
- 2) $AH^+ + B \longrightarrow X$ etapa lenta
- 3) $X + B \longrightarrow 2 C + P$ etapa rápida

En este mecanismo, se considera que en la etapa (1) se forma el catión AH^+ la cual es reversible. En la etapa (2) el catión intermediario forma un complejo "X" con B, que en la etapa (3) se transforma rápidamente en los productos finales: C y P

Si se considera que la velocidad de la etapa (2) es menor que las de las etapas (1) y (3) entonces es posible expresar la velocidad de reacción por la siguiente ecuación de velocidad:

$$-\frac{d[B]}{dt} = k_0 [A] [B] [H^+] \quad \dots \quad (1.41)$$

Como se observa, esta reacción es de primer orden respecto a las especies A, B y H^+ .

Por otra parte si la concentración de H^+ permanece constante durante el curso de la reacción entonces es posible modificar la expresión de la ecuación de velocidad 1.41 definiendo una nueva constante de velocidad:

$$k = k_0 [H^+] \quad \dots \quad (1.42)$$

esta igualdad permite reescribir la ecuación de velocidad como:

$$-\frac{d[B]}{dt} = k [A] [B] \quad \dots \quad (1.43)$$

Considerando un caso general en donde se desconozca el orden con respecto a H^+ la ecuación de velocidad se modifica de la siguiente manera:

$$-\frac{d[B]}{dt} = k_0 [A] [B] [H^+]^n \quad \dots \quad (1.44)$$

donde n representa el orden respecto a H^+ . Este orden se puede calcular definiendo una nueva constante:

$$k = k_0 [H^+]^n \quad \dots \quad (1.45)$$

Aplicando logaritmos en ambos términos de la ecuación se obtiene:

$$\log k = \log k_0 - n \text{ pH} \quad \dots \quad (1.46)$$

Al graficar $\log k$ vs. pH se obtiene una recta de pendiente igual a $-n$ y con ordenada al origen $\log k_0$.

OXIDACION DE VITAMINA C CON FERRICIANURO DE POTASIO
 EFECTO DE LA CONCENTRACION DE REACTIVOS SOBRE
 LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se estudiará la cinética de oxidación de la vitamina C con ferricianuro de potasio ($K_3Fe(CN)_6$), determinándose el orden total de la reacción haciendo uso de los métodos diferencial e integral y evaluando las ventajas y desventajas de cada uno de estos.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- ¿Qué estudia la cinética química?
- 2.- ¿Cómo puede expresarse la velocidad de una reacción química?
- 3.- Defina los siguientes términos: ley de velocidad, orden de reacción, constante de velocidad, proceso elemental y molecularidad.
- 4.- Mencione cuáles son los métodos más empleados para determinar el orden y la constante de velocidad de una reacción.
- 5.- Defina los siguientes términos: Ley de Lambert y Beer, absorbancia, coeficiente de absorción molar y transmitancia.
- 6.- Indique algunas de las técnicas analíticas para seguir el curso de una reacción.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1 espectrofotómetro con dos celdas.
- 1 potenciómetro (pH metro).
- 1 cronómetro.
- 2 pipetas graduadas de 10 ml.
- 2 pipetas graduadas de 5 ml.
- 2 matraces volumétricos de 250 ml.
- 5 matraces volumétricos de 100 ml
- 5 vasos de precipitados de 100 ml
- 2 vasos de precipitados de 250 ml

NOTA: Se pueden emplear buretas para dosificar los reactivos.

REACTIVOS

- a).- Solución acuosa de ferricianuro de potasio ($K_3Fe(CN)_6$), R.A., $2.5 \times 10^{-3}M$
 b).- Solución acuosa de ácido ascórbico (vitamina C), R.A., $2 \times 10^{-3}M$.
 c).- Acido nítrico, HNO_3 0.1 M.

TECNICA EXPERIMENTAL

Preparación de soluciones.

a).- Solución de $K_3Fe(CN)_6$ $2.5 \times 10^{-3}M$.- Se pesan 0.2056 g de ferricianuro de potasio en un vaso de precipitados de 100 ml y se disuelven en aproximadamente 100 ml de agua destilada. El contenido del vaso se transvasa cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 ml. Se adicionan 25 ml de HNO_3 0.1 M y se afora con agua destilada.

b).- Solución de ácido ascórbico $2 \times 10^{-3}M$.- Se pesan 0.0880 g de ácido ascórbico en un vaso de precipitados de 100 ml y se disuelven en aproximadamente 100 ml de agua destilada. El contenido del vaso se transvasa cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 ml. Se adicionan 25 ml de HNO_3 0.1 M y se afora con agua destilada.

Mezcla de reacción.- Las soluciones de ferricianuro de potasio (serie A) y ácido ascórbico (serie B) se preparan en vasos de precipitados de 100 ml de acuerdo a las siguientes tablas:

TABLA1.2.- Preparación de las soluciones de ferricianuro de potasio (serie A).

No. de solución	ml $K_3Fe(CN)_6$ $2.5 \times 10^{-3}M$	ml HNO_3 0.1 M	ml H_2O destilada	concentración final $[K_3Fe(CN)_6] \times 10^{-4}M$
1 A	40	5	5	20
2 A	32	5	13	16
3 A	20	5	25	10
4 A	16	5	29	8

TABLA 1.3 Preparación de las soluciones de ácido ascórbico (H_2A)
(Serie B)

No. de solución	ml H_2A $2 \times 10^{-3} M$	ml HNO_3 0.1 M	ml H_2O destilada	concentración final $[H_2A] \times 10^{-4} M$
1 B	25	5	20	10
2 B	20	5	25	8
3 B	12.5	5	32.5	5
4 B	10	5	35	4

Para realizar cada corrida se mezcla en un vaso de precipitados de 250 ml las soluciones de ferricianuro de potasio (cada solución de la serie A) y de ácido ascórbico (cada solución de la serie B), accionando el cronómetro en el momento de hacer la mezcla. Anote el pH de trabajo de cada corrida.

Las concentraciones de los reactivos en la mezcla de reacción son las siguientes:

TABLA 1.4 Concentración de $K_3Fe(CN)_6$ y H_2A en la mezcla de reacción.

No. de corrida	$[K_3Fe(CN)_6] \times 10^{-4} M$	$[H_2A] \times 10^{-4} M$
1	10	5
2	8	4
3	5	2.5
4	4	2

Muestras.- Del vaso que contiene la mezcla de reacción se hacen doce muestras cada dos minutos. Se realizan lecturas de absorbancia a 415 nm empleando como blanco una disolución de HNO_3 $10^{-2} M$. Después de haber ajustado el aparato a cero de absorbancia se llena la celda con la mezcla de reacción y se lee en el espectrofotómetro el valor de absorbancia (6 %) anotando el tiempo en que se realizó la lectura. El contenido de la celda se desecha después de

haber hecho la lectura. Esta operación se repite hasta tener un mínimo de doce lecturas en cada una de las corridas.

INFORME

I.- Método integral

1.- Establezca la siguiente tabla para cada una de las corridas realizadas.

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	A^{-1} ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	$\ln A$ ($\lambda = 415 \text{ nm}$)

Anote la temperatura y el pH de trabajo.

2.- Para cada una de las corridas realizadas construya las siguientes gráficas:

- A vs. tiempo.- para orden cero.
- $\ln A$ vs. tiempo.- para orden uno.
- A^{-1} vs. tiempo.- para orden dos.

Empleando estas gráficas determine el orden de reacción y la constante de velocidad de cada corrida.

3.- Para cada corrida calcule las constantes de velocidad en forma analítica, para primero y segundo orden. Con los resultados obtenidos construya una tabla como la siguiente:

tiempo (minutos)	k_1	k_2

$k_1 = 1/t \ln (A_0/A_t) =$ constante de velocidad de primer orden.

$k_2 = 1/t (1/A_t - 1/A_0) =$ constante de velocidad de segundo orden.

A_0 y A_t representan respectivamente los valores de absorbancia en $t = 0$ y en cualquier otro tiempo donde $t \neq 0$.

II.- Método diferencial

- 4.- Empleando la gráfica de A vs. tiempo determine para cada corrida, las velocidades de reacción (v) a diferentes tiempos. (determine como mínimo cinco velocidades para cada corrida). Para cada corrida construya una tabla como la siguiente:

Absorbancia (A_t)	velocidad ($v = - \frac{dA}{dt}$)

- 5.- Construya para cada corrida la gráfica $\ln v_t$ vs. $\ln A_t$ y determine el orden de reacción respecto al tiempo (n_t). Con los resultados obtenidos construya una tabla como la siguiente para cada corrida:

A_t	velocidad (v_t)	$\ln A_t$	$\ln v_t$

- 6.- Empleando la gráfica de A vs. tiempo de cada corrida determine las velocidades iniciales (v_0) de reacción. Con los resultados obtenidos construya una tabla como la siguiente:

No. de corrida	velocidad inicial (v_o)	Absorbancia inicial (A_o)

- 7.- Construya la gráfica de $\ln v_o$ vs. $\ln A_o$ y determine el orden respecto a la concentración (n_c). Establezca una tabla como la siguiente con los resultados obtenidos:

No. de corrida	A_o ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	v_o	$\ln A_o$	$\ln v_o$

CUESTIONARIO

- 1.- ¿ En el pH de trabajo en que forma se encuentra predominantemente la vitamina C ?
- 2.- Indique la reacción que se lleva a cabo en esta práctica.
- 3.- Indique el valor del orden de reacción determinado por:
 - i) El método integral.
 - ii) El método diferencial.
- 4.- Mencione las principales ventajas y desventajas, que a su juicio, presenten cada uno de estos métodos.
- 5.- ¿Cuál de los métodos es más conveniente para determinar la constante de velocidad y cuál para determinar el orden? Justifique su respuesta
- 6.- Indique que significado tiene:
 - i) $n_t > n_c$
 - ii) $n_t < n_c$
- 7.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

OXIDACION DE VITAMINA C CON FERRICIANURO DE POTASIO
EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se determinará el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción. Se calculará la energía de activación y los valores de las funciones termodinámicas ΔH^* , ΔS^* y ΔG^* para la reacción estudiada. Se aplicaran conceptos de las teorías de Arrhenius, de las colisiones y del complejo activado.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- Indique las características fundamentales de:
 - a) La teoría de Arrhenius.
 - b) La teoría de las colisiones.
 - c) La teoría del complejo activado.
- 2.- Defina el concepto de energía de activación.
- 3.- Diga si el orden de reacción se modifica por influencia de la temperatura. Justifique su respuesta.

MATERIAL Y EQUIPO

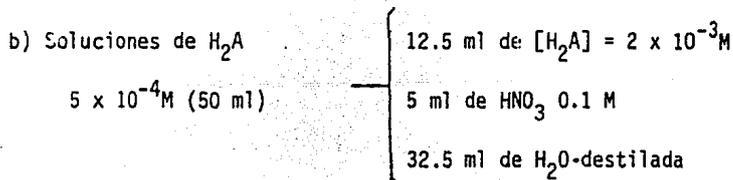
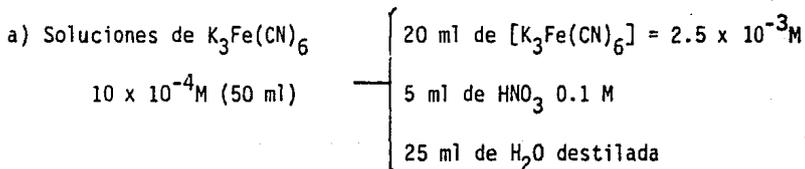
- 1 espectrofotómetro con dos celdas.
- 1 potenciómetro (pH metro).
- 1 cronómetro.
- 1 termómetro.
- 1 baño de temperatura constante.
- 2 vasos de precipitados de 100 ml.
- 2 vasos de precipitados de 250 ml.
- 2 pipetas graduadas de 10 ml.
- 2 pipetas graduadas de 20 ml.
- 1 pipeta graduada de 5 ml.

REACTIVOS

- a) Solución acuosa de ferricianuro de potasio ($K_3Fe(CN)_6$), $2.5 \times 10^{-3} M$, R.A.
 b) Solución acuosa de ácido ascórbico (vitamina C), $2 \times 10^{-3} M$, R.A.
 c) Acido nítrico, HNO_3 0.1 M.

TECNICA EXPERIMENTAL

Preparación de soluciones.-Las soluciones de ferricianuro de potasio y de ácido ascórbico se preparan como en el experimento de efecto de la concentración de reactivos sobre la velocidad de reacción. A partir de estas soluciones se preparan en vasos de precipitados de 100 ml cinco soluciones, de cada reactivo, que se emplearan en cada corrida de trabajo. Estas soluciones se preparan como se indica a continuación:



Se trabajarán las corridas en las temperaturas de 19, 25, 37 y 42 °C.

Mezcla de reacción.- Los vasos que contienen las soluciones de $K_3Fe(CN)_6$ y H_2A se colocan en un baño de temperatura constante, ajustado a la temperatura de trabajo. Una vez alcanzada esta temperatura se mezcla el contenido de los vasos y se acciona el cronómetro.

Muestras .- Del vaso que contiene la mezcla de reacción se toman un mínimo de doce muestras, cada 2 minutos para las corridas realizadas a 25, 37 y 42°C. Para la corrida de 19 °C las muestras se toman cada 3 minutos. Se realizan lecturas de absorbancia a 415 nm empleando como blanco una solución de HNO_3 10^{-2}M . Una vez ajustado el aparato a cero de absorbancia se llena la celda con la mezcla de reacción y se lee en el espectrofotómetro anotando el tiempo en que se realizó la lectura. El contenido de la celda se desecha después de haber hecho la lectura.

INFORME

1.- Para cada corrida establezca una tabla como la siguiente:

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	A^{-1} ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	$\ln A$ ($\lambda = 415 \text{ nm}$)

Anote la temperatura de trabajo y la concentración de reactivos empleada.

2.- Empleando el método integral construya la gráfica que le permita calcular la constante de velocidad para cada corrida de trabajo. Construya una gráfica para cada corrida.

3.- Con los resultados obtenidos anteriormente establezca una tabla como la siguiente:

T (K)	$1/T$ (K^{-1})	k ($\text{l mol}^{-1}\text{seg}^{-1}$)	$\ln k$	kN_0h/RT	$\ln kN_0h/RT$

4.- Considerando la teoría de Arrhenius determine la energía de activación y el factor preexponencial, mediante un método gráfico.

5.- Calcule el valor de ΔS^* y ΔH^* a partir de la gráfica de $\ln(k_{\text{No}}/RT)$ vs. $1/T$.

6.- Calcule el valor de ΔG^* a cada temperatura empleando la ecuación

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^*.$$

CUESTIONARIO

1.- Calcule la constante de velocidad a 0°C y 50°C para la reacción estudiada.

2.- Calcule la temperatura en la cual la reacción tiene una constante de velocidad de $10^{-7} \text{ A}^{-1}\text{min}^{-1}$.

3.- Calcule el tiempo de vida media, $t_{1/2}$, en cada temperatura de trabajo, incluyendo las temperaturas de 0°C , 50°C y la calculada en la pregunta anterior. Comente los resultados obtenidos.

4.- ¿Cuál sería el término algebraico análogo de la energía de activación, considerando la teoría del complejo activado?

5.- ¿Es posible modificar el metabolismo de los sistemas biológicos variando la temperatura de los mismos? Explique su respuesta.

6.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

OXIDACION DE VITAMINA C CON FERRICIANURO DE POTASIO.
EFECTO DE LA FUERZA IONICA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se determinará el efecto que ejerce la fuerza iónica sobre la velocidad de una reacción en que intervienen iones. Se explicará el efecto cinético salino primario considerando las cargas que presentan los iones reaccionantes. Se calculará el producto de las cargas de las especies reaccionantes y se comparará el valor experimental con el esperado teóricamente.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- ¿Cómo se define la fuerza iónica de una solución y qué significado físico tiene ?
- 2.- ¿ En que consiste el efecto cinético salino primario ?
- 3.- El signo del producto de los iones reaccionantes, $Z_A Z_B$, puede ser positivo, negativo o cero. ¿ Qué significa en cada caso ?

MATERIAL Y EQUIPO

- 1 espectrofotómetro con dos celdas
- 1 potenciómetro (pHmetro).
- 1 cronómetro.
- 2 vasos de precipitados de 100 ml.
- 1 vaso de precipitados de 250 ml.
- 2 pipetas graduadas de 20 ml.
- 2 pipetas graduadas de 10 ml.
- 1 pipeta graduada de 5 ml.

REACTIVOS

- a) Solución acuosa de ferricianuro de potasio ($K_3Fe(CN)_6$), $2.5 \times 10^{-3} M$, R.A.
 b) Solución acuosa de ácido ascórbico (vitamina C), $2 \times 10^{-3} M$, R.A.
 c) Acido nítrico, HNO_3 1 M.
 d) Solución acuosa de $NaCl$ 2 M, R.A.

TECNICA EXPERIMENTAL

Preparación de soluciones.- Se preparan soluciones de ferricianuro de potasio y de ácido ascórbico, $2.5 \times 10^{-3} M$ y $2 \times 10^{-3} M$ respectivamente. A partir de éstas se preparan en vasos de precipitados, las soluciones de las series A y B (tablas 5 y 6) que son empleadas para cada corrida de trabajo.

TABLA 1.5 Preparación de las soluciones de ferricianuro de potasio. (serie A).

No. de solución	ml $[K_3Fe(CN)_6]$ $2.5 \times 10^{-3} M$	ml HNO_3 1 M	ml $NaCl$ 2 M	ml H_2O destilada
1 A	20	5	5	20
2 A	20	5	10	15
3 A	20	5	12.5	12.5
4 A	20	5	15	10
5 A	20	5	20	5

La concentración de $K_3Fe(CN)_6$ es $1 \times 10^{-3} M$ y $pH = 1$, en todas las soluciones.

TABLA 1.6 Preparación de las soluciones de ácido ascórbico (H_2A)
(Serie B)

No. de solución	ml $[H_2A]_3$ $2 \times 10^{-3} M$	ml HNO_3 1 M	ml NaCl 2 M	ml H_2O destilada
1 B	12.5	5	5	20
2 B	12.5	5	10	15
3 B	12.5	5	12.5	12.5
4 B	12.5	5	15	10
5 B	12.5	5	20	5

La concentración de ácido ascórbico es $5 \times 10^{-4} M$ y $pH = 1$, en las cinco soluciones.

Mezcla de reacción.-Para trabajar cada corrida se mezcla en un vaso de precipitados de 250 ml cada una de las soluciones de $K_3Fe(CN)_6$ (serie A) con la respectiva solución de H_2A (serie B), accionando el cronómetro en el momento de hacer la mezcla.

Muestreos.-Del vaso de la mezcla de reacción se toman como mínimo 12 muestras. En la primera corrida éstas se realizan cada tres minutos y para las restantes cada dos minutos. Para cada corrida se prepara un blanco con la cantidad de NaCl empleada en cada una de éstas. Las lecturas de absorbancia se realizan a 415 nm como en los experimentos anteriores.

INFORME

1.- Establezca una tabla como la siguiente para cada corrida:

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	A^{-1} ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	$\ln A$ ($\lambda = 415 \text{ nm}$)

- 2.- Calcule la fuerza iónica para cada una de las corridas de trabajo.
- 3.- Empleando el método integral construya la gráfica, para cada corrida, que le permita calcular la constante de velocidad.
- 4.- Establezca una tabla como la siguiente con los resultados:

No. de corrida	[NaCl] (M)	I	\sqrt{I}	$k(A^{-1}min^{-1})$	log k

- 5.- Construya las gráficas de las siguientes funciones:

$$a) \log k = \log k_0 + 2 A Z_A Z_B \sqrt{I}$$

$$b) \log k = \log k_0 + 2 A Z_A Z_B \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}}$$

- 6.- Considerando las ecuaciones anteriores determine el producto $Z_A Z_B$.
- 7.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

CUESTIONARIO

- 1.- ¿ Se presentó algún efecto salino en esta reacción?, ¿de qué tipo es?
- 2.- De acuerdo al valor obtenido para el producto $Z_A Z_B$, ¿Qué carga deberán tener cada uno de los iones reaccionantes?. En base a estos resultados cuál considera que sea la forma reactiva de la vitamina C?
- 3.- ¿ Cómo podría aumentar la concentración de la forma reactiva de la vitamina C, manteniendo constante la concentración analítica de la vitamina?
- 4.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

OXIDACION DE VITAMINA C CON FERRICIANURO DE POTASIO.
EFECTO DEL pH SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se estudiará el efecto que tiene el pH sobre la velocidad de oxidación de la vitamina C. Se determinará el orden respecto a $[H^+]$ y en base a los resultados experimentales se propondrá una ecuación de velocidad que explique el comportamiento cinético de la reacción.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- Defina el pH.
- 2.- ¿ Qué especie del sistema de reacción presenta propiedades ácido-base?, ¿ Cúales son los valores de pK_a de esta(s) especie(s)?
- 3.- En el pH fisiológico cuál es la forma en que predomina la vitamina C.

MATERIAL Y EQUIPO.

- 1 espectrofotómetro con dos celdas.
- 1 cronómetro.
- 1 potenciómetro.(pH metro)
- 2 vasos de precipitados de 250 ml.
- 2 vasos de precipitados de 100ml.
- 2 pipetas graduadas de 10 ml.
- 2 pipetas graduadas de 5 ml.
- 2 matraces volúmetricos de 250 ml.

REACTIVOS

- a) Solución acuosa de ferricianuro de potasio $K_3Fe(CN)_6$, $2.5 \times 10^{-3}M$, R.A.
 b) Solución acuosa de ácido ascórbico (vitamina C), $2 \times 10^{-3}M$, R.A.
 c) Acido nítrico, HNO_3 1M.
 d) Solución acuosa de NaCl 2 M, R.A.

TECNICA EXPERIMENTAL

Preparación de las disoluciones.- Se preparan 250 ml de las soluciones de ferricianuro de potasio y de ácido ascórbico, de concentración $2.5 \times 10^{-3}M$ y $2 \times 10^{-3}M$ respectivamente. A partir de éstas, se preparan en vasos de precipitados de 100 ml las soluciones que se indican en las tablas 7 y 8 que son las que se emplearán en cada una de las corridas. Se trabajarán cinco corridas en valores de pH comprendidos entre uno y dos.

TABLA 1.7 Soluciones de ferricianuro de potasio. (serie A)

No. de solución	ml $[K_3Fe(CN)_6]$ $2.5 \times 10^{-3}M$	ml $[NaCl]$ 2 M	ml HNO_3 1 M	ml H_2O destilada
1 A	20	12.5	4	13.5
2 A	20	12.5	3	14.5
3 A	20	12.5	2	15.5
4 A	20	12.5	1	16.5
5 A	20	12.5	0.5	17.0

La concentración de $K_3Fe(CN)_6$ en estas soluciones es $1 \times 10^{-3}M$

TABLA 1.8 Soluciones de ácido ascórbico (H_2A). Serie B

No. de solución	ml $[H_2A]_3$ $2 \times 10^{-4} M$	ml $[NaCl]$ 2 M	ml HNO_3 1 M ³	ml H_2O destilada
1 B	12.5	12.5	4	13.5
2 B	12.5	12.5	3	14.5
3 B	12.5	12.5	2	15.5
4 B	12.5	12.5	1	16.5
5 B	12.5	12.5	0.5	17.0

La concentración de ácido ascórbico en estas soluciones es $5 \times 10^{-4} M$.

Mezcla de reacción .- Para trabajar cada corrida se mezclan cada una de las soluciones de $K_3Fe(CN)_6$ (serie A) con la respectiva solución de ácido ascórbico (serie B), en un vaso de precipitados de 250 ml, accionando el cronómetro en el momento de hacer la mezcla. Mida el pH de trabajo en cada corrida.

Muestras .- De la mezcla de reacción se realizan como mínimo doce muestras a intervalos de dos minutos. Las muestras se toman como en los experimentos anteriores.

INFORME

1.- Establezca una tabla como la siguiente para cada corrida:

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	A^{-1} ($\lambda = 415 \text{ nm}$)	$\ln A$ ($\lambda = 415 \text{ nm}$)

2.- Construya las curvas de A^{-1} vs. tiempo para cada corrida. Con el valor de la pendiente obtenga el valor de la constante de velocidad.

3.- Construya la curva de constante de velocidad en función del pH.

- 4.- Haga la gráfica de la función $\log k = \log k_0 - n \text{ pH}$; en donde k es la constante de velocidad calculada en el pH de trabajo y $-n$ es el orden de reacción respecto a $[\text{H}^+]$. Determine mediante esta gráfica los valores de k_0 y n .

CUESTIONARIO

- 1.- En base a los resultados obtenidos en esta práctica y a los obtenidos en el experimento de efecto de la concentración de los reactivos sobre la velocidad de reacción, proponga la ecuación de velocidad que explique el comportamiento cinético del sistema.
- 2.- En base a la ecuación cinética propuesta, qué efecto esperaría sobre la velocidad de reacción al aumentar o disminuir el pH. ¿Considera que esta predicción se cumple en cualquier intervalo de pH o se requieren otras consideraciones para hacer esta predicción?
- 3.- ¿Qué interpretación le daría a la k_0 determinada en la curva $\log k = \log k_0 - n \text{ pH}$?
- 4.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

CAPITULO II

CINETICA ENZIMATICA

CINETICA ENZIMATICA

INTRODUCCION

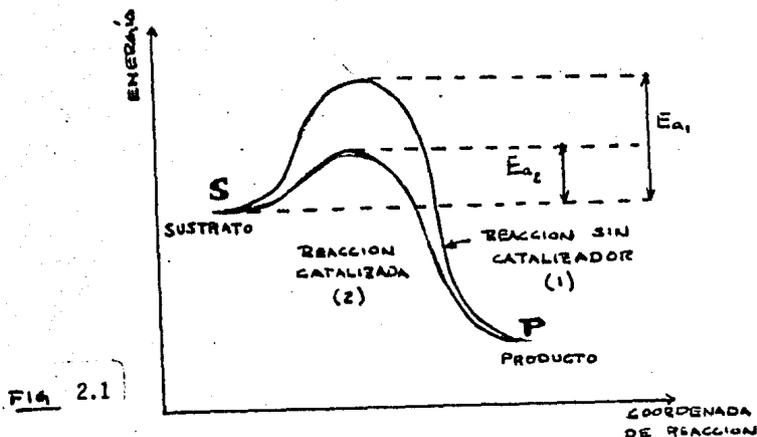
En los organismos vivientes, como en otros sistemas, también ocurren reacciones químicas. Las reacciones que ocurren en estos organismos son similares a las que se presentan en sistemas que no son biológicos, sin embargo estas reacciones presentan ciertas particularidades. Una característica importante de este tipo de reacciones es que para poder efectuarse requieren de sustancias que aceleren su velocidad, ya que sin ellas se efectuarían tan lentamente que no serían perceptibles. Las sustancias que aceleran la velocidad de las reacciones en los sistemas biológicos se conocen, con el nombre de enzimas.

CATALISIS QUIMICA Y CATALISIS ENZIMATICA.

Un catalizador se define como una sustancia que modifica la velocidad de una reacción química sin que ésta sea consumida o permanentemente alterada. O sea al final de una reacción catalizada el catalizador puede ser recuperado con su estructura original. De acuerdo con esta definición las enzimas son los catalizadores de las reacciones que se llevan a cabo en los sistemas biológicos y por lo tanto los conceptos aplicados para la catálisis inorgánica también se cumplen para la catálisis efectuada por enzimas.

La función general de un catalizador consiste simplemente en suministrar un mecanismo alternativo por medio del cual los reactivos o el sustrato (molécula sobre la cual actúa la enzima), puedan transformarse en productos. Este mecanismo alternativo puede tener una energía de activación menor que la energía de activación del mecanismo en ausencia del catalizador, de manera que la reacción catalizada sea más rápida. (ver fig. 2.1)

Una de las características más sobresalientes de la catálisis es que solamente se necesita una pequeña cantidad de catalizador para ejercer un efecto considerable sobre la velocidad de reacción y esta pequeña cantidad puede repetir su acción catalítica una y otra vez. De esta manera la cantidad de reactivos consumidos y de los productos formados es muchas veces mayor que la cantidad presente del catalizador.



En cuanto a la especificidad de los catalizadores se encuentra una importante diferencia entre los catalizadores inorgánicos y las enzimas; en los catalizadores inorgánicos uno de éstos puede catalizar una amplia gama de reacciones por lo que resultan altamente inespecíficos, en cambio una enzima cataliza una reacción determinada o un grupo específico de reacciones.

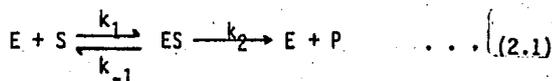
Las enzimas son proteínas de origen biológico que son sintetizadas por todos los organismos vivos y aceleran una multitud de reacciones metabólicas de las que depende la vida de estos organismos. Sin excepción todas las enzimas son proteínas y, como todas las proteínas, muestran diferentes grados de susceptibilidad a la desnaturalización por factores como el calor y los pH extremos, y por agentes como la acetona, el etanol y soluciones concentradas de urea. Otra característica de interés es que la actividad de las enzimas como catalizadores depende de la estructura conformacional en las cadenas plegadas de polipéptidos, aún interacciones menores en esta estructura pueden ocasionar la pérdida de la actividad catalítica. La desnaturalización puede ser detectada por la pérdida de la actividad catalítica antes de que se presenten otras evidencias de la desnaturalización. Por esta razón las preparaciones de enzimas son generalmente inestables y deben manejarse con cuidados especiales.

En lo que respecta al mecanismo de la catálisis enzimática se ha propuesto de una manera general que cuando una enzima actúa sobre sus sustratos solamente un enlace o grupo químico en el sustrato es involucrado en la reacción, aún cuando la molécula de sustrato sea tan grande como una proteína. En la molécula de enzima solamente una pequeña región de la cadena (o cadenas) polipeptídicas es involucrada en la actividad catalítica, esta región se conoce como el centro activo de la enzima. Generalmente este centro catalítico está formado por tres o cuatro aminoácidos de la cadena polipeptídica. También se sabe que ciertos extremos de las cadenas polipeptídicas de la molécula de enzima sirven para sujetar al sustrato en el centro activo, mientras que otras cadenas modifican los enlaces en los grupos reactivos del sustrato. Posiblemente el resto de las cadenas polipeptídicas sean necesarias para mantener la conformación necesaria en el centro activo de la enzima.

La velocidad de las reacciones enzimáticas puede modificarse por diversos factores como la concentración del sustrato, la concentración de la enzima, la temperatura y el pH entre otros. A continuación se discutirán los aspectos fundamentales de algunos de los factores que modifican la velocidad de estas reacciones.

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUSTRATO SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION. MODELO DE MICHAELIS-MENTEN.

En el modelo de Michaelis-Menten se hace un análisis de las reacciones enzimáticas en donde interviene una enzima que cataliza la transformación de un sustrato a producto. Esta ecuación tiene como finalidad obtener una expresión que relacione la velocidad de la reacción con la concentración de sustrato. La teoría de Michaelis-Menten supone que la enzima "E" reacciona con el sustrato "S" para formar un complejo enzima-sustrato, "ES", que a continuación se escinde para recuperar la enzima libre y formar el producto "P" (esto es de acuerdo a la teoría del estado estacionario).



Para hacer la deducción de la ecuación de Michaelis-Menten se harán las siguientes consideraciones:

$[E]_0$ = concentración inicial de la enzima.

$[ES]$ = concentración del complejo enzima-sustrato después de un tiempo $t \neq 0$.

$[E] = [E]_0 - [ES]$ = concentración de la enzima libre en el tiempo $t \neq 0$.

Si $[S] \gg [E]_0$ entonces la cantidad de sustrato empleado para formar el complejo enzima-sustrato es despreciable respecto a la concentración inicial de sustrato por lo que esta concentración puede considerarse constante.

De acuerdo con la ecuación 2.1 la velocidad de formación del complejo ES se expresa como:

$$d[ES]/dt = k_{+1}[E][S] = k_{+1}([E]_0 - [ES])[S] \dots (2.2)$$

Para el mismo complejo la velocidad de desaparición por la reacción inversa es:

$$-d[ES]/dt = k_{-1}[ES] \dots (2.3)$$

No obstante el complejo también desaparece por la formación del producto. Esta velocidad se expresa como:

$$-d[ES]/dt = k_2[ES] \dots (2.4)$$

Ahora bien, en el estado estacionario la velocidad de formación del complejo ES es igual a su velocidad de desaparición, y está dada por los dos últimos procesos, es decir debe cumplirse:

$$d[ES]/dt = -d[ES]/dt = k_{+1}([E]_0 - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \dots (2.5)$$

Dividiendo ambos lados de la ecuación por $k_{+1}[ES]$ se tiene

$$\frac{k_{+1}([E]_0 - [ES])[S]}{k_{+1}[ES]} = \frac{k_{-1}[ES] + k_2[ES]}{k_{+1}[ES]}$$

O bien

$$\frac{([E]_0 - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{+1}} = K_M \quad \dots \dots (2.6)$$

En esta última ecuación aparece una nueva constante, K_M , que es conocida como la constante de Michaelis-Menten y está dada para un sistema enzima-sustrato determinado. Esta constante es una medida de la disociación del complejo enzima-sustrato. La ecuación 2.6 muestra, además, que K_M está expresada en unidades de concentración.

Multiplicando ambos lados de la ecuación 2.6 por $[ES]$ se tiene

$$([E]_0 - [ES])[S] = K_M [ES]$$

reordenando esta ecuación

$$[E]_0 [S] - [ES][S] = K_M [ES]$$

$$[E]_0 [S] = K_M [ES] + [ES][S]$$

$$[E]_0 [S] = [ES](K_M + [S])$$

dividiendo entre $(K_M + [S])$

$$\frac{[E]_0 [S]}{K_M + [S]} = [ES]$$

o bien

$$\frac{[E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1} = [ES] \quad \dots \dots (2.7)$$

Por otra parte la velocidad inicial es igual a la velocidad de ruptura del complejo ES. Para esta velocidad se puede escribir la ecuación de velocidad de primer orden

$$d[P]/dt = v = k_2[ES] \quad \dots \quad (2.8)$$

sustituyendo esta ecuación en 2.7 se obtiene:

$$\frac{[E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1} = \frac{v}{k_2}$$

o bien

$$v = \frac{k_2 [E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1} \quad \dots \quad (2.9)$$

En esta ecuación v representa la velocidad de la reacción enzimática en función de las concentraciones de enzima y de sustrato. La velocidad máxima, V_{max} , que alcanza la reacción ocurre cuando prácticamente toda la enzima esta en forma de complejo enzima-sustrato, es decir

$$V_{max} = k_2[E]_0 \quad \dots \quad (2.10)$$

sustituyendo la ecuación 2.10 en la 2.9]

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad \dots \quad (2.11)$$

Esta es una expresión de la ecuación de Michaelis-Menten. Esta ecuación relaciona la velocidad de la reacción, la velocidad máxima y la concentración inicial del sustrato a través de la constante de Michaelis-Menten.

Un método de calcular K_M es encontrar la concentración de sustrato que da una velocidad igual a un medio de V_{max} , es decir

$$v = 1/2 V_{max}$$

sustituyendo esta igualdad en la ecuación 2.11

$$1/2 v_{\max} = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

simplificando esta expresión

$$K_M = [S] \quad \dots \quad (2.12)$$

De esta forma la constante de Michaelis- Menten, K_M , es igual a la concentración de sustrato en la que la velocidad de la reacción es la mitad de la velocidad máxima. Las dimensiones de K_M para una reacción de un sólo sustrato son moles/litro, y la constante es independiente de la concentración de la enzima.

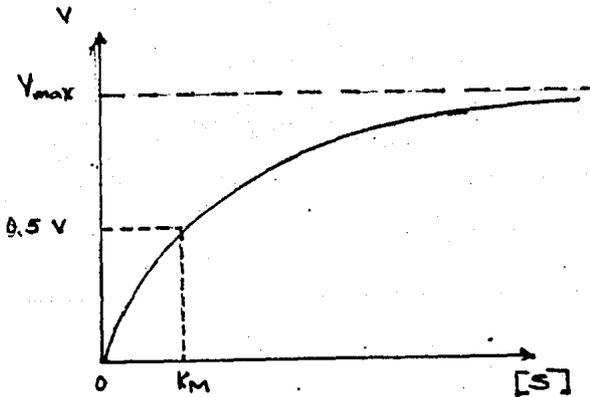


FIG 2.2
VELOCIDAD VS. CONCENTRACION
DE SUSTRATO PARA UNA REACCION
ENZIMATICA QUE SIGUE EL
MODELO DE MICHAELIS - MENTEN.

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE LA ENZIMA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

Cuando una reacción enzimática se efectua con concentraciones progresivamente crecientes de enzima, si todos los demás factores, como concentración de sustrato, temperatura, pH, etc., son mantenidos constantes entonces se presenta un comportamiento como el que se muestra en la figura (2.3)

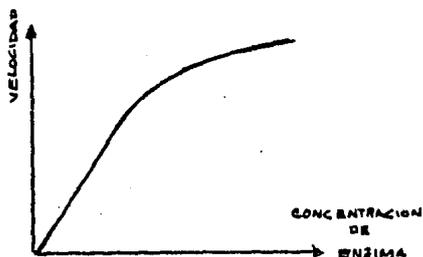


fig. 2.3
Relación entre concentración de enzima y velocidad de reacción.

En esta figura se aprecia que a bajas concentraciones de enzima la relación entre concentración de enzima y la velocidad de reacción es lineal, en otras palabras conforme se incrementa la concentración de enzima aumenta la velocidad de la reacción. En este caso a una concentración definida de sustrato si se aumenta progresivamente la cantidad de enzima, aumentará la velocidad de la reacción. En la figura (2.4) se observa que a un tiempo determinado la cantidad de producto formado depende de la cantidad de enzima presente.

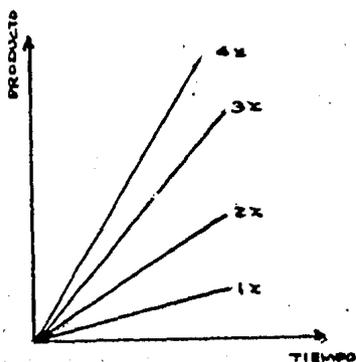


Fig. 2.4
Incremento de la concentración del producto con el tiempo para 4 concentraciones distintas de enzima.

Sin embargo esta relación no se mantiene en concentraciones elevadas de enzima debido a que las moléculas de enzima sobrepasan en número a las moléculas de sustrato, teniendo como consecuencia que no ocurra un incremento en la velocidad de reacción.

Un parámetro útil para determinar cuantitativamente cuál es la relación entre la velocidad de reacción y la concentración de enzima es el orden respecto al catalizador. Al determinar el orden respecto al catalizador se puede llegar a una ecuación que exprese cómo es la relación entre la concentración del catalizador, en este caso la concentración de la enzima, y la velocidad de una reacción catalizada. Por ejemplo si el orden respecto al catalizador es igual a la unidad esto indica que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del catalizador. Para determinar el orden respecto al catalizador se considerará la ecuación de velocidad para una reacción catalizada por una enzima en que participa un sólo sustrato. La ecuación de velocidad es la siguiente:

$$v = k [S] [E]^n \quad \dots \quad (2.13)$$

donde

[S] = concentración del sustrato.

[E] = concentración de la enzima.

v = velocidad de reacción.

k = constante de velocidad.

n = orden respecto al catalizador. (En este caso es el orden respecto a la enzima).

Como la concentración del catalizador es constante durante la reacción, se tiene que el valor experimental de k incluye la concentración del catalizador, esto es, la variación de la velocidad de reacción sólo depende de la concentración del sustrato. (A bajas concentraciones de sustrato). Por lo tanto puede definirse una nueva constante

$$k' = k [E]^n \quad \text{y} \quad v = k' [S]$$

Ahora bien, el valor de k' sí depende de la concentración del catalizador, de manera que si se determina k' a diferentes concentraciones

de catalizador se puede obtener el orden respecto al catalizador mediante la construcción de la gráfica de la ecuación 2.13, esto es:

$$\log k' = \log k + n \log [E] \quad . . . (2.13a)$$

Por otra parte un punto importante de resaltar es que las técnicas usadas en el análisis de compuestos orgánicos e inorgánicos no son aplicables para la cuantificación de enzimas, debido a que estas se encuentran en pequeñas cantidades respecto a la masa de otros compuestos, como por ejemplo, el sustrato. No obstante cada enzima tiene una manera en que puede ser medida y que se basa en su propiedad bioquímica de catalizar una reacción química específica. Aún pequeñas cantidades de enzima pueden, en un período de tiempo definido, catalizar la transformación de grandes cantidades de sustrato. Si los cambios en la cantidad de sustrato son medibles por técnicas lo suficientemente sensibles entonces es posible relacionar estos cambios cuantitativamente con la actividad catalítica de la enzima. La actividad catalítica puede ser utilizada como una medida precisa de la concentración enzimática, siempre y cuando esta actividad sea medida bajo condiciones experimentales bien definidas. Un ejemplo particular de estas ideas es el caso de la α -amilasa, donde su actividad enzimática puede medirse en unidades Wohlgemuth (MWU/g) que se definen como la cantidad de enzima que desdoblará 100 mg de almidón soluble a una dextrina de tamaño definido en 30 minutos bajo las condiciones del experimento.

Considerando que la actividad enzimática es directamente proporcional a la concentración de la enzima puede sustituirse en la ecuación 2.13a la actividad enzimática por la concentración de la enzima. De esta forma esta ecuación puede expresarse de la siguiente forma:

$$\log k' = \log k + n \log (\text{ACTIVIDAD ENZIMÁTICA}) \quad . . . (2.13b)$$

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

La velocidad de las reacciones enzimáticas al igual que la de las reacciones químicas es susceptible de modificarse por efecto de la temperatura. En las reacciones enzimáticas también se puede recurrir a la ecuación de Arrhenius para relacionar las variaciones de temperatura con la constante de velocidad de reacción. La ecuación de Arrhenius se expresa de la siguiente manera:

$$k = A e^{-E_a/RT}$$

donde

E_a = energía de activación.

R = constante de los gases.

A = factor preexponencial.

T = temperatura absoluta.

De acuerdo con esta ecuación es posible calcular la E_a del proceso si se grafica $\ln k$ vs. $1/T$ en donde la pendiente es igual a $-E_a/RT$.

A diferencia de las reacciones químicas en las reacciones enzimáticas los rangos de temperatura en que se trabaja son estrechos; la razón de ello es que para muchas enzimas la desnaturalización empieza a ocurrir entre 45 y 50°C, siendo severa aproximadamente a los 55°C. Este fenómeno puede explicarse debido a que al incrementar la temperatura los átomos en la molécula de enzima tienen gran energía y gran tendencia a moverse. Generalmente estas moléculas adquieren suficiente energía para vencer las interacciones que mantienen la estructura globular de la proteína, ocurriendo con ello su desnaturalización. Sin embargo existen casos menos frecuentes en donde las enzimas presentan estabilidad frente a temperaturas elevadas. Este tipo de enzimas reciben el nombre de enzimas termoestables o termorresistentes. Estas se presentan en organismos que resisten altas temperaturas y que se conocen como organismos termófilos. Algunos ejemplos de enzimas termoestables son las α -amilasas provenientes de Bacillus stearothermophilus y Bacillus licheniformis que presentan actividad aún a temperaturas por encima de 65°C; esta situación es un contraste con la α -amilasa proveniente de B. subtilis

en donde la actividad empieza a disminuir por encima de esta temperatura.

En el caso de la α -amilasa de B. stearothermophilus se ha encontrado que tiene un alto contenido de prolina que está correlacionado con un bajo grado de estructura α -helicoidal (es decir la molécula se encuentra desenrollada). Esta estructura desenrollada, poco usual, se ha encontrado relacionada con una actividad catalítica a temperaturas elevadas.

CINETICA DE LA REACCION DE HIDROLISIS DE ALMIDON CON α -AMILASA.

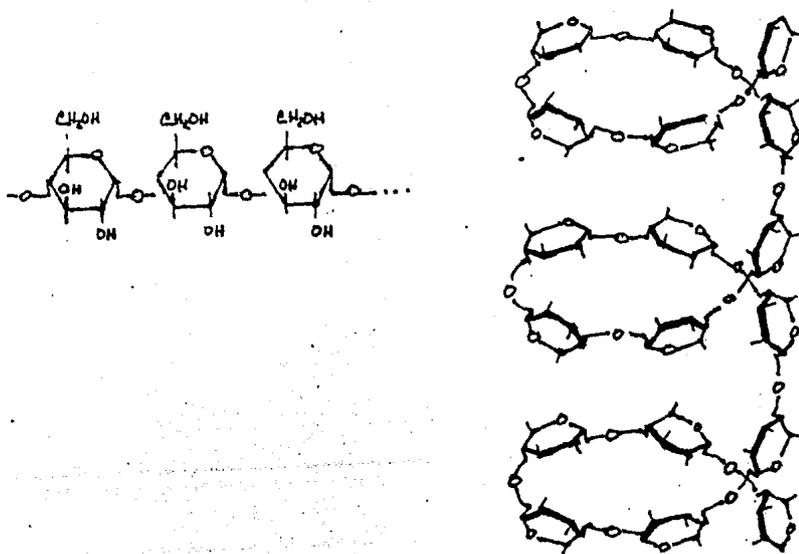
A continuación se presenta un trabajo que tiene como objetivo hacer un estudio de la reacción de hidrólisis de almidón con una α -amilasa bacteriana. Los factores que se estudiarán son:

- Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción.
- Efecto de la concentración de enzima sobre la velocidad de reacción.
- Efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción.

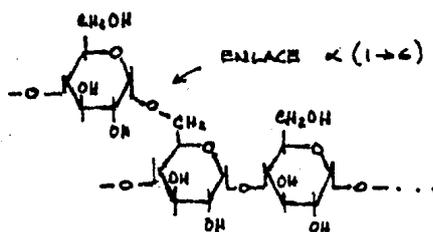
Antes de presentar los experimentos correspondientes se tratarán los aspectos generales de la acción de la α -amilasa sobre el almidón.

El almidón se encuentra constituido por dos polímeros, la α -amilosa y la amilopectina. La α -amilosa está constituida por cadenas largas no ramificadas, en las que todas las unidades de D-glucosa se hallan unidas mediante enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$.

FIG 2.5
ESTRUCTURA DE LA AMILOSEA



Las cadenas son polidispersas y varían en peso molecular desde unos millares hasta 500 000. La amilosa no es verdaderamente soluble en agua, pero forma micelas hidratadas que dan un color azul con el yodo. En tales micelas la cadena de polisacáridos está retorcida constituyendo un enrollamiento helicoidal. La amilopectina está muy ramificada, la longitud promedio de las ramificaciones es de 24 a 30 residuos de glucosa, según la especie.



ESTRUCTURA
DE LA
AMILOPECTINA

FIG 2.6

Los enlaces glucosídicos del esqueleto son $\alpha(1 \rightarrow 4)$, pero los de los puntos de ramificación son enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$. La amilopectina produce disoluciones coloidales o micelares que dan una coloración rojo violácea con el yodo.

La amilosa y la amilopectina, componentes principales del almidón, pueden ser hidrolizados enzimáticamente con la enzima α -amilasa (3.2.1.1.). Esta enzima es una hidrolasa que actúa sobre enlaces glucosídicos y está presente en el jugo pancreático, en la saliva y en diversos microorganismos como algunos hongos y bacterias. La enzima hidroliza al azar los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ a lo largo de la cadena de amilosa, o en las ramificaciones de amilopectina, de tal modo que rinde finalmente una mezcla de glucosa y maltosa libres; esta última no es atacada. Cabe mencionar que las α -amilasas no pueden hidrolizar los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$ de los puntos de ramificación de la amilopectina, el producto final de la acción exhaustiva de la amilasa sobre la amilopectina es un núcleo grande y muy ramificado, llamado dextrina límite cuya designación indica que representa el límite del ataque de las amilasas.

La acción de la α -amilasa es caracterizada por cambios simultáneos que ocurren en las siguientes propiedades del sustrato: a) disminución de la viscosidad, b) incremento de grupos reductores, c) cambio en la intensidad

de color que presenta el complejo yodo-almidón y d) cambio en la rotación óptica.

En el presente estudio cinético se empleará para seguir el curso de la reacción la medición del color que se produce por el complejo de amilosa con yodo, empleando como sustrato almidón soluble.

HIDROLISIS DEL ALMIDON CON α -AMILASA.
 EFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUSTRATO
 SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se determinará el orden de reacción respecto al sustrato, en la reacción de hidrólisis del almidón con α -amilasa. Se aplicará el método integral para la determinación del orden de reacción.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO.

- 1.- ¿Qué es una enzima?
- 2.- ¿Qué tipo de enzima es la α -amilasa y cuál es el sustrato sobre el que actúa?
- 3.- ¿Cuáles son los componentes principales del almidón y cómo actúa la α -amilasa sobre ellos?
- 4.- ¿Cuál es el modelo más simple para describir la catálisis enzimática?
- 5.- ¿Cuál es el significado físico que tienen los valores de K_M y V_{max} en la ecuación de Michaelis-Menten?

REACTIVOS

- a).- Solución de yodo 0.1 M
- b).- Solución de yodo 6×10^{-4} M.
- c).- Solución de yodo 1×10^{-4} M.
- d).- Sustrato de almidón al 1% (p/v).
- e).- Sustrato de almidón al 0.1% de pH=5.4.
- f).- Sustrato de almidón al 0.05% de pH=5.4.
- g).- Solución amortiguadora de acetatos 0.5M de pH=5.4.
- h).- Solución amortiguadora de acetatos 0.02M de pH=5.4.
- i).- Solución de α -amilasa (ENMEX) de 170 MWU/g en amortiguador de acetatos 0.02 M. (Este experimento se puede realizar con cualquier α -amilasa bacteriana).

MATERIAL Y EQUIPO

- 1 espectrofotómetro.
- 1 baño de temperatura constante.
- 1 cronómetro.
- 1 termómetro.
- 2 vasos de precipitados de 250 ml.
- 15 tubos de ensayo de 16 x 150 mm.
- 1 pipeta volumétrica de 1 ml.
- 1 pipeta graduada de 5 ml.

Para preparar las soluciones se necesita:

- 4 matraces volumétricos de 250 ml.
- 1 matraz volumétrico de 1000 ml.
- 1 vaso de precipitados de 500 ml.
- 1 pipeta volumétrica de 25 ml.
- 1 pipeta volumétrica de 10 ml.

PREPARACION DE SOLUCIONES

- a).- Solución de yodo 0.1 M.- Se disuelve en un vaso de precipitados de 250 ml, 11 g de yoduro de potasio (KI) en aproximadamente 100 ml de agua destilada. Se adicionan 5.5 g de cristales de yodo hasta su completa disolución. El contenido del vaso se transfiere a un matraz volumétrico de 250 ml y se afora con agua destilada.
- b).- Solución de yodo 6×10^{-4} M.- Se disuelven en un vaso de precipitados de 250 ml, 10 g de yoduro de potasio en aproximadamente 200 ml de agua destilada. Se transvasa cuantitativamente el contenido del vaso a un matraz volumétrico de 250 ml. En esta solución se depositan, con pipeta volumétrica, 1 ml de la solución de yodo 0.1 M. Esta solución se titula con tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 1×10^{-3} M. Esta solución se almacena en un frasco ámbar y es estable durante una semana aproximadamente.

c).- Solución de yodo de revelado 1×10^{-4} M.- Esta solución se prepara unos minutos antes de emplearse. Se toman, con pipeta volumétrica, 50 ml de la solución de yodo de trabajo y se depositan en un matraz volumétrico de 250 ml. Se afora con agua destilada.

e).- Sustrato de almidón al 1% (p/v).- Se disuelven 2.5 g de almidón soluble (de la marca TECNICA QUIMICA) en aproximadamente 75 ml de agua destilada que se encuentre a temperatura ambiente. Este almidón se adiciona lentamente y con agitación a 150 ml de agua destilada en ebullición, contenidos en un vaso de precipitados de 500 ml. Se deja que la solución de almidón alcance la temperatura de ebullición y que permanezca así durante 4 minutos. Después de este tiempo se enfría a temperatura ambiente. Se transfiere cuantitativamente el contenido del vaso a un matraz volumétrico de 250 ml y se afora con agua destilada. El almidón, en esta solución, debe estar completamente solubilizado y no deben aparecer partículas de almidón gelificado. (Esta solución es estable durante dos días).

e).- Sustrato de almidón al 0.1% amortiguado con buffer de acetatos 0.02 M de pH=5.4. (Esta solución se emplea para estudiar el efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción).- En un matraz volumétrico de 250 ml, se depositan con pipeta volumétrica, 25 ml de almidón al 1% y 10 ml de solución amortiguadora de acetatos 0.5 M de pH=5.4. Se afora con agua destilada. Esta solución debe prepararse unos minutos antes de ser utilizada.

f).- Sustrato de almidón al 0.05% amortiguado con buffer de acetatos 0.025 M en pH=5.4. (Esta solución se emplea para construir la curva estándar de almidón).- En un matraz volumétrico de 100 ml se depositan, con pipeta volumétrica, 5 ml de almidón al 1% y 5 ml de solución amortiguadora de acetatos 0.5 M. Se afora con agua destilada.

g).- Solución amortiguadora de acetatos (HOAc/OAc^-) 0.5 M de pH=5.4.- En un vaso de precipitados de 1000 ml se depositan 500 ml de ácido acético 1 M y se adicionan 16.7 g de NaOH, se agita hasta disolución total del hidróxido de sodio. Se agregan aproximadamente 300 ml de agua destilada agitando continuamente. Se verifica el pH de la solución con un

potenciómetro (pH metro). Se transvasa cuantitativamente el contenido del vaso a un matraz volumétrico de 1000 ml y se afora con agua destilada.

h).- Solución amortiguadora de acetatos (HOAc/OAc^-) 0.02 M de pH=5.4.- Se realiza una dilución 1:25 de la solución amortiguadora 0.5 M. Para ello se depositan 10 ml, con pipeta volumétrica, en un matraz volumétrico de 250 ml y se afora con agua destilada.

i).- Solución de α -amilasa amortiguada con buffer de fosfatos de pH=5.4. Se realiza una dilución 1:1000 de la α -amilasa concentrada que tiene una actividad de 170 000 MWU/g (unidades Wohlgemuth/gramo). Para hacer esta dilución se deposita 0.1 ml de la enzima concentrada en un matraz aforado de 100 ml que contenga amortiguador de acetatos 0.02 M de pH = 5.4 y se afora con el mismo amortiguador. Esta solución tiene una actividad de 170 MWU/g de α -amilasa.

TECNICA EXPERIMENTAL

Mezcla de reacción.- Para realizar cada corrida se mezcla el almidón 0.1% (amortiguado en pH=5.4) con la solución amortiguadora de acetatos 0.02 M de pH=5.4 en un vaso de precipitados de 250 ml. Esta mezcla se coloca en un baño de temperatura constante a 37°C durante 10 minutos. La corrida de trabajo se inicia cuando a la mezcla anterior se le adiciona la enzima, que también debe estar a 37°C. En este momento se acciona el cronómetro.

Las corridas se preparan conforme a la tabla (2.1) .

Muestreos.- Del vaso que contiene la mezcla reaccionante se toman alícuotas cada dos minutos de la siguiente forma: Se toma la cantidad necesaria de la mezcla para hacer la dilución que se indica en la tabla 2.1; por ejemplo para hacer la primera corrida se realiza una dilución 1:5 de la alícuota, se toma 1 ml de la mezcla reaccionante y se adiciona a un tubo que contenga 4 ml de agua destilada. De la dilución realizada se toman 4 ml y se depositan en un tubo de ensayo de 16 X 150 mm que contenga 4 ml de solución de yodo para revelar. Se mezcla el conte-

TABLA 2.1 -EFECTO DE LA CONCENTRACION DE SUSTRATO SOBRE LA VELOCIDAD DE HIDROLISIS DE ALMIDON.

# de corrida	ml de almidón 0.1% amortiguado en pH=5.4	ml de buffer de acetatos 0.02 M de pH=5.4	ml de -amilasa de 750 MWU/g en buffer de acetatos 0.02 M de pH=5.4	[almidón] % (p/v)	dilución de la alfcuota.
1	35	14.5	0.5	0.07	1:5
2	30	19.5	0.5	0.06	1:5
3	25	24.5	0.5	0.05	1:2
4	20	29.5	0.5	0.04	1:2
5	15	34.5	0.5	0.03	sin diluir

En cada corrida se tiene una actividad de -amilasa de 7.5 MWU/g.

TABLA 2.2 CURVA ESTANDAR DE ALMIDON.

# de solución	ml de almidón 0.05% amortiguado en pH=5.4	ml de buffer 0.02 M de pH=5.4	[almidón] x 10 ⁻³ % (p/v)	A (λ = 560 nm)
1	0.5	9.5	3	A leer
2	1.0	9.0	5	
3	1.5	8.5	8	
4	2.0	8.0	10	
5	2.5	7.5	13	
6	3.0	7.0	15	
7	3.5	6.5	18	

nido del tubo se transfiere a la celda del espectrofotómetro. Las lecturas de absorbancia se hacen a $\lambda = 560$ nm contra un blanco que se prepara con 4 ml de solución de yodo de revelado y 4 ml de agua destilada. Los valores de absorbancia se interpolan en una curva estándar de almidón. La concentración obtenida debe multiplicarse por la dilución realizada en la alícuota.

Curva estándar de almidón. La curva estándar se prepara en tubos de ensayo de 16 x 150 mm de acuerdo a la tabla (2.2).

Para hacer las lecturas de absorbancia en la curva estándar se toman 4 ml de cada solución y se adicionan a tubos de ensayo que contengan 4 ml de la solución de yodo de revelado. El contenido de cada tubo se transvasa a la celda del espectrofotómetro. Las lecturas se hacen a $\lambda = 560$ nm.

INFORME

1.- Construya una tabla como la siguiente para cada corrida.

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 560$ nm)	[almidón] %	ln[almidón]	1/ [almidón]

2.- Construya para cada corrida las siguientes gráficas

- [almidón] vs. tiempo.
- ln [almidón] vs. tiempo.
- 1/ [almidón] vs. tiempo.

Con la información obtenida de estas gráficas concluya sobre el orden respecto al sustrato, en esta reacción. Comente los resultados obtenidos.

3.- Establezca la tabla siguiente:

# de corrida	[almidón] %	v (velocidad de reacción)

4.- Explique si es posible hacer una estimación del valor de V_{max} de la reacción estudiada, empleando los resultados obtenidos en esta práctica.

5.- Discusión de resultados y conclusiones.

HIDROLISIS DEL ALMIDON CON α -AMILASA.
EFECTO DE LA CONCENTRACION DE ENZIMA
SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se determinará el efecto de la cantidad de α -amilasa bacteriana sobre la velocidad de hidrólisis de almidón. Se determinará el orden respecto al catalizador.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- ¿Qué es un catalizador?
- 2.- ¿De qué manera los catalizadores aumentan la velocidad de las reacciones químicas?
- 3.- ¿Cómo se define la actividad catalítica de una enzima?
- 4.- ¿Qué significado tiene el orden respecto al catalizador?
- 5.- ¿Qué ventajas y qué desventajas presenta la catálisis enzimática respecto a la catálisis química?

REACTIVOS

Para esta práctica se emplearán las soluciones a), b), c), d), f) y g) del experimento de efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción; además se necesitarán las siguientes soluciones:

- j).- Sustrato de almidón al 0.4% de pH=5.4.
- k).- Solución amortiguadora de acetatos 0.05 M de pH=5.4.
- l).- Solución de α -amilasa (ENMEX) de 170 MWU/g en amortiguador de acetatos 0.05 M.

MATERIAL Y EQUIPO

Se empleará el mismo que en la práctica de efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción.

PREPARACION DE SOLUCIONES

j).- Sustrato de almidón al 0.4%(p/v) en amortiguador de acetatos 0.05 M de pH=5.4.- Se depositan, con pipeta volumétrica, 100 ml de almidón al 1% y 25 ml de amortiguador de acetatos 0.5 M de pH=5.4 en un matraz aforado de 250 ml. Se afora con agua destilada.

k).- Solución amortiguadora de acetatos (HOAc/OAc⁻) 0.05 M de pH=5.4.- Se hace una dilución 1:10 de la solución amortiguadora de acetatos 0.5 M de pH=5.4. Para preparar 250 ml de esta solución se depositan con pipeta volumétrica 25 ml de la solución 0.5 M en un matraz aforado de 250 ml y se afora con agua destilada.

l).- Solución de α -amilasa (ENMEX) de 170 MWU/g en amortiguador de acetatos 0.05 M. -Se deposita 0.1 ml de α -amilasa con actividad 170 000 MWU/g en un matraz aforado de 100 ml que contenga amortiguador de acetatos 0.05 M de pH=5.4 y se afora con el mismo amortiguador. Esta solución tiene una actividad de 170 MWU/g de α -amilasa.

TECNICA EXPERIMENTAL

Mezcla de reacción.- Para hacer cada corrida se mezcla en un vaso de precipitados de 250 ml el almidón 0.4%, amortiguado en pH=5.4, con la solución amortiguadora de acetatos 0.05 M de pH=5.4. Esta mezcla debe tener una temperatura de 37°C antes de adicionar la enzima, la cual también debe estar a la misma temperatura. Las corridas de trabajo se preparan de acuerdo a la tabla (2.3).

Muestras.- Del vaso que contiene la mezcla reaccionante se toman muestras cada minuto de la siguiente manera: se toma 1 ml de la mezcla de reacción y se deposita en un tubo de ensayo que contenga 9 ml de agua destilada (al hacer esto se hace una dilución 1:10); de esta dilución se toman 4 ml y se depositan en otro tubo que contenga 4 ml de la solución de yodo para revelar. Se mezcla el contenido del tubo y se transfiere su contenido a la celda del espectrofotómetro. La lectura se hace a 560 nm contra un blanco de I₂ preparado con 4 ml de solución de yodo 1×10^{-4} M y 4 ml de agua destilada.

TABLA 2.3.- EFECTO DE LA CANTIDAD DE ENZIMA SOBRE LA VELOCIDAD DE HIDROLISIS DE ALMIDON.

# de corrida	ml de almidón 0.4% amortiguado en pH=5.4	ml de buffer de acetatos 0.05 M de pH = 5.4	ni de α -amilasa 750 MWU/g en buffer 0.05 M de pH = 5.4	actividad enzimática (MWU/g)	dilución de la alfcuota para muestrear
1	25	24.3	0.7	10.5	1:10
2	25	24.0	1.0	15.0	1:10
3	25	23.5	1.5	22.5	1:10
4	25	23.3	1.7	25.5	1:10
5	25	23.0	2.0	30.0	1:10

En cada corrida se tiene una concentración de almidón de 0.2% (p/v).

Los valores de absorbancia se interpolan en la curva estándar de almidón. La concentración obtenida debe multiplicarse por la dilución realizada en la alícuota empleada para muestrear. La curva estándar de almidón debe construirse partiendo de la solución de almidón al 1% empleada para preparar el resto de las soluciones de almidón que se emplearon como sustrato.

INFORME

1.- Establezca para cada corrida una tabla como la siguiente:

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 560 \text{ nm}$)	[almidón] %

Anotar las condiciones de trabajo bajo las cuales se realizó cada corrida.

2.- Construya en una sola gráfica las curvas de [almidón] vs. tiempo obtenidas en cada corrida.

3.- Establezca la tabla siguiente con los resultados obtenidos:

# de corrida	actividad enzimática (MWU/g)	k_0	$\log(\text{MWU/g})$	$\log k_0$

4.- Construya la gráfica de $\log k_0$ vs $\log(\text{MWU/g})$. Con el valor de la pendiente determine el orden respecto al catalizador.

5.- Análisis de resultados y conclusiones.

HIDROLISIS DEL ALMIDON CON α -AMILASA EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION.

OBJETIVO

Se estudiará el efecto de la temperatura sobre la velocidad de hidrólisis de almidón con una α -amilasa bacteriana. Se determinará la energía de activación para esta reacción empleando la ecuación de Arrhenius.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- ¿Es posible llevar a cabo una reacción enzimática a temperaturas elevadas, por ejemplo a 70°C?
- 2.- ¿Qué es la energía de activación de una reacción química?
- 3.- Comparando las reacciones enzimáticas con las químicas, ¿qué tipo de reacciones se verifican más rápidamente.
- 4.- ¿Por qué en las reacciones enzimáticas es más frecuente hablar de actividad enzimática en lugar de concentración de la enzima?
- 5.- ¿Cómo sería el comportamiento que esperaría en la curva de actividad enzimática vs. temperatura para una enzima termolábil y para una termoestable.

REACTIVOS

Los reactivos que se emplean en esta práctica son los mismos que los empleados en la práctica de efecto de la cantidad de enzima sobre la velocidad de reacción.

MATERIAL Y EQUIPO

El material y el equipo empleado en esta práctica es el mismo que el empleado en la práctica de efecto de la cantidad de enzima sobre la velocidad de reacción.

TECNICA EXPERIMENTAL

Mezcla de reacción.- Para hacer cada corrida se mezcla en un vaso de precipitados de 250 ml la solución de almidón al 0.4%, de pH= 5.4, con el buffer de acetatos 0.05 M de pH= 5.4 . Esta mezcla se debe tener a la temperatura en que se va a realizar la corrida, antes de adicionar la enzima que también debe estar a la misma temperatura. Las corridas de trabajo se preparan de acuerdo a la tabla (2.4).

Muestreos.- Del vaso que contiene la mezcla reaccionante se toman muestras cada dos minutos, de la siguiente manera: Se hace una dilución 1:10 de la mezcla reaccionante con agua destilada antes de leer en el espectrofotómetro. A continuación se toman 4 ml de esta dilución y se depositan en un tubo de ensayo que contenga 4 ml de la solución de yodo, de concentración 1×10^{-4} M, para revelar, se mezcla el contenido de este tubo y se transfiere a la celda del espectrofotómetro en donde se lee a 560 nm contra un blanco de yodo. Este blanco se prepara con 4 ml de I_2 1×10^{-4} M con 4 ml de agua destilada. Los valores de absorbancia se interpolan en la curva estándar de almidón.

INFORME

1. Establezca una tabla como la siguiente para cada corrida.

tiempo (minutos)	A ($\lambda = 560$ nm)	[almidón] %

Anotar las condiciones bajo las cuales se realizó cada corrida.

2.- Construya en una sola gráfica las curvas de [almidón] vs. tiempo para las diferentes temperaturas en que se trabajó. Determine la constante de velocidad de cada corrida.

TABLA 2.4 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE HIDROLISIS DE ALMIDON.

# de corrida	ml de almidón 0.4 % amortiguado en pH= 5.4	ml de buffer de acetatos 0.05 M de pH = 5.4	ml de α -amilasa 750 MWU/g en buffer 0.05 M de pH = 5.4	temperatura (°C)	dilución de la alfcuota muestreada
1	25	24	1.0	16	1:10
2	25	24	1.0	20	"
3	25	24	1.0	30	"
4	25	24	1.0	40	"
5	25	24	1.0	50	"
6	25	24	1.0	60	"

En cada corrida se tiene una concentración inicial de almidón de 0.2 %.

3.- Establezca la tabla siguiente:

# de corrida	T(K)	k	ln k	1/T

4.- Construya la gráfica de $\log k$ vs. $\log 1/T$. Con el valor de la pendiente calcule la E_a de la reacción.

5.- Discusión de resultados y conclusiones.

CAPITULO III

FISICOQUIMICA DE
COLOIDES.

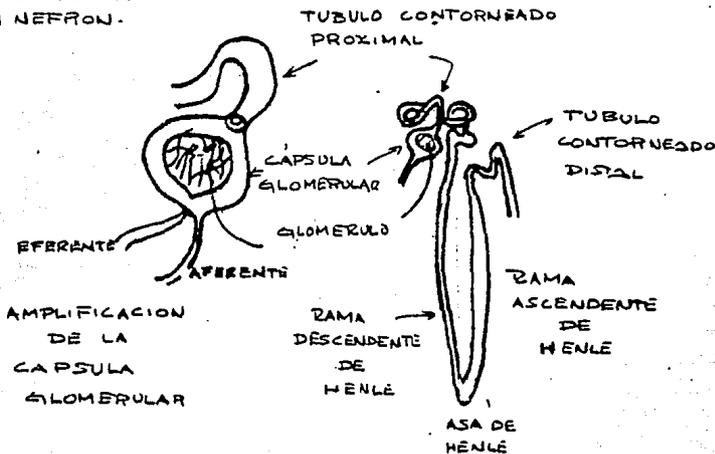
PRESION OSMOTICA

INTRODUCCION

Los fenómenos osmóticos son de gran importancia en los sistemas biológicos debido al tipo de procesos en que están involucrados, además de presentarse a menudo y en formas muy diversas. Para ilustrar los fenómenos osmóticos se considerará el proceso de filtración glomerular que ocurre a nivel renal. Antes de explicar este fenómeno se tratará brevemente la fisiología renal.

La función principal del sistema urinario es mantener el organismo en homeóstasis, controlando el volumen de sangre ya sea conservando, restaurando o removiendo cantidades determinadas de agua y solutos. Esto se logra integrando la función de los diferentes órganos que componen este aparato entre los que se encuentran los riñones, los cuales se encargan de producir la orina que, esencialmente, es un líquido que reúne diversas sustancias de desecho del organismo. Los eventos renales ocurren en las unidades fisiológicas del riñón denominadas nefronas, siendo de particular interés una de sus partes denominada cápsula glomerular o cápsula de Bowman. En la nefrona ocurre la formación de la orina que se lleva a cabo básicamente en tres procesos: Filtración glomerular, Reabsorción tubular y Secreción tubular. (ver fig. 3.1)

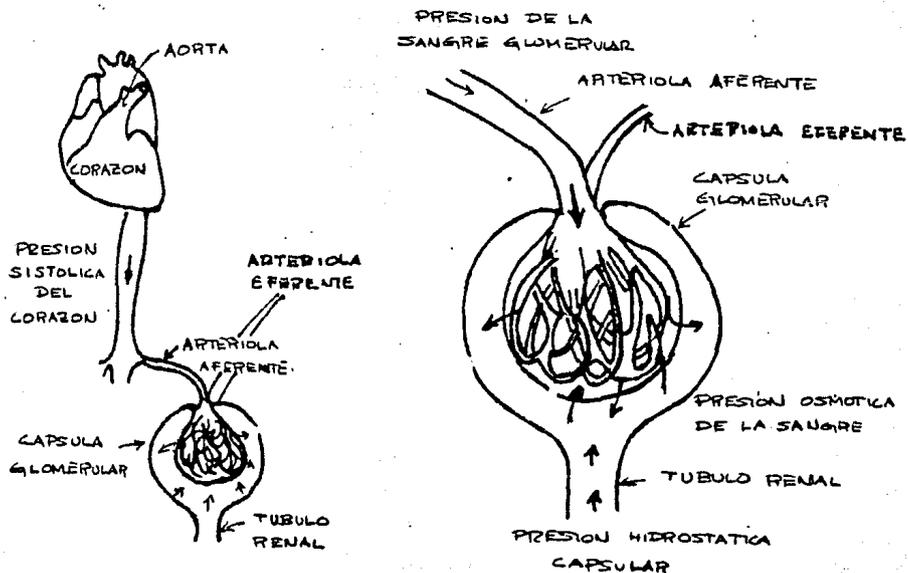
FIG. 3.1 ESQUEMA DE UN NEFRON.



Como se mencionó anteriormente el proceso del cual nos ocuparemos es la filtración glomerular.

El proceso de filtración tiene como objetivo eliminar solutos que son productos de desecho del metabolismo lo cual se logra, en parte, al hacer pasar la sangre a través de una membrana semipermeable que retiene a las proteínas y elementos figurados de la sangre pero permite el paso de agua y de productos de desecho tales como urea, creatinina, ácido úrico y algunos iones presentes en la sangre. El proceso de filtración glomerular se inicia cuando la sangre entra al glomérulo (ver fig 3.2) y la presión sanguínea obliga el paso de agua y determinados solutos disueltos en ella a través de las paredes de los capilares y a través de la pared interna de la cápsula glomerular las que hacen las veces de membranas semipermeables. Esta filtración de la sangre depende de varias presiones, una de las cuales es la presión sanguínea dentro del glomérulo denominada presión hidrostática de la sangre glomerular que es generada por la presión sistólica del corazón y tiende a desplazar el líquido fuera del glomérulo a una presión de cerca de 75 mm Hg

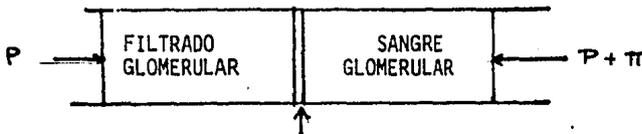
fig 3.2 Presiones involucradas en el proceso de filtración glomerular.



No obstante esta presión de la sangre glomerular no es la presión efectiva de filtración sino que a ella se oponen otras dos presiones. La primera de éstas es la presión hidrostática capsular que se desarrolla cuando el filtrado pasa hacia el espacio entre las paredes de la cápsula y el líquido que con anterioridad ha llenado parcialmente el túbulo renal. Como resultado de esta presión parte del filtrado es empujado hacia los capilares glomerulares. Esta nueva presión originada es la presión hidrostática capsular y es aproximadamente de 20 mm Hg.

La segunda fuerza que se opone a la filtración a través de la membrana de la cápsula de Bowman es la presión osmótica, π , de la sangre. Esta presión se origina en virtud de que la sangre tiene una concentración mucho más alta de solutos, principalmente proteínas, que el filtrado por lo que el agua, proveniente del filtrado, tiende a fluir del filtrado hacia los capilares glomerulares a través de la membrana glomerular (que actúa como membrana semipermeable) hasta alcanzar un estado en donde el flujo de agua es el mismo en ambos sentidos. La presión osmótica de la sangre glomerular es la presión adicional que tendría que aplicarse a la sangre para impedir el flujo de agua hacia la sangre, es decir, la presión necesaria para que estuviese en equilibrio a través de la membrana de la cápsula con el filtrado glomerular. La presión osmótica de las proteínas plasmáticas es el equivalente a una presión hidrostática de unos 25 a 30 mm Hg opuesta a la filtración glomerular.

Presión osmótica de la sangre glomerular.



Membrana de la cápsula glomerular permeable al agua pero no a las proteínas ni a las células.

Como consecuencia de estas tres presiones, para determinar la presión efectiva de filtración (PEF) se propone la ecuación:

$$PEF = \left(\begin{array}{c} \text{presión} \\ \text{sanguínea} \\ \text{glomerular} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{presión} \\ \text{hidrostática} \\ \text{capsular} \end{array} + \begin{array}{c} \text{presión} \\ \text{osmótica} \\ \text{sanguínea} \end{array} \right)$$

No obstante la presión de filtración efectiva puede variar de 25 a 45 mm Hg dependiendo de las variaciones que se presenten en estas presiones.

Para discutir más ampliamente el concepto de presión osmótica es necesario conocer ciertas bases fisicoquímicas por lo que se discutirá a continuación el concepto de potencial químico para después retomar el concepto de presión osmótica.

Potencial Químico

En cualquier instante durante un proceso debido a una reacción química o a un transporte de materia, la energía libre de Gibbs puede especificarse por las variables $T, P, n_1, n_2, \dots, n_k$ es decir:

$$G = G(T, P, n_1, n_2, \dots, n_k) \quad \dots (3.1)$$

donde n_1, n_2, \dots, n_k simbolizan el número de moles de los componentes 1, 2, \dots, k , etc., a una temperatura (T) y presión (P) determinadas. Estos valores de T, P y los de n_i (número de moles del componente i) varían en las cantidades diferenciales dT, dP, dn_i como consecuencia de una reacción química o de un transporte de materia en un sistema.

Considerando las variaciones de temperatura, presión y número de moles de los diferentes componentes, la diferencial total de la ecuación 3.1 es:

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_{P, n_i} dT + \left(\frac{\partial G}{\partial P} \right)_{T, n_i} dP + \left(\frac{\partial G}{\partial n_1} \right)_{T, P, n_{j \neq 1}} dn_1 + \dots$$

$$+ \left(\frac{\partial G}{\partial n_k} \right)_{T, P, n_{j \neq k}} dn_k \quad \dots (3.2)$$

Teniendo en cuenta que G es una función de estado, se puede sustituir el cambio irreversible por uno reversible. Se sabe que para un proceso reversible, en un sistema cerrado, donde no hay variación en la composición se cumple:

$$dG = -SdT + VdP \quad \dots (3.3)$$

y de la ecuación 3.3 se deduce que:

$$\text{Si } P = \text{constante} \quad \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_{P, n_i \neq j} = -S \quad \dots \quad (3.4a)$$

$$\text{Si } T = \text{constante} \quad \left(\frac{\partial G}{\partial P} \right)_{T, n_i \neq j} = V \quad \dots \quad (3.4b)$$

sustituyendo las ecuaciones 4a y 4b en la ecuación (2) se obtiene:

$$dG = -S dT + V dP + \sum_{i=1}^k \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T, P, n_j \neq i} dn_i \quad \dots \quad (3.5)$$

considerando un proceso en el que las variables de estado cambian debido a un transporte irreversible de materia. Puesto que G es una función de estado, donde dG es independiente del proceso que relaciona los estados (T, P, n_1, n_2, \dots) y $(T + dT, P + dP, n_1 + dn_1, n_2 + dn_2, \dots)$, entonces el valor de dG será el mismo si el proceso es reversible o no. Por consiguiente la ecuación 3.5 expresa el valor de dG para un cambio irreversible de transporte de materia.

Se sabe además que la energía libre de Gibbs es una propiedad extensiva de una disolución y ésta cambia cuando se mezclan los componentes de una disolución. La contribución de cada componente de la disolución a la energía libre total se conoce como energía libre molar parcial. Obien, potencial químico, que se simboliza por μ (mu) y está definido como:

$$\bar{G}_i = \mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T, P, n_j \neq i} \quad \dots \quad (3.6)$$

donde G es la energía libre total de la disolución y la derivada parcial se toma manteniendo constante T, P y todos los números de moles excepto n_i .

La importancia del potencial químico surge cuando en un sistema determinado se observan diferencias de éste. Esta diferencia de potencial quí-

mico es la fuerza que conduce los procesos de reacción química o de transporte de materia en un sistema hasta un estado de equilibrio.

Para determinar la condición de equilibrio que debe cumplirse se harán las siguientes consideraciones.

De acuerdo a la definición de potencial químico es posible expresar la diferencial de energía libre en términos de μ , lo cual se logra al sustituir la ecuación 3.6 en la 3.5

$$dG = -S dT + V dP + \sum_{i=1}^k \mu_i dn_i \quad \dots (3.7)$$

Esta ecuación se aplica a procesos en los que el sistema de una fase está en equilibrio térmico y mecánico, pero no necesariamente en equilibrio material, es decir se cumple durante una reacción química irreversible y en el transporte de materia dentro o fuera del sistema. Si en esta última ecuación se consideran constantes la temperatura y la presión se tiene:

$$dG = \sum_{i=1}^k \mu_i dn_i \quad \dots (3.8)$$

que expresa la variación de energía libre en un proceso en que varía la cantidad de los componentes manteniendo la presión y la temperatura constantes.

Por otra parte es posible expresar la energía libre total de una disolución considerando la contribución de cada uno de los componentes que la constituyen, de la manera siguiente:

$$G = \sum_{i=1}^k n_i \bar{G}_i = \sum_{i=1}^k n_i \mu_i \quad \dots (3.9)$$

diferenciando esta ecuación se obtiene:

$$dG = \sum_{i=1}^k \mu_i dn_i + \sum_{i=1}^k n_i d\mu_i \quad \dots (3.10)$$

igualando la ecuación 3.10 con la ecuación 3.8

$$\sum_{i=1}^k n_i d\mu_i = 0 \quad \dots (3.11)$$

esta igualdad es válida a temperatura y presión constantes.

En esta ecuación se observa que las variaciones de μ_i , en una disolución de varios componentes, no son independientes las unas de las otras y que además es posible expresar μ_i en función de los potenciales químicos de los demás componentes.

Considerando ahora un sistema de varias fases que está en equilibrio, suponiendo además que dn_i moles de sustancia i fluyen de la fase α a la P . Esta transferencia infinitesimal de sustancia entre dos fases en equilibrio, a temperatura y presión constantes, involucran un cambio de energía igual a cero, por lo tanto es posible expresar la ecuación 3.8 como:

$$dG = \mu_i^\alpha dn_i^\alpha + \mu_i^P dn_i^P = 0 \quad \dots (3.12)$$

debido a que la cantidad de materia del componente i se mantiene constante y sólo se transfiere de una fase a otra se considera válida la igualdad:

$$dn_i^\alpha = -dn_i^P \quad \dots (3.13)$$

puesto que $dG = 0$ se tiene:

$$(\mu_i^\alpha - \mu_i^P) dn_i^\alpha = 0 \quad \dots (3.14)$$

lo cual implica que:

$$\mu_i^\alpha = \mu_i^P \quad \dots (3.15)$$

es decir el potencial químico, en el equilibrio, de un componente dado es el mismo en todas las fases en las que este componente se encuentre presente. Esta es la condición que debe cumplirse en el equilibrio de fases como es el caso de los equilibrios de membrana.

Osmosis

Para ilustrar el fenómeno de ósmosis se considerará un sistema dividido en dos cámaras, I y II, por una membrana semipermeable la cual es térmicamente conductora. Esta membrana permite el paso del disolvente "A" a través de ella pero no del soluto "B". En el lado I (ver fig 3.3) se deposita A puro y en el lado II una disolución de B en A. Inicialmente se llenan los dos depósitos de manera que la altura inicial de los capilares sea la misma.

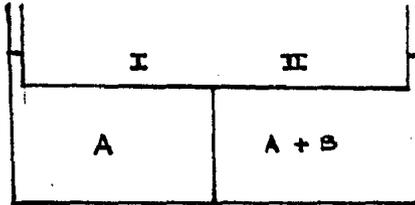


Fig. 3.3

Las cámaras, están por tanto, a la misma presión inicial

$$P_I = P_{II} = P$$

donde los subíndices se refieren a la cámara I y II respectivamente. Debido a que la membrana es térmicamente conductora se cumple el equilibrio térmico:

$$T_I = T_{II} = T$$

El potencial químico de A en la cámara I es:

$$\mu_{A_I} = \mu_A^*$$

donde el asterisco se refiere a una propiedad de un componente puro. Si la disolución de B en A de la cámara II está lo suficientemente diluida puede ser considerada como una disolución ideal para la que se cumple:

$$\mu_{A_{II}} = \mu_A^* + RT \ln Y_A \quad \dots \quad (3.16)$$

donde:

$\mu_{A,II}$ = potencial químico de A en la cámara II.

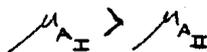
μ_A^* = potencial químico de A puro.

Y_A = fracción mol de A en la disolución.

T = temperatura de equilibrio.

R = constante universal de los gases.

Puesto que Y_A es menor que la unidad, se tiene como consecuencia:



Sin embargo una sustancia i fluye espontáneamente desde una fase con un potencial químico mayor a otra con un valor inferior, entonces la sustancia A fluirá a través de la membrana del lado I al II, diluyendo ligeramente la disolución de la derecha. El líquido en el tubo de la cámara II subirá aumentando de este modo la presión en la misma. Puesto que el volumen molar parcial del disolvente en la disolución (\bar{V}_A) es positivo, el aumento de la presión hace que aumente el $\mu_{A,II}$ (considere las ecuaciones 3.3 y 3.6) hasta que finalmente se alcance el equilibrio cuando $\mu_{A,II} = \mu_{A,I}$.

Después de describir el fenómeno de ósmosis se tratará el concepto de presión osmótica para después llegar a una expresión que permita calcular la presión osmótica de una solución.

Presión Osmótica

Sean P y $P + \pi$ las presiones de equilibrio en las cámaras I y II respectivamente donde π se denomina presión osmótica de la solución y es la presión adicional que se debe aplicar a la disolución para hacer que el potencial químico de ésta sea igual al potencial químico del disolvente puro de manera que se consiga un equilibrio de membrana para la especie A entre la disolución y A puro. En el equilibrio se cumple:

$$\mu_{A\text{I}} = \mu_{A\text{II}}$$

Si además se sabe que:

$$\mu_{A\text{I}} = \mu_A^*(P, T) \quad \dots \quad (3.17)$$

$$\mu_{A\text{II}} = \mu_A^*(P + \pi, T) + RT \ln \delta_A^{\lambda} Y_A \quad \dots \quad (3.18)$$

siendo esta última ecuación la que expresa el potencial químico de una solución ideal, donde δ_A^{λ} es el coeficiente de actividad de A en la disolución depositada en la cámara II; y Y_A su respectiva fracción mol.

Considerando la condición de equilibrio es posible igualar las ecuaciones 3.18 y 3.19|

$$\mu_A^*(P, T) = \mu_A^*(P + \pi, T) + RT \ln \delta_A^{\lambda} Y_A \quad \dots \quad (3.19)$$

si además se conoce que:

$$d\mu_A^* = -S_A^* dT + \bar{V}_A^* dP$$

que en condiciones de temperatura constante se transforma en:

$$d\mu_A^* = \bar{V}_A^* dP$$

o bien

$$\Delta \mu_A^* = \mu_A^*(P + \pi, T) - \mu_A^*(P, T) = \bar{V}_A^* dP$$

sustituyendo los valores de las ecuaciones (17) y (18) e integrando desde P a P + π resulta:

$$\mu_A^*(P + \pi, T) - \mu_A^*(P, T) = \int_P^{P+\pi} \bar{V}_A^* dP \quad \dots \quad (3.20)$$

Por otra parte, de la ecuación 3.19 se deduce

$$\mu_A^*(P + \pi, T) - \mu_A^*(P, T) = -RT \ln \gamma_A^* Y_A \quad \dots (3.21)$$

igualando las ecuaciones 3.20 y 3.21 se tiene:

$$RT \ln \gamma_A^* Y_A = - \int_P^{P+\pi} \bar{V}_A^* dP \quad \dots (3.22)$$

Resolviendo la ecuación diferencial:

$$RT \ln \gamma_A^* Y_A = - \bar{V}_A^* \pi$$

$$\pi = - \frac{RT}{\bar{V}_A^*} \ln \gamma_A^* Y_A \quad \dots (3.23)$$

para una solución diluida ideal es válida la aproximación hecha con la serie de Taylor donde:

$$\ln \gamma_A^* Y_A = - Y_B$$

En esta expresión Y_B es la fracción mol del componente B. Por lo tanto:

$$\pi = \frac{RT}{\bar{V}_A^*} Y_B \quad \dots (3.24)$$

Si se considera una solución muy diluida es válida la siguiente aproximación:

$$Y_B = \frac{n_B}{n_A + n_B} \approx \frac{n_B}{n_A}$$

donde n_A y n_B son los números de moles del disolvente y del soluto respectivamente en la disolución. Sustituyendo esta aproximación en la ecuación 3.24 se obtiene:

$$\pi = \frac{RT}{\bar{V}_A^*} \frac{n_B}{n_A} \quad \dots (3.25)$$

Asumiendo que se trabaja con una solución diluida es posible hacer una aproximación más al considerar el volumen de la disolución, V como:

$$V = n_A \bar{V}_A^*$$

Por lo que la ecuación 3.25 se transforma en:

$$\pi = n_B \frac{RT}{V} \quad \dots (3.26)$$

6

$$\pi = C_B RT \quad \dots (3.27)$$

Donde la concentración C_B es igual a n_B/V . La ecuación 3.27 es conocida como la ley de Van't Hoff y es válida para soluciones diluidas.

DETERMINACION DE LA PRESION OSMOTICA DE UN COMPUESTO MACROMOLECULAR.

Objetivo

Se estudiará el efecto de la concentración sobre la presión osmótica de soluciones de agar. Se compararan los resultados experimentales con los valores que predice la ecuación de Van't Hoff.

Cuestionario de prelaboratorio

- 1.- ¿ Qué es el fenómeno de ósmosis?
- 2.- ¿ Qué es la presión osmótica de una solución ?
- 3.- ¿Cuál es la ecuación que relaciona la presión osmótica de una solución con su concentración ?
- 4.- ¿ Por qué considera que tienen importancia los fenómenos osmóticos en los sistemas biológicos ?

Material y equipo

- 5 osmómetros de vidrio.
- 60 cm de membrana de celofán.
- 5 soportes con pinzas para bureta.
- hilo de cañamo.(delgado).
- 1 jeringa desechable de 20 ml.
- 1 matraz volumétrico de 250 ml.
- 2 matraces volumétricos de 100 ml.
- 5 vasos de precipitados de 250 ml.

Reactivos

- a) Soluciones de agar al 2% (p/v).
- b) Soluciones de agar al 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0% y 1.2% (p/v)

Preparación de soluciones.- Se pesan 5.0 g de agar y se adicionan poco a poco y con agitación a 200 ml de agua destilada en ebullición hasta su total disolución. Una vez que la solución se ha enfriado se transvasa cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 ml y se afora con agua destilada.

Para preparar las soluciones de agar al 1.2%, 1.0%, 0.8%, 0.6% y 0.4% se depositan, con pipeta volumétrica, en matraces volumétricos de 100 ml, 60 ml, 50 ml, 40 ml, 30 ml y 20 ml respectivamente de la solución de agar al 2%. Las soluciones se aforan con agua destilada.

Técnica experimental

La membrana de celofán ya húmeda se coloca en el extremo inferior del osmómetro sujetándola con hilo de cañamo. A continuación se deposita con una jeringa, aproximadamente 15 ml de la solución de agar. Esta operación se hace para cada solución de agar. (ver fig3.4). Los osmómetros se montan en soportes, de manera que la membrana se mantenga en contacto con agua destilada (ver fig 3.4). Se marca la diferencia de niveles entre la solución y el agua, anotando la fecha y la hora de la lectura. Se hacen lecturas de la diferencia de niveles durante una semana, con intervalos de 24 horas, anotando la fecha y la hora de las mismas.

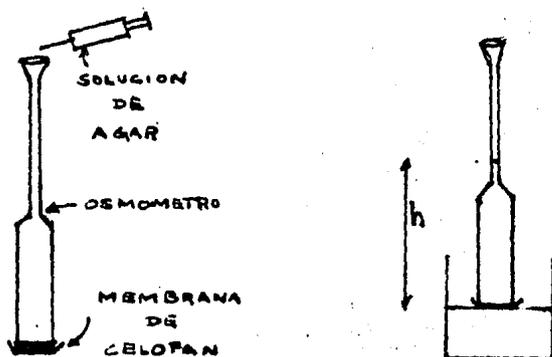


FIGURA 3.4

Informe

- 1.- Reporte los resultados en la siguiente tabla: (hacer una tabla para cada osmómetro).

h(cm)	tiempo (horas)

- 2.- Construya en una sola gráfica las curvas de h vs. tiempo, de los cinco osmómetros
- 3.- Con la última lectura h (cm) de cada osmómetro calcule la presión osmótica de cada solución.
- 4.- De acuerdo a los resultados obtenidos, ¿Qué relación existe entre la concentración de una solución y la presión osmótica?
- 5.- Empleando la ecuación de Van't Hoff calcule el nivel de equilibrio teórico de cada solución de agar en el osmómetro. Para hacer este cálculo considere un valor aproximado del peso molecular del agar de 60 000 g/mol y que la densidad de las soluciones es la misma que la del agua. Compare los resultados experimentales con los valores que predice la ecuación de Van't Hoff. Comente los resultados.
- 6.- De acuerdo con la ecuación de Van't Hoff, ¿Cómo varía la presión osmótica con la concentración de una solución?, ¿Se duplica la presión osmótica al duplicarse la concentración de la solución?
- 7.- Discusión de resultados y conclusiones.

VISCOSIDAD

INTRODUCCION

Una propiedad relevante de los sistemas coloidales es su viscosidad. La viscosidad es una propiedad reológica de un sistema (la rama de la Física que trata sobre el flujo y la deformación de la materia es la Reología) que indica que tan fácil es que el sistema fluya. Por otro lado una gran parte de los sistemas biológicos son coloides por lo que la viscosidad en estos sistemas adquiere particular interés. Para ilustrar la importancia del concepto de viscosidad, en estos sistemas, se analizará el siguiente caso.

Una dispersión coloidal es un sistema constituido por dos fases: una de ellas la constituyen las partículas dispersas del coloide (fase dispersa) en otra fase, por ejemplo un líquido, que se conoce como fase continua o medio continuo. Ahora bien, un sistema disperso muy común en los sistemas biológicos es la sangre. Este sistema es un tejido en donde las células sanguíneas o elementos figurados constituyen la fase dispersa y el plasma el medio continuo. Los glóbulos rojos constituyen aproximadamente el 45% del volumen total de la sangre mientras que el resto de las células, leucocitos y plaquetas, alcanzan un 1% del volumen total (el % restante lo constituye el plasma). Una de las características más importantes de la sangre, desde el punto de vista fisicoquímico, es su viscosidad, de cuyo valor depende en cierta medida la velocidad que ésta adquiera a través del sistema circulatorio. Existen diversos factores que influyen en la viscosidad de la sangre, siendo el más importante de éstos la concentración de glóbulos rojos presentes en ella.

Un parámetro indicativo de la concentración de la fase dispersa en una dispersión coloidal es denominado ϕ (ϕ) y está definido como la fracción de volumen que ocupa la fase dispersa respecto al volumen total de la dispersión, es decir:

$$\phi = \frac{\text{VOLUMEN DE LA FASE DISPERSA}}{\text{VOLUMEN TOTAL DE LA DISPERSION}}$$

Aplicando esta relación para los glóbulos rojos de la sangre

$$\phi_{g.r.} = \frac{\text{VOLUMEN DE GLOBULOS ROJOS}}{\text{VOLUMEN DE SANGRE TOTAL}} = \text{Ht}$$

se obtiene un término conocido en Hematología Clínica como hematocrito (Ht). En Hematología el Ht se define como el volumen de glóbulos rojos existente en la muestra en relación con el volumen de sangre total,

Una vez definido un término de concentración de glóbulos rojos en la sangre es posible establecer una ecuación que relacione la viscosidad de la misma con su concentración.

$$\eta^* = k \text{ Ht}$$

donde

η^* = viscosidad de la sangre.

k = constante de proporcionalidad.

Ht = hematocrito.

De este breve análisis resalta la importancia del concepto de viscosidad, que aunque solamente se ha mencionado, es un concepto que requiere particular atención para poder entender y analizar las propiedades de los diversos fluidos biológicos como la sangre.

VISCOSIDAD DE FLUIDOS NEWTONIANOS.

Para estudiar el concepto de viscosidad se considerará un líquido con -
tenido entre dos planos paralelos, como los que se muestran en la fig. 1a,
donde el plano "A" es móvil y el plano "B" se mantiene fijo. Entre estos dos
planos se encuentra contenido el líquido que está dividido a su vez en un
gran número de planos imaginarios los cuales se encuentran adyacentes entre
sí y paralelos a los planos A y B. Cuando el plano "A" se empuja, como en
la figura 1b, con una fuerza constante "F" aplicada en la dirección del eje
"y", mientras que el plano "B" se mantiene fijo, entonces se produce un des-
plazamiento de los planos imaginarios de líquido en el sentido "y" en que se
aplicó la fuerza. El primer plano imaginario de líquido que se encuentra en
contacto con el plano móvil se adhiere a éste último y se mueve con una ve-
locidad "v", la cual adquiere el plano móvil por efecto de la fuerza "F".
El segundo plano imaginario de líquido que está adyacente al plano móvil
es arrastrado en la misma dirección de éste debido a la fricción que exis-
te entre ambos. No obstante, la velocidad de este segundo plano se ve dis-
minuida por el rozamiento que existe con el plano adyacente a él que está
más próximo al plano fijo. Este mecanismo ocurre con el resto de los planos
de líquido de manera que la velocidad de estos varía desde cero hasta "v",
considerando su posición respecto al plano móvil, es decir mientras más ale-
jados se encuentren del plano móvil tenderán a desplazarse con una veloci-
dad menor. En el esquema anterior las velocidades de los planos de líquido
están representadas por flechas de diferente magnitud y se observa que la
velocidad de los planos de líquido se incrementa en la dirección del eje
"x" que es perpendicular a la dirección del flujo.

Considerando el mismo esquema de la figura 3.5 la diferencia de velocidad
 dV entre dos planos de líquido separados por una distancia infinitesimal dx
es el gradiente de velocidad o bien la velocidad del flijo que se define co-
mo dV/dx . Este gradiente de velocidad se representa por γ (gama).

$$\gamma = \frac{dV}{dx}$$

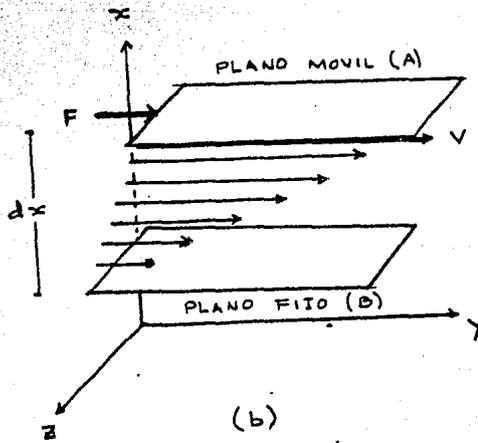
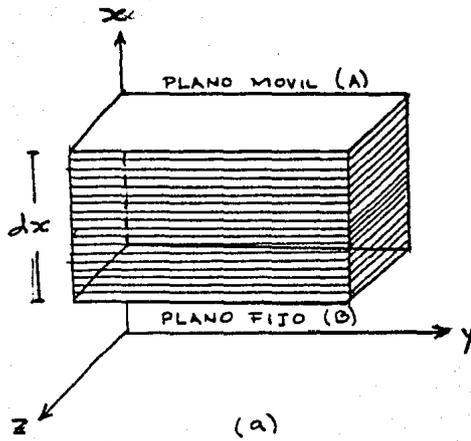


FIG. 3.5

REPRESENTACIONES ESQUEMATICAS DEL FLUJO PARA EXPLICAR EL CONCEPTO DE VISCOSIDAD.

el cual indica que tan rápido fluye un líquido cuando se le aplica una fuerza determinada. (en inglés se le denomina rate of shear)

La fuerza por unidad de área requerida para producir el flujo se denomina fuerza de flujo (en inglés shearing stress) y se define como:

$$p = \frac{F}{A}$$

donde

p = fuerza del flujo.

F = fuerza que produce el flujo de líquido.

A = área sobre la que la fuerza, F , es aplicada.

Las propiedades de flujo de un líquido se expresan en forma cuantitativa mediante la ecuación propuesta por Newton que relaciona la fuerza del flujo y el gradiente de velocidad.

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dV}{dx}$$

o bien

$$p = \eta \delta^{\wedge}$$

donde

p = fuerza del flujo. (shearing stress)

δ^{\wedge} = gradiente de velocidad. (rate of shear)

η = viscosidad. (θ coeficiente de viscosidad)

La viscosidad es un parámetro que indica la resistencia que opone un líquido o un gas a fluir. En otros términos es la resistencia que se opone al movimiento relativo de los planos imaginarios adyacentes de líquido y se puede considerar como un tipo de rozamiento interno.

Los fluidos cuyo comportamiento es descrito por la ecuación propuesta por Newton se dice que son fluidos newtonianos. En este tipo de fluidos la velocidad del flujo ($\dot{\gamma}$) es directamente proporcional a la fuerza del flujo (p) y depende solamente de ésta. La viscosidad de estos fluidos es independiente de la velocidad del flujo y del tiempo en que sea aplicada la fuerza para producir el flujo, de aquí que los fluidos newtonianos estén clasificados dentro de los fluidos independientes del tiempo.

Una representación gráfica del comportamiento de un fluido se conoce como reograma en el que la ordenada es la fuerza del flujo (p) y la abscisa es la velocidad del flujo ($\dot{\gamma}$). Para dos líquidos newtonianos, a y b, la representación es la siguiente:

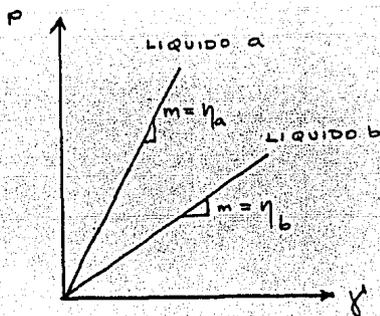


fig 3.6. Curvas de flujo de dos líquidos newtonianos.

Como se observa las curvas de flujo son rectas que pasan por el origen. La viscosidad de estos líquidos se obtiene por el valor de la pendiente de estas rectas. Al observar la gráfica anterior se infiere que la viscosidad del líquido "a" es mayor que la del líquido "b".

No obstante el comportamiento newtoniano de los fluidos es aplicable solamente a unos cuantos líquidos, en su mayoría líquidos puros o bien soluciones diluidas de solutos de bajo peso molecular.

Las propiedades reológicas de los sistemas coloidales son bastante más complejas ya que sus características de flujo dependen de la velocidad y del tiempo a que este material se somete a la deformación. Cabe señalar que en muchos casos estos fluidos presentan características reológicas tales que son una combinación de características de diferentes fluidos. Dentro de este contexto y a pesar que el modelo propuesto por Newton es aplicable con ciertas restricciones es posible en ciertos casos tener buenas aproximaciones sobre el comportamiento de fluidos más complejos.

Después de esta breve revisión del concepto de viscosidad se considerarán dos características reológicas de las dispersiones coloidales que son de particular interés en nuestro caso: la dependencia de la viscosidad con la concentración de la dispersión y el efecto electroviscoso.

Dependencia de la viscosidad con la concentración de la dispersión.

Se ha observado que las dispersiones coloidales presentan una viscosidad mayor respecto a la viscosidad del disolvente en que se encuentran disueltos. Este comportamiento fue explicado por Einstein al describir el comportamiento de un flujo de una dispersión coloidal. La ecuación deducida por Einstein es la siguiente:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = 2.5 \phi$$

donde

η = viscosidad de la dispersión coloidal.

η_0 = viscosidad del disolvente o del líquido que sirve como vehículo.

η_{sp} = viscosidad específica de la dispersión, que resulta ser el incremento en la viscosidad de la dispersión sobre la del disolvente expresada como un múltiplo de la viscosidad del disolvente.

ϕ = fracción de volumen de la fase dispersa

(Nótese la semejanza de esta ecuación con la que relaciona la viscosidad de la sangre con el hematocrito)

Sin embargo esta ecuación tiene ciertas limitaciones siendo una de las principales el hecho de que es válida solamente para fluidos newtonianos.

La concentración de la dispersión coloidal no es el único factor que afecta la viscosidad de la misma sino que intervienen otros factores como el tamaño y la forma de la partícula, la temperatura y la carga eléctrica de la partícula, entre otros.

Efecto Electroviscoso

Se ha observado experimentalmente que la carga de las partículas tiene cierta influencia sobre la viscosidad de disoluciones coloidales. Esto significa que el movimiento de las partículas cargadas se ve afectada por la atracción y repulsión que existe entre las mismas. Un sistema que contiene unidades cargadas presentará, debido a las atracciones electrostáticas, una viscosidad mayor que un sistema sin carga. A este incremento en la viscosidad de una dispersión coloidal debido a las repulsiones electrostáticas entre las partículas se le conoce como efecto electroviscoso.

También se ha observado que se puede descargar una partícula previamente cargada por la adición de electrolitos, teniendo como consecuencia que la viscosidad disminuya significativamente. Un ejemplo de este tipo de comportamiento se presenta en las proteínas. En el pH que corresponde al punto isoeléctrico de una dispersión de proteína ocurre un mínimo en la viscosidad de la misma, pero en pH por debajo y por encima de este punto se presenta una mayor viscosidad en la dispersión.

MEDICION DE LA VISCOSIDAD EMPLEANDO EL VISCOSIMETRO DE OSTWALD.

La determinación de la viscosidad empleando el viscosímetro de Ostwald se basa en la medición del tiempo de flujo de un volumen determinado de líquido a través de un orificio o ducto de geometría conocida. En este caso particular el ducto es un tubo capilar cilíndrico a través del cual flu-

ye el líquido debido a su propio peso.

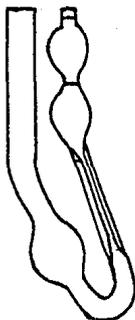


fig. 3.7

Esquema del viscosímetro de Ostwald.

Considerando que el flujo de líquido a través de un capilar sigue un comportamiento newtoniano entonces es válido emplear la ecuación clásica de Poiseuille.

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8 \eta L} \quad \dots (3.28)$$

Ecuación de Poiseuille

Esta ecuación relaciona la velocidad de flujo Q , la presión de caída de líquido ΔP , el radio " r " y la longitud " L " del capilar con el tiempo " t " que tarda en fluir un volumen " V " de líquido a través del tubo capilar cilíndrico. Si se sustituye ΔP por la presión hidrostática, $h \rho g$, de una columna de líquido entonces se obtiene una expresión de la forma

$$\frac{V}{t} = \frac{\pi r^4 h \rho g}{8 \eta L} \quad \dots (3.29)$$

donde " h " es la altura de la columna de líquido, ρ la densidad del mismo y g es la aceleración debida a la gravedad. Reordenando esta última ecuación se obtiene

$$\frac{\eta}{t} = \frac{\pi r^4 h g}{8 V L} * \rho \quad \dots (3.30)$$

en donde se observa que varios parámetros se mantienen constantes, de manera que esta ecuación puede expresarse en términos de otra constante, K, definida como:

$$K = \frac{\pi r^4 h g}{8 V L} \quad \dots (3.31)$$

Reescribiendo la ecuación 3.30 se tiene

$$\frac{\eta}{t} = K \rho$$

o bien

$$\boxed{\eta = K \rho t} \quad \dots (3.32)$$

que es una expresión que relaciona la viscosidad de una solución de densidad conocida con el tiempo que tarda en fluir un volumen determinado de líquido a través de un capilar cilíndrico.

En el trabajo práctico de laboratorio no es necesario evaluar la constante K para poder determinar la viscosidad de una solución, sino que es posible realizar la determinación tomando como referencia un líquido de densidad y viscosidad conocidas, y determinando el tiempo de flujo de este líquido en el viscosímetro. Esta operación se puede lograr si se mide el tiempo de flujo del mismo volumen de dos líquidos diferentes a través del mismo viscosímetro, entonces de acuerdo con la ecuación 3.32 se tiene:

para el líquido uno

$$\eta_1 = K \rho_1 t_1$$

y para el líquido dos

$$\eta_2 = K \rho_2 t_2$$

dividiendo ambas expresiones se obtiene

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2}$$

o bien

$$\eta_1 = \eta_2 \left(\frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2} \right) \dots (3.33)$$

donde

η_1 = viscosidad del líquido que se estudia.

ρ_1 = densidad conocida del líquido estudiado.

t_1 = tiempo de flujo del líquido estudiado.

η_2 = viscosidad conocida del líquido de referencia.

ρ_2 = densidad del líquido de referencia.

t_2 = tiempo de flujo del líquido de referencia.

DETERMINACION DE LA VISCOSIDAD DE SOLUCIONES DE AGAR EN DIFERENTES VALORES DE pH.

OBJETIVO

En este experimento se realizarán mediciones de viscosidad con el viscosímetro de Ostwald de soluciones de agar amortiguadas en diferentes pH, determinándose de esta forma si existe o no influencia de la carga eléctrica sobre la viscosidad de las soluciones.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- Defina el término viscosidad e indique en que unidades se mide.
- 2.- ¿Qué factores afectan la viscosidad de una solución ?
- 3.- ¿Qué es un fluido newtoniano ?
- 4.- ¿Cuáles son las restricciones de la ecuación $\eta_1 / \eta_2 = \rho_1 t_1 / \rho_2 t_2$?
- 5.- ¿Qué es una solución amortiguadora y con que otros nombres se le conoce ?

EQUIPO Y REACTIVOS

- 1 viscosímetro de Ostwald.
- 1. potenciómetro (pH metro).
- 1 cronómetro.
- 1 termómetro.
- 1 picnómetro.
- 2 buretas de 50 ml (con pinzas y soporte)
- 1 soporte con pinzas.
- 1 trozo de manguera de hule.
- 10 matraces volumétricos de 500 ml
- 10 matraces volumétricos de 100 ml (Para un grupo de laboratorio)
- 1 pipeta volumétrica de 50 ml.
- 1 vaso de precipitados de 1000 ml.

- 1 mechero.
- 1 tripie con tela de alambre.
- 1 jeringa de 10 ml (o pipeta graduada de 10 ml).
- agitadores de vidrio.

REACTIVOS

agar en polvo para uso microbiológico.

ácido acético glacial

NaOH

KH_2PO_4

Na_2HPO_4

SOLUCIONES EMPLEADAS

- a).- 500 ml de agar al 1% (p/v).
- b).- 500 ml de solución amortiguadora de acetatos 0.2 M, de pH 4, 4.5, 5.0 y 5.5.
- c).- 500 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M de pH 6.5, 7.0, 7.5 y 8.0
- d).- 500 ml de ácido acético 1 M.
- e).- 250 ml de NaOH 1 M.

PREPARACION DE SOLUCIONES

a).- solución de agar al 1% (p/v).-Se pesan en balanza analítica 5 g de agar en polvo y se disuelven en aproximadamente 400 ml de agua destilada en ebullición contenida en un vaso de precipitados de 1000 ml. El agar se adiciona poco a poco al agua, agitando constantemente para evitar la formación de grumos. El agar una vez disuelto se mantiene aproximadamente tres minutos en ebullición para después permitir que adquiera la temperatura ambiente. Finalmente se afora a 500 ml en un matraz volumétrico con agua destilada. Esta solución servirá para preparar las soluciones de agar al 0.5% en los medios amortiguados en diversos pH.

- b).- soluciones amortiguadoras de acetatos (HOAc/OAc^-) de concentración 0.2 M.- Estas soluciones se preparan de acuerdo a la siguiente tabla:

pH en que se amortigua	ml de HOAc 1 M	ml de NaOH 1 M
4.0	100	15.0
4.5	100	35.5
5.0	100	63.5
5.5	100	84.5

Después de mezclar el ácido acético (HOAc) y el hidróxido de sodio se depositan en un matraz volumétrico de 500 ml. Antes de aforar cada solución se verifica que el pH sea el deseado, en caso contrario se ajusta con NaOH 1 M o HCl 1M. Este ajuste se realiza adicionando unas cuantas gotas de ácido o de base según el caso. Por último se afora con agua destilada.

- c).- soluciones amortiguadoras de fosfatos ($\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$) de concentración 0.2 M.- Estas soluciones se preparan de acuerdo a la siguiente tabla:

pH en que se amortigua	g de H_2PO_4^-	g de HPO_4^{2-}
6.5	10.020	5.907
7.0	7.440	13.604
7.5	4.080	23.628
8.0	1.680	30.788

Estas sales se disuelven por separado en agua destilada. Una vez disueltas se mezclan en un vaso de precipitados de 500 ml y se verifica que el pH sea el correcto. Finalmente se transfiere cuantitativamente la mezcla a un matraz volumétrico de 500 ml y se afora con agua destilada.

Preparación de las soluciones de agar al 0.5% (p/v) en medios amortiguados en diferentes pH.- Las soluciones de agar al 0.5%, a las que se medirá la viscosidad, se preparan depositando con pipeta volumétrica 50 ml de agar al 1% en matraces volumétricos de 100 ml y aforando con la solución amortiguadora del pH deseado. Después de haber aforado las soluciones se verifica el pH de éstas con el pH metro y se determina su densidad haciendo uso del picnómetro. También debe prepararse un control de agar al 0.5% en agua destilada que se tratará como el resto de las soluciones.

TECNICA EXPERIMENTAL

Las mediciones de viscosidad se realizarán empleando el viscosímetro de Ostwald. El viscosímetro utilizado debe previamente lavarse con mezcla crómica para eliminar residuos de partículas orgánicas que pudieran haberse depositado en él. A continuación se enjuaga con agua destilada para retirar por completo la mezcla crómica. Para hacer mediciones con el viscosímetro de Ostwald se trabaja con 10 ml de líquido, los cuales se depositan en el aparato (ver fig3.8). El líquido depositado es llevado por succión hasta el bulbo superior que sirve como depósito y se mide el tiempo que tarda en fluir entre las marcas a y b; esta operación se hace por triplicado.

Puesto que se mide el tiempo de flujo de dos líquidos tomando uno como referencia, empleando el mismo viscosímetro, entonces es posible aplicar la ecuación 3.33

$$\eta_1 = \eta_2 \left(\frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2} \right)$$

para calcular la viscosidad del líquido problema.

En este experimento se tomará como líquido de referencia al agua cuya densidad y viscosidad pueden consultarse en tablas. Para hacer las mediciones del tiempo de flujo del agua se depositan con una jeringa 10 ml (o con una pipeta graduada) de agua destilada en el viscosímetro y se mide el tiempo de flujo. A continuación se repite la operación con las soluciones de agar al 0.5% empleando para ello el mismo volumen de líquido y el mismo viscosímetro. Puesto que va a emplearse el mismo aparato éste debe enjuagar

se antes de cada medición con un poco de la solución a la que va a determinarse su viscosidad.

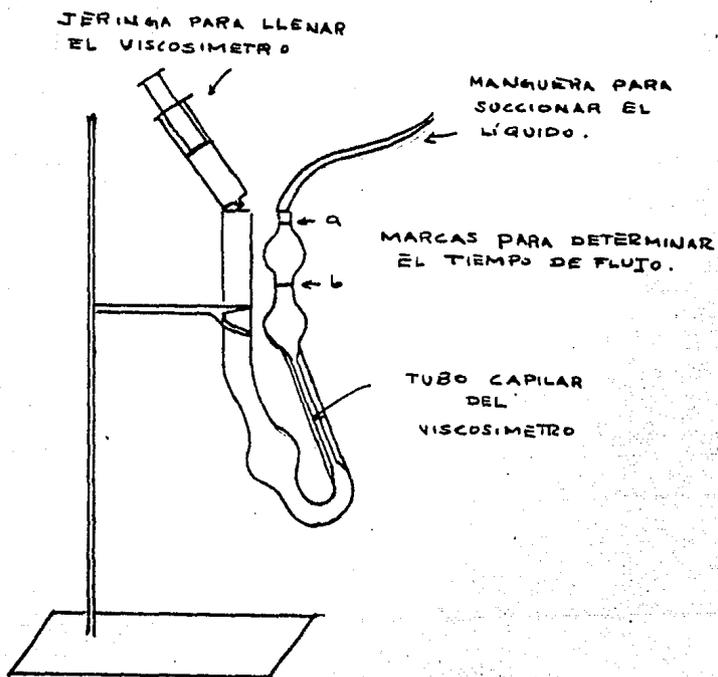


fig 3.8 Esquema del montaje del viscosímetro de Ostwald.

INFORME:

1.- Construya una tabla como la siguiente:

# de solución	pH	η (cP)	ρ (g/ml)	tiempo de flujo (seg)
H ₂ O control				
1				
2				
.				
.				

Anote la temperatura de trabajo.

2.- Construya la gráfica η (cP) vs. pH.

3.- En qué pH se presenta un mínimo en el valor de viscosidad de las soluciones de agar.

4.- Discusión de resultados experimentales y conclusiones.

CUESTIONARIO

1.- ¿Cuál es la forma de la molécula de agar ?

2.- ¿Cuál es el origen de la carga eléctrica de una solución coloidal y cómo puede modificarse ?

3.- ¿ A qué se le conoce como el pH isoeléctrico de una solución coloidal ?

4.- ¿ Podría determinarse el punto isoeléctrico de una proteína mediante mediciones de viscosidad ? Explique su respuesta.

5.- ¿ Qué importancia tiene, a su juicio, la carga eléctrica de una molécula coloidal ?

CAPITULO IV

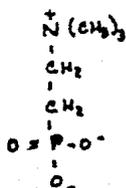
FISICOQUIMICA DE
SUPERFICIES.

FENOMENOS DE SUPERFICIE

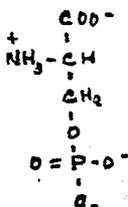
INTRODUCCION

Los fenómenos de superficie son de interés dentro del campo biológico ya que las sustancias que tienen actividad superficial se presentan frecuentemente en organismos vivos. Un ejemplo de este tipo de moléculas son los lípidos, que son constituyentes importantes de las membranas celulares.

Los lípidos son biomoléculas orgánicas insolubles en agua y que pueden ser extraídos de los sistemas vivos, por ejemplo de las células y de los tejidos, mediante disolventes no polares.



fosfatidilcolina



fosfatidilserina

fig. 4.1

Estructura de dos
fosfolípidos.

Dentro de este grupo de moléculas existe una gran variedad, por lo que pueden clasificarse de diferentes formas, por ejemplo de acuerdo a la estructura que posean. En este trabajo se tomará como caso particular a los fosfoglicéridos (también conocidos como fosfolípidos) que son los lípidos predominantes de las membranas celulares. Este tipo de lípidos presentan una estructura que les confiere características muy peculiares. En la estructura de los fosfoglicéridos se observa que uno de los grupos hidroxilo primarios de la glicerina se halla esterificado por el ácido fosfórico, los demás grupos hidroxilo son por ácidos grasos de cadena larga. El compuesto originario de la serie es, por tanto, el éster fosfórico de la glicerina

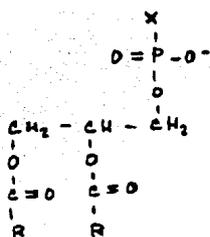
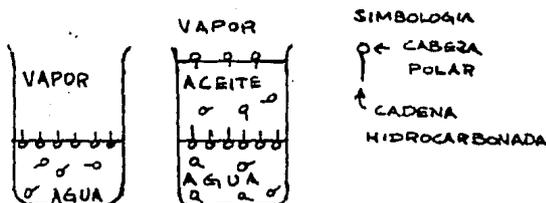


FIG. 4.2

ESTER FOSFORICO DE LA GLICERINA

En esta estructura se observa que se presenta una cabeza polar hidrofílica, constituida por el grupo fosfato y una cola hidrocarbonada hidrofóbica no polar, constituida por las cadenas de ácidos grasos. A este tipo de moléculas que presentan grupos fuertemente no polares y grupos fuertemente polares se les da el nombre de moléculas amfipáticas.

Debido a la estructura tan peculiar que presentan este tipo de moléculas estos tienden a concentrarse o adsorberse en las regiones conocidas como interfase de los sistemas constituidos por las fases agua-aire, aire-aceite, agua-aceite, etc. (fig 4.3)

fig. 4.3
ADSORCION DE SURFACTANTE EN LA INTERFASE

Los compuestos que tienden a orientarse de esta forma en la región de interfase son capaces de modificar una propiedad característica de la superficie de los líquidos conocida como tensión superficial. Para entender qué es la tensión superficial se tratará este concepto a continuación.

FENOMENOS DE SUPERFICIE

LA INTERFASE

Para establecer los conceptos fundamentales de los fenómenos de superficie se considerará un sistema formado por dos fases α y β las cuales pueden ser, por ejemplo, una fase de lípidos en contacto con una fase acuosa. (ver fig. 4.4).

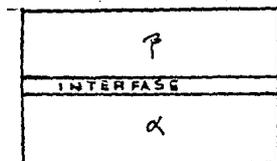


FIG. 4.4

En este sistema existe una región tridimensional en contacto entre las fases α y β en la que las moléculas de esta región interactúan con moléculas de ambas fases y que se conoce como interfase. Esta interfase es una región de transición entre las fases α y β teniendo propiedades que varían desde aquellas que son características de la fase α hasta aquellas que lo son de la fase β . El espesor de la interfase es del orden de angstroms y sus dimensiones dependen del tamaño de las moléculas y de la naturaleza de las fuerzas que interactúan. (en la figura el espesor de la interfase se encuentra exagerado).

Debido al cambio de las interacciones moleculares, las moléculas de la interfase tienen una energía molecular diferente de aquellas que se encuentran en cualquiera de las fases.

Un cambio en el área de la interfase entre α y β cambiará la energía interna del sistema (U). El aumentar el área de una interfase requiere realizar trabajo sobre el sistema (considerado como la interfase). Este aumento del área significa que hay menos moléculas en la fase líquida y más en la interfase. Por lo tanto se requiere hacer un trabajo positivo para aumentar el área de la interfase entre las dos fases α y β . Por esta razón los sistemas tienden a adoptar una configuración de mínima superficie.

TENSION INTERFACIAL

Considerando el mismo sistema antes mencionado constituido por las fases α y β . Si se denomina por "A" al área de la interfase de este sistema entonces el número de moléculas presentes en la interfase es proporcional a A, es decir

$$\boxed{\begin{array}{l} \# \text{ de moléculas} \\ \text{presentes en} \\ \text{la interfase} \end{array} \propto A}$$

Ahora bien, suponiendo que se realiza un proceso reversible que incrementa el área de la interfase (ver fig.4.5)



En este proceso el aumento del número de moléculas en la interfase es proporcional a dA y por tanto el trabajo necesario para incrementar el área interfacial es proporcional a dA , es decir

$$\boxed{\Delta \# \text{ de moléculas} \\ \text{en la interfase} \propto dA}$$

por lo tanto el trabajo reversible necesario para aumentar el área de la interfase es

$$\delta W_{\text{rev}} \propto dA$$

si se introduce una constante de proporcionalidad representada por $\gamma^{\alpha\beta}$ entonces el trabajo reversible que se necesita para aumentar el área de la interfase es

$$W_{\text{rev}} = \int \gamma^{\alpha\beta} dA \quad \dots (4.1)$$

En esta ecuación $\gamma^{\alpha\beta}$ es la tensión interfacial del sistema formado por las fases α y β . Cabe señalar que cuando una de las fases es un gas, por ejemplo el sistema líquido-aire, se usa generalmente el término de tensión superficial como sinónimo de tensión interfacial.

Reordenando la ecuación 4.1 se obtiene:

$$\gamma^{\alpha\beta} = \frac{dW_{\text{rev}}}{dA} \dots (4.2)$$

De acuerdo con esta ecuación, la tensión superficial es el trabajo reversible necesario para incrementar el área de la interfase, a temperatura y presión constantes. Si se sabe además que el trabajo útil que puede realizar un sistema, además del trabajo presión-volumen, es igual al cambio de energía libre de Gibbs (G)

$$W_{\text{rev}} = \Delta G$$

entonces la ecuación 4.2 puede escribirse como:

$$\gamma^{\alpha\beta} = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,P} \dots (4.3)$$

que es la definición de tensión superficial. Las unidades de $\gamma^{\alpha\beta}$ en el SI son N m^{-1} (ó J m^{-2}) y en el c.g.s. son dyna cm^{-1} (ó erg cm^{-2}).

INTERFASES CURVAS

Hasta ahora se ha considerado que la interfase que separa las fases α y β es plana, sin embargo cuando esta interfase es curva, la tensión superficial hace que las presiones de equilibrio en las fases α y β sean diferentes. Para ilustrar esta idea se considera el siguiente dispositivo, mostrado en la fig. 4.6:

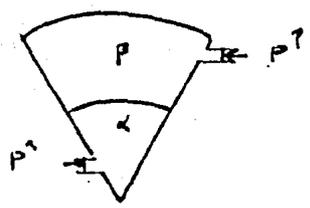


FIG 4.6

En este sistema, considerado como un segmento esférico, formado por las fases α y β, y separado por una interfase curva, el área de la interfase puede incrementarse si ocurre un desplazamiento de la misma hacia arriba. Para que ocurra este desplazamiento debe introducirse fase α por el émbolo inferior y permitir la salida de parte de la fase β por el superior. Puesto que incrementar el área de la interfase requiere realizar un trabajo, será necesaria una presión mayor para impulsar el émbolo inferior que para impulsar el superior. Como consecuencia de tener una interfase curva se presentará una diferencia de presiones a ambos lados de la interfase:

$$P^\alpha > P^\beta$$

Para obtener una ecuación que exprese esta diferencia de presiones se considerará la expresión de trabajo reversible necesario para aumentar el área de una interfase curva, esto es

$$dW_{rev} = - P^\alpha dV^\alpha - P^\beta dV^\beta + \int dA \dots (4.4)$$

En esta ecuación los términos $P^\alpha dV^\alpha$ y $P^\beta dV^\beta$ representan el trabajo mecánico presión-volumen realizado en las fases α y β respectivamente; V^α y V^β son los volúmenes de las fases α y β respectivamente. Para obtener la diferencia de presiones entre las dos fases se considerará además una modificación al dispositivo presentado en la figura 4.6

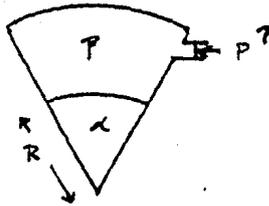


Fig. 4.7

En este esquema la interfase continua considerándose como un segmento esférico. Si el émbolo se empuja, de modo reversible, entonces el volumen del sistema, fases α , β e interfase, cambia en un término diferencial dV . Considerando que el trabajo realizado sobre el sistema es:

$$\delta W_{rev} = -P_{emb} dV \quad \dots \quad (4.5)$$

donde P_{emb} es la presión ejercida por el émbolo sobre el sistema y V es el volumen total del sistema, $V = V^{\alpha} + V^{\beta}$, considerando despreciable el volumen ocupado por la interfase. Si el sistema se encuentra en equilibrio entonces:

$$P_{emb} = P^{\beta}$$

sustituyendo esta igualdad en la ecuación 4.5 se obtiene

$$\begin{aligned} dW_{rev} &= -P^{\beta} dV \\ &= -P^{\beta} d(V^{\alpha} + V^{\beta}) \\ &= -P^{\beta} dV^{\alpha} - P^{\beta} dV^{\beta} \quad \dots \quad (4.6) \end{aligned}$$

igualando las ecuaciones 4.4 y 4.6 y simplificando términos:

$$\begin{aligned} -P^{\alpha} dV^{\alpha} - P^{\beta} dV^{\beta} + \gamma dA &= -P^{\beta} dV^{\alpha} - P^{\beta} dV^{\beta} \\ -P^{\alpha} dV^{\alpha} + \gamma dA &= -P^{\beta} dV^{\alpha} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 -P^\alpha dV^\alpha + P^\beta dV^\beta &= -\gamma^{\alpha\beta} dA \\
 P^\alpha dV^\alpha - P^\beta dV^\beta &= \gamma^{\alpha\beta} dA \\
 dV^\alpha (P^\alpha - P^\beta) &= \gamma^{\alpha\beta} dA \\
 P^\alpha - P^\beta &= \gamma^{\alpha\beta} \frac{dA}{dV^\alpha} \dots (4.7)
 \end{aligned}$$

Se logra llegar a una ecuación que relaciona la diferencia de presiones que se da entre las fases α y β .

Trabajando con esta misma ecuación, si se supone que R es la distancia desde el vértice del cono hasta la interfase entre α y β (fig4.7) y se considera que

$$\Omega = 4\pi$$

donde Ω es el ángulo sólido en el vértice del cono. Recordando que se ha considerado un segmento esférico, entonces el volumen y área de una esfera de radio R que constituye el volumen de α es respectivamente

$$V^\alpha = (4/3) \pi R^3 = \Omega R^3 / 3 \dots (4.8)$$

$$A = 4 \pi R^2 = \Omega R^2 \dots (4.9)$$

diferenciando estas dos ecuaciones se obtiene

$$dV^\alpha = \Omega R^2 dR \dots (4.8')$$

y

$$dA = 2\Omega R dR \dots (4.9')$$

sustituyendo estas expresiones en la ecuación 4.7

$$\begin{aligned}
 P^\alpha - P^\beta &= \int \frac{2\sigma R}{R^2} dR \\
 &= \frac{2\sigma}{R}
 \end{aligned}$$

$$P^\alpha - P^\beta = \frac{2\sigma}{R}$$

... (4.10)

Se obtiene la ecuación de Young-Laplace que expresa la diferencia de presiones que existe en un sistema constituido por dos fases α y β separadas por una interfase curva. En esta ecuación se aprecia que la presión en el interior de una fase con superficie convexa es mayor que la presión de la fase exterior.

MECANISMO DE ASCENSO DE UN LIQUIDO EN UN TUBO CAPILAR.

La ecuación de Young-Laplace es la base del método de ascenso de un líquido en un capilar para medir tensión superficial de interfases líquido aire. Esta ecuación es válida para calcular $\gamma^{\alpha\beta}$ porque las interfases en los capilares son curvas. De acuerdo con este método se introduce un tubo capilar en un líquido y la medida de la altura a la que asciende dentro del tubo permite calcular $\gamma^{\alpha\beta}$.

Considerando la situación inicial cuando se introduce el capilar en un recipiente con líquido β . En este caso el vapor del líquido o el aire constituyen la fase α .

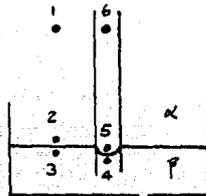


FIG. 4.8

De acuerdo con este esquema las presiones en los diferentes puntos cumplen :

$$P_1 = P_6$$

$$P_2 = P_5$$

$$P_2 = P_3$$

$$\Rightarrow P_5 = P_3$$

debido a que la interfase es curva
debe cumplirse:

$$P_4 < P_5 = P_3$$

entonces

$$P_4 < P_3$$

por lo tanto fluye líquido
de $P_3 \longrightarrow P_4$

ocasionando con ello el ascenso del
líquido dentro del capilar.

Cuando se alcanza el equilibrio se presenta la situación indicada en la figura 4.9

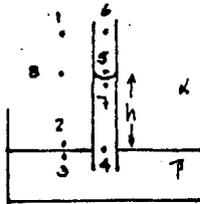


Fig. 4.9

En este caso la relación de presiones en los diferentes puntos es la siguiente:

$$P_1 = P_6$$

$$P_8 = P_5$$

$$P_3 = P_4$$

Como puede observarse las presiones en los puntos tres y cuatro son iguales debido a que se ha llegado al estado de equilibrio. De acuerdo con este esquema es válido considerar que

$$P_8 - P_3 = P_5 - P_4$$

por haber alcanzado el equilibrio

Los puntos dos y tres están separados por una interfase plana, por tanto

$$P_2 = P_3$$

por tanto se cumple

$$P_8 - P_2 = P_5 - P_4$$

si se suma y se resta P_7 del lado derecho de la igualdad se obtiene

$$P_8 - P_2 = P_5 - P_4 = (P_5 - P_7) + (P_7 - P_4) \dots (4.11)$$

Por otra parte si consideramos una columna de líquido la fuerza ejercida hacia abajo por esta columna es igual a su masa m multiplicada por la aceleración de la gravedad (g). De esta forma una columna de líquido de altura h , masa m , sección transversal A , volumen V y densidad ρ ejerce una presión, dada por

$$P = \text{FUERZA/AREA} = mg/A = \rho Vg/A = \rho Ahg/A = \rho gh \dots (4.12)$$

De acuerdo con esta última ecuación se considera que para las fases α y β se cumple

$$P_2 - P_8 = \rho_\alpha gh \dots (4.12a)$$

y

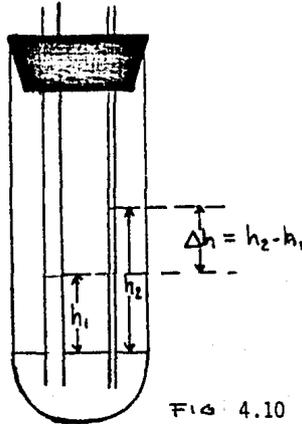
$$P_4 - P_7 = \rho_\beta gh \dots (4.12b)$$

donde ρ_α y ρ_β son las densidades de las fases α y β y h es el ascenso capilar. Debido a que en el interior del tubo capilar la interfase que se forma entre α y β es un segmento esférico es válido aplicar la ecuación de Young-Laplace para la diferencia de presiones que se da entre los puntos siete y cinco en el interior del capilar, por tanto

$$P_5 - P_7 = 2 \gamma^{\alpha\beta} / R \dots (4.13)$$

METODO DEL DOBLE CAPILAR PARA MEDIR TENSION SUPERFICIAL.

Un método alternativo para determinar γ , y que está basado en el mismo principio de ascenso en un capilar, es el de doble capilar. En este método dos tubos capilares de diferente radio interno, se introducen simultáneamente en el líquido de densidad conocida al cual se le desea determinar γ . La altura de líquido en cada capilar será inversamente proporcional a los radios de los capilares. De esta forma mediante la diferencia de alturas entre los dos capilares es posible calcular la tensión superficial del líquido estudiado.



Para establecer la ecuación que permite calcular la γ por este método se considera la ecuación 4.15. Al introducirse dos tubos capilares de radio interno r_1 y r_2 en un líquido de tensión superficial γ y densidad ρ , la altura de líquido será h_1 en el capilar de radio r_1 y h_2 en el de radio r_2 . Al aplicar la ecuación 4.15 a este sistema se tiene:

para el capilar uno

$$\gamma = 1/2 \rho g h_1 r_1 \quad \text{o bien} \quad h_1 = 2\gamma / \rho g r_1$$

para el capilar dos

$$\gamma = 1/2 \rho g h_2 r_2 \quad \text{o bien} \quad h_2 = 2\gamma / \rho g r_2$$

$$\text{si } r_1 > r_2 \Rightarrow h_1 < h_2$$

por lo tanto

$$\Delta h = h_2 - h_1 = \frac{2\gamma'}{\rho g r_2} - \frac{2\gamma'}{\rho g r_1}$$

$$\Delta h = \frac{2\gamma'}{\rho g} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right)$$

reordenando esta ecuación

$$\frac{2\gamma'}{\rho g} = \Delta h \left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_1} \right)^{-1}$$

o bien

$$\gamma' = \pm \Delta h \rho g \left(\frac{r_2 r_1}{r_1 - r_2} \right) \dots (4.16)$$

Que es una ecuación aplicable si $\theta \approx 0^\circ$ y la densidad del aire es despreciable respecto a la del líquido. Con esta ecuación es posible determinar la γ' de un líquido midiendo la diferencia de altura que se da entre los dos capilares si se conoce el resto de los parámetros considerados en la ecuación. La medición de los radios de los capilares puede evitarse si se considera que el término

$$\frac{g}{2} \left(\frac{r_2 r_1}{r_1 - r_2} \right) = K$$

es igual a una constante característica del aparato y que puede evaluarse con un líquido de referencia de γ' y ρ conocidas midiendo la diferencia de altura que se da entre ambos capilares; esto es:

$$\gamma = \frac{1}{2} \Delta h \rho g \left(\frac{r_2 r_1}{r_1 - r_2} \right)$$

$$\gamma = K \rho \Delta h \quad \text{o bien}$$

$$K = \frac{\gamma}{\rho \Delta h} \quad \dots \quad (4.17)$$

La constante así obtenida es propia del aparato y puede emplearse para la determinación de la tensión superficial de otros líquidos.

ISOTERMA DE ADSORCIÓN DE GIBBS.

Se ha propuesto que los tensoactivos son compuestos que tienden a concentrarse o adsorberse en la región de la interfase y de esta manera pueden modificar la tensión superficial de un sistema. La relación entre la cantidad de tensoactivo adsorbido en la interfase con el cambio de la tensión superficial del sistema está dada por la Isoterma de Adsorción de Gibbs, la cual se expresa como:

$$\Gamma_i = - 1/RT \left(\frac{\partial \gamma_i}{\partial \ln C_i} \right) \quad \dots \quad (4.18)$$

donde

Γ_i = exceso del componente i en la interfase y está dado en mol/ cm². Esta cantidad se aplica generalmente para la cantidad de tensoactivo en la superficie.

γ_i = tensión superficial (dina/cm) de la solución cuando se tiene una concentración C_i de tensoactivo.

R = constante universal de los gases.
(dada en erg mol⁻¹ K⁻¹)

T = temperatura absoluta.

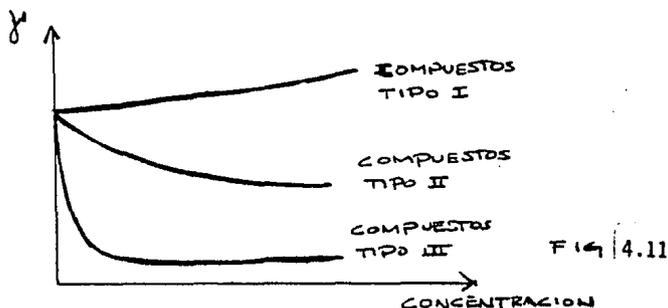
La cantidad Γ_i se define como

$$\Gamma_i = n_i / A$$

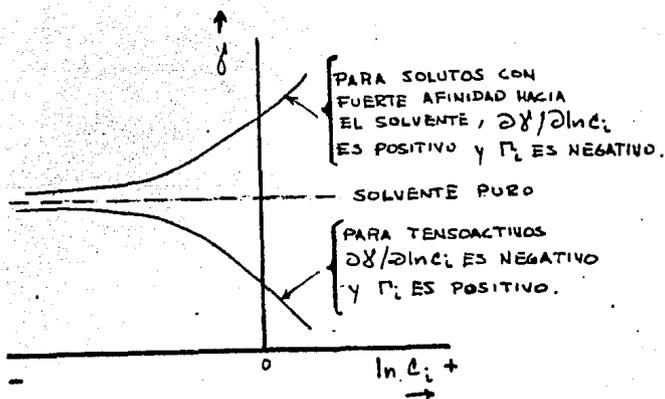
donde A es el área de la interfase y n_i es la cantidad, en moles, del componente i que está en exceso en la interfase respecto a la cantidad del mismo componente presente en el cuerpo de la solución.

La implicación de esta ecuación es la siguiente: si el tensoactivo tiende a acumularse en la interfase su exceso superficial Γ_i es positivo, por lo que el término $\partial \gamma_i / \partial \ln C$ debe ser negativo. Esto indica que la tensión superficial disminuye cuando se incrementa la concentración de tensoactivo (ver fig 4.11). Por otra parte los solutos que tienen gran afinidad por el disolvente tienden a alejarse de la interfase y a concentrarse en el cuerpo de la solución; en estos siste-

mas el exceso de soluto en la superficie Γ_i es negativo y por tanto $\partial\gamma/\partial \ln C$ es positivo indicando con ello que la tensión superficial aumenta al aumentar la concentración del soluto en la solución. (ver fig. 4.12)



Para calcular Γ_i se deben hacer mediciones de tensión superficial de una serie de soluciones con diferente concentración de soluto. Posteriormente se construye una gráfica de γ vs. $\ln C_i$, como se muestra en la figura 4.12. La pendiente de esta gráfica a una concentración dada es $\partial\gamma/\partial \ln C_i$.



MEDICION DE TENSION INTERFACIAL EMPLEANDO EL ESTALAGMOMETRO.

El uso del estalagmómetro se basa en la formación de gotas de líquido en la punta de un tubo capilar y de la medición de su peso o de su volumen. Al formarse la gota de líquido en el extremo del capilar, esta caerá cuando su peso sea mayor que la tensión superficial que mantiene la gota adherida a la punta del capilar. Por estudios realizados por Tate (1864) se sabe que el peso de la gota que cae de la punta del capilar es proporcional a la tensión superficial del líquido y al radio del capilar.

Una ecuación que relaciona el peso de una gota con la tensión superficial es conocida como la ley de Tate y se expresa como:

$$W = 2\pi r \gamma \dots \dots (4.19)$$

donde :

W = peso de la gota

r = radio del capilar

γ = tensión superficial del líquido

El estalagmómetro es un instrumento que sirve para formar y determinar el peso de una gota. Mediante el uso de este aparato se cuenta el número de gotas, N , en que se drena un volumen, V , de líquido de densidad ρ . Si se considera que el peso de cada gota tiene un valor medio:

$$W = mg/N$$

donde

m = masa de la gota

g = constante de gravedad

y conociendo además que $m = \rho V$, entonces el peso medio de una gota está dado por la ecuación

$$W = \rho Vg/N \dots \dots (4.20)$$

donde N es el número de gotas en que se resuelve un volumen V de líquido de densidad ρ . Igualando esta última ecuación con la ecuación de Tate se obtiene

$$2\pi r\gamma = V\rho g/N$$

$$\gamma = V\rho g/2N\pi r \dots \dots \dots (4.21)$$

que es una expresión que permite calcular γ siempre y cuando los demás parámetros de la ecuación sean conocidos.

Una ecuación alternativa que permite calcular γ de un líquido se obtiene aplicando la ecuación 4.21 a otro líquido, considerando como de referencia, de γ y ρ conocidas; conociendo además el número de gotas que drenan el mismo volumen V del líquido al que se le determina la tensión superficial. Aplicando la ecuación 4.21 a dos líquidos de γ , ρ y N diferentes se tiene:

$$2\pi r\gamma_1 = V\rho_1 g/N_1$$

$$2\pi r\gamma_2 = V\rho_2 g/N_2$$

Considerando que se ocupa el mismo estalagmómetro para los dos líquidos es válido dividir ambas ecuaciones

$$2\pi r\gamma_1/2\pi r\gamma_2 = \frac{V\rho_1 g/N_1}{V\rho_2 g/N_2}$$

simplificando esta ecuación

$$\gamma_1 / \gamma_2 = V\rho_1 gN_2 / V\rho_2 gN_1 = \rho_1 N_2 / \rho_2 N_1$$

o bien

$$\gamma_1 N_1 / \rho_1 = \gamma_2 N_2 / \rho_2 = K \dots \dots \dots (4.22)$$

donde

γ_1 , ρ_1 y N_1 son la tensión superficial, densidad y número de gotas respectivamente, del líquido considerado como de referencia.

ρ_1 y N_2 se refieren a la densidad y número de gotas del líquido de tensión superficial (o interfacial) desconocida..

De esta manera haciendo uso del estalagmómetro y empleando un líquido de referencia es posible determinar la tensión superficial (o interfacial) de otro líquido aplicando la ecuación 4.22.

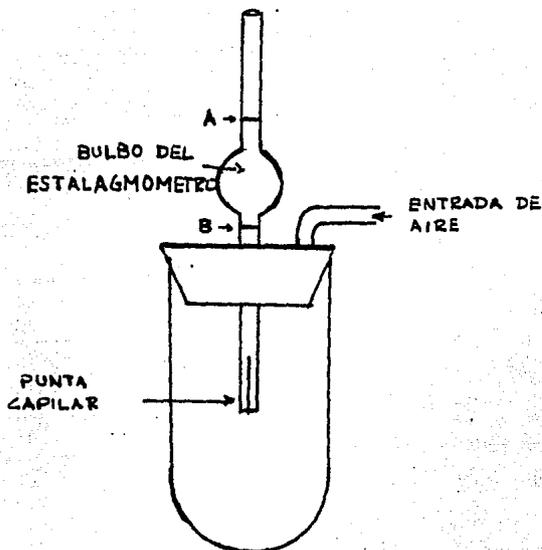


FIG. 4.13

DETERMINACION DE LA TENSION SUPERFICIAL DE SOLUCIONES DE ETANOL
Y PENICILINA POR EL METODO DE DOBLE CAPILAR.

OBJETIVO

En esta práctica se determinará el efecto del etanol y la penicilina sobre la tensión superficial del agua. Los resultados obtenidos se interpretarán de acuerdo a la ecuación de adsorción de Gibbs.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.-Defina tensión superficial e indique en que unidades se puede expresar..
- 2.-Mencione una clasificación de los métodos para medir tensión superficial y explique alguno de los metodos señalados.
- 3.-¿Cuál es el principio en que se basa el método de ascenso del capilar para medir tensión superficial?
- 4.-¿Qué es un surfactante y con que otros nombres se le conoce?
- 5.-Diga en que forma se modifica la tensión superficial del agua en una solución que contenga etanol y otra que contenga penicilina.
- 6.-Mencione algunos surfactantes que tengan aplicación en los campos de alimentos, farmacia o bioquímica.

MATERIAL Y EQUIPO

- 2 tubos capilares de diferente diámetro.
- 1 tubo de ensayo de 22 x 175.
- 1 tapón de hule.
- 1 trozo de manguera de hule.
- 1 bureta con pinzas y soporte. (para preparación de las disoluciones)
- 5 matraces volumétricos de 100 ml.
- 6 vasos de precipitados de 100 ml.
- 1 picnómetro.
- 1 termómetro.

REACTIVOS

Soluciones de etanol de 4.80, 12.0, 24.0, 48.0 y 73.0% (v/v).

1 frasco ampula de penicilina G sódica cristalizada de 5×10^6 U (SOLUCION INYECTABLE).

benceno R.A.

PREPARACION DE SOLUCIONES

a) Soluciones de etanol.- En cinco matraces volumétricos se depositan 5, 12.5, 25, 50 y 75 ml de etanol del 96 % (v/v). Se aforan con agua destilada. Las soluciones así preparadas tienen una concentración de 4.8, 12, 24, 48 y 73 % (v/v). La densidad de cada solución se determina con un picnómetro

b) Soluciones de penicilina.- Se emplea un frasco vial de penicilina G sódica liofilizada con actividad de 5×10^6 U. Del frasco ampula que contiene 10 ml de solución se hacen cuatro diluciones volumen a volumen en partes iguales (1:2) con agua destilada, de manera que se tengan cuatro soluciones de 2.5×10^6 , 1.25×10^6 , 0.625×10^6 y 0.313×10^6 U. La densidad de cada solución se determina con un picnómetro.

TECNICA EXPERIMENTAL

Para hacer uso del aparato de doble capilar se procede de la siguiente manera:

Determinación de la constante del aparato.- Cada sistema de doble capilar tiene una constante propia, que depende de los radios internos de los capilares y de la constante de gravedad. Para determinar la constante del aparato se mide la diferencia de alturas que se presenta al introducir los capilares en un líquido de referencia de tensión superficial y densidad conocidas a la temperatura de trabajo. En este caso este líquido es benceno. La ecuación que permite el cálculo de la constante es la siguiente:

$$K = \left(\frac{r_1}{r_2} \right) \frac{\rho}{\Delta h} \quad [\text{cm}^2 \text{seg}^2] \quad \dots \quad (4.17)$$

Las unidades de la constante son $\text{cm}^2 \text{seg}^{-2}$ siempre que la tensión su-

perforial se exprese en dina cm^{-1} , la densidad en g cm^{-3} y la diferencia de altura entre los capilares en cm. La constante así obtenida es propia del aparato y puede emplearse para determinar la tensión superficial de otros líquidos.

Medición de γ .- Para medir γ con este aparato se introducen los capilares en el líquido estudiado y se determina la diferencia de alturas (Δh) que se obtiene entre ambos tubos (ver Fig.4.10). La ecuación 4.17 empleada para calcular γ es:

$$\gamma = \Delta h_i \rho_i K$$

Se medirá la tensión superficial del agua destilada, de las soluciones de etanol de concentración 4.8, 12, 24, 48, 73 y 96 % (v/v) y de las soluciones de penicilina de 5×10^6 , 2.5×10^6 , 1.25×10^6 , 0.625×10^6 y 0.313×10^6 U. Esta medición se hará cinco veces para cada una de las soluciones y se harán los cálculos con el valor promedio obtenido en cada caso.

INFORME :

- 1.- Indicar el cálculo de la constante del aparato.
- 2.- Llenar una tabla como la siguiente con cada serie de soluciones de etanol y de penicilina.

# de solución	[etanol] % (v/v) o U de penicilina	Δh medidas (cm)	$\bar{\Delta h}$ promedio (cm)	ρ (g/cm^3)	γ (dina/cm)

Indicar en esta tabla los valores obtenidos para el agua destilada y para el benceno a la temperatura de trabajo.

- 3.- Construir las gráficas de γ vs. [etanol] y γ vs. U de penicilina.
- 4.- Construir las gráficas de γ vs. \ln [etanol] y γ vs. \ln U de penicilina.
- 5.- Determinar Γ_i para cada una de las soluciones de las series de etanol y penicilina. Recopilar los resultados en una tabla como la siguiente:

[etanol]% (v/v) ó U de penicilina	γ (dina/cm)	π (mol/cm ⁻²)

5.- Análisis de resultados comparando ambos sistemas. Conclusiones.

DETERMINACION DE LA TENSION INTERFACIAL DEL SISTEMA AGUA - ACEITE DE CARTAMO. EMPLEANDO EL ESTALAGMOMETRO.

OBJETIVO

Se estudiará el efecto del dodecil sulfato de sodio (SDS) sobre la tensión interfacial del sistema agua-aceite de cártamo. Estas determinaciones se harán empleando el estalagmómetro.

CUESTIONARIO DE PRELABORATORIO

- 1.- ¿ Qué diferencia existe entre la tensión superficial y la tensión interfacial ?
- 2.- ¿ Qué diferencia existe entre los conceptos de intercara e interfase?
- 3.- ¿Cuál es la ecuación fundamental en que se basa el uso del estalagmómetro?
- 4.- ¿ Indique la fórmula del SDS y diga si espera un aumento o una disminución de la tensión interfacial al adicionarlo a un sistema agua-aceite.
- 5.- ¿ Qué importancia tiene modificar la tensión interfacial de un sistema? Indique un ejemplo.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1 estalagmómetro.
- 2 vasos de precipitados de 100 ml.
- 8 matraces volumétricos de 100 ml.
- 1 pipeta graduada de 10 ml.
- 1 picnómetro.
- 1 agitador de vidrio.

REACTIVOS

- 250 ml de aceite de cártamo comercial.
- 100 ml de solución de SDS 0.1 M

PREPARACION DE SOLUCIONES

a) Soluciones de SDS.- Se preparan 100 ml de solución de SDS 0.1 M disolviendo, en vasos de precipitados de 100 ml, 2.88 g de SDS en aproximadamente 75 ml de agua destilada. Una vez disuelto se transvasa a un matraz volumétrico de 100 ml, evitando en lo posible hacer espuma, y se afora con agua destilada. A continuación se preparan soluciones de SDS 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 10 mM. Estas soluciones se preparan depositando en matraces volumétricos de 100 ml, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 10 ml respectivamente, de la solución de SDS 0.1 M y se afora con agua destilada.

TECNICA EXPERIMENTAL

Cada estalagmómetro tiene una constante K propia que depende del radio del capilar, del volumen empleado y de la constante de gravedad. Para determinar la constante del estalagmómetro se emplea el sistema agua-aire como sistema de referencia. Para ello se llena el bulbo del estalagmómetro con un volumen determinado de agua destilada y se hace gotear lentamente, regulando el flujo a 1 gota/ 5 segundos aproximadamente. (ver fig.4.13) Se cuenta el número de gotas, N_{H_2O} , que drenan este volumen, estimando fracciones de gota. Con este valor y con los datos de tensión superficial γ_{H_2O} , y densidad ρ_{H_2O} , del agua a la temperatura de trabajo se calcula la constante K con la ecuación 4.17

$$K = \gamma_{H_2O} N_{H_2O} / \rho_{H_2O}$$

La determinación del número de gotas se hace un mínimo de cinco veces y se trabaja con el promedio de estos valores.

A continuación se determina la tensión interfacial entre cada una de las soluciones de SDS y aceite de cártamo. Para hacer estas determinaciones se llena el bulbo del estalagmómetro con cada una de las soluciones de SDS y se hacen gotear, regulando el flujo de salida a 1 gota/5 seg., en el interior del aceite de cártamo que está contenido en un tubo de vidrio que sirve como receptor (ver fig.4.13). Se cuenta el número de gotas, N, que drenan el mismo volumen que se empleó para el cálculo de la constante K.

Esta operación se repite cinco veces para cada una de las soluciones de SDS y para el agua destilada.

El cálculo de la tensión interfacial se realiza con la ecuación

$$\gamma = K \rho / N$$

donde

K = constante del estalagmómetro.

N = número de gotas de solución de SDS.

$\rho = \frac{\rho_{\text{H}_2\text{O}} - \rho_{\text{ACEITE}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}}$ = densidad efectiva de la solución de SDS en el interior del aceite.

INFORME

- 1.- Indicar el cálculo de la constante del estalagmómetro.
- 2.- Completar una tabla como la siguiente:

Conc. de la solución de SDS goteada en el aceite [SDS] mM	ρ (g/cm ³)	# de gotas de SDS en aceite (N _{SDS})	# promedio de gotas de SDS en aceite (N _{SDS})	γ (dina/cm)

Incluir en esta tabla los valores obtenidos para el agua destilada. Indicar los valores de la densidad del aceite y del agua a la temperatura de trabajo.

- 3.- Construir la gráfica de γ vs. [SDS].
- 4.- Hacer observaciones sobre el tamaño y la forma de las gotas de las diferentes soluciones.

5.-¿ Por qué es necesario hacer la corrección de la densidad en el cálculo de la tensión interfacial ?

6.- Análisis de resultados y conclusiones.

COMENTARIOS

Los experimentos que se han presentado no se encuentran restringidos a lo mostrado en este trabajo, sino que se puede seguir trabajando sobre ellos. La reacción de oxidación de vitamina C es una reacción en la que pueden estudiarse otros efectos adicionales como son los de presencia de catalizadores y efecto de la constante dieléctrica sobre la velocidad de reacción. Además del aspecto cinético de esta reacción, considero que es posible estudiar aspectos electroquímicos tales como la modificación del potencial normal con el pH del medio.

En la reacción de hidrólisis de almidón con α -amilasa se estudiarán tan solo tres parámetros que afectan la velocidad de una reacción enzimática (concentración de sustrato, concentración de enzima y temperatura), pero con el mismo sistema pueden estudiarse otros aspectos tales como temperatura óptima, pH óptimo, efecto de diversos iones, etc.

El experimento de efecto electroviscoso puede relacionarse con la determinación del punto isoeléctrico de compuestos macromoleculares, por ejemplo de proteínas y ácidos nucleicos.

En el ciclo de Fisicoquímica de superficies los experimentos que emplean los sistemas de doble capilar y estalagmómetro para determinar tensión superficial y tensión interfacial, respectivamente, también pueden usarse para medir estas tensiones en otros compuestos de interés biológico, diferentes a los estudiados en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

I.- CINETICA QUIMICA

- 1.- AGRAWAL, M.C. and MUSHRAN, S.P., Oxidation of thioacetamide by alkaline hexacyanoferrate (III). *J of Phys. Chem.* 72 (5) 1968.
- 2.- ATKINS, P.W. *Fisicoquímica*. 2a edición México 1985. Fondo Educativo Interamericano.
- 3.- CATELLAN, G.W. *Fisicoquímica*. Bogotá 1974. Fondo Educativo Interamericano.
- 4.- CHARLOT, G. L' *Analyse Qualitative et les réactions en solution*. Quatrième édition. Paris 1957. Masson et C^{ie} edituers.
- 5.- GORDON, M.H., *Cinética Química*. Barcelona 1973. Editorial Reverté, S.A.
- 6.- GUERASIMOV, Y. *Curso de Química Física*. Moscú 1977, 2a edición. Editorial Mir.
- 7.- MARON, S.H. y LANDO, J.B., *Fisicoquímica Fundamental*. México 1978. Editorial Limusa.
- 8.- MEHROTRA, U.S., AGRAWAL, M.C. and MUSHRAN, S.P. Kinetics of the reduction of hexacyanoferrate (III) by ascorbic acid. *J. of Phys. Chem.* 73 (6) 1969.
- 9.- SKOOG, D y WEST, D. *Introducción a la química analítica*. Barcelona 1978. Editorial reverté.
- 10.- TINOCO, I. *Fisicoquímica, Principios y aplicaciones en las ciencias biológicas*. Editorial Prentice Hall. Londres 1980.
- 11.- WATKINS, K.W. and OLSON, J. Ionic strength effect on the rate of reduction of hexacyanoferrate (III) by ascorbic acid. *J. of Chem. Ed.* 57 (2) 1980.

II.- CINETICA ENZIMATICA

- 1.- ARONSON, J.N., Relationship of the Michaelis constant and initial velocities. *Biochem. Ed.* 11(1) 1983.

- 2.- BOYER. The enzymes. Vol. 5 3th edition.
- 3.- DOUGLAS,G.C., Selected exercises for the biochemistry laboratory N.Y., 1983. Oxford University Press.
- 4.- GRADWOHL'S. Clinical laboratory methods and diagnosis. Vol I 7 th edition 1970. St. Louis. The C.V. Mosby Company.
- 5.- JOLLY,W.L., Encounters in experimental chemistry. 2nd edition 1985, San Diego. Harcourt Brace Jovanovich.
- 6.- LEHNINGER,A.L., Biochemistry. 2nd edition 1970.N.Y., Worth publisher,Inc.
- 7.- PYE,E.K., WINGARD,L.B., Enzyme engineering. Vol. 2. 1974, N.Y., Plenum Press.
- 8.- SIDNEY,P. colowick . Methods in enzimology. Vol. I.,N.Y. 1955, Academic Press Inc.
- 9.- TIETZ,N.W., Fundamentals of clinical chemistry. 2nd edition 1982. Philadelphia. W.B.,Saunders Company.
- 10.- TINOCO,I., Physical Chemistry. Principles and aplications in biological sciences. New Jersey 1978. Prentice Hall Inc.
- 11.- WALLWORK,S.C., Physical chemistry for students of pharmacy and biology. 3th edition 1977 London. Longman.

III.- FISICOQUIMICA DE COLOIDES.

- 1.- BENSON,J.E. Viscometric determination of the isoelectric point of a protein. J of Chem. Ed. 40(9) 1963.
- 2.- BEST y TAYLOR. Bases fisiológicas de Ta práctica médica. 10a edición Bogotá 1983. Editorial panamericana.
- 3.- BOLETIN de información técnica del Conacyt F 76 1499.
- 4.- COLLYER,A.A. Time independent fluids. Physical education Vol.8 pag 333.
- 5.- DAVIDSOHN,I.,HENRY,J.B., Diagnóstico clínico por el laboratorio. Barcelona 6a edición. Salvat editores,S.A.
- 6.- JIRGENSONS,B.,STRAUMANIS.M.E., Compendio de Quí mica coloidal. traducción de la segunda edición en inglés 1965. Compañía editorial continental,S.A. México.

- 7.- LEVINE, I.R., Físicoquímica. 1a edición. Bogotá 1981. Mc Graw Hill latinoamericana, S.A.
- 8.- REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES. Mack publishing Co. Easton Pennsylvania. 16 th edition 1980.
- 9.- TORTORA, G.J. y ANAGNOSTAKOS, N.P. Principios de anatomía y fisiología. Harla, México 1977.
- 10.- WARD, T.C. Molecular Weight and molecular weight distributions in synthetic polymers. J. of Chem. Ed. 58(11) 1981.

IV.- FÍSICOQUÍMICA DE SUPERFICIES

- 1.- ADAM, N.K., The Physics and chemistry of surfaces. 3th edition, N.Y. 1968. Dover publications Inc.
- 2.- ADAMSON, A.W. Physical chemistry of surfaces. 4th edition, N.Y. 1982 John Wiley & Sons.
- 3.- BIKERMANN, J.J., Surface chemistry theory and applications. 2nd edition. N.Y., 1958. Academic Press Inc.
- 4.- CASTELAN, G.W., Físicoquímica 2a edición. Bogotá 1974. Fondo educativo interamericano.
- 5.- FENNEMA, O.R., Principles of food science. Part I food chemistry. Marcel Dekker, Inc. N.Y., 1976.
- 6.- HARKINS, W.D., The Physical chemistry of surface films. N.Y., 1952 Reinhold publishing corporation.
- 7.- JIMENEZ VARGAS, J., Físicoquímica fisiológica. 5a edición. España 1979. Editorial interamericana.
- 8.- LEHNINGER, A.L., Biochemistry. 2nd edition, N.Y., 1975. Worth Publisher Inc.
- 9.- LEVINE, I.R., Físicoquímica. 1a edición. Bogotá 1981. Mc. Graw-Hill latinoamericana, S.A.
- 10.- MARON, S.H., Físicoquímica Fundamental. México 1978. Editorial Limusa.
- 11.- RABOCKAL, T., Físico-Química de superficies. Secretaria-Geral da Organização dos Estados Americanos Washington, D.C. 1979. Serie de Química, monografía # 20.

- 12.- REMINGTON'S. Pharmaceutical sciences. 16th edition. Easton Pennsylvania 1980.
- 13.- SHAW,D.J., Introduction to collo'id and surface chemistry. 2nd edition, London 1970.
- 14.- TINOCO,I., Fisicoquímica, principios y aplicaciones en las ciencias biológicas. Colombia 1980. Prentice-Hall,Inc.
- 15.- WALLWORK,S.C.,Physical chemistry for students of pharmacy and biology. 3th edition. N.Y., 1977. Longman group.