

97
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGIA

CARACTERIZACION DEL METALOCROMICO ZINCON
(ACIDO 2-CARBOXI-2'-HIDROXI-5'-SULFOFORMAZILBENCENO)
Y SU USO EN SISTEMAS BIOLOGICOS

Tesis que para obtener el título de Bióloga presenta

ELENA MARIA HILARIO ANDRADE

México, D.F.

1990

FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE

	Página
RESUMEN	1
ABREVIATURAS	11
CAPITULO 1 GENERALIDADES	
1.1 Importancia del Zinc en Biología	1
1.1.1 Clasificación de los metales	5
1.2 Métodos analíticos para cuantificar Zinc	6
1.3 Indicadores metalocrómicos	
1.3.1 Definición	12
1.3.2 Formación del complejo indicador metalocrómico-metal	12
1.3.3 Cambios de color debido a la formación del complejo	13
1.3.4 Características biológicamente útiles de los metalocrómicos	14
1.3.5 Indicadores metalocrómicos utilizados en Química Analítica y Biología	17
1.3.6 Estudios sobre el metalocrómico Zincon	18
1.4 Objetivo	21
CAPITULO 2 MATERIALES Y METODOS	
2.1 Preparación de soluciones	
2.1.1 Soluciones del metalocrómico Zincon	23
2.1.2 Soluciones amortiguadoras, de agentes quelantes y iones metálicos	23
2.2 Obtención de las constantes de asociación, disociación y coeficiente de extinción molar	24
2.2.1 Principios de espectrofotometría	25
2.2.2 Espectrofotometría de doble haz luminoso	26
2.3 Partición en solventes orgánicos	29
2.4 Preparación de membranas modelo (liposomas)	31
2.5 Preparación de membranas biológicas	
2.5.1 Mitocondrias de corazón de res	32
2.5.2 <u>Saccharomyces cerevisiae</u>	32
2.5.3 <u>Rhodospirillum rubrum</u> : células y cromatóforos	33
2.5.4 Cuantificación de proteína y bacterioclorofila	33
2.5.5 Interacción con membranas biológicas	34
2.6 Incorporación de Zn^{2+} en cromatóforos de <u>Rg. rubrum</u> y dializados contra Zincon	34
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSION	
3.1 Espectros diferenciales de los complejos metal-Zincon	38
3.2 Curvas de pH para Zincon, Zn-Zincon y Cu-Zincon con diferentes amortiguadores	48
3.3 Reversibilidad de los complejos Zn-Zincon y Cu-Zincon	52
3.4 Reparto en solventes orgánicos	56
3.5 Interacción con membranas modelo	59
3.6 Interacción con membranas biológicas	62
3.7 Incorporación de Zn^{2+} a cromatóforos	62
CONCLUSIONES	68
REFERENCIAS	71

RESUMEN:

En este trabajo se reporta la caracterización detallada del metalocromico Zincon. El Zincon forma complejo con Zn^{2+} , Cu^{2+} y Hg^{2+} , produciendo cambios de color detectables por espectrofotometría; los complejos que forma con Fe^{2+} , Mn^{2+} y Ca^{2+} también son detectables por espectrofotometría ya que producen una disminución en la absorbancia de las soluciones de Zincon. El Mg^{2+} no interactúa con el Zincon, ni cambia sus características espectroscópicas.

La presencia de Ca^{2+} y Mg^{2+} no interfieren con las características espectrales del complejo Zn-Zincon. Se determinaron las constantes de disociación, asociación y los diferentes complejos que forma el Zincon. Los valores de $\Delta\epsilon$ son muy grandes, en el orden de 6 a $49 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, por lo que este método espectrofotométrico es muy sensible.

El complejo Zn-Zincon es completamente reversible, mientras que el complejo Cu-Zincon lo es parcialmente. El Zincon libre y los complejos Zn-Zincon y Cu-Zincon no se reparten a solventes orgánicos; el Zincon no atraviesa la membrana de liposomas ni interacciona con membranas biológicas.

Es posible utilizar el Zincon para medir la velocidad de salida de Zn^{2+} al dializar muestras biológicas.

Todas estas características hacen del metalocromico Zincon un reactivo muy útil en el estudio de sistemas biológicos.

ABREVIATURAS

Am _{max}	longitud de onda de absorbandia maxima
BCI	bacterioclorofila
CAPS	ácido (3-(ciclohexilamino)-1- propano sulfónico
CHES	ácido (2-(N-ciclohexilamino)-etanosulfónico
conc.	concentración
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
EGTA	ácido etilenglicol-bis(β-aminoetiléter) N, N, N', N'- tetraacético
g	fuerza de la gravedad 9.8 m s ⁻²
MES	ácido (2-(N-Morfolino)etanosulfónico
MOPS	ácido (3-(N-Morfolino)propanosulfónico
nm	nanómetros
NTA	ácido nitrilotriacético
p.e.	punto de ebullición
p.f.	punto de fusión
p.i.	punto isobéptico
FIPES	(ácido (Piperazin-N,N'-bis(2-etanosulfónico)); ácido 1,4- Piperazinedietanosulfónico))
PM	peso molecular
prot	Proteína
rpm	revoluciones por minuto
TRIS	hidroximetilaminometano
Triton X-100	Octil fenoxi polietoxietanol
\bar{v}	velocidad promedio de salida de Zn ²⁺
vol.	volumen
Zincon	ácido 2-carboxi-2'hidoxi-5' sulfoformazilbenceno

CAPITULO 1 GENERALIDADES

1.1 Importancia del Zinc en Biología.

La importancia de los metales en los procesos biológicos ha crecido desde hace pocas horas, sin embargo, los estudios específicos sobre su participación son recientes (Korivica, 1989). Dichos estudios han avanzado a la par de los métodos analíticos para su detección. En la clasificación del Zinc como elemento trace, basada en la concentración en las bebidas, no resulta adecuada, ya que en los últimos métodos analíticos se han detectado en la mayoría de muestras de la vida que se consume. Estos descubrimientos han inspirado a un interés en diferentes áreas de la biología, medicina y química.

La función biológica del Zinc y otros metales se puede determinar en base a las propiedades biológicas, como se muestra en la siguiente figura:

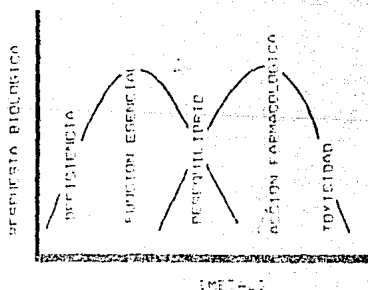


Fig. 1.1. Especificidad biológica y toxicidad de un metal. (Tomado de Valler y Salze, 1977)

Se pueden distinguir varias etapas evolutivas en los estudios sobre la importancia del zinc en los procesos biológicos.

El tipo de células microbianas que producen la actividad catalítica en el metabolismo primario y diferenciación de los organelos citoplasmáticos.

El metabolismo, como el metabolismo de los azúcares, proteínas, lípidos, etc., se realiza en la función catalítica y es esencial para el metabolismo (1950). Una de las características de la actividad catalítica es que, cuando se trata de la actividad de actividad entre el catalizador y el sustrato, se puede dar un tipo de interacción entre el catalizador y los productos metabólicos. En las enzimas, el catalizador, formado unido a la enzima, que es posible pensar que el catalizador de la enzima es la enzima misma. El catalizador no puede ser el sustrato, sino la actividad catalítica es una actividad que puede ser el catalizador (Hess, 1950).

Las características de las enzimas catalíticas se comparan con las de las enzimas que se obtienen de las propiedades. El tipo catalítico de las enzimas que se obtiene de las propiedades disponibles para la actividad catalítica de las enzimas, en particular, el tipo catalítico que se obtiene de las enzimas que se obtienen de las propiedades catalíticas que se obtienen de las enzimas (Hess, 1950).

El tipo catalítico, como el catalítico, es el tipo catalítico de las enzimas que se obtienen de las propiedades catalíticas que se obtienen de las enzimas (Hess, 1950). Después de las características de las enzimas que se obtienen de las propiedades catalíticas que se obtienen de las enzimas (Hess, 1950).

que se han desarrollado los métodos de análisis genético de los genes de este tipo, como el uso de sondas de ADN y el análisis de secuencia directa, para estudiar variaciones naturales o inducidas por el medio ambiente en el tipo de expresión de los genes (Vallée y Sidler, 1980). En la etapa actual, los análisis genéticos que se pretenden con los transcritos genéticos más pueden estar enfocados (Vallée, 1980).

El estudio de la importancia de la regulación génica, por medio de la identificación de los genes que se transcriben en genes, en animales se logra de diferentes transcritos en forma de clones de ADN (Sera y Hallsberg, 1980) (Hug y Hallsberg, 1987).

En 1984, Vallée y Sidler (1984) han clasificado a los genes transcritos en diferentes organismos y conductas de actividades. Algunos de los más abundantes se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Metaloenzimas con Zinc

Nombre	Núm.	Fuente	Función
Clase I OXIDOREDUCTASAS			
Alcoholes deshidrogenasa	11	animales, plantas	A, B
Oxidación de azúcares	17	animales, plantas, hongos y bacterias	B
Clase II TRANSFERASAS			
Aspartato aminotransferasa	11	animales, plantas	B
Ala por deasa	9	animales, plantas	A
Ala aminasa	7	animales, E. coli, faga T4	A
Aspartato aminotransferasa	9	animales, plantas	A
Clase III HIDROLASAS			
Fosfatasa alcalina	11	animales, bacterias	A, B
Aminopetidasa	17	animales, hongos, bacterias	A, B
Carboxipeptidasa A	9	animales, plantas	A
Carboxipeptidasa B	9	animales, bacterias	A
Colagenasa	9	animales, bacterias	A

función de los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} en la actividad enzimática.

Sir Facilitan el transporte de iones a través de la membrana celular.

Clase IV LIASAS

Formación de enlaces covalentes

Aspartato aminotransferasa	2	Enzimología, Bioquímica	2
Glucosa 6-fosforilasa	20	Enzimología, Bioquímica	20
Glucosa 6-fosforilasa	10	Enzimología, Bioquímica	10

Clase V ISOMERASAS

Formación de enlaces covalentes

Clase VI LIASAS

ATP sintetasa	2	Enzimología, Bioquímica	2
ATP sintetasa	2	Enzimología, Bioquímica	2

Función: Aminoácidos, Energía, Regulación, Transporte, Pared celular, Telescopio, Medición de Velocidad y Unión, 1991

Las enzimas de la Clase VI son aquellas que catalizan la

formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

La función principal de estas enzimas es la de catalizar

la formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

La función principal de estas enzimas es la de catalizar

la formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

La función principal de estas enzimas es la de catalizar

la formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

La función principal de estas enzimas es la de catalizar

la formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

La función principal de estas enzimas es la de catalizar

la formación de enlaces covalentes entre moléculas orgánicas.

Tabla 1.2. Clasificación de los metales según su estructura electrónica

	Electrones s	Electrones d	Ejemplos
(i)	$(n-1)d^0 ns^2$		metales alcalinos
(ii)	$(n-1)d^0 ns^1$		Cu ⁺ , Zn ²⁺ , Ga ³⁺
(iii)	$(n-1)d^0 ns^2$		Tl ⁺ , Sn ²⁺ , Pb ²⁺
(iv)	$(n-1)d^1 - (n-1)d^9$		metales de transición
(v)	$(n-1)d^10 ns^1$		metales (IIB)
(vi)	$(n-1)d^10 ns^2$		metales (IIB)

El zinc pertenece al grupo del tipo (IIB) de metales pesados por su relativa alta potencia de oxidación del Zn^0 y por que al estar unido que forma tendencia a ser un carácter "significativo" de los metales del grupo IIB de la tabla periódica (Zn, Cd, Hg) muestra un carácter más fuerte con los átomos de O y N, y por capaces de formar complejos con ligandos que tengan 7 átomos de donantes. Para el zinc, con estructura atómica $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2$ (Bell, 1977).

1.2 Métodos analíticos para cuantificar Zinc

El diagnóstico de la deficiencia y el exceso de zinc en los humanos por los niveles de zinc intervienen en un grado de deficiencia biológica ha aumentado así como la necesidad de métodos analíticos para su cuantificación (Bell, 1977).

En el diagnóstico de deficiencia de zinc se utilizan métodos de análisis de zinc, de los cuales destacan por su alta sensibilidad...

En la espectroscopia de emisión atómica los átomos de una muestra son excitados por una fuente externa de luz ultravioleta. La luz y partículas emitidas se detectan al nivel energético más alto, cuando se excitan. Los átomos excitados pierden su energía emitiendo un fotón. La energía liberada coincide por los átomos al regresar al estado basal de estabilidad y se conocen como líneas espectrales. Cada línea espectral pertenece a un elemento químico. Algunas líneas de líneas espectrales son más brillantes y fáciles de detectar. Algunas líneas de líneas espectrales son más débiles y difíciles de detectar. Las principales aplicaciones de espectroscopia de emisión atómica son: la identificación de elementos, la medición de la concentración de elementos, la medición de la temperatura y la medición de la velocidad de reacción. La espectroscopia de emisión atómica se utiliza en la industria para la identificación de elementos, la medición de la concentración de elementos, la medición de la temperatura y la medición de la velocidad de reacción. La espectroscopia de emisión atómica se utiliza en la industria para la identificación de elementos, la medición de la concentración de elementos, la medición de la temperatura y la medición de la velocidad de reacción.

La espectroscopia de emisión atómica se basa en la emisión de luz por los átomos de una muestra excitada. La luz emitida se detecta y se mide su intensidad. La intensidad de la luz emitida depende de la concentración de los elementos en la muestra. La espectroscopia de emisión atómica se utiliza en la industria para la identificación de elementos, la medición de la concentración de elementos, la medición de la temperatura y la medición de la velocidad de reacción. La espectroscopia de emisión atómica se utiliza en la industria para la identificación de elementos, la medición de la concentración de elementos, la medición de la temperatura y la medición de la velocidad de reacción.

El presente informe tiene como finalidad proporcionar información sobre el desarrollo de los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970.

En la primera parte del informe se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la segunda parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la tercera parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970.

En la cuarta parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la quinta parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la sexta parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970.

En la séptima parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la octava parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970. En la novena parte se describen los trabajos realizados en el campo de la física durante el período comprendido entre el 1 de enero de 1970 y el 31 de diciembre de 1970.

1.3. Indicadores Metalocrómicos

1.3.1 Definición

Las indicadoras metalocrómicas son sustancias que cambian de color cuando las concentraciones de un analito cambian en la solución. Esto se debe a la formación del complejo entre el indicador y el ion metálico, que produce una modificación en los niveles de energía del indicador y un cambio en la longitud de onda donde se absorbe el indicador (Bergway, 1979).

1.3.2 Formación del complejo indicador metalocrómico-metal

La estabilidad de los complejos está determinada por las propiedades físicas inherentes del ion metálico y al ligando, principalmente por sus geometrías planas, octaédricas y tetraédricas. Dependiendo de la carga del ion metálico, estructura electrónica y del ligando, pueden haber complejos con varios ligandos con diferentes estabilidad (Bergway, 1979).

En la formación de complejos estables en solución, los ligandos actúan como donadores de pares de electrones al átomo central, con los orbitales de los electrones del ligando que donan los pares de electrones al átomo central. Cuando un átomo central acepta un par de electrones, una fracción del complejo también se estabiliza. El tamaño del átomo central, así como el número de coordinación de los átomos aceptores (Torgue, 1973). También debe tenerse en cuenta la naturaleza de los ligandos, como la presencia de grupos funcionales que interactúan con la coordinación del metal, el carácter de los orbitales de los ligandos, etc.

1.3.3 Cambios de color debido a la formación del complejo

El color que se observa en la solución de un ácido orgánico débil depende de la región de absorción de su cromóforo. Los cambios de color que se observan al pasar de un estado de oxidación a otro se deben a la formación de complejos con los iones de hidrógeno y a los cambios de estado de oxidación de los átomos de nitrógeno y oxígeno.

Se puede distinguir entre 3 tipos de transiciones de color: 1) cambios de color que se deben a los cambios en la absorción de luz debido a la formación del complejo con los iones de hidrógeno. 2) cambios de color que se deben a los cambios en el estado de oxidación de los átomos de nitrógeno y oxígeno. 3) cambios de color que se deben a los cambios en el estado de oxidación de los átomos de nitrógeno y oxígeno.

Los cambios de color que se observan al pasar de un estado de oxidación a otro se deben a los cambios en el estado de oxidación de los átomos de nitrógeno y oxígeno. Estos cambios se observan solo si la absorción de luz es suficiente para producir un cambio de color perceptible.

Transición entre ligandos: Los ligandos orgánicos que contienen átomos de nitrógeno y oxígeno pueden actuar como ligandos de coordinación. Los cambios de color que se observan al pasar de un estado de oxidación a otro se deben a los cambios en el estado de oxidación de los átomos de nitrógeno y oxígeno.

Con el tiempo...

Con el tiempo...

Con el tiempo...

que produce un tipo de metal con las características de los metales de alta resistencia. Este tipo de metal se utiliza en la industria para la fabricación de piezas de alta resistencia y para la fabricación de piezas de alta resistencia.

La transformación de la estructura de los metales de alta resistencia se puede lograr mediante el uso de técnicas de procesamiento de metales de alta resistencia. La transformación de la estructura de los metales de alta resistencia se puede lograr mediante el uso de técnicas de procesamiento de metales de alta resistencia.

Las propiedades de los metales de alta resistencia se pueden mejorar mediante el uso de técnicas de procesamiento de metales de alta resistencia. Las propiedades de los metales de alta resistencia se pueden mejorar mediante el uso de técnicas de procesamiento de metales de alta resistencia.

1.3.4 Características Químicamente Útiles de los metales de alta resistencia

Los metales de alta resistencia se caracterizan por su alta resistencia y su alta resistencia. Los metales de alta resistencia se caracterizan por su alta resistencia y su alta resistencia.

investigación. El conocimiento de estos tipos de diferencias puede ser útil para el diagnóstico de ciertas enfermedades, como la diabetes mellitus, la hipertensión arterial y la obesidad.

La alta sensibilidad en la y no, la alta especificidad en las pruebas, así como la posibilidad de aplicarlas en medicina preventiva, biología, etc. Este tipo de métodos se aplica de los eventos que producen alteraciones metabólicas en el organismo humano.

La información por generar los resultados de las pruebas, así como la posibilidad de aplicarlas en medicina preventiva, biología, etc. Este tipo de métodos se aplica de los eventos que producen alteraciones metabólicas en el organismo humano.

Los métodos de diagnóstico de laboratorio, como la espectroscopia, la cromatografía, etc., se aplican en medicina preventiva, biología, etc. Este tipo de métodos se aplica de los eventos que producen alteraciones metabólicas en el organismo humano.

Los métodos de diagnóstico de laboratorio, como la espectroscopia, la cromatografía, etc., se aplican en medicina preventiva, biología, etc. Este tipo de métodos se aplica de los eventos que producen alteraciones metabólicas en el organismo humano.

Los métodos de diagnóstico de laboratorio, como la espectroscopia, la cromatografía, etc., se aplican en medicina preventiva, biología, etc. Este tipo de métodos se aplica de los eventos que producen alteraciones metabólicas en el organismo humano.

1.3.5 Indicadores metalocrómicos utilizados en

Química Analítica y en Biología

En la Tabla 1.4 se muestran algunos metalocromos utilizados principalmente en Química Analítica. En Química Inorgánica se encuentran en los capítulos III, IV, V, VI, VII, VIII y IX. En Biología se encuentran en el capítulo III (Tabla 1.4).

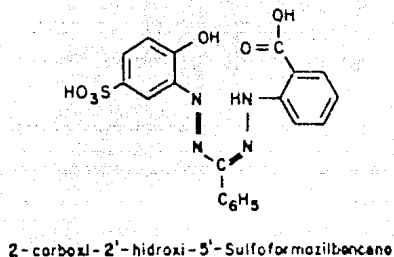
Tabla 1.4. Metalocromos para varios iones metálicos

Metal	Metalocromo	Referencia
Al	Alumina (Al ₂ O ₃)	232
As	Asínico	232
Ca	Calcio	232
Co	Cobalto	232
Cr	Cromio	232
Cu	Cupreo	232
Fe	Hierro	232
Hg	Mercurio	232
Mg	Magnesio	232
Mn	Manganeso	232
Ni	Níquel	232
Pb	Plomo	232
Sn	Estano	232
Zn	Zinc	232
Ag	Plata	232
Bi	Bismuto	232
Br	Bromo	232
Cd	Cadmio	232
Ce	Cerio	232
Cl	Cloro	232
Co	Cobalto	232
Cu	Cupreo	232
Fe	Hierro	232
Hg	Mercurio	232
Mg	Magnesio	232
Mn	Manganeso	232
Ni	Níquel	232
Pb	Plomo	232
Sn	Estano	232
Zn	Zinc	232

Referencia: J. J. Van Wazer, "Inorganic Chemistry", 1973

1.3.6 Estudios sobre el metalocromico Zincon

Zincon es el agente colorante propuesto para el diagnóstico clínico de la leishmaniasis. El compuesto de zinc de la serie de 2'-hidroxi-5'-sulfotriazoloformilzincanos. En la figura 1.3 se muestra su estructura:



ZINCON

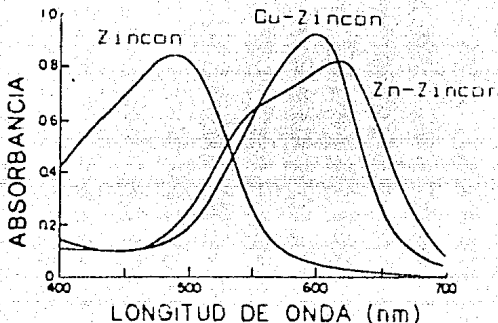


Fig. 1.3. Estructura química y espectro de absorción del metalocromico Zincon y complejos con Zincon y Cu-Zincon.

En su estructura se distinguen dos grupos funcionales variables: $-NH_2$ libre y $-NH_2$ enlazado a un átomo de zinc, que pueden interactuar con el ion metálico propuesto; y dos grupos ácidos: $-CO_2H$ carboxílico y $-SO_3H$ sulfónico, que pierden un protón al complejarse con el ion metálico.

En 1974, D. Bush y E. Yee reportaron el desarrollo de un nuevo agente colorimétrico para la leishmaniasis. Este y otros derivados de la serie de 2'-hidroxi-5'-sulfotriazoloformilzincanos forman un complejo color

total; una solución es un subconjunto de él. Se trata de un problema que puede resolverse fácilmente si se sabe que la solución es un subconjunto de él. El algoritmo que se propone en esta tesis es el siguiente:

1. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

2. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

Después, se define un problema de optimización que consiste en encontrar el subconjunto de S que sea solución del problema y que sea el más pequeño posible. Este problema puede resolverse fácilmente si se sabe que la solución es un subconjunto de él. El algoritmo que se propone en esta tesis es el siguiente:

1. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

2. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

3. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

Finalmente, se define un problema de optimización que consiste en encontrar el subconjunto de S que sea solución del problema y que sea el más pequeño posible. Este problema puede resolverse fácilmente si se sabe que la solución es un subconjunto de él. El algoritmo que se propone en esta tesis es el siguiente:

1. Se calcula el número de subconjuntos de S que son solución del problema. Este número es el número de subconjuntos de S que son solución del problema y que no son solución del problema.

Se trata de un problema que puede resolverse fácilmente si se sabe que la solución es un subconjunto de él. El algoritmo que se propone en esta tesis es el siguiente:

Finalmente, se define un problema de optimización que consiste en encontrar el subconjunto de S que sea solución del problema y que sea el más pequeño posible. Este problema puede resolverse fácilmente si se sabe que la solución es un subconjunto de él. El algoritmo que se propone en esta tesis es el siguiente:

1.4 OBJETIVO

Ninguno de los trabajos sobre el metalocromico Zincon antes mencionados ha reportado las características físicas y químicas que permiten utilizarlo en sistemas biológicos.

Dichas características se basan en los criterios expuestos por Antonio Scarpa (1979) y sobre éstos se fundamenta el objetivo de este trabajo: determinar las características físicas y químicas que permitan el uso del Zincon en sistemas biológicos.

Para llevar a cabo el objetivo, se realizó la siguiente secuencia para obtener los datos necesarios:

- A) Determinación de las constantes de asociación, disociación y β para los complejos Zn-Zincon, Cu-Zincon y otros cationes divalentes por medio de espectrofotometría de doble rayo. Con dichas constantes es posible determinar el intervalo de concentraciones de metal que puede detectar el metalocromico, los cambios en la absorbancia detectables con diferentes concentraciones de metalocromico, y la afinidad de los complejos.
- B) Reversibilidad de los complejos metal-metalocromico.

Esta característica ha sido aprovechada en los métodos quelatométricos (Sadek, 1959) para detectar metales que no forman complejos con Zincon. También es útil para los estudios en sistemas biológicos para no alterar las concentraciones de metales en las células.

- C) Solubilidad en solventes orgánicos alifáticos y aromáticos, hexano y tolueno, respectivamente.

D) Interacciones con modelos de membranas lipídicas, y con la anisotropía y el reflejo del posible comportamiento del metalocromóforo en las membranas biológicas, ya que ambas características simulan condiciones de hidrofobicidad.

E) Determinar si existe interacción con membranas biológicas y su potencial uso en sistemas biológicos.

3.1 Preparación de soluciones

Todo el material que se emplea en el presente trabajo se ha utilizado siempre en el estado más puro que se ha podido conseguir. El agua destilada se ha utilizado en el estado más puro que se ha podido conseguir.

3.1.1 Soluciones del metalocromo índico

Una muestra que contiene el metalocromo índico se ha sometido a un tratamiento que consiste en la oxidación del metalocromo índico con el propósito de obtener una muestra de metalocromo índico que sea estable y que pueda ser utilizada en el presente trabajo. El metalocromo índico se ha obtenido a partir de la oxidación del metalocromo índico con el propósito de obtener una muestra de metalocromo índico que sea estable y que pueda ser utilizada en el presente trabajo.

Una muestra de metalocromo índico se ha sometido a un tratamiento que consiste en la oxidación del metalocromo índico con el propósito de obtener una muestra de metalocromo índico que sea estable y que pueda ser utilizada en el presente trabajo. El metalocromo índico se ha obtenido a partir de la oxidación del metalocromo índico con el propósito de obtener una muestra de metalocromo índico que sea estable y que pueda ser utilizada en el presente trabajo.

3.1.2 Soluciones estabilizadoras de agentes quelantes

y de sales metálicas

2.2 Espectrofotometria

2.2.1 Principios de espectrofotometria

Una muestra es iluminada por un haz de luz monocromática de una longitud de onda determinada. La muestra absorbe una parte de la luz incidente, y la luz transmitida es medida. La absorbancia (A) se define como el logaritmo de la relación entre la intensidad de la luz incidente (I₀) y la intensidad de la luz transmitida (I):

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

La absorbancia es una medida de la cantidad de luz absorbida por la muestra. La ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración (C) de la muestra y a la longitud de la trayectoria óptica (L) que recorre la luz a través de la muestra:

$$A = \epsilon \cdot C \cdot L$$

donde ϵ es el coeficiente de absorción molar. La ley de Beer-Lambert es válida para soluciones diluidas y para longitudes de onda en las que la absorción es debida a un solo tipo de especie química. En soluciones más concentradas o en longitudes de onda en las que hay absorción por parte de varias especies químicas, la ley de Beer-Lambert puede no ser válida.

En general, para la espectrofotometria se utilizan longitudes de onda en el rango de 200 a 800 nm.

La espectrofotometria se utiliza para determinar la concentración de una muestra desconocida comparando su absorbancia con la de una muestra de concentración conocida.

2.2.2 Instrumentación

Un espectrofotómetro típico consta de una fuente de luz, un selector de longitud de onda, una celda de muestra y un detector. La fuente de luz puede ser un lámpara de arco, un lámpara de cátodo de tungsteno o un lámpara de deuterio.

El selector de longitud de onda puede ser un prisma o un difractor. El prisma dispersa la luz en función de su longitud de onda, mientras que el difractor dispersa la luz en función de su longitud de onda y su ángulo de incidencia.

La celda de muestra es un recipiente que contiene la muestra a ser analizada. El detector mide la intensidad de la luz transmitida y la convierte en una señal eléctrica que puede ser registrada y analizada.



2.2.2 Espectrofotometria re dobla Na: 1400000

2.3 Reparto en solventes orgánicos

Se hallaron en el 75% de los casos del análisis orgánico al menos un compuesto orgánico soluble en los solventes orgánicos utilizados (alifáticos) y solamente en algunos casos (10%) en los solventes orgánicos.

Los resultados de los análisis orgánicos se muestran en el cuadro 2. Se puede observar que el 75% de los casos del análisis orgánico se hallaron en los solventes orgánicos.

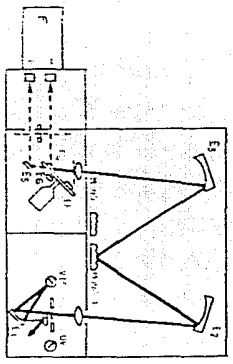
Se puede observar que el 75% de los casos del análisis orgánico se hallaron en los solventes orgánicos.

Los resultados de los análisis orgánicos se muestran en el cuadro 2. Se puede observar que el 75% de los casos del análisis orgánico se hallaron en los solventes orgánicos.

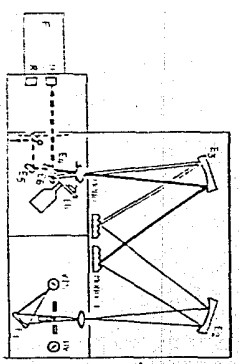
(a) Grupo 10-11

(b) Grupo 10-11

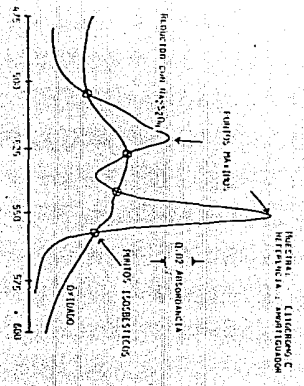
Los resultados de los análisis orgánicos se muestran en el cuadro 2. Se puede observar que el 75% de los casos del análisis orgánico se hallaron en los solventes orgánicos.



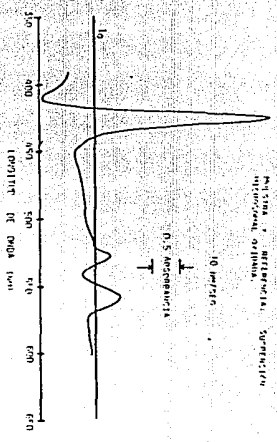
A. MODO DIFERENCIAL



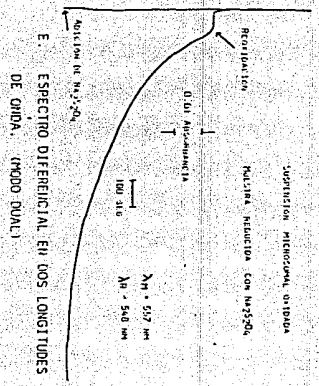
B. MODO DUAL



B. ESPECTRO ABSOLUTO EN BARRIDO (MODO DIFERENCIAL)



C. ESPECTRO DIFERENCIAL EN BARRIDO (MODO DIFERENCIAL)



E. ESPECTRO DIFERENCIAL EN LOS LONGITUDES DE ONDA. (MODO DUAL)

FIG. 2.1 INYECTORIA DE LA LUZ EN EL ESPECTROPRÓMETRO DE DOBLE VÍZ LUMINOSO. MODO DIFERENCIAL Y MODO DUAL.

- | | |
|------------------------------------|-----------------------|
| L = LENTE (L1, L2, L3, L4, L5, L6) | EN = ESPEJO ROTATORIO |
| M = MUESTRA | Io = INTENSIDAD |
| C = ESPEJO | N = FRECUENCIA |
| M = MUESTRA | C = ESPEJO |
| M = MUESTRA | M = MUESTRA |

la seva preparació, el tipus de lípid, la seva estructura i el seu comportament en solució. Els lípids són molècules orgàniques que són insolubles en aigua i solubles en solvents orgànics. Els lípids són una classe de molècules orgàniques que són insolubles en aigua i solubles en solvents orgànics. Els lípids són una classe de molècules orgàniques que són insolubles en aigua i solubles en solvents orgànics.

2.4 Preparació de membranes model (liposomes)

Les liposomes són vesícules esfèriques que són formades per una bicapa lipídica. Les liposomes són vesícules esfèriques que són formades per una bicapa lipídica. Les liposomes són vesícules esfèriques que són formades per una bicapa lipídica. Les liposomes són vesícules esfèriques que són formades per una bicapa lipídica.

La preparació de liposomes es pot fer mitjançant diversos mètodes. Els mètodes més comuns són el mètode de injectió, el mètode de extrusió i el mètode de evaporació. Els mètodes més comuns són el mètode de injectió, el mètode de extrusió i el mètode de evaporació. Els mètodes més comuns són el mètode de injectió, el mètode de extrusió i el mètode de evaporació.

El mètode de injectió consisteix a injectar una solució de lípids i aigua en una solució d'aigua. El mètode de extrusió consisteix a extrudir una solució de lípids i aigua a través d'un por. El mètode de evaporació consisteix a evaporar un solvent orgànic d'una solució de lípids i aigua. El mètode de injectió consisteix a injectar una solució de lípids i aigua en una solució d'aigua. El mètode de extrusió consisteix a extrudir una solució de lípids i aigua a través d'un por. El mètode de evaporació consisteix a evaporar un solvent orgànic d'una solució de lípids i aigua.

For a detailed description of the procedure for the preparation of the biological media, see the following references: (1) "Preparation of Media for the Culture of Microorganisms," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110; (2) "Preparation of Media for the Culture of Microorganisms," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110.

2.5 Preparation of biological media

2.5.1 Mitochondria of *Paramecium*

The procedure for the preparation of the mitochondria of *Paramecium* is described in detail in the following references: (1) "Preparation of Mitochondria from *Paramecium*," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110; (2) "Preparation of Mitochondria from *Paramecium*," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110.

2.5.2 *Paramecium* culture

The procedure for the preparation of the *Paramecium* culture is described in detail in the following references: (1) "Preparation of *Paramecium* Culture," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110; (2) "Preparation of *Paramecium* Culture," in "Microbiology: Principles and Applications," 2nd ed., by J. H. Stumm, W. H. Cline, and J. H. Stumm, McGraw-Hill, New York, 1970, pp. 100-110.

2.5.3 Interacción con metales pesados

El estudio de la interacción de los compuestos de Zn con metales pesados es de gran importancia debido a su toxicidad y a su capacidad de acumularse en los tejidos. Se ha observado que la presencia de Zn puede reducir la toxicidad de algunos metales pesados, como el plomo y el cadmio, al formar complejos estables que son menos absorbidos por el organismo. Sin embargo, en otros casos, la interacción puede ser sinérgica, aumentando la toxicidad de uno de los metales. Por ejemplo, se ha reportado que el Zn puede potenciar la toxicidad del cobre en ciertos organismos acuáticos. Por lo tanto, es necesario investigar más a fondo estas interacciones para comprender mejor los efectos de la contaminación por metales pesados en el medio ambiente y en la salud humana.

2.5.4 Incorporación de Zn²⁺ en cromátomas de *S. tuberosa* y distribución celular

La incorporación de Zn²⁺ en cromátomas de *S. tuberosa* se ha estudiado para determinar su capacidad de acumular este elemento. Se ha observado que los cromátomas de esta especie tienen una alta capacidad de absorber Zn²⁺ desde el medio de cultivo. La distribución celular del Zn²⁺ incorporado se ha estudiado mediante técnicas de microanálisis elemental, mostrando que se acumula principalmente en las células de la corteza y en los tejidos de reserva. Este tipo de acumulación es similar a la observada en otros organismos que utilizan Zn²⁺ para la síntesis de metaloenzimas y otros procesos fisiológicos. Sin embargo, la acumulación excesiva de Zn²⁺ puede ser tóxica para el organismo, por lo que es importante estudiar los mecanismos de detoxificación que emplean los cromátomas de *S. tuberosa* para sobrevivir en ambientes con alta concentración de este metal. Los resultados de estos estudios pueden ser útiles para el desarrollo de estrategias de biorremediación que utilicen a estos organismos para la eliminación de Zn²⁺ de aguas contaminadas.

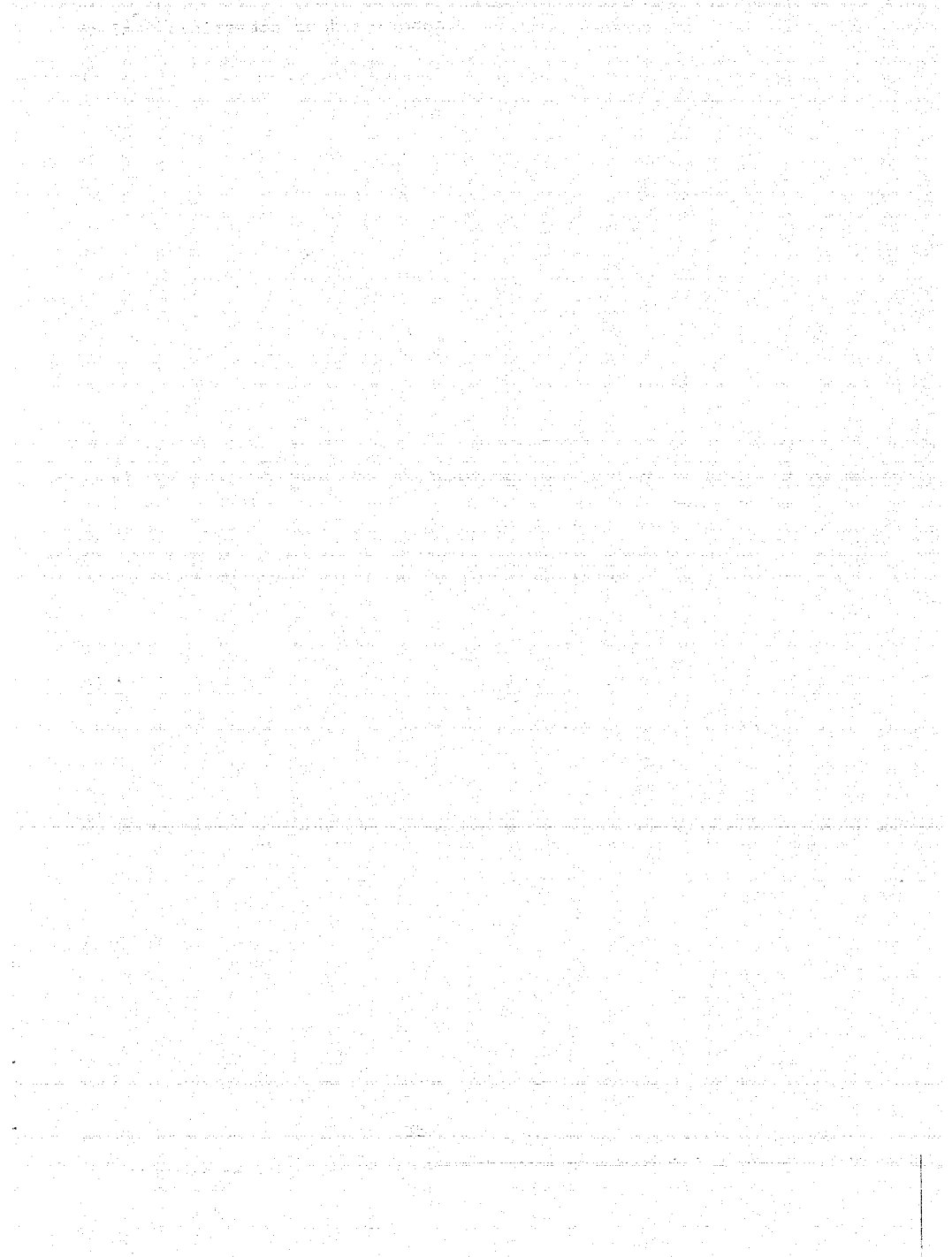


Diagram No. 10001

Construction of the [unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

[unclear]

CAPITULO 3 - RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Efectos de las variaciones de los coeficientes metalúrgicos

Determinación de los coeficientes de difusión, oxidación y coeficiente de extensión celular

El estudio de los efectos de las variaciones de los coeficientes metalúrgicos se realizó en un horno de laboratorio a una temperatura constante de 1200°C. Se utilizaron como reactivos el aluminio y el hierro, para lo cual se prepararon una serie de muestras de aluminio y hierro con diferentes contenidos de oxígeno. Se midieron los pesos de las muestras antes y después de la oxidación y se determinó el coeficiente de difusión de oxígeno en el aluminio y el hierro. Los resultados se muestran en la Tabla 3.1. Se puede observar que el coeficiente de difusión de oxígeno en el aluminio es mayor que el coeficiente de difusión de oxígeno en el hierro. Esto se debe a que el aluminio tiene una estructura cristalina más abierta que el hierro, lo que facilita la difusión de oxígeno.

Los coeficientes de extensión celular se determinaron a partir de las mediciones de la longitud de las muestras antes y después de la oxidación. Los resultados se muestran en la Tabla 3.2. Se puede observar que el coeficiente de extensión celular es mayor en el aluminio que en el hierro. Esto se debe a que el aluminio tiene una estructura cristalina más abierta que el hierro, lo que facilita la extensión celular.

Los resultados de los coeficientes de difusión y extensión celular se compararon con los valores reportados en la literatura. Se puede observar que los valores obtenidos en este estudio son similares a los reportados en la literatura. Esto indica que el método utilizado en este estudio es adecuado para determinar los coeficientes de difusión y extensión celular.

En conclusión, se puede afirmar que los coeficientes de difusión y extensión celular son mayores en el aluminio que en el hierro. Esto se debe a que el aluminio tiene una estructura cristalina más abierta que el hierro, lo que facilita la difusión de oxígeno y la extensión celular.

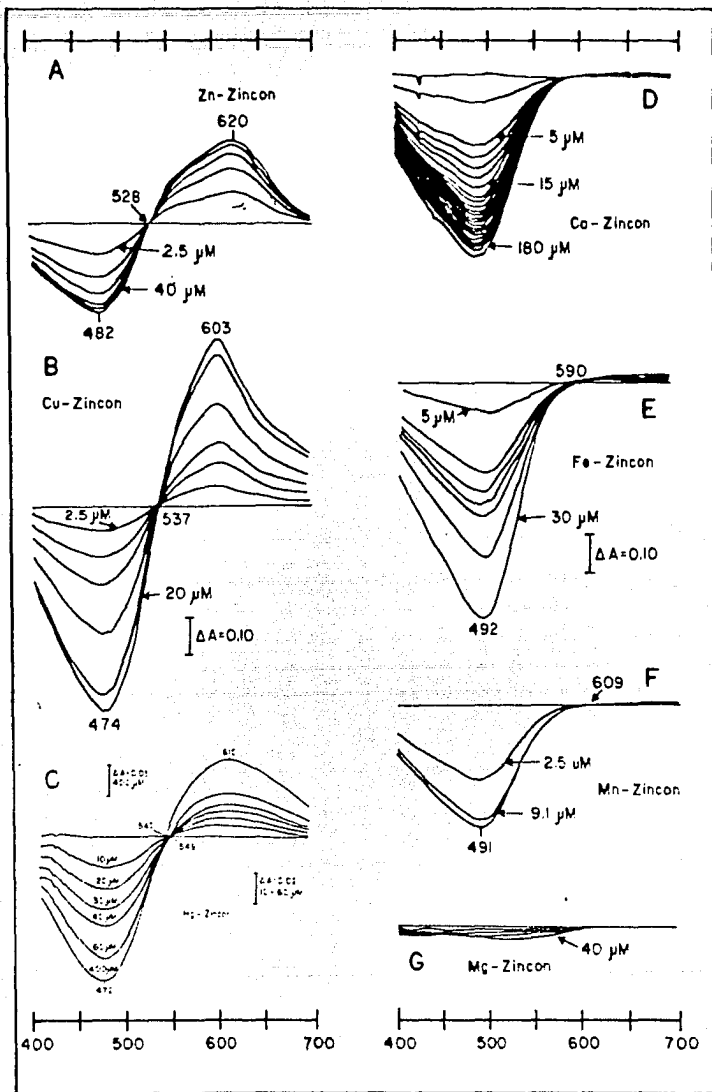


Fig. 3.1 Espectros diferenciales de los complejos Metal-Zincon. Condiciones: Zincon 40 μM Tris-HCl 50 mM pH 8.2 y las concentraciones de metal indicada.

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

△

Într-o mare măsură, în anul 1950, în România s-a realizat
 o schimbare de direcție în politica externă, trecându-se de la
 o alianță cu SUA la o alianță cu URSS. Acest lucru s-a realizat
 datorită faptului că în anul 1949, după moartea lui Stalin,
 URSS a devenit din nou puterea dominantă în lume și a început să
 își revină poziția de mare putere mondială. În același timp,
 SUA au rămas singura putere mondială rămasă în picioare după
 al doilea război mondial. În aceste condiții, URSS a început să
 își revină poziția de mare putere mondială și să se alieze cu
 țările din blocul comunist, în timp ce SUA au rămas singura
 putere mondială rămasă în picioare după al doilea război mondial.
 În aceste condiții, URSS a început să își revină poziția de mare
 putere mondială și să se alieze cu țările din blocul comunist.
 În anul 1949, URSS și țările din blocul comunist au încheiat
 Tratatul de la Moscova, care a consolidat alianța dintre ele.
 În același timp, SUA și țările din blocul occidental au încheiat
 Tratatul de la Paris, care a consolidat alianța dintre ele.
 În aceste condiții, URSS și țările din blocul comunist au
 devenit puterile dominante în lume și au început să își revină
 poziția de mare putere mondială.

În anul 1950, URSS și țările din blocul comunist au încheiat
 Tratatul de la Moscova, care a consolidat alianța dintre ele.
 În același timp, SUA și țările din blocul occidental au încheiat
 Tratatul de la Paris, care a consolidat alianța dintre ele.
 În aceste condiții, URSS și țările din blocul comunist au
 devenit puterile dominante în lume și au început să își revină
 poziția de mare putere mondială.

În anul 1950, URSS și țările din blocul comunist au încheiat
 Tratatul de la Moscova, care a consolidat alianța dintre ele.
 În același timp, SUA și țările din blocul occidental au încheiat
 Tratatul de la Paris, care a consolidat alianța dintre ele.
 În aceste condiții, URSS și țările din blocul comunist au
 devenit puterile dominante în lume și au început să își revină
 poziția de mare putere mondială.

de la región...

A

...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

de la región...

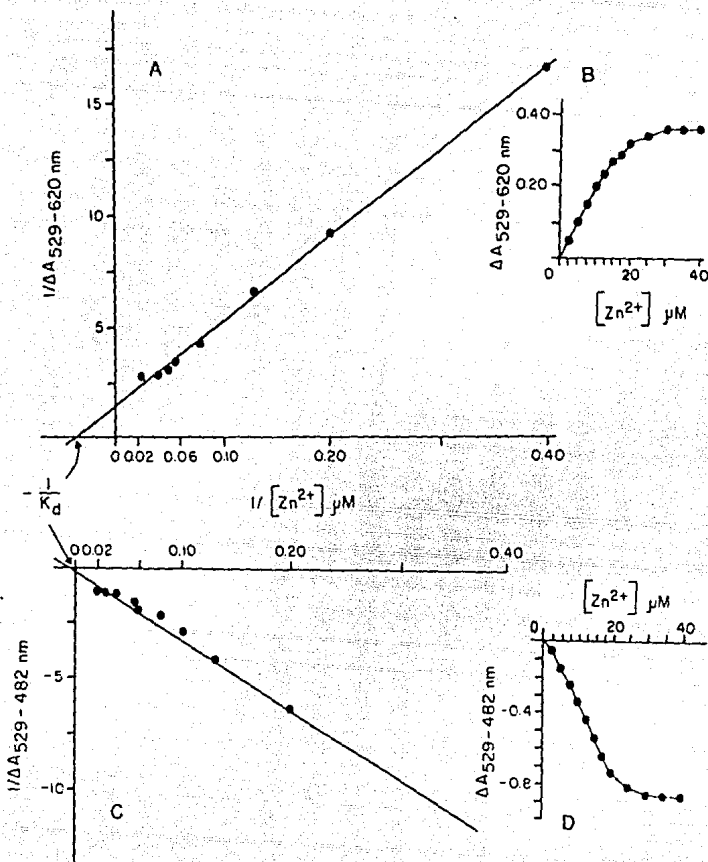


Fig. 3.2 Gráficas de dobles recíprocas en la región de hiper Cromismo (A) e hipocromismo (C) de los cambios en absorbancia contra concentraciones crecientes de Zn^{2+} . B y D son las gráficas lineales. Condiciones: celda de referencia y muestra contienen Zinco 40 μM Tris-HCl 50 mM pH 8.2 y las concentraciones indicadas de Zn^{2+} , vol. final 3 ml.

Tabla 3.1 Constantes de asociación, disociación y $\Delta\epsilon$ para los complejos Metal-Zincon y en presencia de otros metales

Complejos p.i. y A_{max}	$\log_{10}K_s$	K_d (μM)	$\Delta\epsilon$ ($mM^{-1}cm^{-1}$)
Cu^{2+}			
537-600 nm	4.39	40.01	28.79
537-474 nm	2.57	2662.18	-2136.70
Zn^{2+}			
529-620 nm	4.19	64.44	46.25
529-482 nm	3.89	127.32	-
$Zn^{2+} + Mg^{2+}$ 40 μM			
529-620 nm	4.12	74.39	49.66
$Zn^{2+} + Ca^{2+}$ 40 μM			
529-620 nm	4.28	52.39	41.66
$Zn^{2+} + Ca^{2+}$ 100 μM			
529-620 nm	4.39	40.29	34.71
Hg^{2+}			
540-610 nm	3.07	832.20	6.94
540-472 nm	3.00	997.80	-13.35
Fe^{2+}			
590-492 nm	4.30	49.50	-99.24
Mn^{2+}			
609-491 nm	5.49	3.16	-22.57
Ca^{2+}			
597-490 nm	3.42	372.75	-63.65
Mg^{2+}	0	0	0

Los valores de las constantes para Fe^{2+} , Mn^{2+} y Ca^{2+} se obtuvieron a intervalos de 1 min en la titulación. Condiciones: Zincon 40 μM Tris-HCl 50 mM pH 8.2, vol. final 3 ml para cada uno.

... ..
... ..
... ..

... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

l'indication de l'adresse des personnes auxquelles les lettres devront être adressées, à l'exception de celles qui sont destinées aux personnes qui résident dans la même commune que l'auteur de la lettre. Les lettres doivent être adressées à l'adresse indiquée dans le tableau ci-dessous. Les lettres doivent être adressées à l'adresse indiquée dans le tableau ci-dessous.

Il est à noter que les citoyens du Québec, de l'Ontario et de l'Alberta ont le droit de voter dans la circonscription où ils résident habituellement. Les citoyens de l'Ontario et de l'Alberta ont le droit de voter dans la circonscription où ils résident habituellement.

7.2 Curvas de pH para Lincón, In-Lincón y Cu-Lincón

con diferentes amortiguadores

Una de las ventajas del uso de electrolitos de las sales orgánicas es que presentan un comportamiento más favorable en relación con las interacciones, ya que se ven afectadas por el efecto de la fuerza iónica (García, 1991). Para determinar las interacciones de pH de las moléculas de aminoácidos con lípidos y la fuerza iónica de los electrolitos

de Lincón y Cu-Lincón, se realizaron curvas de pH de las moléculas con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2. Se puede observar que las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2, presentan un comportamiento similar al de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2. En general, las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2, presentan un comportamiento similar al de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2.

Las Figuras 7.2 y 7.3 muestran las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2.

El gráfico de la Figura 7.2 muestra las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2. Se puede observar que las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2, presentan un comportamiento similar al de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2. En general, las curvas de pH de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2, presentan un comportamiento similar al de las moléculas de Lincón y Cu-Lincón con diferentes amortiguadores, como se muestra en el gráfico de la Figura 7.2.

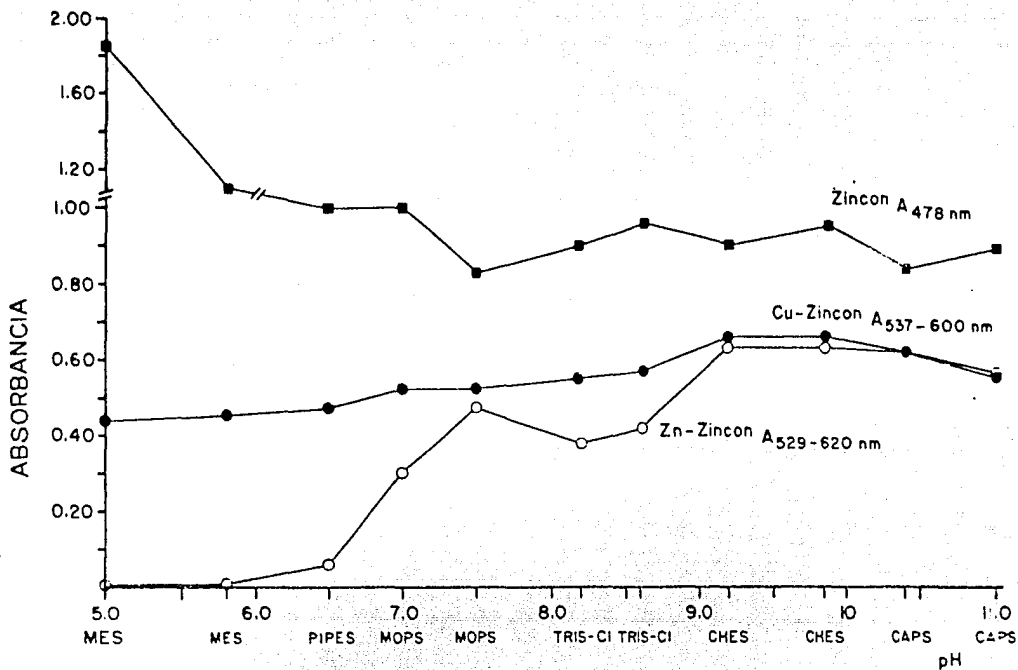


Fig. 3.3 Perfiles de pH para Zincon, Zn-Zincon y Cu-Zincon. Condiciones: Amortiguador 500 mM pH indicado en el eje X, Zn-Zincon y Cu-Zincon 1:1 40 μ M cada especie, vol. final 3 ml.

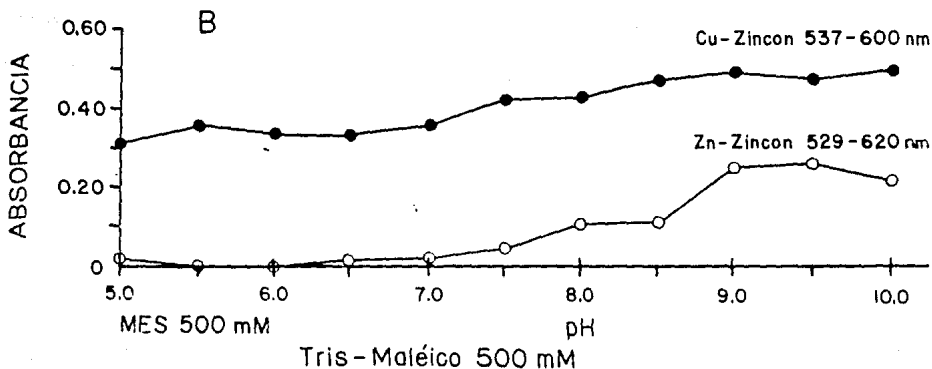
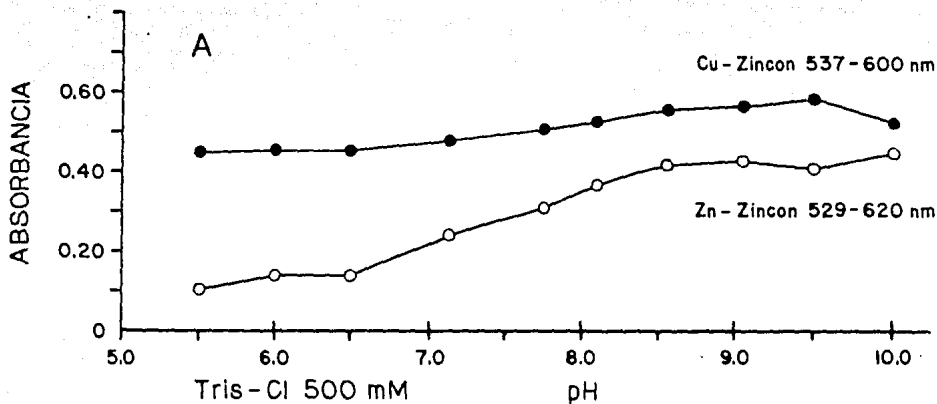


Fig. 3.4 Perfiles de pH para Zn-Zincon y Cu-Zincon.

Condiciones: A, Tris-HCl 500 mM; B, MES 500 mM pH 5.0 y 5.5, Tris-Maleico 500 mM pH 6.0 a 10.0; Zn-Zincon y Cu-Zincon 1:1, 40 μ M cada especie, vol. final 3 ml.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud.

2. The second part of the document outlines the specific requirements for record-keeping, including the need to maintain original documents and to keep copies of all records for a minimum of seven years. It also discusses the importance of ensuring that records are accessible and retrievable at all times.

3. The third part of the document discusses the role of the auditor in verifying the accuracy of the records. It emphasizes that the auditor must exercise due diligence and must be satisfied that the records are complete and accurate before issuing an audit opinion.

4. The fourth part of the document discusses the consequences of failing to maintain accurate records. It notes that failure to do so can result in the disallowance of tax deductions and penalties, and can also lead to the suspension or revocation of the company's license to operate.

5. The fifth part of the document discusses the importance of training and education for all employees involved in the record-keeping process. It emphasizes that all employees must be aware of their responsibilities and must be trained in the proper procedures for maintaining records.

6. The sixth part of the document discusses the importance of internal controls in the record-keeping process. It notes that internal controls are essential for ensuring the accuracy and integrity of the records, and that they must be designed and implemented in a way that is appropriate to the company's size and complexity.

7. The seventh part of the document discusses the importance of regular audits and reviews of the record-keeping process. It notes that regular audits and reviews are essential for identifying and correcting any deficiencies in the process, and for ensuring that the records are always up-to-date and accurate.

8. The eighth part of the document discusses the importance of maintaining a clear and concise record-keeping system. It notes that a clear and concise system is essential for ensuring that records are easy to understand and use, and that it is essential for the efficient operation of the company.

9. The ninth part of the document discusses the importance of maintaining a secure record-keeping system. It notes that records are often sensitive and confidential, and that it is essential to take appropriate measures to protect them from unauthorized access and disclosure.

10. The tenth part of the document discusses the importance of maintaining a backup of all records. It notes that a backup is essential for ensuring that records are not lost in the event of a disaster, and that it is essential to test the backup process regularly to ensure that it is working properly.

11. The eleventh part of the document discusses the importance of maintaining a clear and concise record-keeping system. It notes that a clear and concise system is essential for ensuring that records are easy to understand and use, and that it is essential for the efficient operation of the company.

12. The twelfth part of the document discusses the importance of maintaining a secure record-keeping system. It notes that records are often sensitive and confidential, and that it is essential to take appropriate measures to protect them from unauthorized access and disclosure.

13. The thirteenth part of the document discusses the importance of maintaining a backup of all records. It notes that a backup is essential for ensuring that records are not lost in the event of a disaster, and that it is essential to test the backup process regularly to ensure that it is working properly.

3.3. Description of the complex

Introduction, Evolution

The complex is a large, multi-story building with a modern architectural style. It is situated in a central urban area and is surrounded by other commercial buildings. The building features a prominent glass facade and a central tower section. The complex is owned and managed by a private company, and it is used for a variety of purposes, including office space, retail, and residential. The building was constructed in the late 1990s and has since become a landmark in the city. It is a prime example of modern urban development and has attracted significant attention from both the public and the media.

The complex is a prime example of modern urban development and has attracted significant attention from both the public and the media. It is a landmark in the city and has become a symbol of progress and innovation. The building's design is a blend of traditional and modern architectural elements, creating a unique and visually appealing structure. The complex is a testament to the city's commitment to high-quality urban development and its ability to attract investment and talent. The building's location is a key factor in its success, as it is situated in a central and accessible area. The complex is a valuable asset to the city and its residents, and it is expected to continue to play a significant role in the city's future.

The complex is a landmark in the city and has become a symbol of progress and innovation. It is a prime example of modern urban development and has attracted significant attention from both the public and the media. The building's design is a blend of traditional and modern architectural elements, creating a unique and visually appealing structure. The complex is a testament to the city's commitment to high-quality urban development and its ability to attract investment and talent. The building's location is a key factor in its success, as it is situated in a central and accessible area. The complex is a valuable asset to the city and its residents, and it is expected to continue to play a significant role in the city's future. The building's construction was a major project for the city, and it has since become a source of pride and inspiration for its citizens. The complex is a model of modern urban development and is a testament to the city's vision and leadership. The building's design and construction were a collaborative effort between architects, engineers, and city officials, resulting in a structure that is both functional and aesthetically pleasing. The complex is a landmark in the city and has become a symbol of progress and innovation. It is a prime example of modern urban development and has attracted significant attention from both the public and the media.

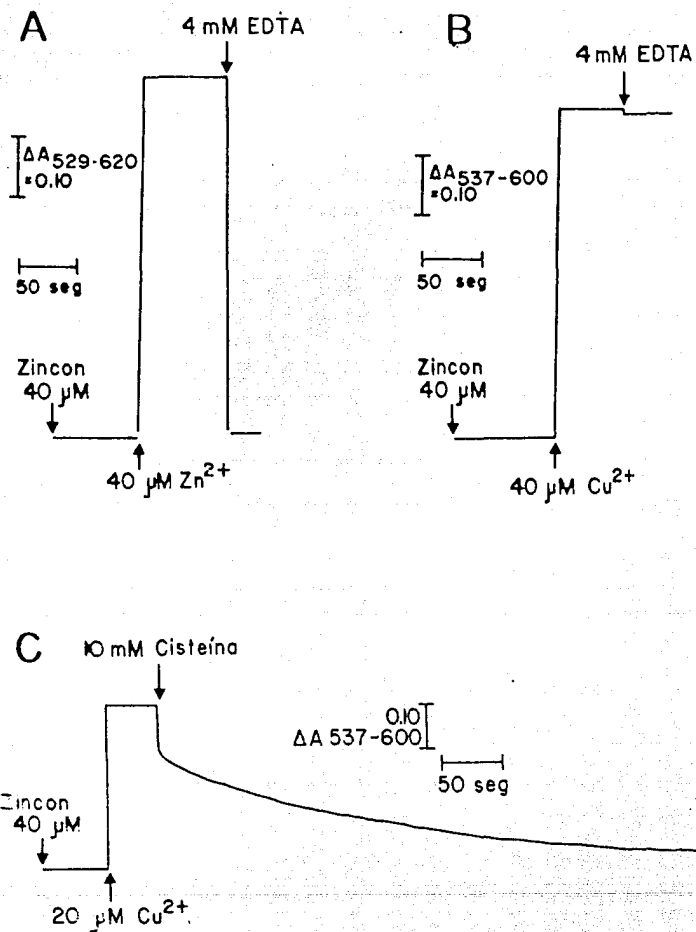


Fig. 2. E. Reversibilidad de los complejos Zn-Zincon y Cu-Zincon. Condiciones: Zincon 40 μM Tris-HCl 50 mM pH 8.2 y las concentraciones de EDTA, EGTA y Cisteína indicados, vol. final 3 ml.

Tabla 3.2

Efecto de los agentes quelantes sobre los complejos Zn-Zincon y Cu-Zincon

Metal	% metal quelado con:							
	EDTA		EGTA		NTA	CISTEINA		
	4 mM	10 mM	4 mM	10 mM	4 mM	4 mM	10 mM	
Zn ²⁺	96.9	-	98.3	97.5	96.5	-	-	
Cu ²⁺	1.85	1.83	1.85	-	1.83	99.3*	96.3®	

Condiciones: Zincon 40 μ M Tris-HCl 50 mM pH 8.2, vol. final 3 ml; EDTA, EGTA, NTA y Cisteína 4 mM y 10 mM cada uno, conc. final; Zn²⁺ y Cu²⁺ 40 μ M, conc. final. Datos obtenidos por espectrofotometría de doble haz, modo dual, a 529-620 nm para Zn-Zincon y 537-600 nm para Cu-Zincon. (-) no se determinó; (*) en 44.3 min; (®) en 21.6 min.

The first part of the report deals with the general situation of the country in 1950. It describes the political and economic conditions, and the role of the government in the reconstruction of the country after the war. The second part of the report deals with the social and cultural conditions. It describes the state of the population, the education system, and the cultural life of the country. The third part of the report deals with the economic conditions. It describes the state of the economy, the main industries, and the progress of the reconstruction work. The fourth part of the report deals with the international relations of the country. It describes the country's relations with the other countries of the world, and its role in the international community. The fifth part of the report deals with the future prospects of the country. It describes the main problems that the country will have to solve in the future, and the measures that should be taken to solve these problems. The report concludes with a summary of the main findings and a list of references.

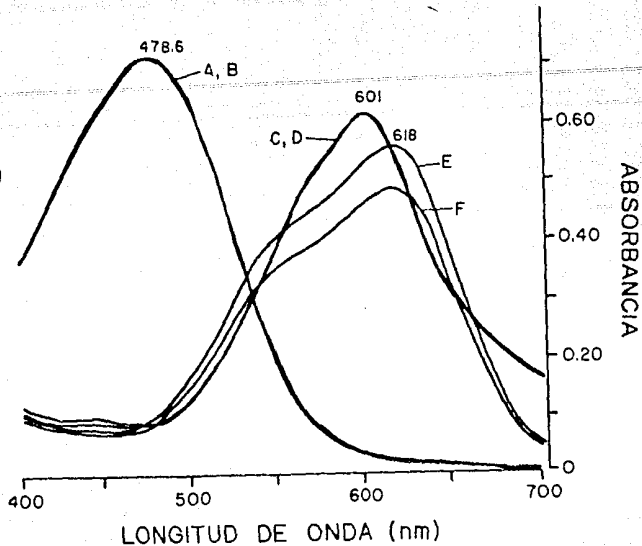
3.4. Reparto de solventes orgánicos.

Los solventes orgánicos se utilizan en gran medida en la industria química y en el laboratorio. Su uso debe ser controlado debido a su toxicidad y a su potencial de contaminación ambiental. Se debe tener especial cuidado con los solventes volátiles y inflamables, como el benceno, el tolueno y el xileno, que pueden causar graves problemas de salud y medioambientales. Además, algunos solventes pueden ser persistentes en el medio ambiente y acumularse en la cadena alimentaria.

En el campo de la química orgánica, los solventes más utilizados son el agua, el alcohol, el éter, el benceno, el tolueno, el xileno, el cloroformo, el tetrahidrofurano (THF) y el dimetil sulfoxido (DMSO). Cada uno de estos solventes tiene propiedades físicas y químicas específicas que los hacen adecuados para diferentes tipos de reacciones y extracciones. Por ejemplo, el benceno es un excelente solvente para compuestos orgánicos no polares, mientras que el agua es el solvente más adecuado para compuestos iónicos y polares. El THF es un solvente versátil que se utiliza comúnmente en la síntesis orgánica y en la extracción de compuestos naturales.

La elección del solvente adecuado para una reacción química depende de varios factores, como la polaridad del reactivo, la temperatura de reacción y la toxicidad del solvente. Es importante tener en cuenta que el uso de solventes orgánicos puede generar residuos que deben ser tratados adecuadamente para evitar la contaminación del medio ambiente. En el laboratorio, se debe utilizar el menor volumen posible de solvente y se deben seguir las normas de seguridad establecidas para su manipulación. En la industria, se están desarrollando alternativas más seguras y sostenibles para reducir el uso de solventes orgánicos.

HEXANO



TOLUENO

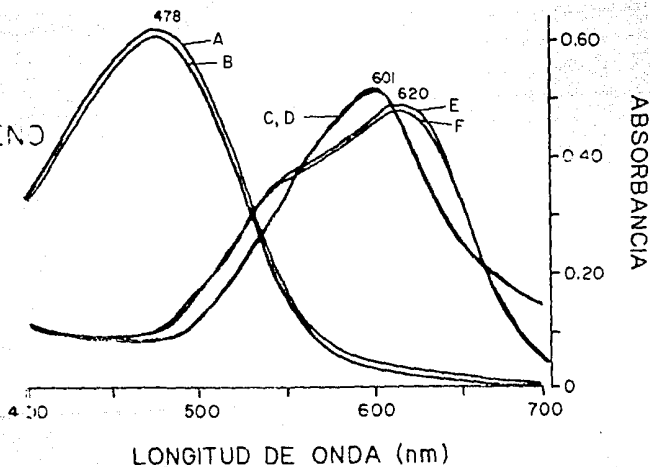


Fig. 2.5. Espectro en solventes orgánicos. Espectros absolutos. A, C y E Zincon, Cu-Zincon y Zn-Zincon 1:1, 40 μ M cada especie, Tris-HCl 50 mM pH 8.2, vol. final 3 ml; B, D y F fase acuosa extraída de la mezcla con 3 ml hexano o tolueno (ver secc. 2.3 del Capítulo 2: Materiales y Métodos)

Tabla 3.3

Reparto del Zincón y los complejos Metal-Zincón
en solventes orgánicos

Solvente	% de recuperación en la fase acuosa		
	Zincón	Zn-Zincón	Cu-Zincón
Hexano	100	87.5	100
Tolueno	98.3	97.9	100

Condiciones: Cada tubo de ensaye contiene 3 ml de Zincón 40 μ M, Zn-Zincón o Cu-Zincón (1:1 cada especie), Tris-HCl 50 mM pH 8.2 y 3 ml de solvente. Se agitaron vigorosamente por 1 min, se dejaron en reposo 20 min y se centrifugaron a 15000 rpm 5 min. Ambas fases se separaron y cuantificaron en un espectrofotómetro de doble haz, trazando espectros absolutos en barrido de 400 a 700 nm. Las fases orgánicas no mostraron cambios en la absorbancia en ningún caso.

...delo se, ali ne je bilo tako, ker bi bil to velikokrat ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...

016 Interakcija con mentiras modelo

...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...

...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...
...delo, ki ga je treba opraviti, čeprav je to delo ...

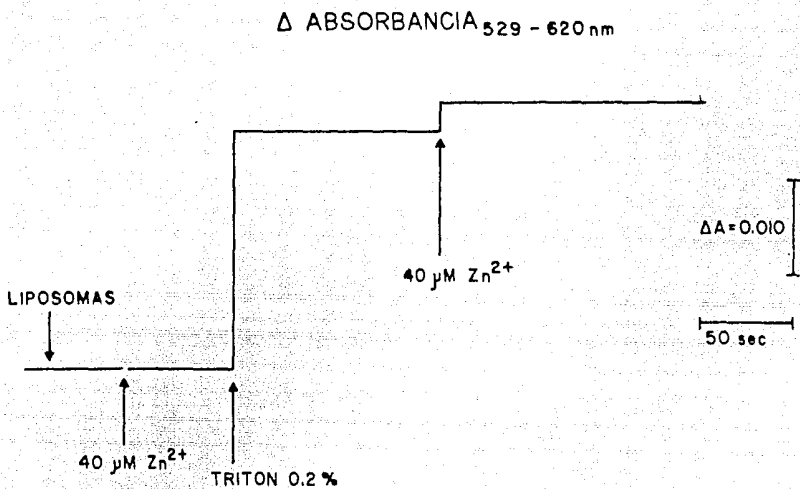


Fig. 3.7 Interacción con membranas modelo (liposomas). Espectro diferencial a 529-620 nm de los cambios en la absorbancia después de agregar Zn^{2+} y Triton X-100 0.2% a liposomas cargados con Zinco, Tris-HCl 50 mM Sacarosa 150 mM pH 8.2, vol. final 3 ml.

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

3.6 Interacción con membranas biológicas

Las membranas biológicas son estructuras complejas que actúan como barreras selectivas y participan en procesos de transporte y señalización. La interacción de los fármacos con estas membranas es crucial para su actividad terapéutica. Los fármacos pueden interactuar con las membranas a través de enlaces iónicos, puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. Estas interacciones pueden afectar la permeabilidad de la membrana y la capacidad de los fármacos para cruzarla. Además, algunos fármacos pueden alterar la estructura y función de las membranas, lo que puede tener efectos secundarios. El estudio de la interacción de los fármacos con las membranas biológicas es esencial para el desarrollo de nuevos medicamentos más efectivos y seguros.

3.7 Incorporación de Zn^{2+} a cuprestofóras

Las cuprestofóras son materiales porosos con una estructura de marcos de cobre que pueden incorporar iones de zinc (Zn^{2+}). Esta incorporación puede ser realizada mediante métodos de intercambio iónico o síntesis directa. La incorporación de Zn^{2+} a las cuprestofóras puede mejorar sus propiedades catalíticas y de adsorción. Además, puede ser utilizada en aplicaciones biomédicas, como en la liberación controlada de fármacos o en la fabricación de sensores. El estudio de la incorporación de Zn^{2+} a las cuprestofóras es un área de investigación activa en química de materiales y química de coordinación.

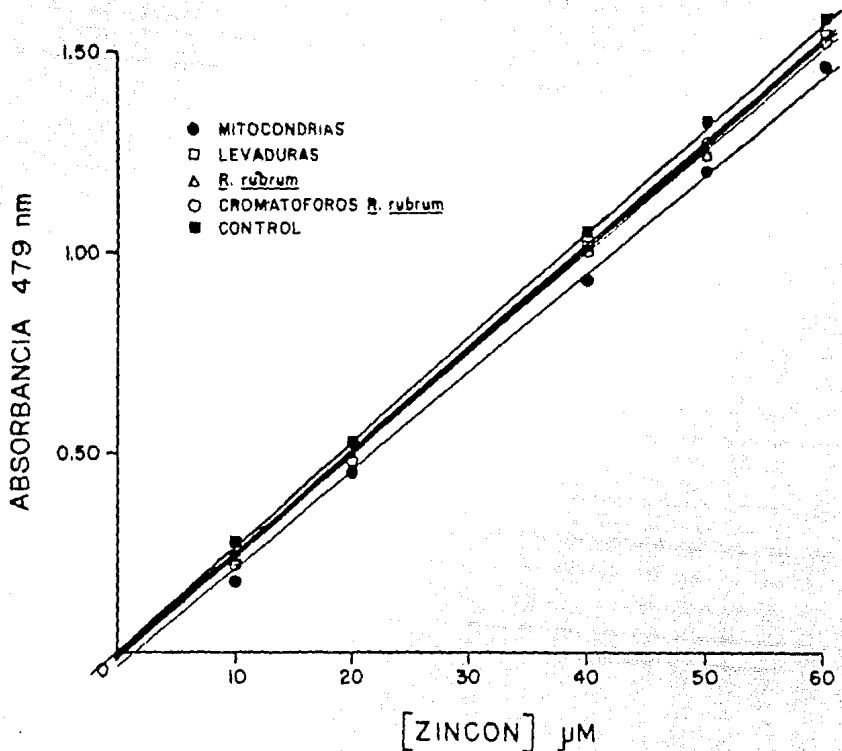


Fig. 3.8 Interacción con membranas biológicas. Condiciones: cada tubo contiene la conc. de Zincon indicada en el eje X, Tris-HCl 50 mM pH 8.2, vol. final 2 ml. Cada membrana se incubó 5 min, las mitocondrias, levaduras y bacterias se centrifugaron 20 min a 15000 rpm a 4°C, los cromatóforos se centrifugaron 1.3 hr a 40000 rpm a 4°C. El sobrenadante se leyó a 479 contra el control (sin membranas).

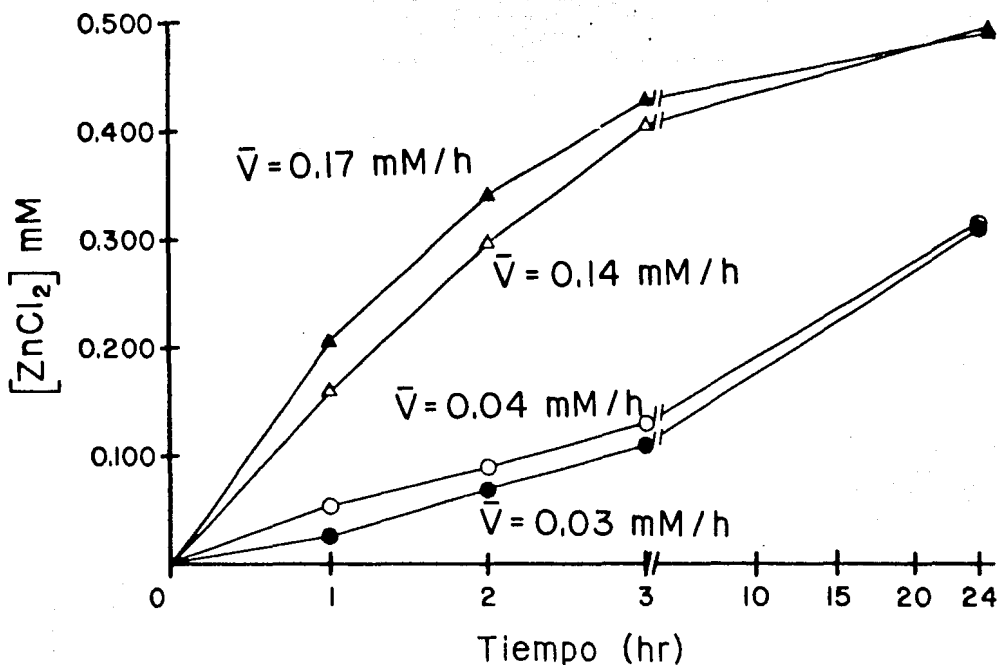


Fig. 3.9 Incorporación de Zn^{2+} a cromatóforos de *Rs. rubrum* dializados contra Zincon o amortiguador. Condiciones: ver diagrama de flujo 1 de la secc. 2.6 del Capítulo 2. Cromatóforos enteros dializados contra: ●, Tris-HCl 50 mM pH 8.2; ▲, Zincon 40 μ M Tris-HCl 50 mM pH 8.2; Cromatóforos solubilizados y dializados contra: ○, amortiguador, △, Zincon 40 μ M Tris-HCl 50 mM pH 8.2; \bar{V} (Zn^{2+} mM/hr) dentro de las 3 primeras horas.

... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..

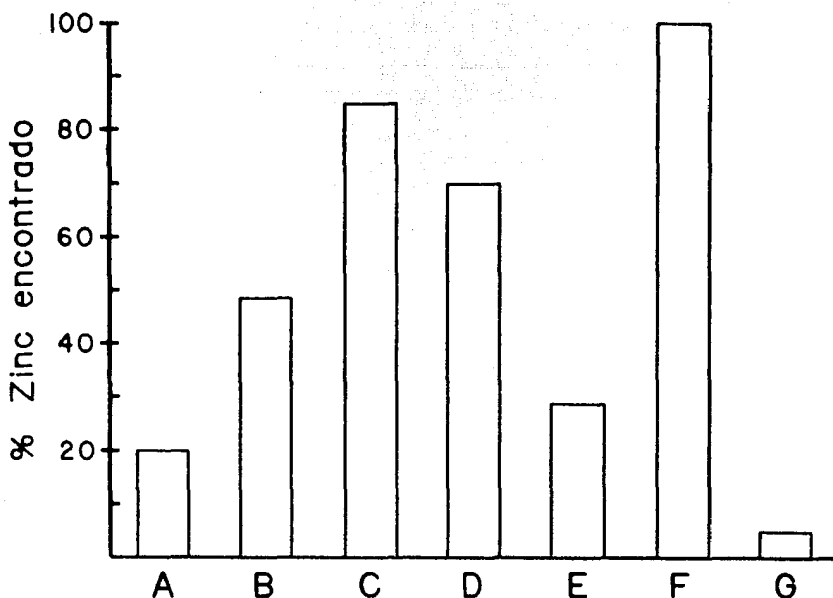


Fig. 3.10 Porcentaje de Zn^{2+} encontrado al cabo de 24 hr en cromatóforos enteros incubados con Zn^{2+} . Condiciones: ver diagrama de flujo 1 de la secc. 2.6 Capítulo 2 Materiales y Métodos. A, sobrenadante del medio de incubación; B, dializado contra Tris-HCl 50 mM pH 8.2; C, dializado contra Zincon 40 μ M Tris-HCl 50 mM pH 8.2; D, suma de lo encontrado en A y B (Zn^{2+} fuera del cromatóforo); E, diferencia del medio de incubación menos D (Zn^{2+} dentro del cromatóforo); F, suma de lo encontrado en A y C (Zn^{2+} fuera del cromatóforo); G, diferencia del medio de incubación menos F (error al cuantificar).

CONCLUSIONES

El metalocrómico Zincon es un reactivo útil para cuantificar Zn^{2+} por varias razones:

a) Es selectivo para un grupo reducido de iones metálicos: $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Hg^{2+} > Fe^{2+} > Mn^{2+} > Ca^{2+}$ pero no para Mg^{2+} .

b) Debido a que la K_d por Zn^{2+} y Cu^{2+} son muy pequeñas ($\sim 60-40 \mu M$) permiten cuantificar dichos iones metálicos desde $2.5 \mu M$ hasta $40-60 \mu M$. A pesar de que estos valores de K_d podrían alterar las concentraciones del ion metálico libre, es posible utilizar muy poco Zincon para cuantificarlos, ya que ambos complejos, Zn-Zincon y Cu-Zincon, poseen altos valores de ϵ , es decir, con muy poco metalocrómico se producen grandes cambios en la absorbancia al formar el complejo metal-metalocrómico. En el caso del complejo Hg-Zincon se puede decir que el Zincon es ideal para cuantificar dicho metal porque los valores de K_d y $\Delta \epsilon$ son muy altos y el complejo es estable por dos horas.

El Zincon se puede utilizar para cuantificar Ca^{2+} , Fe^{2+} y Mn^{2+} pero tomando en cuenta que los complejos son inestables, por lo que la titulación debe hacerse a intervalos de 1 min. Los iones metálicos Mg^{2+} y Ca^{2+} no interfieren considerablemente en la formación del complejo Zn-Zincon.

c) Una ventaja que posee este método, en comparación con otros metodologías, es que la cuantificación de Zn^{2+} , Cu^{2+} y Hg^{2+} se hacen en un sólo paso, a temperatura ambiente, sin periodos de incubación, sin la intervención de otras reacciones químicas para formar los complejos, no es un método destructivo y no es caro.

Sin embargo, es importante utilizar material en laboratorio escrupulosamente limpio (bien enjuagado con agua bidestilada y libre de polvo es suficiente) y preparar las soluciones con agua bidestilada, ya que es común encontrar contaminaciones por cobre proveniente de la tubería del agua. Por otro lado, las soluciones de Zincon son estables si se congelan a 0°C o -70°C después de utilizarlas.

d) Es posible cuantificar Zn^{2+} por arriba de pH 7.0 -7.5 independientemente del amortiguador empleado; sin embargo, con Tris-HCl 500 mM se puede hacer desde pH 6.0. No existe ningún problema para cuantificar Cu^{2+} desde pH 5.0 hasta pH 11.0 con cualquiera de los amortiguadores utilizados en este trabajo.

e) Debido a que la reversibilidad de los complejos Zn-Zincon y Cu-Zincon son muy diferentes (aunque en teoría debería ser similar debido a los valores de K_s de éstos), el segundo puede alterar las concentraciones de Cu^{2+} libre en forma irreversible.

f) El Zincon, Zn-Zincon y Cu-Zincon no son solubles ni en hexano (solvente alifático) ni en tolueno (solvente aromático); el Zincon no atraviesa membranas modelo y no se une a éstas ni a membranas biológicas, por lo que es posible cuantificar Zn^{2+} en sistemas biológicos sin problemas de que el reactivo o el complejo se introduzca a la membrana o se adhiera a ella, situación que podría alterar las lecturas del método.

g) Una forma de utilizar este metalocrómico es acelerando la salida de Zn^{2+} al dializar muestras que contengan dicho ion metálico. Esta metodología no es nueva ni revolucionaria, ya que es común utilizar agentes quelantes para extraer metales de muestras al dializar. Sin embargo, utilizando Zincon es posible

medir inmediatamente la cantidad de Zn^{2+} que se disolvió y cuánto queda en la muestra, por medio de espectrofotometría en uno o dos haces luminosos; o puede extraerse solo Zn^{2+} , Cu^{2+} o Hg^{2+} de muestras que además contengan Ca^{2+} y Mg^{2+} , pero no Fe^{2+} o Mn^{2+} .

El estudio detallado de los metalocromicos, en este caso del Zinco, aparentemente ajeno a la Biología, abre nuevas puertas al estudio de la función de los metales de transición en los organismos y son una vía de acercamiento de dos ciencias que cada día están más interrelacionadas: la Química y la Biología.

REFERENCIAS

- Bell, C. F. (1977) Principles and application of metal chelation. Clarendon Press, Oxford. 147 pp.
- Beyer, W. F. y I. Fridovich (1980) An ultra sensitive colorimetric assay for Manganese. Anal. Biochem. 170, 512-519.
- Burguer, K. (1973) Organic Reagents in Metal Analysis. In Internat. Series Monographs in Analytical Chemistry. Pergamon Press, Oxford. 268 pp.
- Celis, H. (1984) Reconstitucion de la bomba de protones de bacterias fotosintéticas en liposomas. Tesis de Doctorado en Bioquímica. CINVESTAV, IPN. México. 102 pp.
- Celis, H. y I. Romero (1987) The phosphate-pyrophosphate exchange and hydrolytic reactions of Rhodospirillum rubrum: effects of pH and divalent cations. J. Bioenerg. Biomemb. 19, 255-272.
- Chance, B. (1972) Principles of differential spectrophotometry with special reference to the dual wavelength method. Meth. Enzymol. 24V pp. 322-335.
- Clayton, R. W. (1963) Toward isolation of a photochemically reaction center in Ens. sphaeroides. Biochim. Biophys. Acta 75, 312-323.
- Cohen-Bazire, G., W. R. Sistrom y R. Y. Stainer (1957) The kinetic studies of pigment synthesis by non-sulphur purple bacteria. J. Cell Comp. Physiol. 49, 25-68.
- De Kloet, S. R., R. K. A. Van Wermeskerken y V. V. Konigsberg (1961) Studies on protein synthesis by protoplasts of

138-142.

- Levers, S. (1988) Estudio sobre la interacción de la ATPasa mitocondrial y su inhibidor natural Empleo de marcadores fluorescentes. Tesis de Maestría. Fac. Ciencias Químicas, UNAM, México. 80 pp.
- Evans, R. M. y S. M. Hollenberg (1988) Zinc fingers: gilt by association. *Cell* **52**, 1-3.
- Harrison, P. M. y R. J. Hoare (1980) *Metals in Biochemistry*. Chapman and Hall, London. 76 pp.
- Horowitz, C. T. (1988) Is the major part of the Periodic System really inessential for life? *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **2**, 135-144.
- Hunt, J. B., S. H. Neece, H. K. Schachman y A. Ginsburg (1984) Mercurial-promoted Zn^{2+} release from Escherichia coli aspartate transcarbamoylase. *J. Biol. Chem.* **259**, 14793-14803.
- Irving, H. y Williams, R. P. J. (1948) Order of stability of metal complexes. *Nature* **146**, 746-747.
- Jensen, A. y S. V. Jorgensen (1984) Analytical Chemistry applied to metal ions in the environment. In *Metal Ions in Biological Systems*. (S. Helmut Ed.) Vol. 18 Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 5-59.
- Jezorek, J. R. y H. Freiser (1979) 4-(pyridilazo)resorcinol-based continuous detection system for trace levels of metal ions. *Anal. Chem.* **51**, 373-376.
- Kagawa, Y. y E. Racker (1966) Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. IX Reconstitution of

- oligomycin-sensitive triphosphatase. *J. Biol. Chem.* **241**, 2467-2474.
- Koupparis, M. A. y P. I. Anagnostopoulou (1966) Automated flow injection spectrophotometric determination of Zn²⁺ using Zincon: applications to analysis of waters, alloys and insulin formulations. *Analyst* **11**, 1311-1315.
- Lehninger, A. (1975) *Biochemistry*. Worth Publishers, Inc., New York, 1104 pp.
- Lowry, J. R. et al. (1954) Uptake of radiozinc by normal and diabetic rat pancreas. *Science* **119**, 219-220.
- Lowry, D. H., N. J. Rosenberg, A. L. Farr y R. J. Randall (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Martell, A. E. y L. G. Sillen (1971) *Stability constants of metal-ion complexes*. The Chemical Society, London. 865 pp.
- Morris, A. G. (1957) The use of Zincon in absorptiometric determination of Mercury. *Analyst* **82**, 34-37.
- Mooradian, A. D. y J. E. Morley (1987) Micronutrient status in diabetes mellitus. *Amer. J. Clin. Nutr.* **45**, 877-895.
- Ohya, H. y Y. Komai (1988) Zinc uptake of Curtobacterium possessing ω -cyclohexyl fatty acids and zinc-binding activity of its membrane. *FEMS Microbiol. Lett.* **51**, 163-168.
- Olsen, E. D. (1975) *Modern Optical Methods of Analysis*. McGraw Hill, Co., New York. 629 pp.
- Ono, H. y A. Ito (1984) Transport of the sulfite oxidase into intermembrane space of liver mitochondria: characterization of import and processing activities. *J. Biochem.* **95**, 345-

- File, S. H., J. E. Hendrickson, D. J. Gram y G. S. Hammond (1980) *Química Organica* (4ª edición). McGraw Hill Co., Madrid, 1088 pp.
- Rush, R. y J. H. Yoe (1954) Colorimetric determination of Zinc and Copper with 2-carboxy-2'-hidroxy-5'-sulfoformazylbenzene acid. *Anal. Chem.* 26, 1345-1347.
- Sadek, F. S., R. W. Schmidt and C. N. Reilley (1959) Visual EGTA titration of Calcium in the presence of Magnesium. *Talanta* 2, 38-51.
- Sandell, E. B. (1950) Colorimetric determination of traces of metals. 2nd ed. Intersciences Publishers, New York.
- Scarpa, A. (1974) Indicators of free Magnesium in biological systems. *Biochemistry* 13, 2789-2794.
- Scarpa, A., F. J. Brinley y G. Dubyak (1978) Antipyrilazo III, "A middle range" Ca^{2+} metallochromic indicator. *Biochemistry* 17, 1378-1384.
- Scarpa, A. (1979) Measurements of cation transport with metallochromic indicators. *Meth. Enzymol.* 56 pp. 301-336.
- Shibata, S. (1972) In "Chelates in Analytical Chemistry" (H. Flaschka y A. J. Barnard, Ed.) Vol.4 Marcel Dekker, Inc., New York, pp 116-183.
- Smith, A. L. (1967) Preparation, properties and conditions for assay of Mitochondria: Slaughterhouse material, small-scale. *Meth. Enzymol.* 10, New York. pp.81-86.
- Vallee, B. y A. Galdes (1984) *The Metalbiochemistry of Zinc*

- 1966, J. G. Ingram, *Methods in Enzymol.* 56, 309-314.
7. Sore, New York, pp. 333-411.
- Vallee, B. (1986) In Zinc Enzymes Chapter 1. (Bertini et al. Ed) Progress in Inorganic Biochemistry and Biophysics, Birkauser Boston Inc., 640 pp.
- Veillon C. y B. L. Vallee (1978) Atomic spectroscopy in metal analysis of enzymes and other biological material. *Math. Enzymol.* 54, 446-484.
- Weast R. C. Ed. (1968) Handbook of Chemistry and Physics 49th edition. The Chemical Rubber Co., Ohio.
- Williams, R. J. P. (1985) The symbiosis of metal and protein functions. *Eur. J. Biochem.* 150, 231-248.