

*“Lo difícil se hace,
lo imposible se intenta”*

Anónimo

PRUEBA DE BIOLOGÍA

M. García, D. Meseguer y J. Molero

Actividad enzimática. Análisis de alimentos

Con esta tarea se quiere mostrar la relación existente entre el comportamiento químico y la función biológica de las enzimas, en los seres vivos y en numerosos procesos biotecnológicos. Servirá además para hacer una simulación del análisis “cuantitativo” de un alimento, como la leche en polvo, y para comparar los dos métodos utilizados, uno de apreciación subjetiva y otro con más rigor científico.

La acción de la Tripsina, una proteasa producida en el páncreas de los vertebrados, sobre las proteínas de la leche provoca que estas se hidrolicen hasta péptidos o aminoácidos, lo que provoca una clarificación de la disolución al ser estos más solubles que la proteína original.

Basándonos en esta característica podremos llevar a cabo análisis “cuantitativos” de distintas muestras de leche para saber la cantidad o porcentaje de proteínas en ella. La técnica es relativamente simple. Primero habrá que realizar varios ensayos para probar el proceso y determinar la cantidad de enzima necesaria para clarificar, en menos de 5 minutos, una determinada disolución de leche en polvo. Posteriormente habrá que preparar diluciones de leche en polvo con menores concentraciones de proteína y comprobar el tiempo necesario para la clarificación después de la adición de la misma cantidad de enzima; se establecerá la relación entre concentración y tiempo de clarificación mediante una línea gráfica (línea de calibrado) y, por último, se determinará el tiempo necesario para la clarificación de una muestra problema para así poder conocer la cantidad de proteína en ella. La línea de calibrado se obtendrá tanto a través de un método de apreciación subjetiva como de otro con más rigor científico.

Para ello harán falta:

- 6 Vasos de precipitados de 100 mL
- Pipetas y/o jeringuillas de 1 cm³, de 5 cm³ y de 10 cm³ (¡las necesarias!)
- 1 Cronómetro
- 1 Colorímetro
- Disoluciones de leche en polvo que contengan el 1%, 2%, 3%, 4% y 5% de proteína. La más común que encontraremos en supermercados y tiendas especializadas es *Sveltesse* de Nestle, desnatada y sin grasas.

- **Tripsina** (a recibir en el Centro)

ADVERTENCIA: La Tripsina es una proteasa, por tanto, debe usarse protección ocular, evitar la inhalación y lavar inmediatamente cualquier salpicadura en la piel. Ver Ficha de Datos del Producto (adjunta)

- Muestra problema (a recibir en el Centro)

TRABAJO A REALIZAR

Método analítico

Apreciación subjetiva

Hay que ponerse guantes antes de iniciar el trabajo y mantenerlos puestos hasta finalizar los ensayos

a) Preparar 5 disoluciones de leche en polvo (Sveltesse) que contengan el 1%, 2%, 3%, 4% y 5% de proteína. Ver envase.

b) verter 10 cm³ de la disolución más concentrada en los vasos de precipitados de 100 mL que sean necesarios.

c) Preparar una disolución de tripsina al 1% en masa (NO MÁS de 50 g, cada vez que se necesite) y encontrar el volumen de esta disolución que es capaz de clarificar la disolución láctea puesta en los vasos en un tiempo inferior a los 5 minutos. Hay que guardar la disolución de tripsina en lugar frío y sin luz.

Verter la disolución de enzima con rapidez puede provocar salpicaduras y espuma, parece más conveniente agitar vigorosamente o bien utilizar una jeringuilla con aguja para inyectarla en el fondo del vaso antes de poner en marcha el cronómetro. Para tener una idea aproximada del tiempo necesario márquese una cruz grande en un papel y colóquese éste debajo del vaso antes de añadir la disolución de enzima; cuando pueda verse la cruz a simple vista y con cierta nitidez a través de la mezcla líquida se considerará que ha clarificado lo suficiente y se anotará el tiempo transcurrido. Repetir para confirmar.

d) Una vez encontrado el volumen adecuado de la disolución de enzima, repetir el paso anterior con cada una de las disoluciones más diluidas, anotar los tiempos. Si se obtienen resultados anómalos debe procederse de nuevo con una muestra idéntica pero en recipiente bien limpio (no usado con anterioridad a ser posible).

e) Con los resultados obtenidos dibujar una gráfica que relacione los tiempos requeridos para la clarificación con la concentración de proteína en la disolución láctea. Discutir como podrían mejorarse tanto los resultados como el ajuste de la línea.

Con más rigor científico

1. Determinar el volumen que es capaz de admitir la cubeta del colorímetro quedando casi llena.
2. Sabiendo la relación entre los volúmenes de disolución de leche y el de disolución de tripsina utilizados en el método anterior, calcular el volumen de una y otra que habría de poner en la cubeta para casi llenarla.

3. Encender el colorímetro y ajustar la longitud de onda a 560 nm.
4. Utilizar un blanco para ajustar el % de Transmitancia a 100.
5. Poner en otra cubeta el volumen calculado de la disolución de leche al 1 % en proteína. Mediante una jeringuilla con aguja hipodérmica añadir el volumen de disolución de Tripsina (procurando hacerlo sobre la pared interior de la cubeta, dentro del líquido y con cierta rapidez). Poner la cubeta inmediatamente en el colorímetro e iniciar el cronómetro para medir el tiempo que tarda en alcanzarse un valor constante de % T. Anotar dicho tiempo. Repetir el procedimiento para la disolución del 5 % en proteína
6. Realizar ahora el ensayo para las disoluciones de leche en polvo del 2 %, 3 %, y 4 % en proteína, controlando, en este caso y para cada una de ellas, la variación que sufre el % T con respecto al tiempo, por ejemplo cada 10 s, hasta alcanzar el valor constante anteriormente indicado
7. Anotar en las correspondientes tablas estos valores.
8. En otra tabla relacionar la concentración de la disolución con el tiempo que tarda en alcanzarse un valor constante de % T.
9. Dibujar la gráfica que relaciona los tiempos requeridos para la constancia del % T con la concentración de la proteína en la disolución láctea

Análisis de la muestra problema

Preparar, con todo el contenido de la bolsita etiquetada “LP” (la muestra problema), una disolución al 15 % en masa.

Repetir el punto 5 para esta disolución y anotar el tiempo que le corresponde hasta constancia del valor de transmitancia.

Poner 10 cm³ de esta disolución en un vaso de precipitados de 100 mL, añadir el correspondiente volumen de disolución de Tripsina y seguir el paso c). Anotar el tiempo que tarda en verse la cruz.

¿Cuál es la concentración de proteína en la muestra problema según cada método?

En un mismo sistema de ejes dibujar las gráficas que relacionan la variación del % T con el tiempo (según los datos obtenidos y registrados en la tablas) correspondientes a las disoluciones de 2 %, 3 % y 4 % de proteína en la disolución de leche. Discutir, interpretar y comparar las líneas.

Completar la memoria con suficientes fotografías y vídeos (**no olvidar bajar la resolución a la hora de mandar el fichero o comprimir éste**).

PRUEBA DE FÍSICA

A. Cortel, E. Garralaga, J. Gil

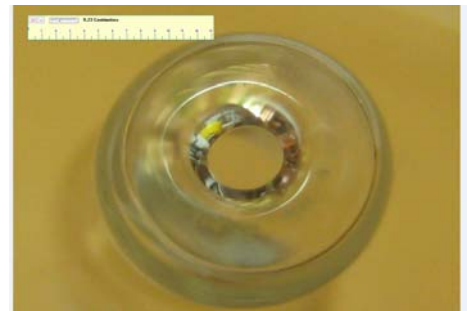
Física en el fregadero



Las fuerzas entre las moléculas de un líquido provocan una atracción que es responsable de la formación de gotas y de que su superficie actúe como una membrana. Esta fuerza se denomina tensión superficial. Para detalles puede consultarse, por ejemplo, la excelente página:

<http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/fluidos/tension/introduccion/introduccion.htm>

El trabajo a realizar por el equipo consiste en analizar en qué modo la tensión superficial de un líquido (agua destilada) depende de la concentración de un detergente (Fairy verde). Dado que el tamaño de las gotas que se forman con un cuentagotas (que supondremos en cada caso iguales y esféricas) está relacionado con la tensión superficial del líquido, se determinará de qué modo varía el volumen de las gotas al aumentar la concentración de detergente.



Macrofotografía de un cuentagotas realizada con una cámara Canon Ixus 70

Tareas:

Presentar en una tabla las medidas realizadas.

Representar gráficamente el volumen de una gota

frente a la concentración de detergente. Por razones de uniformidad exprese ésta en g/L

Buscar una función aproximada que ajuste los puntos experimentales.

Aplicando la ley de Tate y usando agua destilada como líquido patrón determinar la tensión superficial de las distintas disoluciones (consultese la página Web citada).

Idear un procedimiento para medir el radio interior del cuentagotas¹ y, utilizando este dato, determinar el coeficiente de contracción.

Presentar una tabla Tensión superficial-concentración y representar gráficamente los datos de esta tabla.

¹ Puede utilizarse, por ejemplo, una fotografía digital del cuentagotas como la de este documento y realizar las medidas con la utilidad gratuita JRuler de Spadix Software o Paint de Microsoft.

PRUEBA DE QUÍMICA

M. García, D. Meseguer y J. Molero

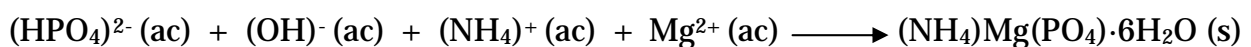
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN FÓSFORO, COMO P₂O₅ SOLUBLE EN AGUA, DE UN FERTILIZANTE COMERCIAL

(La experiencia es una adaptación de la que aparece descrita en el Journal of Chemical Education, Mayo 1993, pag. 410).

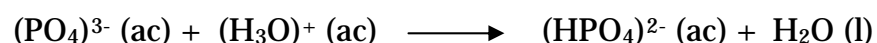
Al igual que los animales, las plantas necesitan para sus procesos vitales una serie de elementos a los que denominamos *nutrientes*. Los nutrientes esenciales que contienen los fertilizantes (el alimento de las plantas) son el nitrógeno, el fósforo (como P₂O₅) y el potasio (como K₂O).

Cualquier fertilizante común para plantas que encontremos en grandes almacenes y en tiendas especializadas viene rotulado o lleva una etiqueta con el porcentaje en el que se encuentran las citadas sustancias. Así, si aparece la expresión 15-30-15 nos indicará que contiene un 15 % de nitrógeno, un 30 % de P₂O₅ y un 15 % de K₂O; lo que representa un 15 % de nitrógeno, un 13 % de fósforo y un 12,5 % de potasio.

El análisis gravimétrico del fósforo que hay que realizar requiere la precipitación de este elemento como tetraoxofosfato(V) de amonio y magnesio-6-agua, (NH₄)Mg(PO₄)·6H₂O, de una disolución que contenga el ion monohidrogenotetraoxofosfato(V), (HPO₄)²⁻, el ion amonio, (NH₄)⁺ y el ion magnesio, Mg²⁺. La ecuación química correspondiente a la reacción es:



El sólido (precipitado) se forma sólo si la disolución de la muestra de fertilizante, a la que se añade sulfato de magnesio-7-agua, Mg(SO₄)·7H₂O, se neutraliza lentamente con una disolución de hidróxido de amonio. Si en la mezcla final hubiese iones oxonio estos reaccionarían con los iones tetraoxofosfato(V), (PO₄)³⁻, para formar iones monohidrogenotetraoxofosfato(V), (HPO₄)²⁻, lo impediría la formación del tetraoxofosfato(V) de amonio y magnesio-6-agua sólido



El ion hidróxido necesario para la neutralización debe provenir de una base débil, como el hidróxido de amonio, (NH₄)(OH); si se utilizara una base fuerte, como el hidróxido de sodio, Na(OH), podría producirse la precipitación del hidróxido de magnesio, Mg(OH)₂, en lugar de la de la sal doble mencionada.

Procedimiento

Determinar, con la precisión del mg, la masa de una muestra de fertilizante para plantas (unos 10 g, aproximadamente). En supermercados y tiendas especializadas es fácil encontrarlos en forma líquida, como COMPO Fertilizante universal, de COMPO Ibérica S.L.,

Disolver la muestra en 150 mL de agua destilada.

Algunos fertilizantes, aún cuando lleven la indicación de que son “solubles en agua”, puede que no se solubilizan totalmente; si esto ocurre, filtrar la mezcla para conseguir una verdadera disolución.

Llevar la disolución resultante a un erlenmeyer de 500 mL y añadir, en la proporción de 5 mL por cada 100 mg de P_2O_5 que tenga la muestra de fertilizante (ver la etiqueta del que se ha comprado), una disolución 0,4 M de sulfato de magnesio-7-agua previamente preparada.

Añadir a la disolución resultante unas cuantas gotas de fenoftaleína y a continuación, lentamente, volúmenes de una disolución 1 M de hidróxido de amonio, agitando constantemente y hasta que se forme un sólido blanco y permanezca el cambio de color del indicador. Dejar que se produzca la sedimentación del sólido durante al menos unos 15 minutos.

De no formarse el precipitado habría que repetir la experiencia.

Utilizando un embudo Büchner y papel de filtro, previamente pesado, filtrar la mezcla ayudándose de vacío. Lavar el erlenmeyer con pequeños volúmenes (50 mL) de propan-2-ol (isopropanol) al 70 % de forma que se recoja todo el sólido y se laven bien las paredes del erlenmeyer y embudo. Dejar secar el filtrado hasta peso constante en estufa a 40 °C. Anotar los distintos pesos a lo largo del tiempo.

Con los datos obtenidos calcular el porcentaje de fósforo (como P_2O_5) en el fertilizante.

Repetir la experiencia y dejar que el sólido sedimente durante varias horas en lugar de 15 minutos. ¿Hay diferencia con los valores encontrados anteriormente?

¿Cuál es el porcentaje de error en cada caso?

Repetir el método que se considere más preciso para la muestra problema de abono que se facilita (bolsita etiquetada “A”). Añádase la misma cantidad de disolución de sulfato de magnesio-7-agua 0,4 M. ¿Cuál es el contenido en P_2O_5 , soluble en agua, de este abono?

Hacer un informe (adjuntar fotografías de las etapas más destacadas) en el que se describan detalladamente los pasos seguidos, los cálculos realizados y los datos obtenidos. Resumir éstos últimos en una tabla.

FÍSICA

Criterios de corrección:

Cada uno de los apartados tendrá la puntuación máxima siguiente:

1. Procedimiento: 2 puntos
2. Elección de la concentración adecuada: 1 punto
3. Al menos 8 medidas: 1 punto
4. Claridad y calidad de las tablas: 1 punto
5. Claridad y calidad de las gráficas: 2 puntos
6. Ajuste de: 1 punto
7. Precisión en la medida del radio: 1 punto
8. Análisis de los resultados: 1 punto
9. Cálculo errores: 1 punto
10. Impresión general (presentación, bibliografía consultada, conclusiones, ...): 1 punto

Para resultados significativos las concentraciones deben ser, como máximo, de 10 g/L

Al menos 8 disoluciones y 50 gotas por medida.

En claridad y calidad: unidades, rótulos, etc

Medir con precisión de *pixel* pues se les da la herramienta.

QUÍMICA

Criterios de corrección:

Utilizan un fertilizante conocido líquido o sólido?	2
Utilizan una balanza con la precisión adecuada?	2
Dan cálculos y preparan correctamente las disoluciones de sulfato de magnesio e hidróxido de amonio?	12
Dan cálculos correctos para la preparación de la disolución de alcohol?	3
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces?	6
Tienen diferencias al sedimentar más tiempo?	3
Calculan bien el porcentaje de error en cada caso?	6
Hallan el contenido de la muestra problema?	10
Repiten la determinación, ¿cuántas veces?	6
Discuten sus resultados?	4
Dan abundante documentación gráfica?	4
Recogen en una tabla todos los datos obtenidos?	4
Presentación y orden?	8

BIOLOGÍA

Criterios de corrección:

Dan los cálculos para preparar las disoluciones de leche en polvo y tripsina? Corresponden? (6)
Encuentran el volumen de disol. Tripsina para clarificar la disolución al 5% en menos de 5 min.? 4-6 mL (5)
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces? (2)
Dan la tabla de tiempos para la clarificación de las 5 disoluciones? Es coherente? (3)
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces? (2)
Dan la gráfica? Está bien dibujada (ejes, escala, etc.)? Corresponde? (6)
Calculan adecuadamente el volumen de la cubeta y relacionan bien disol. leche con disol. de tripsina? (2)
Utilizan como blanco en el colorímetro una muestra de la disolución de tripsina? (2)
Encuentran la constancia en el tiempo para las disoluciones de 1 % y 5% en el colorímetro? (4)
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces? (2)
Dan la tabla de %T en función del tiempo para las disoluciones de 2% 3% y 4%? (8)
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces? (2)
Dibujan las tres gráficas en un mismo sistema de ejes?, Están bien dibujadas? Corresponden? (8)
Discuten las gráficas e interpretan resultados a partir de ellas? (4)
Dan los cálculos para la preparación de la muestra problema al 15%? (3)
Encuentran el tiempo necesario para clarificación en método subjetivo y con el colorímetro? (6)
Repiten la experiencia, ¿cuántas veces? (2)
Dan los valores de concentración en ambos casos? (5)
Indican mejoras? (2)
Discuten sus resultados? (4)
Dan abundante documentación gráfica? (7)
Presentación y orden? (5)