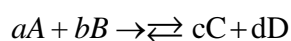


DISOLUCIONES Y AMINOÁCIDOS

EQUILIBRIO QUIMICO

Las reacciones reversibles son aquellas en las que los reactivos no se transforman totalmente en productos, ya que éstos vuelven a formar los reactivos, dando lugar así a un proceso de doble sentido que desemboca en equilibrio químico.

Una reacción química reversible se representa con la siguiente expresión:



De forma que al aumentar la concentración de A o B la reacción se desplaza hacia la derecha y si aumentamos la concentración de C y D se desplaza a la izquierda.

En equilibrio, la reacción tiene una constante de equilibrio representada como:

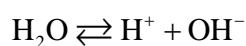
$$K_{\text{eq}} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

La cual es característica de cada reacción a una temperatura determinada.

DISOCIACION DEL AGUA. CONCEPTO DE pH

Disociación del agua

El agua se comporta como una sustancia anfótera, es decir como ácido o base, capaz de disociarse y originar tanto H⁺ como OH⁻.



Como toda reacción reversible, su constante de equilibrio viene dada por:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

No obstante, como la concentración del agua no disociada es muy grande y permanece prácticamente inalterada, su valor se incluye en la constante, que pasa a llamarse producto iónico del agua (K_w):

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}, \text{ siendo en solución neutra } [H^+] = [OH^-] = 10^{-7}$$

Como K_w es constante, al aumentar la concentración de H⁺ la concentración de OH⁻ tiene que bajar y viceversa ya que el producto de los dos SIEMPRE nos da K_w.

Concepto de pH

Para simplificar el manejo de magnitudes exponenciales se ha establecido el concepto de pH como el logaritmo de la concentración de iones H⁺, con el signo cambiado:

$$\boxed{\text{pH} = -\log[\text{H}^+]}$$

Se mide en una escala de 0 a 7 (>7 pH básico, <7 pH ácido e =7 neutro).

De forma análoga, el pOH es la concentración de iones OH⁻ y se calcula como:

$$\boxed{\text{pOH} = -\log[\text{OH}^-]}$$

La relación entre ambos es:

$$\boxed{\text{pOH} + \text{pH} = 14}$$

NOTA: En disoluciones con ácidos y bases la cantidad de iones obtenidos por disociación del agua se desprecia por ser un valor tan bajo, pero si la constante de equilibrio (K_{eq}) del soluto fuera menor o igual a K_w SI habría que tener en cuenta la K_w.

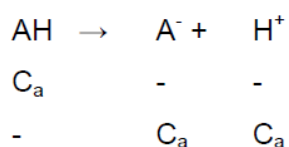
IONIZACIÓN DE ÁCIDOS Y BASES. HIDRÓLISIS

El comportamiento en disolución de ácidos y bases está determinado por su grado de disociación:

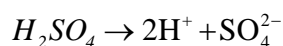
Ácidos fuertes

Los ácidos y bases fuertes se disocian por completo, es decir, la totalidad de los iones H⁺ u OH⁻ están en forma libre, y su concentración será igual a la de la concentración inicial de ácidos mientras que la concentración de moléculas son disociar del ácido es prácticamente cero.

Para un ácido fuerte:



Por ejemplo, el ácido sulfúrico en disolución se disocia completamente según la ecuación.

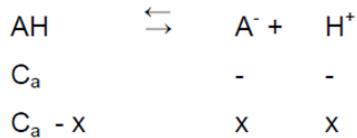


Así, en una disolución 10⁻² M de H₂SO₄, por ejemplo, la concentración de H⁺ es 2 • 10⁻² M y la de SO₄²⁻, ya que cada molécula de ácido sulfúrico libera dos H⁺.

Algunos de los ácidos fuertes más usuales son HCl, HNO₃, H₂SO₄, ETC

Ácidos débiles

Los ácidos y bases débiles están parcialmente disociados, quedando una proporción del ácido o base sin disociar. Así, partiendo de una concentración inicial C_a de un ácido débil AH



Aplicando la ley de acción de masas tenemos que:

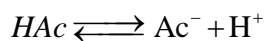
$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]} = \frac{x^2}{c_a - x}$$

Acidos débiles comunes son Acético, Nitroso, Formico, Benzoico

SISTEMAS AMORTIGUADORES O TAMPON

Los sistemas amortiguadores o tampón son aquellas que mantienen un pH constante a pesar de la adición de pequeñas cantidades de ácidos o bases a la disolución. Están formadas por un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado.

Por ejemplo, en una disolución amortiguadora formada por ácido acético y acetato de sódico, el ácido estará parcialmente disociado:



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{Ac}^-]}{[\text{AH}]}$$

El acetato sódico, como todas las sales está completamente disociado, y por lo tanto, el ión acetato (Ac^-) procedente de esta sal desplazará el equilibrio de disociación del ácido hacia la izquierda, haciendo que disminuya la $[\text{H}^+]$.

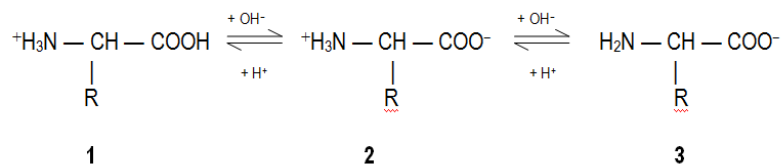
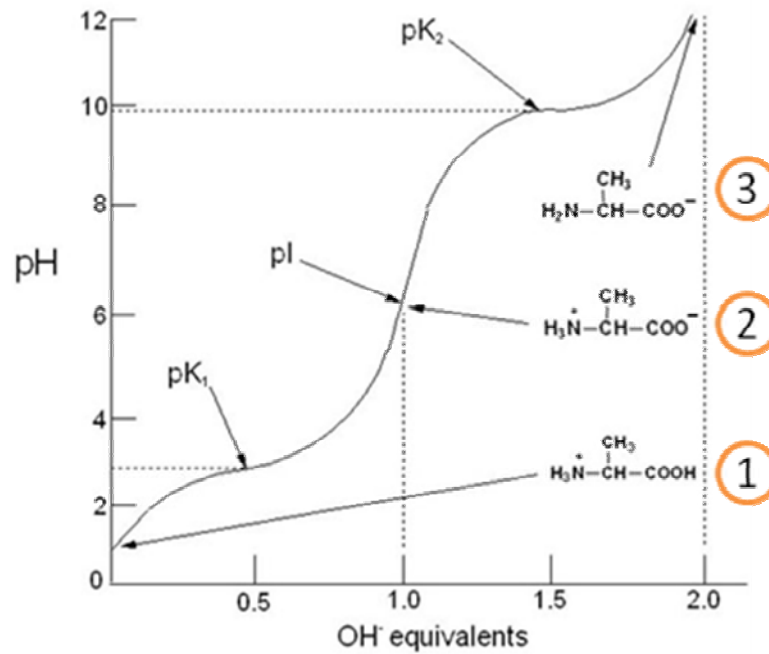
A partir de la ecuación anterior podemos despejar $[\text{H}^+]$ y tomar logaritmos, quedando la ecuación de Henderson-Hasselbalch que nos permite calcular el pH de una mezcla amortiguadora

$$\text{pH} = \text{p}K_{ac} + \log \frac{[\text{aceptor/base}]}{[\text{dador/acido}]}$$

$$\text{p}K = -\log K_{ac}$$

VALORACION DE AMINOACIDOS

Al ser una sustancia anfótera, un Aa se puede comportar como ácido o como base según el pH del medio de forma que tendrá la siguiente curva de valoración.

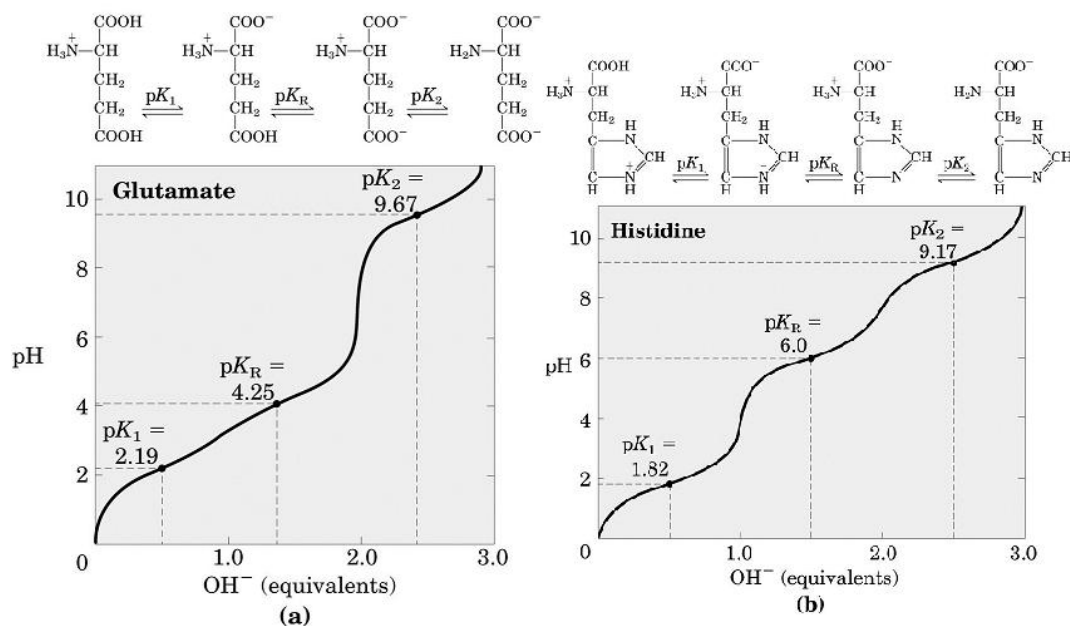


En pK₁ el 50% del Aa está en la forma 1 y el otro 50% en la forma 2

El PI (punto isoeléctrico) de un Aa es el valor del pH en el cual el Aa tiene carga neta neutra. En el PI el 100% del Aa está en la forma 2. El PI de un Aa se calcula como:

$$\boxed{\text{pI} = \frac{\text{pk}_1 + \text{pk}_2}{2}}$$

Los Aa básicos (Lisina, Arginina, histidina) y ácidos (ac glutámico y ac aspártico) tienen tres pKs.



Y el pI se calcula como la media de los pKs que rodean a la forma isoeléctrica. Es decir, en el Glu el pI es la media del pK₁ y pK_R, y en la Hist el pI es la media del pK_R, y pK₂

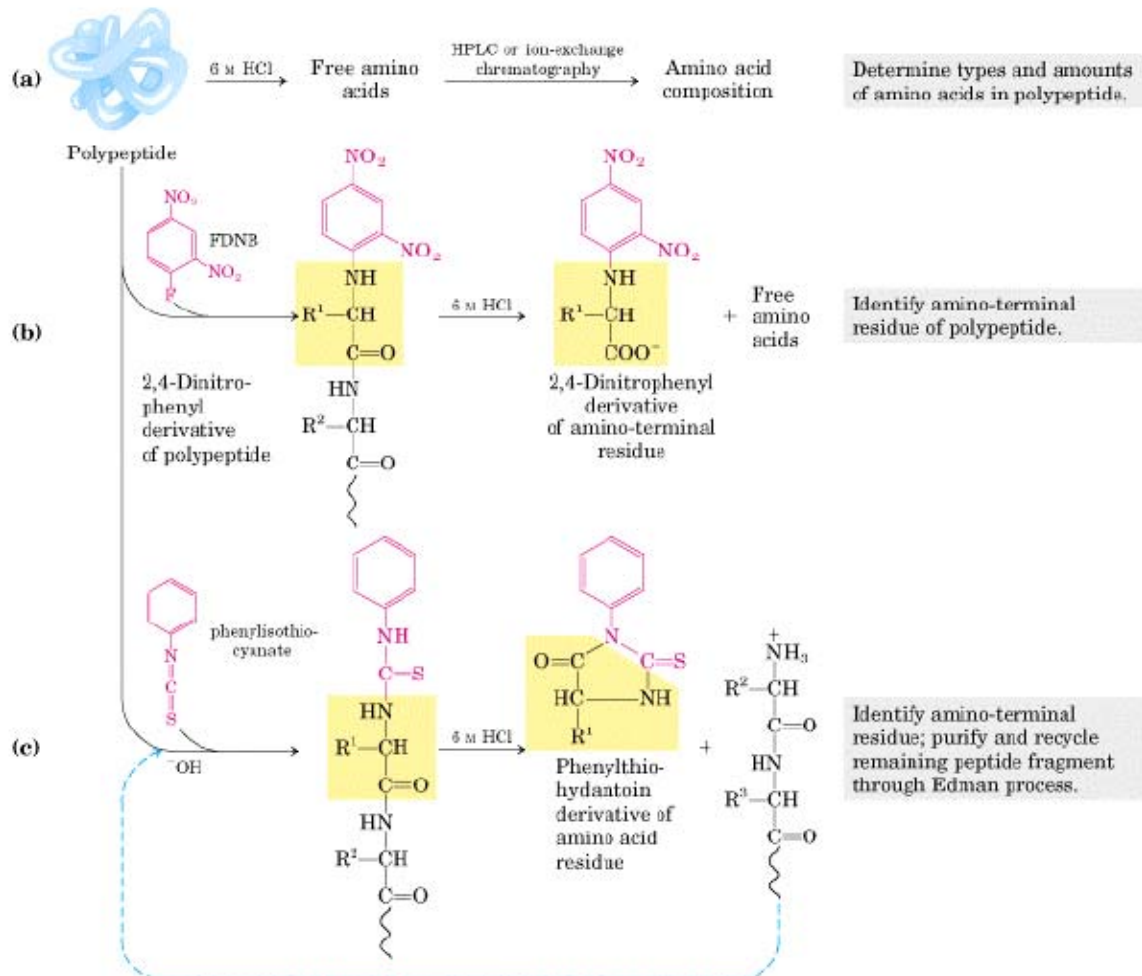
Aminoácido	Tipo	Abreviatura	Letra	pK _{a1} (-COOH)	pK _{a2} (-NH ₂)	pK _{aR} (R)	pI
Glicina	Neutros apolares	GLI	G	2,34	9,78		6,06
Alanina		ALA	A	2,35	9,69		6,02
Valina		VAL	V	2,32	9,62		5,97
Leucina		LEU	L	2,36	9,64		6,00
Isoleucina		ILE	I	2,36	9,68		6,02
Metionina		MET	M	2,28	9,21		5,75
Prolina		PRO	P	1,99	10,60		6,30
Fenilalanina	Neutros aromáticos	PHE	F	1,83	9,29		5,53
Tirosina		TRY	Y	2,20	9,11	10,07	5,65
Triptófano		TRP	W	2,38	9,39		5,89
Serina	Neutros polares	SER	S	2,21	9,15		5,68
Cisteína		CYS	C	1,96	10,28	8,18	5,07
Treonina		TRE	T	2,71	9,62		6,16
Asparagina		ASG	N	2,02	8,80		5,41
Glutamina	GLN	Q	2,17	9,13		5,65	
Ácido aspártico	Ácidos	ASP	D	2,09	9,82	3,86	2,97
Ácido glutámico		GLU	E	2,19	9,67	4,25	3,22
Lisina	Básicos	LYS	K	2,18	8,95	10,53	9,74
Arginina		ARG	R	2,17	9,04	12,48	10,76
Histidina		HIS	H	1,82	9,17	6,00	7,58

SECUENCIACIÓN PÉPTIDOS

La determinación de la secuencia de una proteína puede involucrar diversos procesos:

- Determinación de la composición del péptido por hidrólisis total y posterior análisis cromatográfico. La determinación de la composición del péptido se realiza por hidrólisis total por HCl y por cromatografía se separan y determinan cuántos y cuáles son los aminoácidos que forman la cadena.

- Determinación del extremo N-terminal Mediante el uso de 2,4-dinitrofluorobenceno (FDNB) o con fenil isotiocianato (Degradación de Edman:) que se unen selectivamente al primer aminoácido.



Determinación de la secuencia de un péptido. Hidrólisis total de la proteína. (a). Determinación del primer aminoácido utilizando 2,4-dinitrofluorobenceno (b) o fenil isotiocianato (c). Este último método también se conoce como *degradación de Edman* y permite la secuenciación del péptido.

- Determinación del resto C-terminal mediante Hidracina
- Fragmentación por hidrólisis parcial es necesaria porque no pueden secuenciarse péptidos con más de 20 o 30 aminoácidos. Se realiza con proteasas y reactivos específicos

Carboxipeptidasa B- Libera Arg o Lys del C-terminal

Tripsina: Corta detrás de Lys o Arg

Quimotripsina: detrás de Phe, Trp o Tyr

Proteasas V8: Detrás de Asp o Glu

Trombina: Detrás de Arg

Termolisina: Delante de Leu, Ile, val, Met

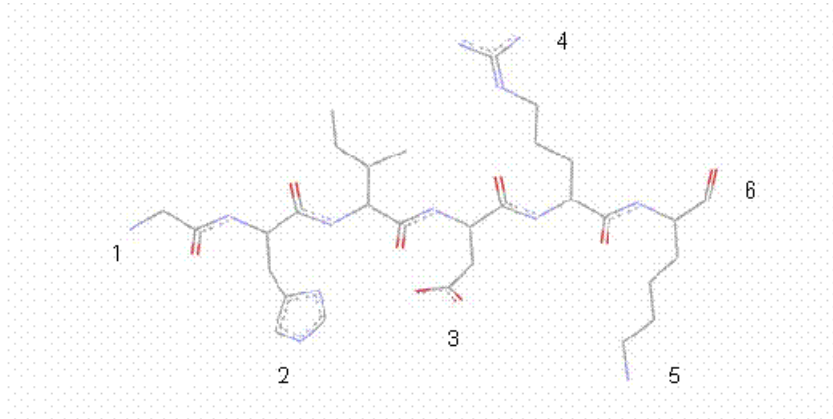
Carboxipeptidasa A: Delante de C-terminal

Bromuro de cianógeno (BrCN): Detrás de Met

La pepsina: Corta detrás de Phe, Trp, Tyr

Cómo determinar el PI de un polipéptido?

Supón el péptido Gly-His-Ile-Asp-Arg-Lys. Para determinar el pI escribimos la fórmula desarrollada del oligopéptido con los grupos funcionales que tienen comportamiento ácido-base



En este oligopéptido tenemos:

- Alfa amino de la Gly, $pK = 9.58$
- Imidazol de la His, $pK = 6.04$
- Beta carboxilo del Asp, $pK = 3.71$
- Guanidinio de la Arg, $pK = 12.10$
- Epsilon Amino de la Lys, $pK = 10.67$
- Carboxilo terminal de la Lys, $pK = 2.9$

Una vez identificados estos grupos debemos escribir todas las formas iónicas del oligopéptido. De esta forma tenemos:



El PI de este oligopéptido estará entre K1 y K5, ya que es entre estos pK donde encontramos la forma neutra del oligopéptido.

$$PI = (pK1 + pK5)/2 = 10.25$$

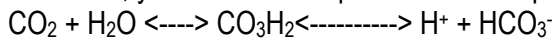
PROBLEMAS

1. Sabiendo que el punto isoelectrico de la alanina es 6, que fórmula tendrá en una disolución 1 μM de HCl.

Solución: En la forma II: $\text{H}_3\text{N}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{COO}^-$

2. ¿Por qué el aumento de la concentración de CO_2 en plasma produce acidosis (aumento de acidez)

Solución: El CO_2 en disolución y en presencia de anhidrasa carbónica se convierte en carbónico, y este se disocia parcialmente en protones y HCO_3^- según la reacción:



Si aumenta el CO_2 la ecuación se desplaza hacia la izda

3. Calcule el pH de a) una disolución de HCl 10^{-2} M; b) el pH de una disolución de NaOH 10^{-4} M.

Solución: Para el cálculo del pH y pOH debemos saber la $[\text{H}^+]$. La correspondiente a la disociación del agua es 10^{-7} , que es despreciable frente a las concentraciones dadas, por lo que a. $\text{pH} = -\log[10^{-2}] = 2$; b. $\text{pH} = 14 - \text{pOH} = 10$. Si $[\text{H}^+]$ procedentes del ácido estuviesen cercanos a la escala de 10^{-7} habría que sumar las dos

4. Se mezclan dos disoluciones de 2M ácido acético y 3M de acetato potásico, sabiendo que la pK acético= 4.75, calcular el pH de la disolución.

Solución: 4,92

5. Por qué al añadir una pequeña cantidad de ácido en suero fisiológico hay un cambio brusco del pH y sin embargo al hacerlo en plasma sanguíneo el pH sufre poca variación.

Solución: El plasma sanguíneo contiene sistemas amortiguadores como proteínas, el también bicarbonato o el fosfato.

6. * Cuál sería la concentración de COO^- y la de NH_3^+ en una disolución de 0,3 M de metionina, (a) a pH 7,5; y (b) a pH 9,0?. ($\text{pK}_1 = 2$; $\text{pK}_2 = 9$)

Solución: a) $[\text{COO}^-] = 0,3$ M $[\text{NH}_3^+] = 0,291$ M; b) $[\text{COO}^-] = 0,3$ M $[\text{NH}_3^+] = 0,15$ M.

7. Hallar el punto isoelectrico (pI) de los siguientes aminoácidos: (a) Glicina ($\text{pK}_1 = 2,34$ $\text{pK}_2 = 9,6$); (b) Serina ($\text{pK}_1 = 2,1$ $\text{pK}_2 = 9,2$); (c) Glutámico ($\text{pK}_1 = 2,1$ $\text{pK}_2 = 4,1$ $\text{pK}_3 = 9,5$); y (d) Lisina ($\text{pK}_1 = 2,2$ $\text{pK}_2 = 9,7$ $\text{pK}_3 = 10,8$).

Solución: a) 5,97 b) 5,65 c) 3,1 d) 10,25

8. * Si estuviera tratando de separar Arg e His mediante cromatografía de intercambio catiónico, ¿tamponaría la disolución a pH 4, 9 o 12?. ¿Qué aminoácido saldría antes?. ($\text{pK}_{\text{COOH}} = 2$; $\text{pK}_{\text{NH}_3^+} = 9$ $\text{pK}_{\text{R-His}} = 6$; $\text{pK}_{\text{R-Arg}} = 12$)

Solución: $\text{pH} = 9$. La Histidina