

PRÁCTICA 1

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES ÁCIDO-BASE DE LOS AMINOÁCIDOS

Objetivos

- Aprender a medir el pH de una disolución.
- Preparación de tampones. Cálculo teórico y preparación práctica.
- Conocer la estructura de los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas. Diferenciar los isómeros L y D y los distintos estados de ionización, desarrollando sus estructuras en el plano y en tres dimensiones, utilizando modelos moleculares de bolas y varillas.
- Estudio experimental de las propiedades ácido-base de los aminoácidos.

Día 1. Explicación y propuesta de experimentos y ejercicios.

Día 2. Preparación de un tampón. Titulación de un aminoácido

Día 3. Estructura de los aminoácidos. Discusión de resultados.

1. Medida del pH de una disolución

El pH metro es un sensor electroquímico que sirve para medir el pH de una disolución. Consta de dos electrodos, uno de vidrio y otro de calomelanos (cloruro de mercurio). Al medir el pH se mide la diferencia de potencial entre dos soluciones separadas por una fina membrana de vidrio. El electrodo de vidrio tiene un bulbo sensible, que se llena con HCl saturado con cloruro de plata. El potencial dentro de este electrodo es constante (pH 7), de manera que la medida va a depender solamente de la concentración de protones de la solución exterior. El alambre que se sumerge al interior permite conducir el potencial hasta un amplificador.



Figura 1. pHmetro de laboratorio.

Calibración del pHmetro

El electrodo de vidrio debe calibrarse para asegurar su precisión. Se utilizan buffers de calibrado, de pH conocido.

Calibrar el pHmetro con los tampones pH 7,02 y pH 4, siguiendo las instrucciones del profesor/a.

Precauciones

- El electrodo del pHmetro se conserva siempre sumergido en la solución de conservación (KCl 3M).
- Lavar y secar el electrodo cada vez que se cambia la solución en la que se sumerge.
- No debe dejarse el electrodo en seco más de 5 minutos.
- El bulbo del electrodo debe quedar sumergido completamente y no tocar las paredes o el fondo del vaso.

2. Preparación de soluciones tampón

Un tampón está compuesto por un ácido débil y su base conjugada. El pH del tampón depende de las proporciones de ácido y base. La ecuación de Henderson-Hasselbalch relaciona el pH con el pK_a del ácido y las concentraciones de ácido y base:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log [\text{base}] / [\text{ácido}]$$

Problema. Partiendo de soluciones 0,1 M de ácido y base, calcular los volúmenes que tienen que mezclarse para preparar los siguientes tampones:

50 ml de tampón fosfato sódico 0,1 M pH 7,68 (pK_a = 7,2).

50 ml de tampón acetato sódico 0,1 M pH 5,45 (pK_a=4,75).

3.2.- Preparar los tampones según los cálculos anteriores: para cada tampón, medir con la probeta los volúmenes calculados de ácido y base, mezclarlos en un vaso de precipitados, agitar y medir el pH en el pHmetro.

3.3.- Comparar los valores de pH teóricos con los obtenidos experimentalmente.

3. Titulación de una solución de un aminoácido

Los aminoácidos son compuestos anfóteros, es decir, que en solución acuosa se comportan como ácidos o como bases, dependiendo del pH de la solución. Los aminoácidos poseen dos grupos ionizables (amino y carboxilo). El punto isoeléctrico es el valor medio de los pK_as de estos dos grupos. Los aminoácidos de carácter ácido (aspártico, glutámico) o básico (histidina, arginina, lisina, triptófano) poseen un tercer grupo ionizable, en la cadena lateral. Esto influye en su punto isoeléctrico.

Partiendo de un aminoácido en solución a pH extremo (básico), vamos añadiendo HCl 1M y midiendo el pH a intervalos hasta llegar a pH 1,5. Representando los valores de pH obtenidos frente al volumen de ácido añadido obtenemos la curva de titulación, que nos permite conocer los pK_as de los grupos ionizables y el punto isoeléctrico del aminoácido.

Procedimiento

- Lavar la bureta con agua destilada. Llenarla con HCl 1 M hasta el cero de la bureta.
- Añadir a un vaso de precipitados pequeño, 30 ml de la solución de aminoácido. Medir el pH inicial de la solución.
- Llevar a cabo la titulación añadiendo HCl desde la bureta en fracciones de 0,5 ml. Agitar con una varilla de vidrio después de cada adición de HCl.
- Anotar en una tabla el pH y el volumen de ácido correspondiente. Añadir ácido hasta llegar a pH 1,5 aproximadamente.

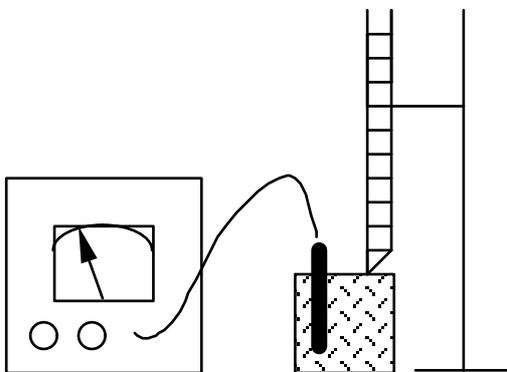
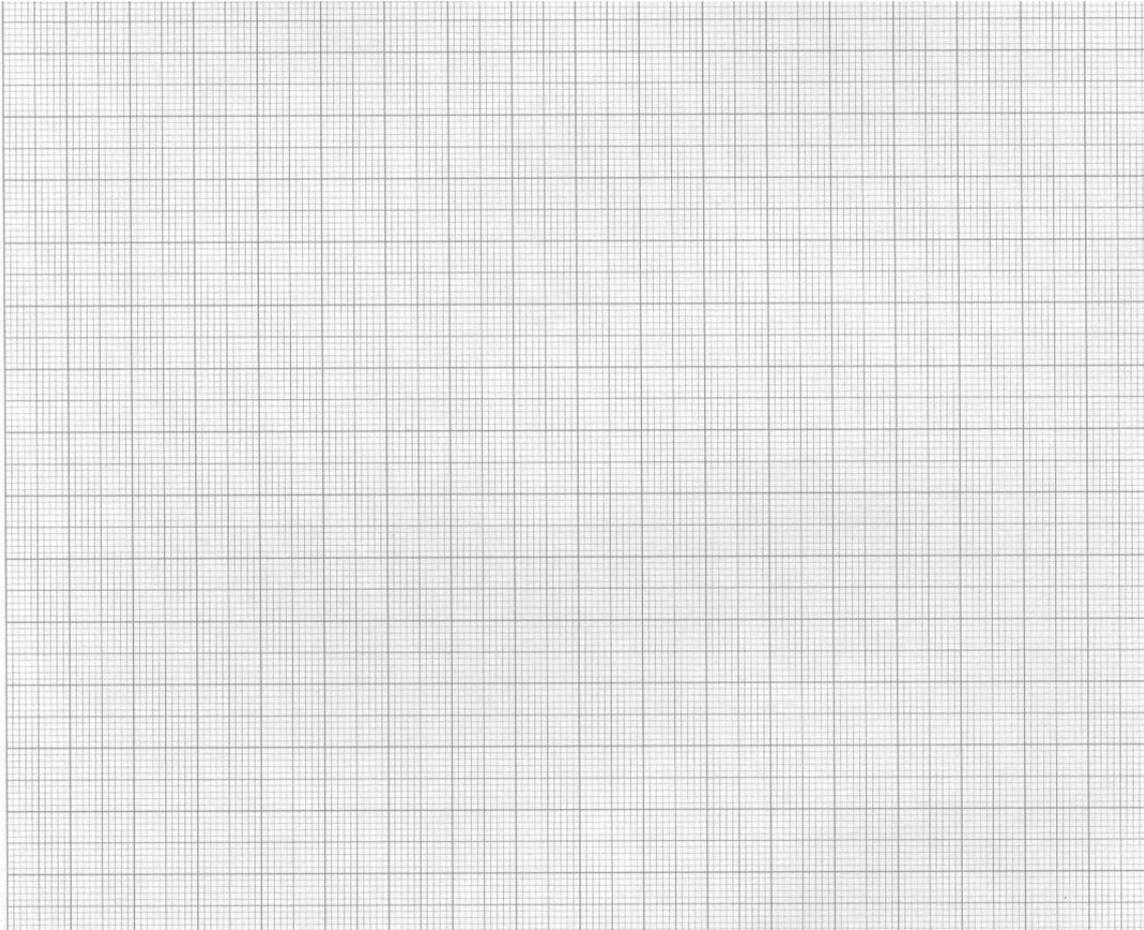


Figura 2. Esquema de la titulación de una solución.

Curva de titulación de la glicina:

pH _____ **ml HCl**



Resultados

1. Representar los valores de pH (en el eje de ordenadas) frente al volumen de ácido añadido (en el eje de abscisas) en la titulación del aminoácido.
2. A partir de la representación gráfica, obtener los valores aproximados de los pKa de los grupos ionizables del aminoácido y su punto isoeléctrico (pI).
3. Indicar qué pKa corresponde al grupo amino y cual al carboxílico.
4. Escribir las formas de disociación de la glicina (las estructuras) e indicar qué carga presentará el aminoácido al pH inicial de la titulación, al pH igual al pI y al pH final.

4. Estructura de biomoléculas (aminoácidos y péptidos).

Objetivos

- Conocer la estructura tridimensional de aminoácidos y péptidos.

Se utilizarán los modelos moleculares de bolas (elementos) y varillas (enlaces).

<u>Elementos</u>		<u>Color</u>
Hidrógeno	H	BLANCO
Carbono	C	NEGRO
Nitrógeno	N	AZUL
Oxígeno	O	ROJO
Azufre	S	AMARILLO
Fósforo	P	PÚRPURA

Longitudes de enlace

En la escala que se utiliza 100 picómetros equivalen a 3 cm.

C - H, O - H, N - H, S - H	2.0 cm	_____
C = O	2.5 cm	_____
C = C, S - C, P - O	3.0 cm	_____
C - C, C - N, C - O	3.5 cm	_____

Estructura de aminoácidos y péptidos

Formas D o L

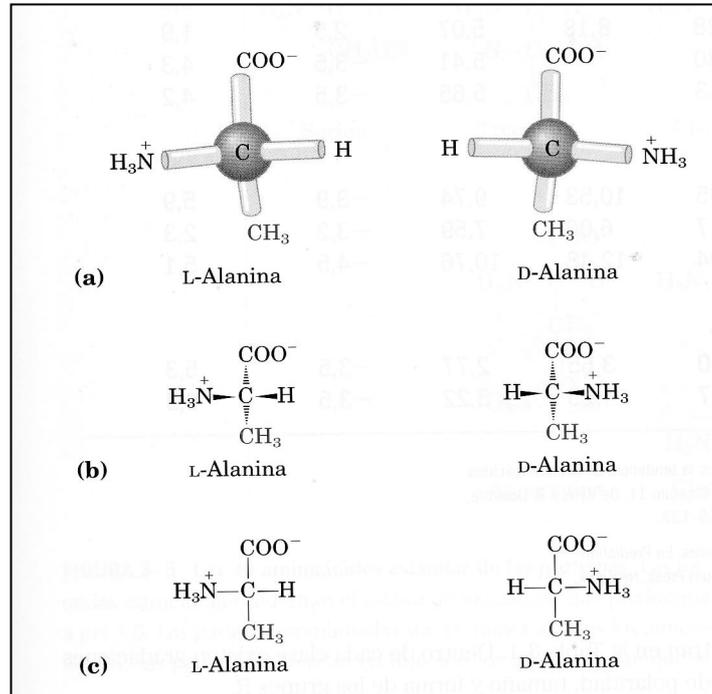
Busca el C α asimétrico, con el H orientado hacia ti.

Mira el orden de los sustituyentes en el sentido de las agujas del reloj:

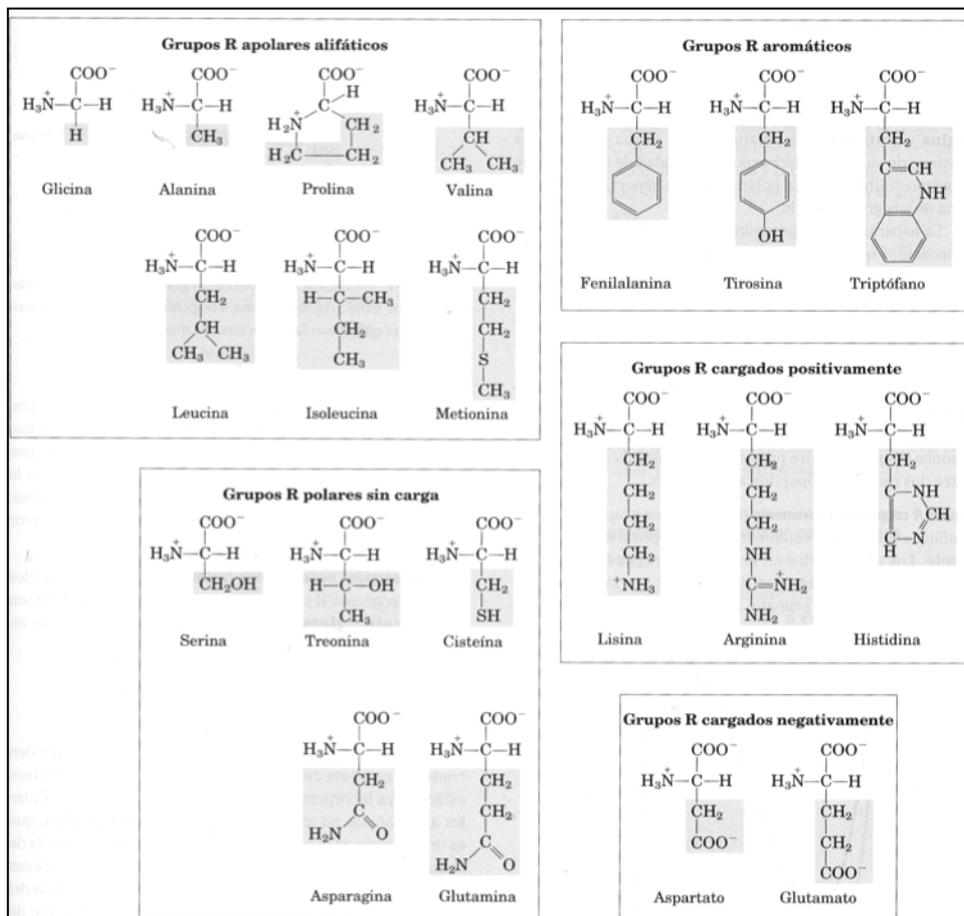
COO⁻-R-NH₃⁺ forma L.

COO⁻-NH₃⁺-R forma D.

Estereoisomería de los aminoácidos



Aminoácidos estándar



Resultados

1. Identificar los aminoácidos que se suministran:
 - a) Nombrar.
 - b) Decir si presentan forma D o L.
 - c) Dibujar la estructura (con el estado de ionización).
2. Construir un aminoácido. Cada pareja hará el mismo aminoácido, uno el D y otro el L, y comparará los enantiómeros.
3. Construir un tripéptido. Observar las propiedades del enlace peptídico. Dibujar la estructura, señalar los extremos N y C terminales, enlaces peptídicos y cadenas laterales.