

1 Título práctica de laboratorio:

DETERMINACIÓN DEL PUNTO ISOELÉCTRICO Y LA CAPACIDAD BUFFER DE UN AMINOACIDO

2 OBJETIVOS

Generales:

- Realizar la titulación de aminoácidos para comprender el comportamiento buffer de sus grupos funcionales.

Específicos:

- Determinar el comportamiento anfótero de un aminoácido ácido, neutro y básico por titulación con ácido clorhídrico.
- Construir la gráfica de la titulación y determinar el punto isoeléctrico de un aminoácido ácido, neutro y básico.
- Asociar el comportamiento anfótero de los aminoácidos acido-base del cuerpo humano.

3 REFERENTES CONCEPTUALES

Como referentes conceptuales los estudiantes deberán consultar los siguientes tópicos:

- Estructura y clasificación de aminoácidos por las características de su radical.
- Características ácido-base de los aminoácidos.
- Punto isoeléctrico (pI) de aminoácidos y su efecto en la solubilidad.
- Efecto del pH del solvente en el pKa de los grupos funcionales ionizables de los aminoácidos.
- Importancia fisiológica del punto isoeléctrico de los aminoácidos.
- Enlace peptídico.

4 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Materiales y equipos

- Pipeta graduada de 5 ml.
- Pipeta graduada de 10ml.
- Pipeteador.
- Probeta de 50 ml.
- Vasos de precipitados de 50 ml.
- Bureta de 25ml.
- Pinza para bureta.
- Soporte universal.
- Agitador de vidrio.
- Potenciómetro.

Reactivos

- 10 mL Glicina 0,04M en HCl 0,15 N.
10 mL Ácido aspártico 0,04M en HCl 0,15 N.
10 mL Lisina 0,04M en HCl 0,15 N.
75 ml de NaOH 0,1N.

Materiales que debe traer el estudiante

- Elementos de bioseguridad (Bata, guantes de nitrilo, monogafas).
- 3 Hojas de papel milimetrado.
- Regla de 30 cm.



5 PROCEDIMIENTO

1. Determinación del punto isoeléctrico y la capacidad buffer de un aminoácido

Con ayuda de una pipeta, tomar 5 ml de una de las soluciones de aminoácidos asignada (glicina, lisina o ácido aspártico 0,04 M, pH cercano a 1,0), colocarlos en una probeta de 50 ml y aforar con agua desionizada hasta completar 30 ml. Vertir la disolución del aminoácido en un vaso de precipitado de 50 ml y medir el pH inicial de la solución, es probable que el potenciómetro no indique 1.0. Utilizando una pinza para bureta, fijar la bureta al soporte universal y purgarla con la solución de NaOH 0,1N, posteriormente llenar la bureta con la misma solución e iniciar la titulación con el NaOH agregando alícuotas de 0,5 ml, agitar con la varilla de vidrio y registrar el valor del pH cuando se establezca la lectura. Continuar la titulación hasta alcanzar valores de pH entre 11,5 – 12,0. Realizar la gráfica pH (eje Y) vs ml NaOH (eje X) en papel milimetrado o utilizando un software como Excel, señalando los puntos de inflexión y la región donde se localizaría el punto isoeléctrico (pI). Comparar las gráficas obtenidas con las gráficas publicadas en la literatura. Repetir el procedimiento con los otros dos aminoácidos.

6 PREGUNTAS DE PROFUNDIZACIÓN

1. Representar las formas iónicas y calcular el pI para los aminoácidos arginina, ácido aspártico y cisteína.
2. ¿Qué formas iónicas presentarían los aminoácidos del punto anterior si se colocan en una solución que tenga un pH similar al pH sanguíneo: 7,35?
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en las titulaciones, ¿cuál aminoácido y que grupo funcional podría presentar una función amortiguadora en pH fisiológicos intracelular (pH 6,8) y extracelularmente (pH: 7,35)?

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Baynes J. Bioquímica Médica. 3a Ed. Editorial Elsevier. España; 2011.
2. Koolman J, Klaus-Heinrich Röhm K-H. Bioquímica Humana. 4 Ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina; 2012.
3. Laguna J, Piña E. Bioquímica de Laguna. 6a Ed. Editorial Manual Moderno. México; 2007.
4. López J, Fernandez A. Fisiología del Deporte. 3a Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires; 2006.
5. Pratt Ch. Bioquímica. 2 Ed. Editorial. Manual Moderno. México: 2008.