

SUPORT TEORETIC LA CURSUL DE BIOCHIMIE STRUCTURALĂ (DESCRIPTIVĂ)

Tema 2: Structura apei. Proprietățile fizice ale apei. Ionizarea apei. Produsul ionic al apei. Noțiunea de pH. Sistemele tampon.

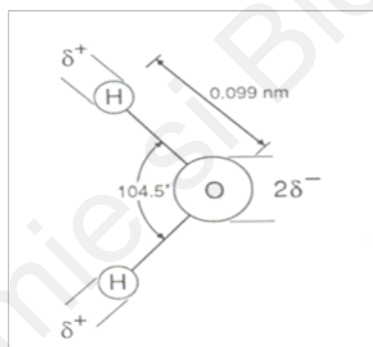
Corpul uman este reprezentat în proporție de aproximativ 65% de apă care acționează ca solvent pentru substanțele de care avem nevoie. Fiind un nucleofil bun, deseori apa este un participant direct în reacții de hidroliză și condensare.

Apa este solvent ideal pentru organism, având rolul de transport al glucidelor, vitaminelor hidrosolubile și al proteinelor de la locul de absorbție la diferite țesuturi. Apa intervine în purificarea organismului de produșii finali de metabolism, precum și participă la menținerea temperaturii corpului.

Proprietățile unice ale apei sunt derivate din structura sa.

Structura apei

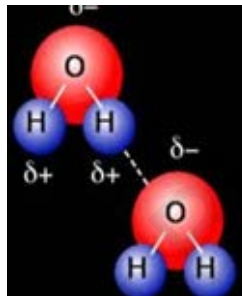
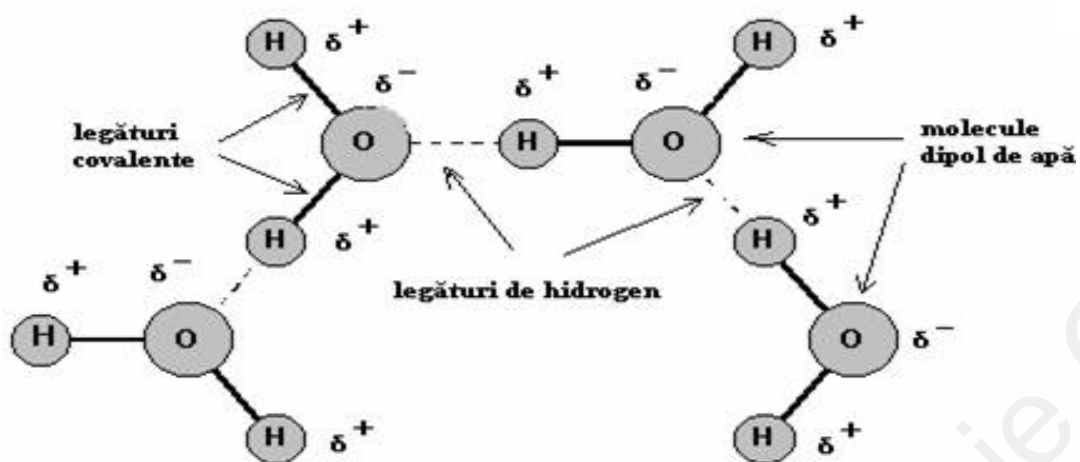
Apa este o hidrură de oxigen, formată din doi atomi de hidrogen și un atom de oxigen, uniți prin legături covalente; unghiul dintre cele două covalențe este de $104,5^\circ$ iar distanța O-H - $0,0965 \text{ \AA}$.



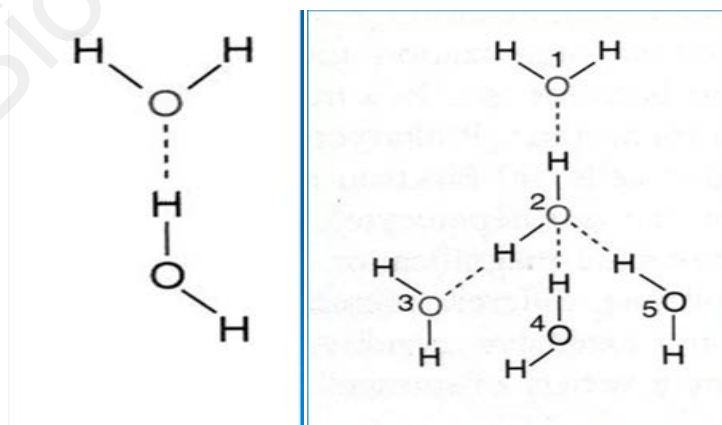
În molecula de apă atomul de oxigen puternic electronegativ atrage electronii de la doi atomi de hidrogen. Aceasta conduce la legături H-O polare în care atomii de hidrogen au o sarcină pozitivă și atomul de oxigen are o sarcină negativă.

Molecula dipolară cu o distribuție inegală a electronilor între atomii de hidrogen și oxigen, formează legături de hidrogen cu alte molecule polare, funcționând ca solvent. Prin urmare, o moleculă de apă este un dipol.

Moleculele vecine al apei lichide interacționează între ele. Lipirea intermoleculară între moleculele de apă rezultă din atracția dintre sarcina parțial negativă de pe atomul de oxigen, cu sarcina parțial pozitivă de pe atomul de hidrogen a moleculelor de apă vecine. Aceasta se datorează formării unor legături de natură electrostatică numite **legături de hidrogen**



Datorită aranjamentului tetraedric al electronilor în jurul atomilor de oxigen, fiecare moleculă de apă este potențial capabilă să formeze legături de hidrogen cu patru molecule de apă vecine. Acestea legături sunt mai slabe comparativ cu legăturile covalente. O moleculă de apă stabilește legături de hidrogen cu alte patru molecule numai la temperaturi foarte scăzute (-183°C); la temperaturi ridicate o parte din legăturile de hidrogen se rup din cauza agitației termice.



Este surprinzătoare diferența mică între numărul legăturilor de hidrogen din gheață (85%) și apa lichidă (50%), comparând fluiditatea apei cu rigiditatea gheții. Explicația este prin rapiditatea cu care moleculele de hidrogen se formează și se

desfac în apa lichidă, timpul de înjumătățirii a fiecărei legături fiind aproximativ de 10^{-11} s.

Există numeroase modele pentru structura apei lichide; dar nici unul nu a putut fi verificat experimental în totalitate. Totuși, cele mai simple modele sugerează că apa lichidă constă din molecule de apă asociate ca în gheață, în echilibru labil cu moleculele de apă libere.

Prezența legăturilor de hidrogen între moleculele apei explică de ce căldura de vaporizare este atât de mare. Starea lichidă a apei a făcut posibilă existența vieții.

Proprietățile fizice ale apei

Legăturile de hidrogen îi conferă apei starea lichidă pe un interval mare de temperatură ($0^{\circ} - 100^{\circ}\text{C}$), totodată și un rol unic în desfășurarea proceselor biochimice din celulele vii: căldura specifică, punct de topire și de fierbere ridicate; căldura de vaporizare și conductibilitatea termică crescută; tensiunea superficială și constanta dielectrică foarte mari.

Căldura specifică a apei este căldura necesară pentru a varia temperatura unității de masă cu un grad și este mai mare decât a oricărui alt lichid. Datorită acestui fapt apa evită schimbările bruște ale temperaturii corpului.

Căldura de vaporizare - cantitatea de căldură, în calorii, necesară pentru vaporizarea unității de masă, este considerabil mai mare decât pentru oricare dintre lichidele obișnuite.

Conductibilitatea termică este foarte mare; aceasta contribuie la răspândirea căldurii din regiunile situate în profunzimea corpului spre exterior.

Constanta dielectrică face ca apa să fie un solvent ideal și universal.

Apa este un solvent excelent pentru ambii compuși ionici și cu greutate moleculară mică - neionici compuși polari, cum ar fi zaharuri, ureea și alcoolii.

Compușii ionici sunt solubili, deoarece apa poate depăși atracția electrostatică dintre ionii prin solvatarea ionilor.

Compușii polari neionici sunt solubili, deoarece moleculele de apă pot forma legături de hidrogen cu grupările polare ale lor.

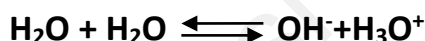
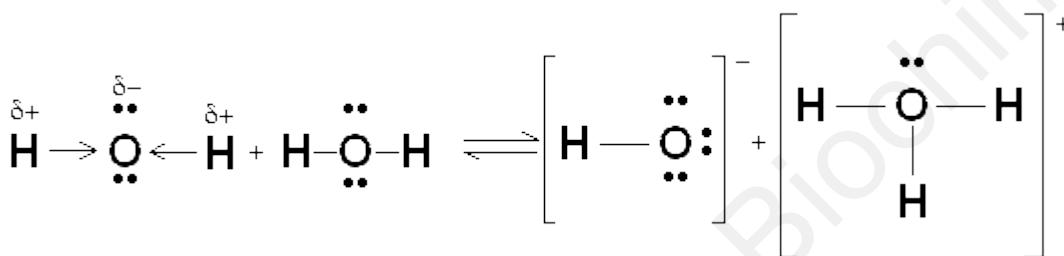
Presiunea osmotică. Presiunea osmotică este o măsură a tendinței de molecule de apă să migreze dintr-o soluție diluată într-o soluție concentrată printr-o membrană semipermeabilă. Această migrare a moleculelor de apă este numită osmoză. O soluție

care conține 1 mol de particule dizolvate în 1 kg de apă este o soluție mono-osmolară. În plasma sanguină, concentrația totală normală a substanțelor dizolvate este remarcabil constantă (275- 295 osmol).

Osmolaritatea se schimbă în anumite condiții patologice, cum ar fi deshidratarea, insuficiența renală, diabetul insipid, hipo- și hipernatremia, hiperglicemia.

Ionizarea apei. Produsul ionic al apei. Noțiune de pH.

Masa atomului de hidrogen este foarte mică, unicul lui electron este atras de atomul mai electronegativ – oxigen. Protonul format poate fi desprins de oxigen într-o moleculă și trecut la oxigenul moleculei vecine; cu alte cuvinte apa are proprietatea de a se ioniza.

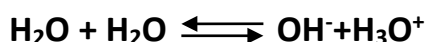


Hidroniu ion H_3O^+ este deseori abreviat ca H^+ , ambii înseamnă același lucru.

Reacția de mai sus se numește auto-ionizarea apei. Faptul că echilibrul reacției se deplasează mult spre stânga, are o mare importanță pentru sistemele vii. S-a constatat că viteza de migrare a ionului hidroniu H_3O^+ într-un câmp electric este mult mai mare decât cea a cationilor monovalenți, fapt destul de curios având în vedere volumul mare al ionilor H_3O^+ față de cel al cationilor. Această anomalie se produce deoarece un proton poate sări rapid dintr-un ion de hidroniu spre molecula de apă vecină, cu alte cuvinte are loc translocarea protonilor cu o viteză mai mare decât viteza de migrare a ionului H_3O^+ . Acest fenomen explică de ce gheața, în ciuda structurii sale rigide, are conductibilitatea electrică egală cu cea a apei.

Produsul ionic a apei

Apa este un electrolit slab care disociază în ioni, chiar dacă într-o foarte mică măsură, conform reacției:



Dovada acestui fapt este că și apa foarte pură, care nu conține nici un electrolit dizolvat, manifestă o conductibilitate electrică măsurabilă, chiar dacă extrem de scăzută.

Valoarea acestei conductibilități permite calcularea gradului de disociere al apei. Această valoare este foarte mică. Astfel, la temperatura camerei (22°C) doar 1/10.000.000 mol·g sau 10^{-7} mol·g de H₂O disociază dintr-un litru. Deoarece fiecare moleculă de H₂O disociată eliberează un ion H⁺ și un ion OH⁻, concentrațiile acestor ioni în apa pură sunt aceleași:

$$[H_3O^+] = [HO^-] = 10^{-7} \text{ mol/l}$$

Ca și pentru ionii altor electroliți slabi procesul de disociere al moleculelor de apă în ioni poate fi caracterizat prin valoarea constantei de disociere corespunzătoare:

$$K_c = \frac{[HO^-] \cdot [H_3O^+]}{[H_2O]^2}$$

Această ecuație se poate simplifica.

$$K_c \cdot [H_2O]^2 = K_w = [HO^-] \cdot [H_3O^+]$$

Deoarece apa se găsește aproape exclusiv sub formă de molecule de H₂O nedisociate, variația gradului de disociere nu va avea practic nici o influență asupra concentrației. În ecuația anterioară, putem considera concentrația [H₂O] practic constantă. Valoarea K_c este de asemenea invariabilă. Deci, tot membrul stâng al ecuației obținute și, prin urmare și produsul [H⁺].[OH⁻] este constant. Această constantă se numește produsul ionic al apei și este notată cu K_w.

$$K_w = [H_3O^+] \cdot [HO^-] = 10^{-14} \text{ MOL}^2 / \text{L}^2$$

Semnificația relației [H⁺].[OH⁻] = K_w constă în faptul că: oricare ar fi variațiile concentrațiilor ionilor H⁺ sau OH⁻, produsul lor în orice soluție apoasă rămâne o valoare constantă, egală cu 10⁻¹⁴ la temperatură ambiantă (22°C). În apa pură:

$$[H_3O^+] = [HO^-] = 10^{-7} \text{ mol/l}$$

În legătură de produsul ionic al apei se fac două precizări:

- produsul ionic al apei depinde numai de temperatură. Valoarea K_w se modifică considerabil odată cu creșterea temperaturii ;
- produsul ionic al apei este același (nu se modifică) în soluții neutre, acizi sau bazice.

În funcție de concentrațiile ionilor de hidroniu dintr-o soluție, ele se împart în:

- soluții neutre, unde:

$$[H_3O^+] = [HO^-] \Rightarrow [H_3O^+] = 10^{-7}$$

- soluții acide, unde:

$$[H_3O^+] > [HO^-] \Rightarrow [H_3O^+] > 10^{-7}$$

- soluții bazice, unde:

$$[H_3O^+] < [HO^-] \Rightarrow [H_3O^+] < 10^{-7}$$

Astfel, orice soluție apoasă, indiferent de reacția acesteia, trebuie să conțină atât ioni H^+ , cât și ioni OH^- . Deoarece concentrațiile lor sunt invers proporționale cum rezultă din ecuația

$$[H_3O^+] \cdot [OH^-] = K_w$$

Se poate caracteriza cantitativ reacția oricărei soluții prin cunoașterea concentrației acesteia în ioni $[H_3O^+]$.

Noțiunea de pH

În locul concentrațiilor ionilor H^+ este mult mai comod de folosit logaritmul zecimal cu semn schimbat numit indice de hidrogen sau **pH**.

$$pH = -\log[H^+]$$

Cunoscând că protonul nu există liber, dar în formă de hidroniu $[H_3O^+]$,

$$pH = -\log [H_3O^+].$$

Rezultă, de exemplu, că pentru:

$$[H^+] = 10^{-4} \text{ ion-g/L} \quad pH = -(-4) = 4$$

De asemenea, dacă: $[H^+] = 5 \cdot 10^{-10} \text{ ion-g/L};$

$$pH = -\log 5 \cdot 10^{-10} = 10 - \log 5 = 9,30$$

Este evident că prima soluție (pH = 4) are o reacție acidă, deoarece $[H^+]$ este mai mare decât 10^{-7} ion-g/L. Dimpotrivă, reacția celei de-a doua soluții (pH = 9,30) este alcalină, deoarece $[H^+]$ este mai mică decât 10^{-7} ion-g/L.

În soluțiile acide pH < 7, în soluțiile alcaline pH > 7 și în soluțiile neutre pH = 7.

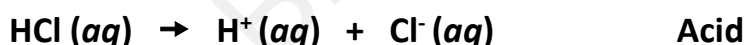
Deducem ușor că aciditatea unei soluții crește atunci când pH-ul scade, iar alcalinitatea crește când pH-ul crește.

De exemplu, la pH = 2, soluția are o reacție mai acidă decât la pH = 4, deoarece în primul caz concentrația ionilor H^+ (10^{-2} ion-g/L) este de o sută de ori mai mare decât în al dilea caz (10^{-4} ion-g/L). În soluțiile acide pH < 7, în soluțiile alcaline pH > 7 și în soluțiile neutre pH = 7.

Valoarea pH-ului are o mare importanță pentru sistemele vii, viața fiind posibilă numai în anumite limite de pH; pH-ul sângelui de exemplu are valoarea de 7.35 – 7,4. Aceasta se datorează faptului că enzimele își desfășoară activitatea în anumite limite de pH. Menținerea constant a pH-ului se realizează pe mai multe căi, un rol important revenind sistemelor tampon.

Echilibrul acido-bazic

Pentru a înțelege acțiunea sistemelor tampon avem nevoie de noțiuni de acid și bază. După teoria lui Arrhenius acizii sunt substanțe care la disociere în apă produc ioni de H^+ și bazele sunt substanțele care la disociere produc ionii OH^-

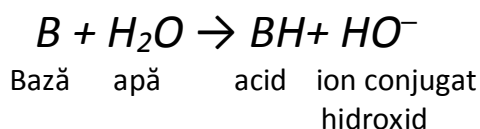
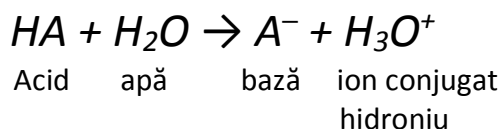


Teoria disociației electrolitice a lui Arrhenius definește: *Acizii sunt substanțe care, în soluții apoase pun în libertate ioni de hidrogen H^+ . Bazele sunt substanțe care, în soluții apoase pun în libertate ioni hidroxid HO^- .*

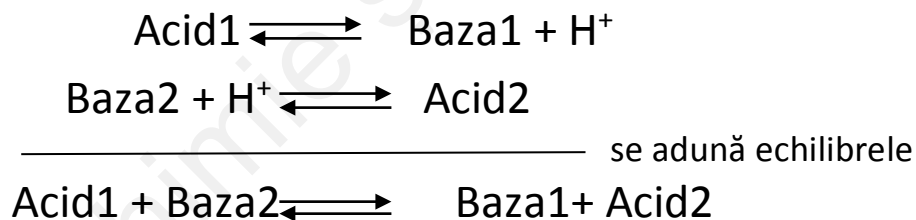
În stare pură (în absența apei), acizii și bazele nu sunt substanțe disociate și nu conduc curentul electric, sau îl conduc foarte slab. În soluție apoasă sunt bune conducătoare de electricitate.

Johannes Brønsted și Thomas Lowry revizuiind teoria acido-bazică a lui Arrhenius au definit noțiuni de acid și bază, după cum urmează:

Acizii sunt substanțe capabile de a ceda protoni H^+ . Bazele sunt substanțe capabile de a accepta protoni H^+ . Cele două reacții se implică reciproc; acidul cedând un proton se transformă în bază conjugată ; baza, acceptând un proton de la acid, se transformă în acid conjugat:



Cuplurile acid / bază conjugată (sau bază / acid conjugat) sunt cupluri acido-bazice. Protonul nu poate exista în stare liberă în soluție deoarece el este o particulă foarte mică și extrem de reactivă. În toate reacțiile chimice protonul H^+ cedat de acidul dintr-un cuplu acid / bază conjugată (de exemplu, Acid1) este acceptat de o altă specie chimică, având caracter de bază, din alt cuplu acid / bază conjugată (de exemplu, Baza2):



Se stabilesc astfel echilibre cu schimb de protoni în care se pot transfera unul sau mai mulți protoni între acidul dintr-un cuplu (Acid1 / Baza1) și baza din alt cuplu (Acid2 / Baza2). Echilibrele cu schimb de protoni la care participă acidul dintr-un cuplu și baza din alt cuplu sunt echilibre acido-bazice sau reacții acido-bazice.

Sistemele tampon

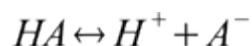
Soluțiile formate dintr-un acid slab și sarea lui cu o bază puternică, sau dintr-o bază slabă și sarea acesteia cu un acid puternic, care au rolul de a se opune variațiilor mari de pH la adaosul de acizi sau baze în cantități limitate constituie **sisteme tampon**.

Sistemele tampon se caracterizează prin doi parametri:

- pH –ul pe care-l menține constant un sistem tampon;
- capacitatea de tamponare a sistemului tampon.

pH-ul, ecuația lui Henderson-Hasselbalch

Pentru determinarea pH-ului optim pe care îl menține constant un sistem tampon, vom lua un sistem tampon format dintr-un acid slab și sarea acestuia cu o bază puternică. Acidul slab este disociat puțin:



Constanta relativă de aciditate va fi:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

din care reiese:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

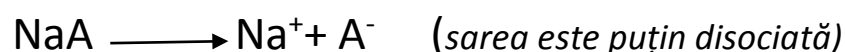
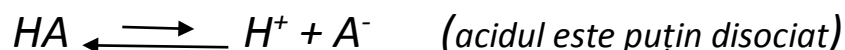
Logaritmăm expresia de mai sus și înmulțim cu (-1):

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right)$$

Ecuția obținută poartă denumirea de ecuația lui **Henderson-Hasselbalch** și reprezintă ecuația fundamentală a sistemelor tampon. În forma cea mai generală se poate scrie:

$$pH = pK_a + \log_{10} \frac{[sare]}{[acid]}$$

Aceasta este posibil deoarece acidul este puțin disociat, iar sarea este total disociată.



Reiese că A^- provine în cea mai mare parte din sare, acidul slab fiind foarte puțin disociat. Concentrația totală a acidului HA din același motiv este egală cu concentrația acidului nedisociat. Rezultă că

$$pH = pK_a + \log_{10} 1, \text{ sau } pH = pK_a$$

deoarece concentrațiile molare sunt egale:

$$[sare] = [acid]$$

Așadar, *pH-ul* optim pe care-l menține constant un sistem tampon este egal cu valoarea *pKa* a acidului slab din sistemul tampon respectiv.

În concluzie: un sistem tampon este mai eficient într-un interval de

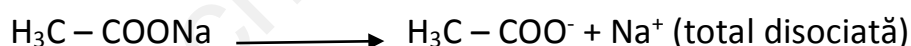
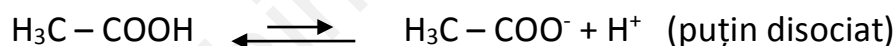
$$pH = pKa \pm 1$$

Capacitatea de tamponare

Capacitatea de tamponare a sistemelor tampon depinde de concentrațiile molare efective ale acidului și bazei conjugate din sistemul tampon respectiv. Cu mărirea concentrației componentelor sistemelor tampon se mărește capacitatea de tamponare.

Mecanisme de acțiune a sistemelor tampon

Sistemele tampon au rolul de a se opune variațiilor mari de pH la adaosul de acizi sau baze în cantități limitate. Pentru a lămurii mecanismul de acțiune a sistemelor tampon vom studia sistemul tampon format dintr-un acid slab și sarea acestuia cu o bază puternică $H_3C - COOH/H_3C - COONa$, care în soluție va forma următorii ioni:



- Adăugăm acizi, deci H^+ . Ca rezultat, are loc procesul de consumare a protonilor H^+ , care vor fi uniți cu $CH_3 - COO^-$, formând un acid slab puțin disociat $CH_3 - COOH$, iar pe de altă parte protonii adăugați vor diminua și mai mult disocierea acidului prin deplasarea echilibrului primei reacții spre stânga.
- Adăugăm baze, deci HO^- . Ca rezultat, are loc procesul de consumare a HO^- ; acești ioni vor fi legați de protoni (H^+) din prima reacție, formând apă. Prin consumarea H^+ echilibrul primei reacții este deplasat spre dreapta și prin urmare H^+ rezultați vor fi în măsură să neutralizeze ionii HO^- .

Sisteme tampon biologice

pH-ul sangvin este menținut între 7,36 și 7,44 cu un pH intracelular de aproximativ 7,1 (între 6,9 și 7,4). Până la excreția acidului produs sub formă de CO_2

în aerul expirat sau de ioni în urină, este nevoie de neutralizare la nivelul sistemelor tampon majore ale organismului:

Sistemele tampon funcționale din organismul uman sunt:

- $H_2CO_3/NaHCO_3$ - extracelular, plasmă
- Proteină/Proteinat de Na - extracelular, plasmă
- NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 - extracelular, plasmă
- Deoxi-Hb/Oxi-Hb- intracelular, eritocite
- KH_2PO_4/K_2HPO_4 - intracelular

Sistemul tampon al bicarbonatului - cel mai important

Principala sursă de acizi metabolici a organismului o reprezintă CO_2 , produs în principal prin oxidarea acetylCoA la nivelul ciclului Krebs. În condiții metabolice normale, sunt generați 13 moli de CO_2 pe zi (aproximativ 0,5- 1kg). Dizolvat în apă, va reacționa cu aceasta producând acid carbonic, reacție accelerată de anhidraza carbonică. Acidul carbonic obținut este un acid slab care disociază parțial în H^+ și HCO_3^- .



pKa pentru acidul carbonic este 3,8. La un pH sangvin de 7,4 acidul este aproape complet disociat și teoretic incapabil să neutralizeze și să genereze bicarbonat, adică să mențină constant pH-ul sângelui. Explicația acestui fapt va fi prezentată mai jos.

Acidul carbonic poate fi refăcut din CO_2 deoarece concentrația de gaz dizolvat în sânge este de 500 de ori mai mare decât a acidului carbonic.

pKa pentru sistemul tampon al bicarbonatului combină astfel K_h (constanta de hidratare sau de solubilitate a CO_2 în apă în vederea formării de H_2CO_3) cu valoarea chimică a pKa obținându-se 6,1

$$pH = pK_a \text{ } H_2CO_3 + \log \left(\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} \right)$$

$[HCO_3^-]$ – concentrația bicarbonatului în sânge

$[H_2CO_3]$ – concentrația acidului carbonic în sânge, care se calculează din relația:

$$[H_2CO_3] = k_H CO_2 \times pCO_2$$

k_H este aproximativ 0,03 (mmol/L)/mmHg, iar pCO_2 este presiunea parțială a gazului în sângele arterial.

Din cele două relații va rezulta una singură și anume

$$pH = 6.1 + \log \left(\frac{[HCO_3^-]}{0.03 \times pCO_2} \right)$$

în care pH- exprimă aciditatea sângelui.

Din ultima formulă reiese că puterea de tamponare a sângelui depinde numai de concentrația bicarbonatului dizolvat în sânge și de presiunea parțială a bioxidului de carbon în alveolele pulmonare.

Dacă pH-ul sângelui scade, ca urmare crește concentrația de H^+ , va crește pentru scurt timp și concentrația H_2CO_3 ; dar va reveni rapid la nivelul normal prin descompunerea sa cu generarea de apă și CO_2 . Prin urmare creșterea concentrației H^+ se transformă în final în creșterea de pCO_2 . Dacă din contra pH-ul sângelui crește va crește temporar și concentrația ionului bicarbonat (HCO_3^-), datorită disocierii H_2CO_3 ; dar se va restabili rapid când CO_2 din atmosferă se dizolvă și se hidratează la H_2CO_3 . Așadar, orice modificare a pH-ului sangvin la nivel pulmonar va fi rapid echilibrat de rezerva de CO_2 gazos prin modificarea ventilației pulmonare.