

# Agua y pH

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

## OBJETIVOS

*Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:*

- Describir las propiedades del agua que explican su tensión de superficie, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente, y poder solvente.
- Usar fórmulas estructurales para representar varios compuestos orgánicos que pueden servir como donadores de enlace de hidrógeno o como aceptores del mismo.
- Explicar el papel que desempeña la entropía en la orientación, en un ambiente acuoso, de las regiones polar y no polar de macromoléculas.
- Indicar las contribuciones cuantitativas de los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de van der Waals a la estabilidad de las macromoléculas.
- Explicar la relación del pH con la acidez, alcalinidad y los determinantes cuantitativos que caracterizan los ácidos débiles y fuertes.
- Calcular el cambio de pH que acompaña a la adición de una cantidad dada de ácido o base a una solución amortiguada.
- Describir qué hacen los amortiguadores, cómo lo hacen, y las condiciones en las cuales un amortiguador es más eficaz en condiciones fisiológicas o en otras condiciones.
- Ilustrar cómo la ecuación de Henderson-Hasselbalch puede usarse para calcular el cambio neto de un polielectrólito a un pH dado.

## IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El agua es el componente químico predominante de los organismos vivos. Sus singulares propiedades físicas, que incluyen la capacidad para solvatar una amplia gama de moléculas orgánicas e inorgánicas, se derivan de su estructura bipolar y de su excepcional capacidad para formar enlaces de hidrógeno. La manera en que el agua interactúa con una biomolécula solvatada influye sobre la estructura de ambas, tanto de la biomolécula como del agua. El agua, un excelente nucleófilo, es un reactivo o un producto en muchas reacciones metabólicas. La regulación del equilibrio del agua depende de mecanismos hipotalámicos que controlan la sed, de la hormona antidiurética (ADH), de la retención o excreción de agua por los riñones, y de la pérdida por evaporación. La diabetes insípida nefrogénica, que comprende la incapacidad para concentrar orina o para hacer ajustes a cambios sutiles de la osmolaridad del líquido extracelular, se produce por falta de capacidad de respuesta de los osmorreceptores de los túbulos renales a la ADH.

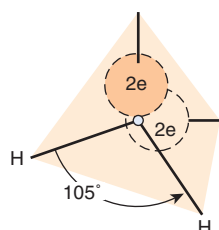
El agua tiene una propensión leve a disociarse hacia iones hidróxido y protones. La concentración de protones, o **acidez**, de soluciones acuosas por lo general se reporta usando la escala

de pH logarítmica. El bicarbonato y otros amortiguadores en circunstancias normales mantienen el pH del líquido extracelular entre 7.35 y 7.45. Las alteraciones sospechadas del equilibrio acidobásico se verifican al medir el pH de la sangre arterial y el contenido de  $\text{CO}_2$  de la sangre venosa. Las causas de acidosis (pH sanguíneo  $<7.35$ ) son cetosis diabética y acidosis láctica. La alcalosis (pH  $>7.45$ ) puede presentarse después de vómitos de contenido gástrico ácido.

## EL AGUA ES UN SOLVENTE BIOLÓGICO IDEAL

### Las moléculas de agua forman dipolos

Una molécula de agua es un tetraedro irregular, un tanto asimétrico, con oxígeno en su centro (**figura 2-1**). Los dos hidrógenos y los electrones no compartidos de los dos orbitales  $sp^3$ -hibridados restantes ocupan los ángulos del tetraedro. El ángulo de 105 grados entre los hidrógenos difiere un poco del ángulo tetraédrico ideal, de 109.5 grados. El amoniaco también es tetraédrico, con un ángulo de 107 grados entre sus hidrógenos. El átomo de



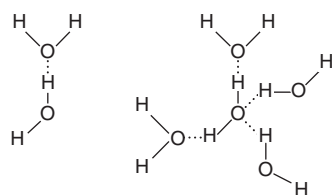
**FIGURA 2-1** La molécula de agua tiene geometría tetraédrica.

oxígeno fuertemente electronegativo en el agua empuja los electrones en dirección contraria a los núcleos de hidrógeno, lo que los deja con una carga positiva parcial, mientras que sus dos pares de electrones no compartidos constituyen una región de carga negativa local.

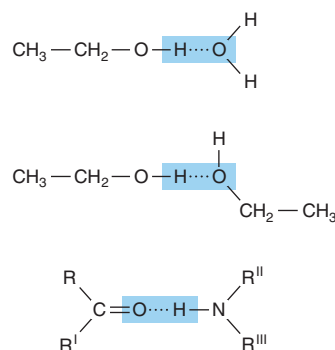
Una molécula con carga eléctrica distribuida de manera asimétrica alrededor de su estructura se denomina un **dipolo**. La **constante dieléctrica** alta del agua depende de su dipolo fuerte. Como se describe de manera cuantitativa mediante la ley de Coulomb, la fuerza de la interacción  $F$  entre partículas que tienen carga opuesta es inversamente proporcional a la constante dieléctrica  $\epsilon$  del medio circundante. La constante dieléctrica para un vacío es la unidad; para el hexano es 1.9; para el etanol, 24.3, y para el agua, 78.5. Por ende, el agua disminuye mucho la fuerza de atracción entre especies cargadas y polares en comparación con ambientes libres de agua que tienen constantes dieléctricas más bajas. Su fuerte dipolo y constante dieléctrica alta permiten al agua disolver grandes cantidades de compuestos cargados, como las sales.

## Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno

Un núcleo de hidrógeno parcialmente desprotegido, unido de manera covalente a un átomo de oxígeno o de nitrógeno que extrae electrón, puede interactuar con un par de electrones no compartidos sobre otro átomo de oxígeno o nitrógeno para formar un **enlace de hidrógeno**. Dado que las moléculas de agua tienen estas dos características, la formación de enlaces de hidrógeno favorece la autoasociación de moléculas de agua hacia disposiciones ordenadas (**figura 2-2**). La formación de enlaces de hidrógeno ejerce una profunda influencia sobre las propiedades físicas del agua, lo que explica su viscosidad, tensión superficial y punto de ebullición excepcionalmente altos. En promedio, cada molécula en agua líquida se asocia por medio de enlaces de hidrógeno con otras 3.5. Estos enlaces son hasta cierto punto débiles y transitorios, con una vida media de unos pocos nano-



**FIGURA 2-2** **Izquierda:** asociación de dos moléculas de agua dipolares mediante un enlace de hidrógeno (línea punteada). **Derecha:** agrupación de cuatro moléculas de agua con enlaces de hidrógeno. Note que el agua puede servir de manera simultánea como donador y como aceptor de hidrógeno.



**FIGURA 2-3** Los grupos polares adicionales participan en la formación de enlaces de hidrógeno. Se muestran los enlaces de hidrógeno formados entre alcohol y agua, entre dos moléculas de etanol, y entre el péptido carbonilo oxígeno y el péptido nitrógeno hidrógeno de un aminoácido adyacente.

segundos o menos. La rotura de un enlace de hidrógeno en agua líquida sólo requiere alrededor de 4.5 kcal/mol, menos de 5% de la energía necesaria para romper un enlace O—H covalente.

La formación de enlaces de hidrógeno permite al agua disolver muchas biomoléculas orgánicas que contienen grupos funcionales que pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno. Los átomos de oxígeno de aldehídos, cetonas y amidas, por ejemplo, proporcionan pares solitarios de electrones que tienen la capacidad de servir como aceptores de hidrógeno. Los alcoholes, los ácidos carboxílicos y las aminas pueden servir como aceptores de hidrógeno y como donadores de átomos de hidrógeno desprotegidos para formación de enlaces de hidrógeno (**figura 2-3**).

## LA INTERACCIÓN CON AGUA INFLUYE SOBRE LA ESTRUCTURA DE BIOMOLÉCULAS

### Los enlaces covalentes y no covalentes estabilizan moléculas biológicas

El enlace covalente es la mayor fuerza que mantiene juntas a las moléculas (**cuadro 2-1**). Las fuerzas no covalentes, aunque son de menor magnitud, hacen contribuciones importantes a la estructura, estabilidad y competencia funcional de macromoléculas en

**CUADRO 2-1** Energías de enlace para átomos de importancia biológica

Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)	Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)
O—O	34	O=O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C=S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C=C	147
C—O	84	C=N	147
N—H	94	C=O	164

las células vivas. Estas fuerzas, que pueden ser de atracción o de repulsión, comprenden interacciones tanto dentro de la biomolécula como entre la misma y el agua, que es el principal componente del ambiente circundante.

## Las biomoléculas se pliegan para colocar a grupos polares y cargados sobre sus superficies

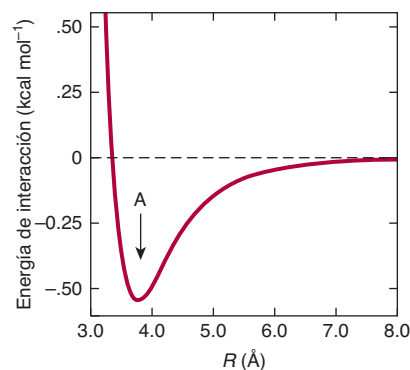
Casi todas las biomoléculas son **anfipáticas**; esto es, poseen regiones con alto contenido de grupos funcionales cargados o polares, así como regiones con carácter hidrofóbico. Las proteínas tienden a plegarse con los grupos R de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas en el interior. Los aminoácidos con cadenas laterales de aminoácidos cargadas o polares (p. ej., arginina, glutamato, serina) por lo general están presentes sobre la superficie en contacto con agua. Un modelo similar prevalece en una bicapa de fosfolípidos, donde los grupos con cabeza cargada de fosfatidil serina o fosfatidil etanolamina tienen contacto con agua, mientras que sus cadenas laterales de ácido (acilo) graso hidrofóbicas se agrupan juntas y excluyen el agua. Este modelo maximiza las oportunidades para la formación de interacciones de carga-dipolo, dipolo-dipolo, y formación de enlaces de hidrógeno, favorables desde el punto de vista energético entre grupos polares sobre la biomolécula y el agua. También minimiza contactos desfavorables desde el punto de vista energético entre el agua y grupos hidrofóbicos.

## Interacciones hidrofóbicas

El término “interacción hidrofóbica” (o hidrófoba) alude a la tendencia de compuestos no polares a autoasociarse en un ambiente acuoso. Tal autoasociación no está impulsada por atracción mutua ni por lo que a veces es denominado de manera incorrecta como “enlaces hidrofóbicos”. La autoasociación minimiza la interrupción de interacciones desfavorables desde el punto de vista energético entre las moléculas de agua circundantes.

Dado que los hidrógenos de grupos no polares —como los grupos metileno de hidrocarburos— no forman enlaces de hidrógeno, afectan la estructura del agua que los rodea. Las moléculas de agua adyacentes a un grupo hidrofóbico tienen restricción en cuanto al número de orientaciones (grados de libertad) que les permiten participar en el número máximo de enlaces de hidrógeno favorables desde el punto de vista energético. La formación máxima de múltiples enlaces de hidrógeno, que maximiza la entalpía, sólo puede mantenerse al aumentar el orden de las moléculas de agua adyacentes, con un decremento acompañante de la entropía.

La segunda ley de la termodinámica establece que la energía libre óptima de una mezcla de hidrocarburo-agua está en función tanto de la entalpía máxima (por formación de enlaces de hidrógeno) como de la entropía mínima (grados máximos de libertad). De este modo, las moléculas no polares tienden a formar gotitas a fin de minimizar el área de superficie expuesta y reducir el número de moléculas de agua cuya libertad de movimiento se restringe. De modo similar, en el ambiente acuoso de la célula viva las porciones hidrofóbicas de biopolímeros tienden a estar sepultadas dentro de la estructura de la molécula o dentro de una bicapa lipídica, lo que minimiza el contacto con agua.



**FIGURA 2-4** La fuerza de las interacciones de van der Waals varía con la distancia,  $R$ , entre especies que interactúan. La fuerza de interacción entre especies que interactúan aumenta con la distancia decreciente hasta que son separadas por la distancia de contacto de van der Waals (véase la flecha marcada con A). A continuación sobreviene repulsión debida a la interacción entre los electrones de cada átomo o molécula. Si bien las interacciones de van der Waals son en extremo débiles, el efecto acumulativo es considerable para macromoléculas como DNA y proteínas con muchos átomos en contacto estrecho.

## Interacciones electrostáticas

Las interacciones entre grupos cargados ayudan a dar forma a la estructura biomolecular. Las interacciones electrostáticas entre grupos con carga opuesta dentro de biomoléculas o entre las mismas se denominan **puentes de sal**, los cuales tienen fuerza comparable a la de los enlaces de hidrógeno, pero actúan en distancias mayores; por ende, a menudo facilitan el enlace de moléculas y iones cargados a proteínas y ácidos nucleicos.

## Fuerzas de van der Waals

Surgen por atracciones entre dipolos transitorios generados por el movimiento rápido de electrones de todos los átomos neutros. Las fuerzas de van der Waals —mucho más débiles que los enlaces de hidrógeno, pero abundantes— disminuyen en términos de la sexta potencia de la distancia que separa a los átomos (**figura 2-4**). De este modo, actúan en distancias muy cortas, por lo general de 2 a 4 Å.

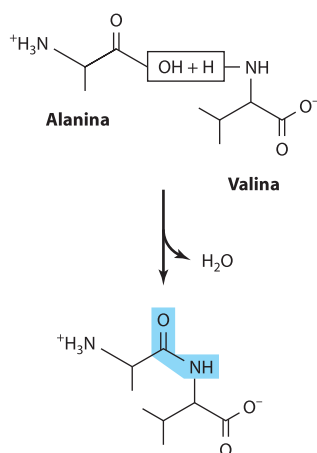
## Fuerzas múltiples estabilizan biomoléculas

La doble hélice de DNA ilustra la contribución de múltiples fuerzas a la estructura de biomoléculas. Si bien cada cadena de DNA individual se mantiene junta por medio de enlaces covalentes, las dos hebras de la hélice se mantienen unidas de manera exclusiva mediante interacciones no covalentes. Estas últimas comprenden enlaces de hidrógeno entre bases de nucleótido (formación de pares de bases de Watson-Crick) e interacciones de van der Waals entre las bases de purina y pirimidina apiladas. La doble hélice presenta los grupos fosfato cargados y grupos hidroxilo polares de los azúcares ribosa del esqueleto del DNA a agua mientras que sepulta dentro las bases nucleótido relativamente hidrofóbicas. El esqueleto extendido maximiza la distancia entre fosfatos que tienen carga negativa, lo que minimiza interacciones electrostáticas desfavorables.

## EL AGUA ES UN EXCELENTE NUCLEÓFILO

Las reacciones metabólicas a menudo comprenden el ataque por pares solitarios de electrones que residen sobre moléculas ricas en electrones llamadas **nucleófilos** sobre átomos con pocos electrones llamados **electrófilos**. Los nucleófilos y electrófilos no necesariamente poseen una carga negativa o positiva formal. El agua, cuyos dos pares solitarios de electrones  $sp^3$  tienen una carga negativa parcial (figura 2-1), es un excelente nucleófilo. Otros nucleófilos de importancia biológica son los átomos de oxígeno de fosfatos, alcoholes y ácidos carboxílicos; el azufre de tioles; el nitrógeno de aminas, y el anillo imidazol de la histidina. Los electrófilos comunes son los carbonos carbonilo en amidas, ésteres, aldehídos y cetonas, y los átomos de fósforo de fosfoésteres.

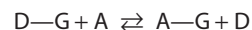
El ataque nucleofílico por agua en forma típica origina la división de los enlaces amida, glucósido o éster que mantienen juntos a los biopolímeros. Este proceso recibe el nombre de **hidrólisis**. A la inversa, cuando unidades de monómeros se unen para formar biopolímeros como proteínas o glucógeno, el agua es un producto, por ejemplo, durante la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos:



Si bien la hidrólisis es una reacción favorecida desde el punto de vista termodinámico, los enlaces amida y fosfoéster de polipeptidos y oligonucleótidos son estables en el ambiente acuoso de la célula. Esta conducta al parecer paradójica refleja el hecho de que la termodinámica que rige el equilibrio de una reacción no determina el índice al cual procederá. En las células, catalíticos proteína llamados **enzimas** aceleran el índice de reacciones hidrolíticas cuando es necesario. Las **proteasas** catalizan la hidrólisis de proteínas hacia los aminoácidos que las componen, mientras que las **nucleasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en el DNA y el RNA. Se requiere control cuidadoso de las actividades de estas enzimas para asegurar que sólo actúen sobre moléculas blanco apropiadas en momentos apropiados.

## Muchas reacciones metabólicas comprenden transferencia de grupo

Muchas de las reacciones enzimáticas de las cuales dependen la síntesis y desintegración de biomoléculas comprenden la transferencia de un grupo químico G desde un donador D hacia un aceptor A para formar un complejo de grupo aceptor, A—G:



Por ejemplo, la hidrólisis y la fosforólisis de glucógeno comprenden la transferencia de grupos glucosilo a agua o a ortofosfato. La constante de equilibrio para la hidrólisis de enlaces covalentes favorece fuertemente la formación de productos de división. Por el contrario, en muchos casos las reacciones de transferencia de grupo de las cuales depende la biosíntesis de macromoléculas comprenden la formación no favorecida termodinámicamente de enlaces covalentes. Los catalíticos de enzimas desempeñan un papel crucial en la superación de estas barreras en virtud de su capacidad para enlazar directamente entre sí dos reacciones que en circunstancias normales están separadas. Al unir una reacción de transferencia de grupo energéticamente desfavorable con una reacción termodinámicamente favorable, como la hidrólisis de ATP, puede generarse una nueva reacción acoplada cuya carga *general* neta en energía libre favorece la síntesis de biopolímero.

Dado el carácter nucleofílico del agua y su alta concentración en las células, ¿por qué los biopolímeros como las proteínas y el DNA son relativamente estables?, además, ¿de qué modo la síntesis de biopolímeros puede ocurrir en un ambiente acuoso, en apariencia prohidrolítico? Las propiedades de las enzimas son fundamentales para ambas preguntas. En ausencia de catálisis enzimática, incluso las reacciones muy favorecidas desde el punto de vista termodinámico no necesariamente tienen lugar con rapidez. El control preciso y diferencial de la actividad enzimática, así como el secuestro de enzimas en organelos específicos, determinan en qué condiciones fisiológicas un biopolímero dado se sintetizará o degradará. Los biopolímeros recién sintetizados no se hidrolizan de inmediato, ya que los sitios activos de enzimas biosintéticas secuestran sustratos en un ambiente del cual es factible excluir al agua.

## Las moléculas de agua muestran una tendencia leve pero importante a disociarse

La capacidad del agua para ionizarse, si bien es leve, tiene importancia fundamental para la vida. Dado que el agua tiene la capacidad de actuar como un ácido y como una base, su ionización puede representarse como una transferencia de protón intermolecular que forma un ion hidronio ( $H_3O^+$ ) y un ion hidróxido ( $OH^-$ ):



El protón transferido en realidad se relaciona con una agrupación de moléculas de agua. Los protones existen en solución no sólo como  $H_3O^+$ , sino también como multímeros tipo  $H_5O_2^+$  y  $H_7O_3^+$ . Sin embargo, el protón se representa de manera sistemática como  $H^+$ , aun cuando de hecho está muy hidratado.

Dado que los iones hidronio e hidróxido se recombinan de manera continua para formar moléculas de agua, es imposible declarar que un hidrógeno u oxígeno *individual* está presente como un ion o formando parte de una molécula de agua. En un instante es un ion, pero al siguiente forma parte de una molécula de agua; de modo que no se consideran iones o moléculas individuales. En lugar de eso, se hace referencia a la *probabilidad* de que en cualquier instante en el tiempo un hidrógeno estará

presente como ion o como parte de una molécula de agua. Dado que 1 g de agua contiene  $3.46 \times 10^{22}$  moléculas, la ionización del agua puede describirse de manera estadística. Declarar que la probabilidad de que un hidrógeno exista como un ion es de 0.01 significa que, en cualquier momento dado en el tiempo, un átomo de hidrógeno tiene 1 probabilidad en 100 de ser un ion pero 99 probabilidades en 100 de formar parte de una molécula de agua. La probabilidad real de que un átomo de hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de alrededor de  $1.8 \times 10^{-9}$ . De este modo, la probabilidad de que forme parte de una molécula de agua es de casi la unidad. Dicho de otra manera, por cada ion hidrógeno y cada ion hidróxido en agua pura, hay 1.8 mil millones o  $1.8 \times 10^9$  moléculas de agua. Sin embargo, los iones hidrógeno y los iones hidróxido contribuyen de manera importante a las propiedades del agua.

Para la disociación del agua,

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

donde los corchetes representan concentraciones molares (estrictamente hablando, actividades molares) y  $K$  es la **constante de disociación**. Puesto que un mol de agua pesa 18 g, 1 litro (L) (1 000 g) de agua contiene  $1\,000 \div 18 = 55.56$  mol. Así, el agua pura es 55.56 molar. Dado que la probabilidad de que un hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de  $1.8 \times 10^{-9}$ , la concentración molar de iones  $\text{H}^+$  (o de iones  $\text{OH}^-$ ) en agua pura es el producto de la probabilidad,  $1.8 \times 10^{-9}$ , veces la concentración molar de agua, 55.56 mol/L. El resultado es  $1.0 \times 10^{-7}$  mol/L.

Ahora es posible calcular  $K$  para el agua pura:

$$\begin{aligned} K &= \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]} \\ &= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L} \end{aligned}$$

La concentración molar del agua, 55.56 mol/L, es demasiado grande como para que la disociación la afecte de manera significativa, de modo que se considera que, en esencia, es constante. Así, esta constante puede incorporarse en la constante de disociación  $K$  para proporcionar una nueva y útil constante  $K_w$  ( $W$ , de *water*, “agua”) llamada el **producto ion** para el agua. La relación entre  $K_w$  y  $K$  se muestra a continuación:

$$\begin{aligned} K &= \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = 1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L} \\ K_w &= (K)[\text{H}_2\text{O}] = [\text{H}^+][\text{OH}^-] \\ &= (1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L})(55.56 \text{ mol/L}) \\ &= 1.00 \times 10^{-14} (\text{mol/L})^2 \end{aligned}$$

Note que las dimensiones de  $K$  son mol por litro y las de  $K_w$  son  $\text{mol}^2$  por  $\text{L}^2$ . Como su nombre lo sugiere, el producto ion  $K_w$  es igual desde el punto de vista numérico al producto de las concentraciones molares de  $\text{H}^+$  y  $\text{OH}^-$ :

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

A  $25^\circ\text{C}$ ,  $K_w = (10^{-7})^2$ , o  $10^{-14}$  ( $\text{mol/L})^2$ ; a temperaturas por debajo de  $25^\circ\text{C}$ ,  $K_w$  es un poco menor de  $10^{-14}$ , en tanto que a temperaturas superiores a  $25^\circ\text{C}$  es un poco mayor de  $10^{-14}$ . Dentro de las limitaciones declaradas del efecto de la temperatura,  $K_w$  es igual a  $10^{-14}$  ( $\text{mol/L})^2$  para todas las soluciones acuosas, incluso solu-

ciones de ácidos o bases. Se usa  $K_w$  para calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

## EL pH ES EL LOGARITMO NEGATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE ION HIDRÓGENO

El término **pH** fue introducido en 1909 por Sørensen, quien lo definió como el logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno:

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

Esta definición, si bien no es rigurosa, es suficiente para muchos propósitos bioquímicos; a fin de calcular el pH de una solución:

1. Se calcula la concentración de ion hidrógeno  $[\text{H}^+]$ .
2. Se calcula el logaritmo base 10 de  $[\text{H}^+]$ .
3. El pH es el negativo del valor que se encuentra en el paso 2.

Por ejemplo, para agua pura a  $25^\circ\text{C}$ ,

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

Este valor también se conoce como la *potencia* (*power* [inglés], *puissant* [francés], o *potennz* [alemán]) del exponente, de ahí el uso de “p”.

Los valores de pH bajos corresponden a concentraciones altas de  $\text{H}^+$ , y los valores de pH altos corresponden a concentraciones bajas de  $\text{H}^+$ .

Los ácidos son **donadores de protones** y las bases son **aceptores de protones**. Los **ácidos fuertes** (p. ej.,  $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) se disocian por completo hacia aniones y protones, incluso en soluciones fuertemente ácidas (pH bajo); por su parte, los **ácidos débiles** se disocian sólo en parte en soluciones ácidas. De modo similar, las **bases fuertes** (p. ej.,  $\text{KOH}$ ,  $\text{NaOH}$ ) —no así las **bases débiles** (p. ej.,  $\text{Ca}[\text{OH}]_2$ )— están por completo disociadas a pH alto. Muchas sustancias bioquímicas son ácidos débiles. Las excepciones son los intermediarios fosforilados, cuyo grupo fosforilo contiene dos protones disociables, el primero de los cuales es fuertemente ácido. Los ejemplos que siguen ilustran cómo calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

**Ejemplo 1:** ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidrógeno es de  $3.2 \times 10^{-4}$  mol/L?

$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log [\text{H}^+] \\ &= -\log (3.2 \times 10^{-4}) \\ &= -\log (3.2) - \log (10^{-4}) \\ &= -0.5 + 4.0 \\ &= 3.5 \end{aligned}$$

**Ejemplo 2:** ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidróxido es de  $4.0 \times 10^{-4}$  mol/L? Primero se define una cantidad **pOH** que es igual a  $-\log [\text{OH}^-]$  y que puede derivarse a partir de la definición de  $K_w$ :

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14}$$

Por ende,

$$\log [\text{H}^+] + \log [\text{OH}^-] = \log 10^{-14}$$

o bien

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

Para resolver el problema mediante este método:

$$\begin{aligned} [\text{OH}^-] &= 4.0 \times 10^{-4} \\ \text{pOH} &= -\log [\text{OH}^-] \\ &= -\log (4.0 \times 10^{-4}) \\ &= -\log (4.0) - \log (10^{-4}) \\ &= -0.60 + 4.0 \\ &= 3.4 \end{aligned}$$

Ahora:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= 14 - \text{pOH} = 14 - 3.4 \\ &= 10.6 \end{aligned}$$

Los ejemplos anteriores ilustran de que modo la escala de pH logarítmica facilita la emisión de reporte y la comparación de concentraciones de ion hidrógeno que difieren por órdenes de magnitud de otra, esto es, 0.00032 M (pH 3.5) y 0.00000000025 M (pH 10.6).

**Ejemplo 3:** ¿Cuáles son los valores de pH de a)  $2.0 \times 10^{-2}$  mol/L KOH y de b)  $2.0 \times 10^{-6}$  mol/L KOH? El  $\text{OH}^-$  surge a partir de dos fuentes: KOH y agua. Dado que el pH está determinado por el  $[\text{H}^+]$  total (y el pOH por el  $[\text{OH}^-]$  total), ambas fuentes deben considerarse. En el primer caso, a), la contribución del agua al  $[\text{OH}^-]$  total es insignificante; es imposible decir lo mismo para el segundo caso, b):

	Concentración (mol/L)	
	(a)	(b)
Molaridad de KOH	$2.0 \times 10^{-2}$	$2.0 \times 10^{-6}$
$[\text{OH}^-]$ proveniente de KOH	$2.0 \times 10^{-2}$	$2.0 \times 10^{-6}$
$[\text{OH}^-]$ proveniente de agua	$1.0 \times 10^{-7}$	$1.0 \times 10^{-7}$
$[\text{OH}^-]$ total	$2.00001 \times 10^{-2}$	$2.1 \times 10^{-6}$

Una vez que se ha llegado a una decisión acerca de la importancia de la contribución por el agua, es factible calcular el pH como se mencionó.

Los ejemplos anteriores suponen que la base fuerte KOH está por completo disociada en solución y que, entonces, la concentración de iones  $\text{OH}^-$  fue igual a la del KOH más la presente al principio en el agua. Esta suposición es válida para soluciones diluidas de bases o ácidos fuertes, no así para bases o ácidos débiles. Dado que los electrolitos débiles sólo se disocian un poco en solución, es necesario usar la **constante de disociación** para calcular la concentración de  $[\text{H}^+]$  (o de  $[\text{OH}^-]$ ) producida por una molaridad dada de un ácido (o base) débil antes de calcular el  $[\text{H}^+]$  total (o el  $[\text{OH}^-]$  total) y después el pH.

## Los grupos funcionales que son ácidos débiles tienen gran importancia fisiológica

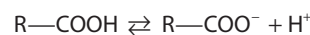
Muchas sustancias bioquímicas poseen grupos funcionales que son ácidos o bases débiles. Los grupos carboxilo, los grupos amino y los ésteres fosfato, cuya segunda disociación cae dentro del rango fisiológico, están presentes en proteínas y ácidos nucleicos,

en casi todas las coenzimas y en casi todos los metabolitos intermedios. De este modo, el conocimiento de la disociación de ácidos y bases débiles es básico para entender la influencia del pH intracelular sobre la estructura y la actividad biológica. Las separaciones basadas en carga, como la electroforesis y la cromatografía de intercambio iónico, también se entienden mejor en términos de la conducta de disociación de grupos funcionales.

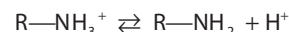
La especie protonada (p. ej., HA o  $\text{R}-\text{NH}_3^+$ ) recibe la denominación de **ácido**, en tanto que la especie no protonada (p. ej.,  $\text{A}^-$  o  $\text{R}-\text{NH}_2$ ) es su **base conjugada**. De modo similar, puede hacerse referencia a una **base** (p. ej.,  $\text{A}^-$  o  $\text{R}-\text{NH}_2$ ) y su **ácido conjugado** (p. ej., HA o  $\text{R}-\text{NH}_3^+$ ). Los ácidos débiles representativos (columna izquierda), sus bases conjugadas (al centro) y valores de  $\text{p}K_a$  (columna derecha) incluyen los siguientes:

$\text{R}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	$\text{p}K_a = 4 - 5$
$\text{R}-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	$\text{p}K_a = 9 - 10$
$\text{H}_2\text{CO}_3$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{p}K_a = 6.4$
$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$\text{HPO}_4^{2-}$	$\text{p}K_a = 7.2$

Las fuerzas relativas de ácidos y bases débiles se expresan en función de sus constantes de disociación. A continuación se muestran las expresiones para la constante de disociación ( $K_a$ ) para dos ácidos débiles representativos,  $\text{R}-\text{COOH}$  y  $\text{R}-\text{NH}_3^+$ .



$$K_a = \frac{[\text{R}-\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{R}-\text{COOH}]}$$



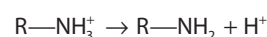
$$K_a = \frac{[\text{R}-\text{NH}_2][\text{H}^+]}{[\text{R}-\text{NH}_3^+]}$$

Dado que los valores numéricos de  $K_a$  para ácidos débiles son números exponenciales negativos,  $K_a$  se expresa como  $\text{p}K_a$ , donde

$$\text{p}K_a = -\log K_a$$

Note que  $\text{p}K_a$  se relaciona con  $K_a$  como el pH se relaciona con  $[\text{H}^+]$ . Mientras más fuerte es el ácido, más bajo es el valor de  $\text{p}K_a$ .

La  $\text{p}K_a$  se usa para expresar las fuerzas relativas tanto de ácidos como de bases. Para cualquier ácido débil, su conjugado es una base fuerte; de modo similar, el conjugado de una base fuerte es un ácido débil. **Las fuerzas relativas de bases se expresan en términos de la  $\text{p}K_a$  de sus ácidos conjugados.** Para compuestos polipróticos que contienen más de un protón disociable, se asigna un número subíndice a cada disociación, comenzando a partir de la unidad en orden decreciente de acidez relativa. Para una disociación del tipo

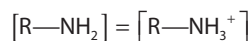


la  $\text{p}K_a$  es el pH al cual la concentración del ácido  $\text{R}-\text{NH}_3^+$  es igual a la de la base  $\text{R}-\text{NH}_2$ .

A partir de las ecuaciones anteriores que relacionan la  $K_a$  con el  $[\text{H}^+]$  y con las concentraciones de ácido no disociado y su base conjugadas, cuando

$$[\text{R}-\text{COO}^-] = [\text{R}-\text{COOH}]$$

o cuando



entonces

$$K_a = [\text{H}^+]$$

De este modo, cuando las especies asociada (protonada) y disociada (base conjugada) están presentes a iguales concentraciones, la concentración de ion hidrógeno  $[\text{H}^+]$  prevaleciente es igual desde el punto de vista numérico a la constante de disociación,  $K_a$ . Si se toman los logaritmos de ambos lados de la ecuación anterior y se multiplican por  $-1$ , las expresiones quedan como sigue:

$$\begin{aligned} K_a &= [\text{H}^+] \\ -\log K_a &= -\log [\text{H}^+] \end{aligned}$$

Dado que  $-\log K_a$  se define como  $\text{p}K_a$  y  $-\log [\text{H}^+]$  define al pH, la ecuación puede reescribirse como

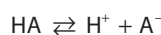
$$\text{p}K_a = \text{pH}$$

esto es, **la  $\text{p}K_a$  de un grupo ácido es el pH al cual las especies protonada y no protonada están presentes a concentraciones iguales**. La  $\text{p}K_a$  para un ácido puede determinarse al añadir 0.5 equivalente de álcali por equivalente de ácido. El pH resultante será igual a la  $\text{p}K_a$  del ácido.

## La ecuación de Henderson-Hasselbalch describe el comportamiento de ácidos débiles y amortiguadores

La ecuación de Henderson-Hasselbalch se deduce a continuación.

Un ácido débil, HA, se ioniza como sigue:



La constante de equilibrio para esta disociación es

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

La multiplicación cruzada da

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

Se dividen ambos lados por  $[\text{A}^-]$ :

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

Se toma el logaritmo de ambos lados:

$$\begin{aligned} \log[\text{H}^+] &= \log \left( K_a \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right) \\ &= \log K_a + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \end{aligned}$$

Se multiplica todo por  $-1$ :

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

Se sustituye el pH y la  $\text{p}K_a$  para  $-\log [\text{H}^+]$  y  $-\log K_a$ , respectivamente; entonces:

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

La inversión del último término elimina el signo de menos y da la **ecuación de Henderson-Hasselbalch**:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch tiene gran valor predictivo en equilibrios protónicos. Por ejemplo,

1. Cuando exactamente la mitad de un ácido está neutralizada,  $[\text{A}^-] = [\text{HA}]$ . En estas condiciones,

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = \text{p}K_a + \log \left( \frac{1}{1} \right) = \text{p}K_a + 0$$

Por ende, cuando la mitad de un ácido está neutralizada,  $\text{pH} = \text{p}K_a$ .

2. Cuando la proporción  $[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 100:1$ ,

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \\ \text{pH} &= \text{p}K_a + \log (100/1) = \text{p}K_a + 2 \end{aligned}$$

3. Cuando la proporción  $[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 1:10$ ,

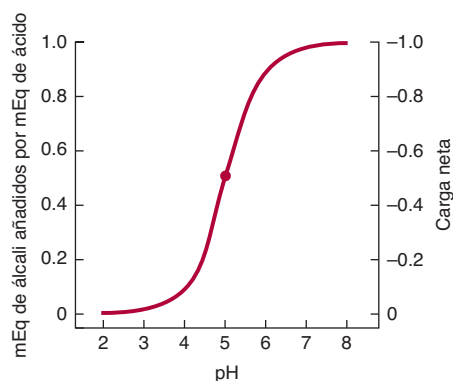
$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log (1/10) = \text{p}K_a + (-1)$$

Si la ecuación se evalúa a proporciones de  $[\text{A}^-]/[\text{HA}]$  que varían desde  $10^3$  hasta  $10^{-3}$  y se grafican los valores de pH calculados, el gráfico resultante describe la curva de titulación para un ácido débil (**figura 2-5**).

## Las soluciones de ácidos débiles y sus sales amortiguan cambios del pH

Las soluciones de ácidos o bases débiles y sus conjugados muestran **amortiguación**, la capacidad para resistir a un cambio del pH después de la adición de un ácido o una base fuerte. Dado que muchas reacciones metabólicas se acompañan de liberación o captación de protones, casi todas las reacciones intracelulares están amortiguadas. El metabolismo oxidativo produce  $\text{CO}_2$ , el anhídrido del ácido carbónico, que de no amortiguarse produciría acidosis grave. El mantenimiento de un pH constante comprende amortiguación mediante fosfato, bicarbonato y proteínas, que aceptan o liberan protones para resistir a un cambio del pH. En experimentos donde se usan extractos de tejido o enzimas, el pH constante se mantiene por medio de la adición de amortiguadores como MES (ácido [2-*N*-morfolino]-etanosulfónico,  $\text{p}K_a$  6.1), ortofosfato inorgánico ( $\text{p}K_{a2}$  7.2), HEPES (ácido *N*-hidroxietilpiperazina-*N'*-2-etanosulfónico,  $\text{p}K_a$  6.8) o Tris (tris[hidroxiometil]aminometano,  $\text{p}K_a$  8.3). El valor de  $\text{p}K_a$  respecto al pH deseado es el principal determinante de cuál amortiguador se selecciona.

La amortiguación se observa al usar un medidor de pH mientras se titula un ácido o una base débil (**figura 2-5**). También es



**FIGURA 2-5** Curvas de titulación para un ácido del tipo HA. El punto grueso, en el centro de la curva, indica la  $pK_a$  de 5.0.

factible calcular la desviación de pH que acompaña a la adición de ácido o base a una solución amortiguada. En el ejemplo, la solución amortiguada (un ácido débil,  $pK_a = 5.0$ , y su base conjugada) se encuentra, al inicio, en uno de cuatro valores de pH; se calcula el cambio de pH producido cuando se añaden 0.1 mEq de KOH a 1 mEq de cada solución:

pH inicial	5.00	5.37	5.60	5.86
$[A^-]_{\text{inicial}}$	0.50	0.70	0.80	0.88
$[HA]_{\text{inicial}}$	0.50	0.30	0.20	0.12
$([A^-]/[HA])_{\text{inicial}}$	1.00	2.33	4.00	7.33
<b>La adición de 0.1 mEq de KOH produce</b>				
$[A^-]_{\text{final}}$	0.60	0.80	0.90	0.98
$[HA]_{\text{final}}$	0.40	0.20	0.10	0.02
$([A^-]/[HA])_{\text{final}}$	1.50	4.00	9.00	49.0
$\log ([A^-]/[HA])_{\text{final}}$	0.18	0.60	0.95	1.69
pH final	5.18	5.60	5.95	6.69
<b><math>\Delta</math>pH</b>	<b>0.18</b>	<b>0.60</b>	<b>0.95</b>	<b>1.69</b>

Note que el cambio de pH por mEq de  $OH^-$  añadido depende del pH inicial. La solución se resiste a cambios del pH con mayor eficacia a valores de pH cercanos a la  $pK_a$ . **Una solución de un ácido débil y su base conjugada amortigua de manera más eficaz en el rango de pH de  $pK_a \pm 1.0$  unidades de pH.**

La figura 2-5 también ilustra la carga neta en una molécula del ácido como una función del pH. Una carga fraccionaria de  $-0.5$  no significa que una molécula individual porta una carga fraccionaria sino que la *probabilidad* es de 0.5 de que una molécula dada tenga una carga negativa de unidad en cualquier momento dado en el tiempo. La consideración de la carga neta sobre macromoléculas como una función del pH proporciona la base para técnicas de separación, como la cromatografía de intercambio de ion y la electroforesis.

## La fuerza del ácido depende de la estructura molecular

Muchos ácidos de interés biológico poseen más de un grupo que se disocia. La presencia de carga negativa adyacente obstaculiza

**CUADRO 2-2** Fuerzas relativas de ácidos seleccionados de importancia biológica<sup>1</sup>

Ácidos monopróticos		
Fórmico	$pK$	3.75
Láctico	$pK$	3.86
Acético	$pK$	4.76
Ion amonio	$pK$	9.25
Ácidos dipróticos		
Carbónico	$pK_1$	6.37
	$pK_2$	10.25
Succínico	$pK_1$	4.21
	$pK_2$	5.64
Glutámico	$pK_1$	4.34
	$pK_2$	5.41
Ácidos tripróticos		
Fosfórico	$pK_1$	2.15
	$pK_2$	6.82
	$pK_3$	12.38
Cítrico	$pK_1$	3.08
	$pK_2$	4.74
	$pK_3$	5.40

<sup>1</sup> Nota: los valores tabulados son los valores de  $pK_i$  ( $-\log$  de la constante de disociación) de ácidos monopróticos, dipróticos y tripróticos seleccionados.

la liberación de un protón desde un grupo cercano, lo que aumenta su  $pK_a$ . Esto queda de manifiesto a partir de los valores de  $pK_a$  para los tres grupos que se pueden disociar de ácido fosfórico y ácido cítrico (cuadro 2-2). El efecto de la carga adyacente disminuye con la distancia. La segunda  $pK_a$  para el ácido succínico, que tiene dos grupos metileno entre sus grupos carboxilo, es de 5.6, mientras que la segunda  $pK_a$  para el ácido glutámico, que tiene un grupo metileno adicional, es de 5.4.

## Los valores de $pK_a$ dependen de las propiedades del medio

La  $pK_a$  de un grupo funcional también está profundamente influida por el medio circundante. El medio puede aumentar o disminuir la  $pK_a$  dependiendo de si el ácido no disociado o su base conjugada es la especie cargada. El efecto de la constante dieléctrica sobre la  $pK_a$  se observa al añadir etanol al agua. La  $pK_a$  de un ácido carboxílico *aumenta*, mientras que la de una amina *disminuye* porque el etanol aminora la capacidad del agua para solvatar una especie cargada. De este modo, los valores  $pK_a$  de grupos que se están disociando en los interiores de proteínas, están muy afectados por su ambiente local, lo que incluye la presencia o ausencia de agua.

## RESUMEN

- El agua forma agrupaciones enlazadas por hidrógeno consigo misma y con otros donadores o aceptores de protones. Los enlaces de hidrógeno explican la tensión superficial, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente y el poder solvente del agua.
- Los compuestos que contienen O o N pueden servir como donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno.
- Las macromoléculas intercambian enlaces de hidrógeno de superficie interna por enlaces de hidrógeno con agua. Las fuerzas entrópicas dictan que las macromoléculas exponen regiones polares a una interfaz acuosa y sepultan regiones no polares.
- Los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de van der Waals participan en el mantenimiento de la estructura molecular.
- El pH es el logaritmo negativo de  $[H^+]$ . Un pH bajo caracteriza a una solución ácida, mientras que un pH alto denota una solución básica.
- La fuerza de ácidos débiles se expresa mediante la  $pK_a$ , el logaritmo negativo de la constante de disociación de ácido. Los

ácidos fuertes tienen valores de  $pK_a$  bajos, en tanto que los débiles muestran valores de  $pK_a$  altos.

- Los amortiguadores resisten a un cambio del pH cuando se producen o consumen protones. La capacidad amortiguadora máxima ocurre  $\pm 1$  unidad de pH a uno u otro lado de la  $pK_a$ . Los amortiguadores fisiológicos son bicarbonato, ortofosfato y proteínas.

## REFERENCIAS

- Reese KM: Whence came the symbol pH. *Chem & Eng News* 2004;82:64.
- Segel IM: *Biochemical Calculations*. Wiley, 1968.
- Skinner JL: Following the motions of water molecules in aqueous solutions. *Science* 2010;328:985.
- Stillinger FH: Water revisited. *Science* 1980;209:451.
- Suresh SJ, Naik VM: Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. *J Chem Phys* 2000;113:9727.
- Wiggins PM: Role of water in some biological processes. *Microbiol Rev* 1990;54:432.