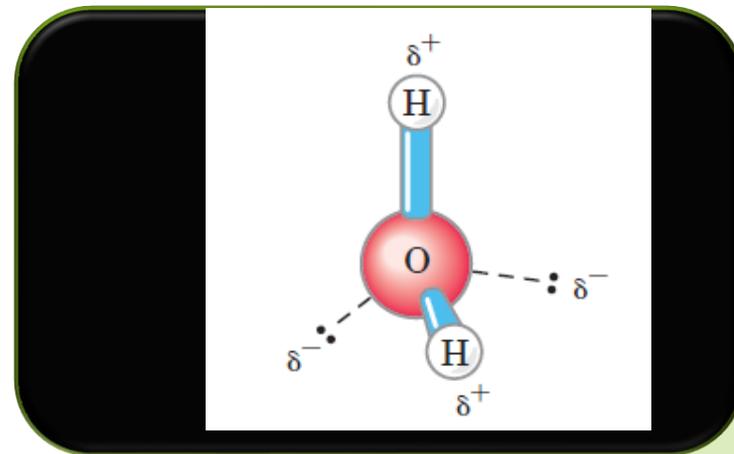


BIOQUÍMICA

Estrutura de Biomoléculas

Água, tampões e pH

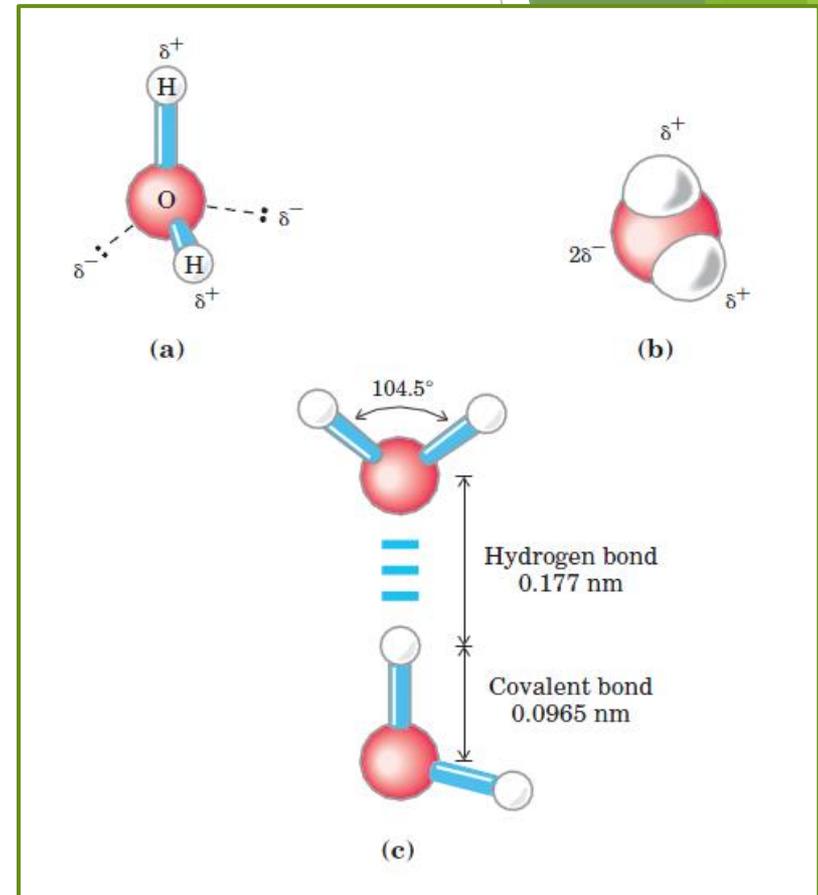


A água e a vida

- ▶ A água é o componente essencial da vida como a conhecemos.
- ▶ A água é a substância mais abundante em sistemas biológicos, perfazendo 70% ou mais em peso de um organismo.
- ▶ A primeira forma de vida se originou num meio aquoso, e o curso da evolução tem sido moldado em função das propriedades da água.
- ▶ As forças de atração entre moléculas de água e a tendência de se ionizar são propriedades importantes para a estrutura e função das moléculas biológicas.
- ▶ Nesta aula, vamos abordar temas como a constante de equilíbrio da água, pH, e titulação de ácidos e bases, e como estas propriedades influenciam a solubilidades e a interação entre moléculas.

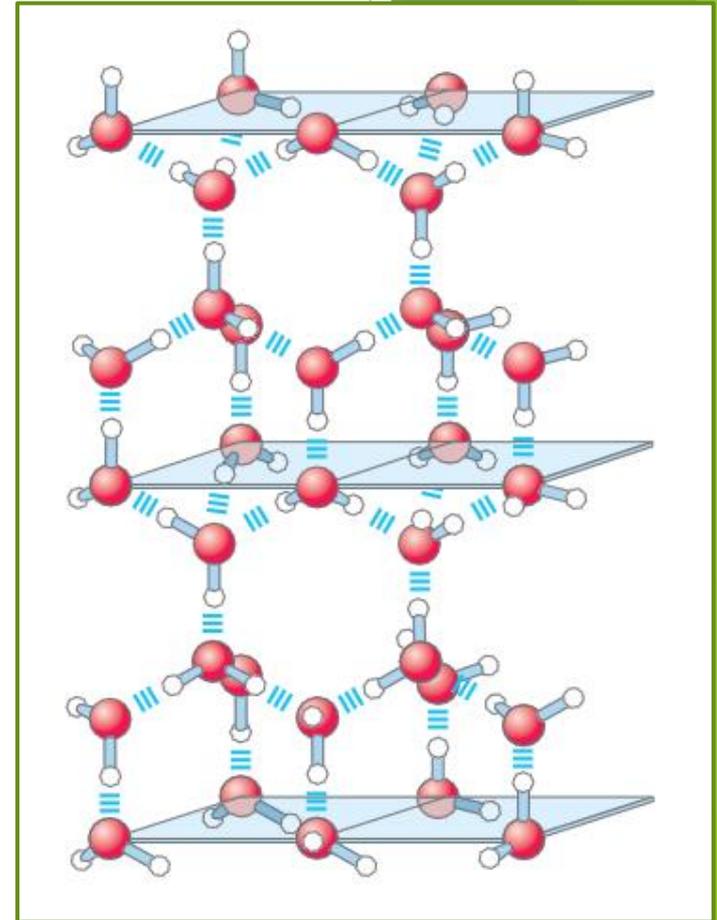
A estrutura da água e a ligação de hidrogênio

- ▶ Analisando a estrutura da molécula de água, podemos entender o porquê destas propriedades.
- ▶ Cada átomo de hidrogênio compartilha um par de elétrons com o átomo central de oxigênio (a).
- ▶ Como oxigênio é mais eletronegativo que hidrogênio, os pares de elétron são atraídos para próximo do núcleo do átomo central de oxigênio.
- ▶ Isto faz com que haja a formação de um dipolo ao longo das ligações H-O;



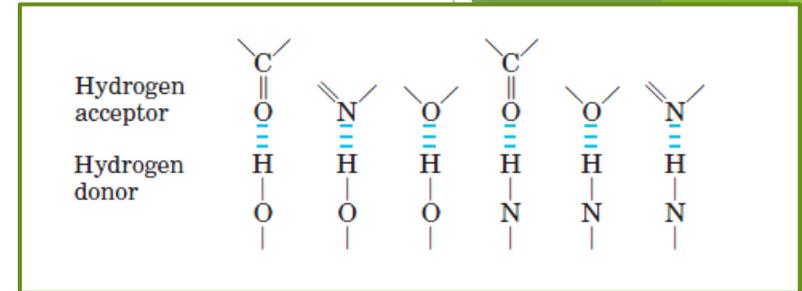
A estrutura da água

- ▶ O arranjo em tetraedro dos orbitais do átomo de oxigênio permite a formação de ligações de hidrogênio com até 4 molécula de água .
- ▶ No estado líquido, à temperatura ambiente e pressão atmosférica, as moléculas de água encontram-se desorganizadas e em movimento contínuo, formando apenas, em média, 3.4 ligações de hidrogênio com outras moléculas de água.
- ▶ Já no estado sólido (gelo), elas encontram-se imóveis e formam todas as 4 ligações de hidrogênio possíveis.

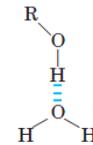


A ligação de hidrogênio não é exclusiva da água

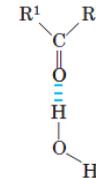
- ▶ A formação de ligações de hidrogênio não é exclusiva da molécula de água.
- ▶ Ligações de hidrogênio se formam entre quaisquer átomos eletronegativos (geralmente, oxigênio ou nitrogênio) e hidrogênios ligados a átomos eletronegativos.
- ▶ A formação de ligações de hidrogênio é importante na solubilidade de várias biomoléculas.
- ▶ Álcool, cetonas, aldeídos, e compostos com ligações N-H, forma ligação de hidrogênio com a água.
- ▶ Hidrogênios ligados a átomos de carbono (ligação C-H) não participam de ligações de hidrogênio.



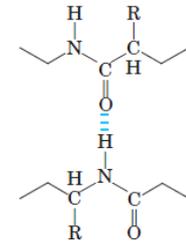
Between the hydroxyl group of an alcohol and water



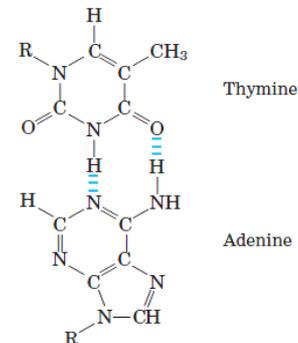
Between the carbonyl group of a ketone and water



Between peptide groups in polypeptides

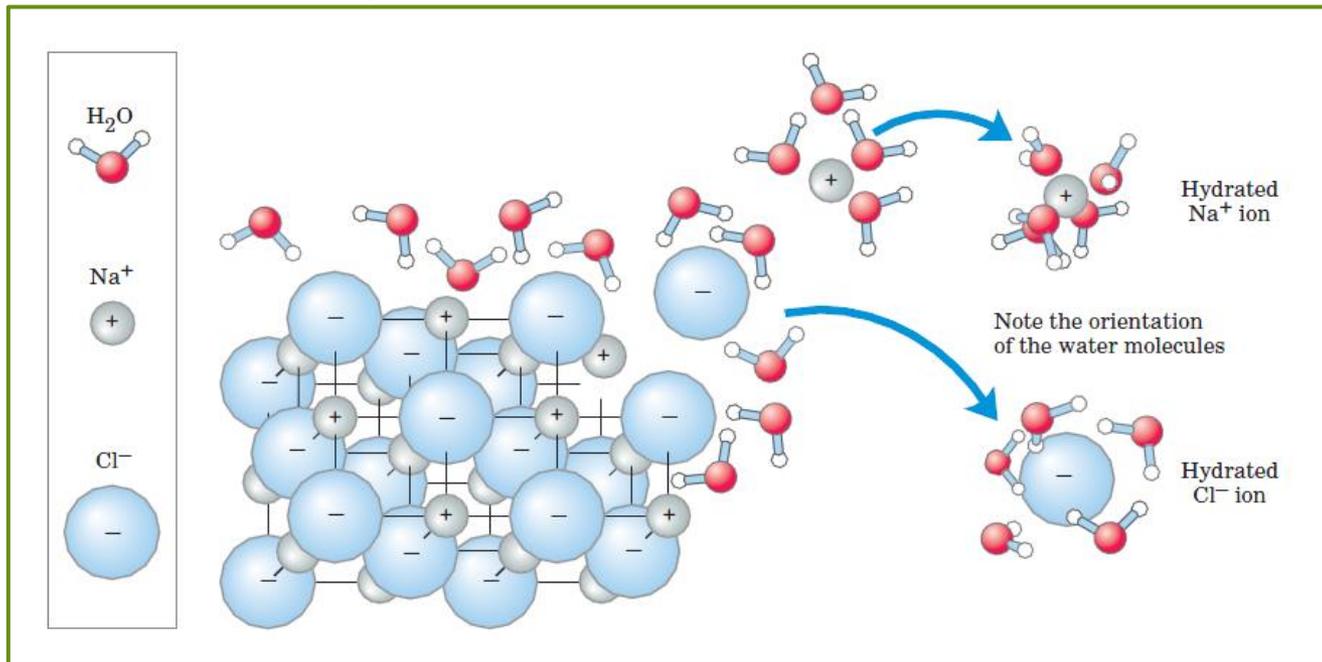


Between complementary bases of DNA



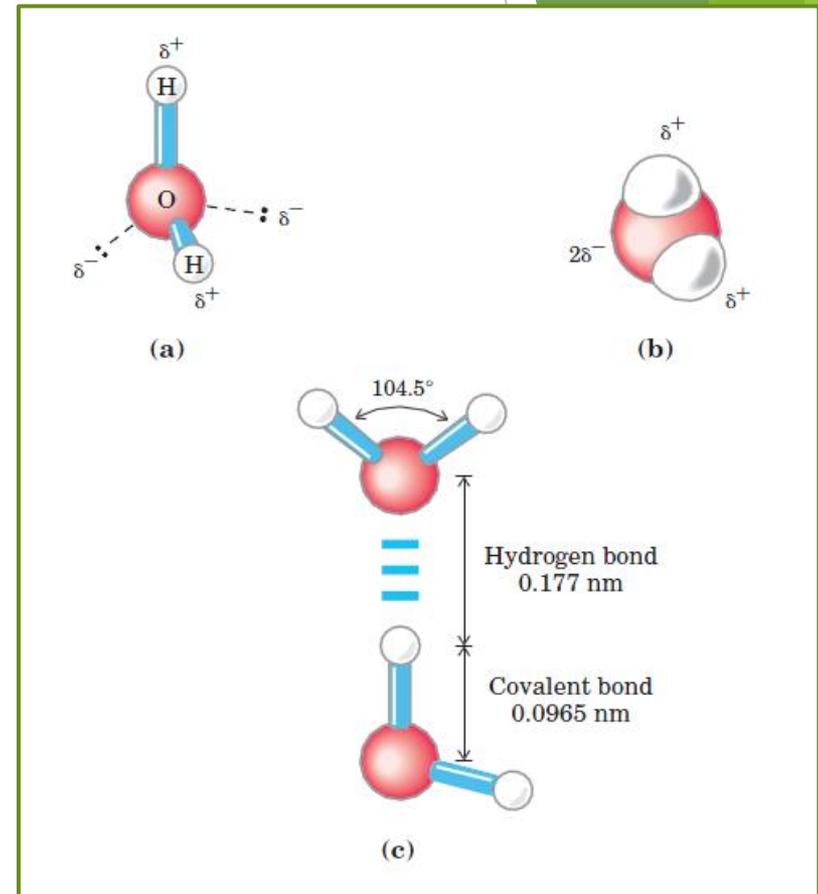
A água como solvente

- ▶ A água é um solvente polar e dissolve boa parte das moléculas biológicas, que geralmente contêm grupamentos polares ou carregados (também chamados de compostos hidrofílicos - do grego, amigo da água).
- ▶ Em contraste, solventes apolares (tais como clorofórmio ou benzeno) não solubilizam biomoléculas polares, mas solubilizam prontamente compostos hidrofóbicos (moléculas apolares, tais como lipídios e gorduras).
- ▶ Por exemplo, a água dissolve sais como NaCl por hidratar e estabilizar os íons Na^+ e Cl^- , enfraquecendo a associação entre eles.

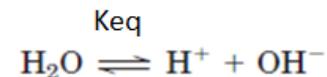


A estrutura da água e a ligação de hidrogênio

- ▶ Cada Hidrogênio carrega uma carga positiva parcial (δ^+) enquanto o átomo de Oxigênio apresenta uma carga negativa parcial cuja soma é equivalente às duas ligações H-O ($2\delta^-$).
- ▶ Isto permite a formação da chamada ligação de hidrogênio.
- ▶ A ligação de hidrogênio é relativamente fraca: a energia necessária para rompê-la é de apenas 23 kJ/mol (compare com 470 kJ/mol para a ligação O-H ou 348 kJ/mol para a ligação C-C).
- ▶ A ligação de hidrogênio é aproximadamente 10% covalente (devido à sobreposição de orbitais) e 90% eletrostática.



Ionização da água: Kw



- ▶ A constante de equilíbrio da água é:
- ▶ Considerando que água pura a 25°C
- ▶ tem uma concentração de 55.5 M (1.000 g/L dividido por 18,015 g/mol), então:
- ▶ Rearranjando a equação, temos o produto iônico da água (K_w):

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

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{55.5 \text{ M}}$$

$$(55.5 \text{ M})(K_{\text{eq}}) = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_w$$

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = (55.5 \text{ M})(1.8 \times 10^{-16}) \\ = 1.0 \times 10^{-14} \text{ M}^2$$

- ▶ Sabendo-se que o K_{eq} da água a 25°C é
- ▶ $1,8 \times 10^{-16} \text{ M}$, então:
- ▶ O produto iônico da água
- ▶ $K_w = ([\text{H}^+][\text{OH}^-])$ será igual a 10^{-14} M^2 .
- ▶ $-\log K_w = 14$

$$\text{p}K_w = \log (1.0 \times 10^{-14}) = 14$$

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

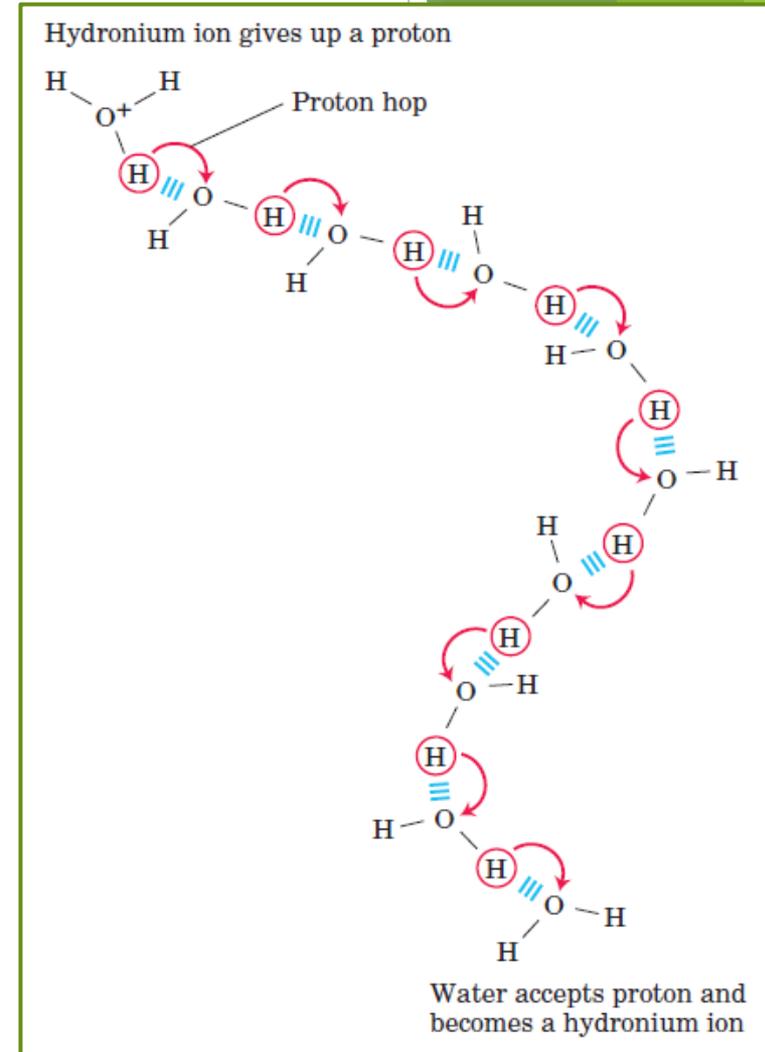
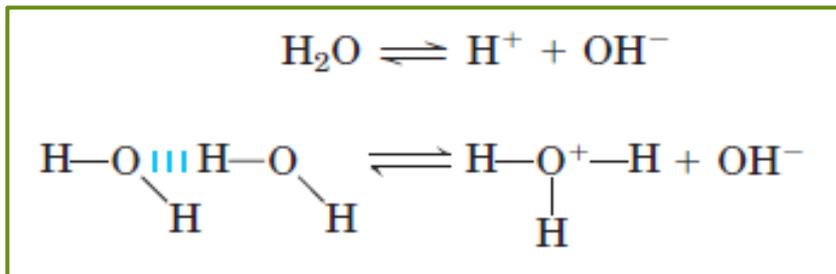
$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = [\text{H}^+]^2$$

$$[\text{H}^+] = \sqrt{K_w} = \sqrt{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}$$

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ M}$$

Ionização da água: ácidos e bases fracas

- ▶ A água tem uma (fraca) tendência a se dissociar.
- ▶ Como prótons não existem sozinhos em solução, eles imediatamente se associam a outra molécula de H₂O formando o íon hidrônio (H₃O⁺).
- ▶ A ionização da água pode ser confirmada dada sua (baixa) condutividade elétrica.



A escala de pH e as concentrações de H⁺ e OH⁻

- ▶ O produto iônico da água (K_w) é a base para a escala de pH, que é uma forma conveniente de expressar a concentração de H⁺ (e portanto, de OH⁻) em qualquer solução, na faixa de 1M de H⁺ e 1M de OH⁻.

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} = -\log [\text{H}^+]$$

- ▶ O símbolo “p” representa o ‘*logaritmo negativo de*’. Para uma concentração de 1x10⁻⁷

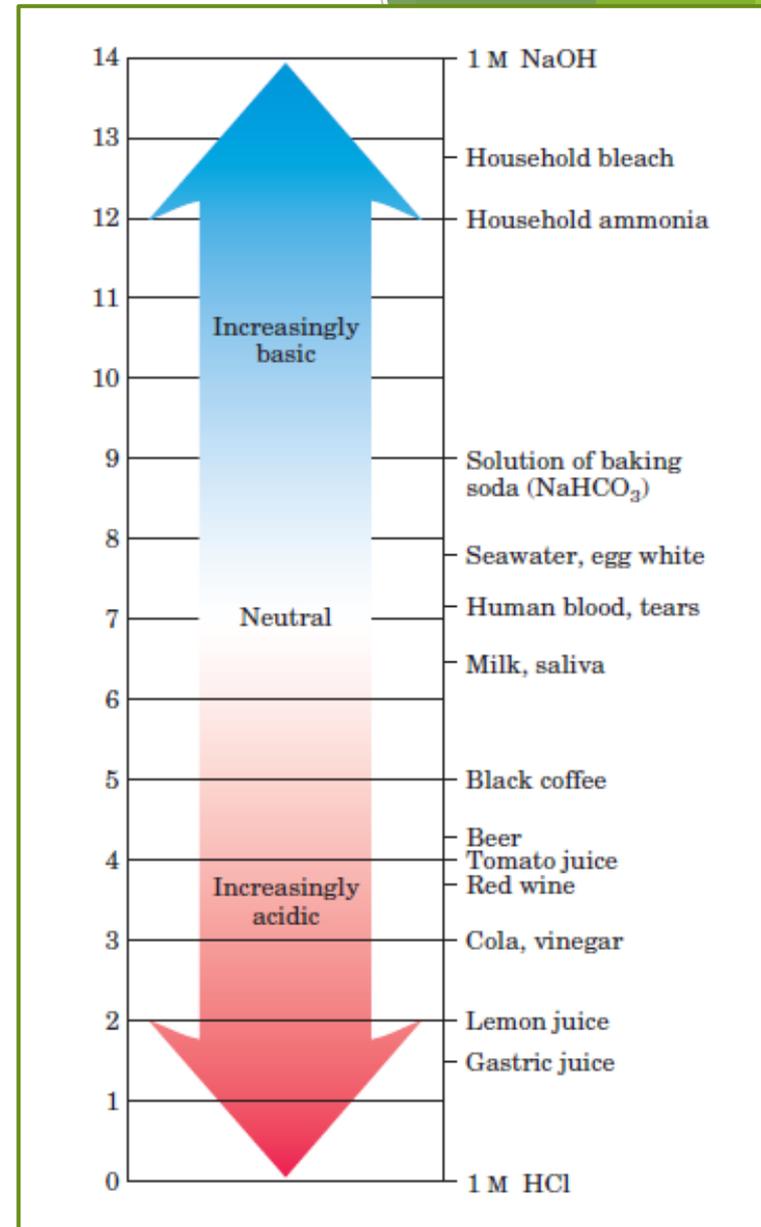
$$\begin{aligned}\text{pH} &= \log \frac{1}{1.0 \times 10^{-7}} = \log (1.0 \times 10^7) \\ &= \log 1.0 + \log 10^7 = 0 + 7 = 7\end{aligned}$$

TABLE 2-6 The pH Scale

[H ⁺] (M)	pH	[OH ⁻] (M)	pOH*
10 ⁰ (1)	0	10 ⁻¹⁴	14
10 ⁻¹	1	10 ⁻¹³	13
10 ⁻²	2	10 ⁻¹²	12
10 ⁻³	3	10 ⁻¹¹	11
10 ⁻⁴	4	10 ⁻¹⁰	10
10 ⁻⁵	5	10 ⁻⁹	9
10 ⁻⁶	6	10 ⁻⁸	8
10 ⁻⁷	7	10 ⁻⁷	7
10 ⁻⁸	8	10 ⁻⁶	6
10 ⁻⁹	9	10 ⁻⁵	5
10 ⁻¹⁰	10	10 ⁻⁴	4
10 ⁻¹¹	11	10 ⁻³	3
10 ⁻¹²	12	10 ⁻²	2
10 ⁻¹³	13	10 ⁻¹	1
10 ⁻¹⁴	14	10 ⁰ (1)	0

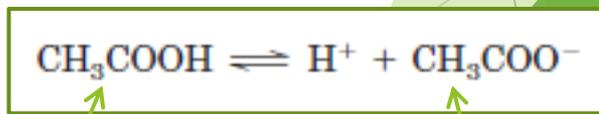
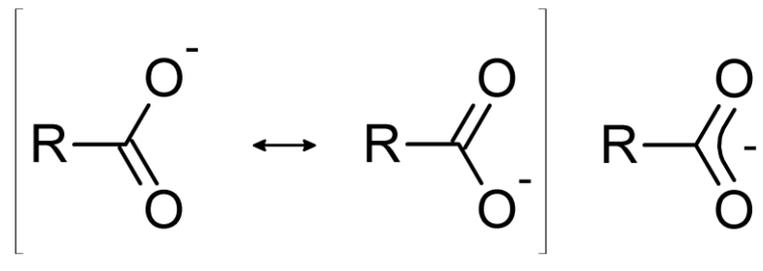
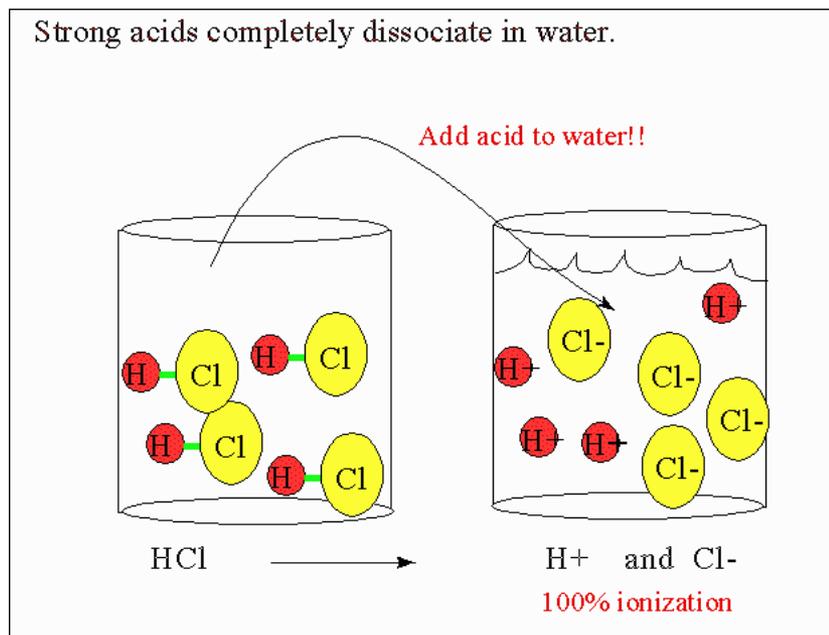
A escala de pH

- ▶ Portanto, o valor de 7 para pH neutro não é um valor arbitrário, mas sim um valor absoluto derivado do produto de ionização da água.
- ▶ Em $\text{pH} = 7 \implies [\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ M}$
- ▶ É importante notar ainda que é uma escala logarítmica.
- ▶ Ou seja, coca-cola (pH 3) e vinho tinto (pH 3,7) têm aproximadamente 10.000 vezes mais H^+ do que o sangue (pH 7,4).



Ácidos e bases, fortes e fracas

- ▶ Ácidos são definidos com doadores de prótons, e as bases de acceptoras de prótons. (Brønsted-Lowry)
- ▶ HCl, H₂SO₄, HNO₃, NaOH, KOH, são ácidos ou bases fortes, e se ionizam completamente em água.
- ▶ Porém, os ácidos e bases fracas (aquelas que não se ionizam por completo em água) são de maior interesse para a bioquímica.

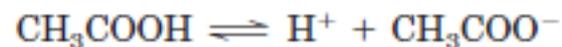


ácido

base conjugada

Ácidos e bases, fortes e fracas: pKa

- ▶ Portanto, pela definição de Brønsted-Lowry, ácidos são definidos com doadores de prótons, e as bases deceptoras de prótons.
- ▶ O conjunto do doador e do receptor de prótons é conhecido como ácido-base
- ▶ O pKa de um ácido fraco é análogo ao pH e é definido como:



ácido

base conjugada

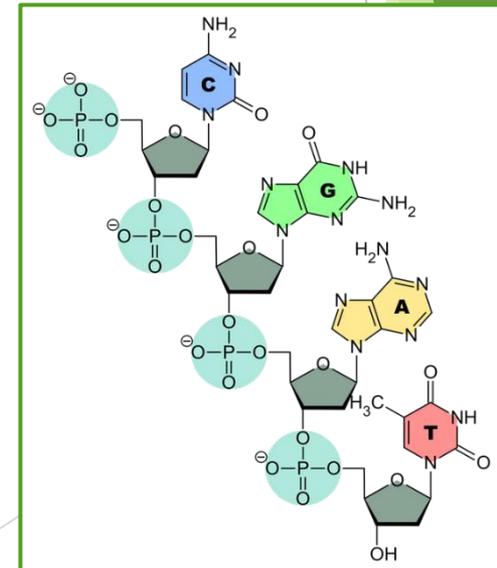
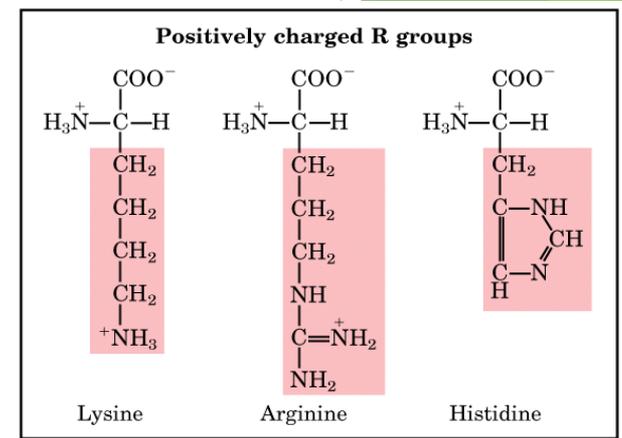
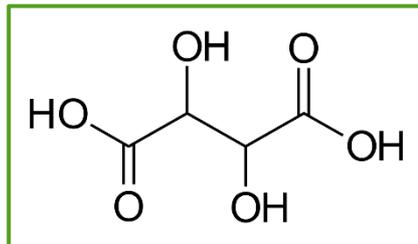


$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K_{\text{a}}$$

$$\text{p}K_{\text{a}} = \log \frac{1}{K_{\text{a}}} = -\log K_{\text{a}}$$

Moléculas orgânicas são comumente ácidos ou bases

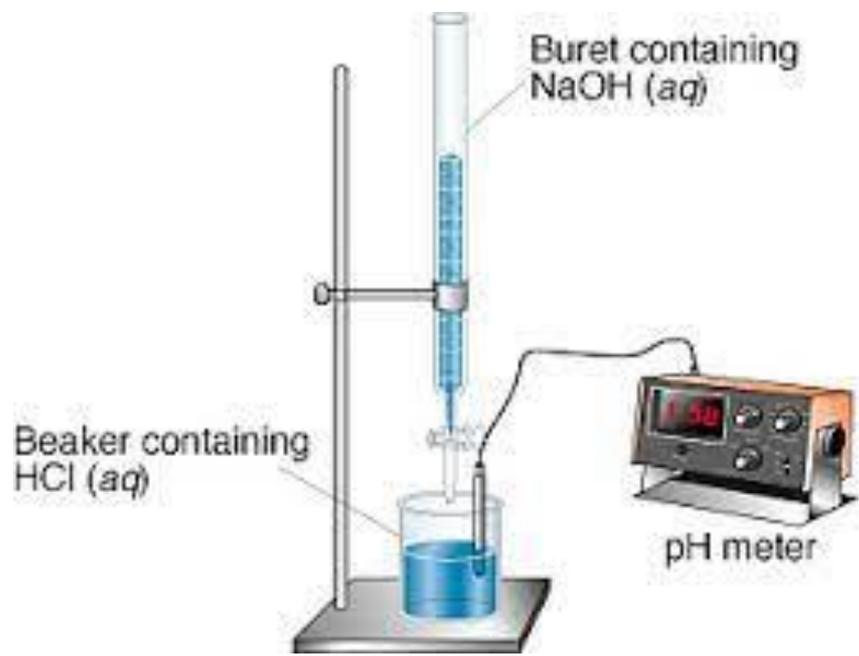
- ▶ Amino ácidos (constituintes das proteínas), bases do DNA (material genético)
- ▶ Pequenas moléculas orgânicas, como ácido acético, propiônico, tartárico, etc
- ▶ Estes compostos são produtos do metabolismo animal e vegetal
- ▶ Estes compostos podem alterar o pH de sistemas biológicos



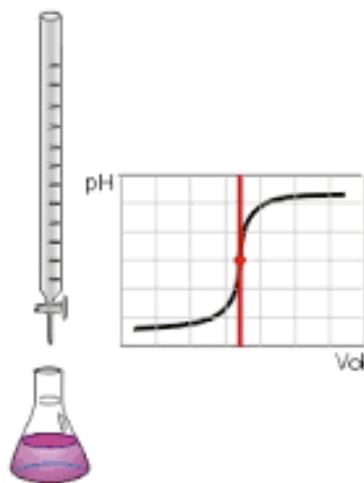
A importância do pH nos sistemas biológicos

- ▶ Os sistemas biológicos mantêm o pH do meio (intracelular e de fluídos biológicos, por exemplo) muito bem controlado
- ▶ Um exemplo do que acontece quando há uma mudança de pH no leite
- ▶ A coalhada e os queijos são produtos da precipitação das proteínas do leite por causa da mudança do pH
- ▶ Isto desestabiliza as macromoléculas, fazendo com que elas precipitam no meio





Titulação



Fonte: <http://pt.wikipedia.org>



Curva de titulação: ácidos e bases fortes

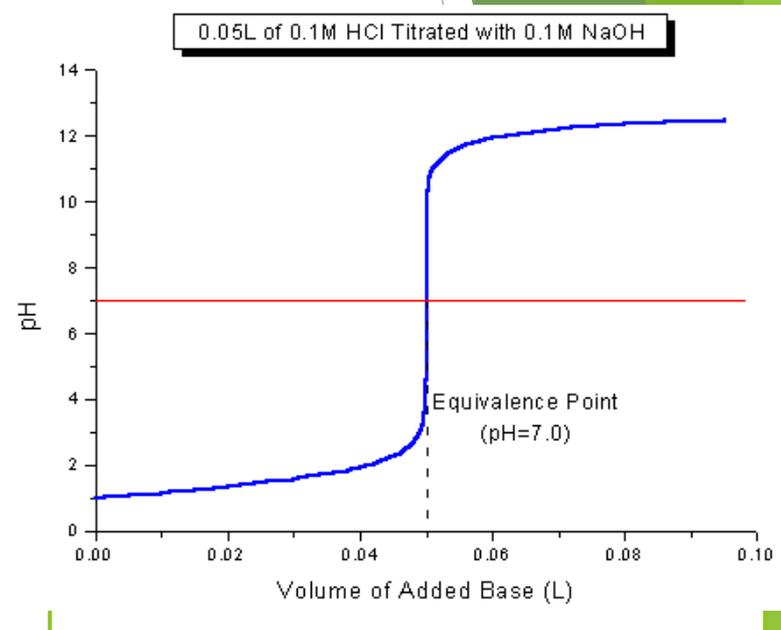
- ▶ A curva de titulação de um ácido forte com uma base forte está mostrada abaixo.



- ▶ Note a variação brusca de pH no meio da curva.



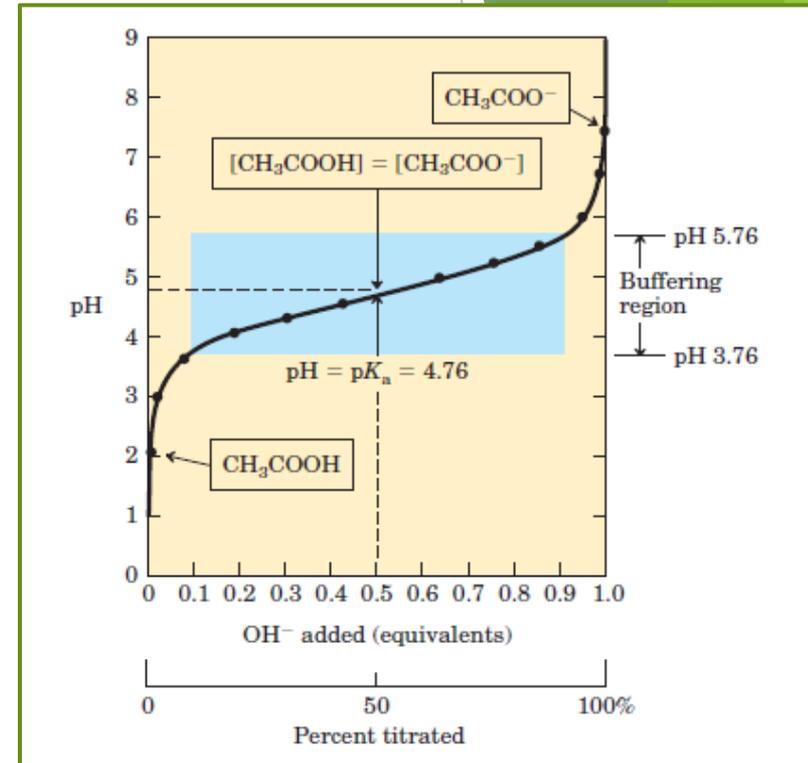
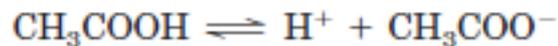
- ▶ Isto ocorre porque assim que o ácido é neutralizado, o OH da base adicional aumenta muito o pH do meio.



Curva de titulação de um ácido fraco

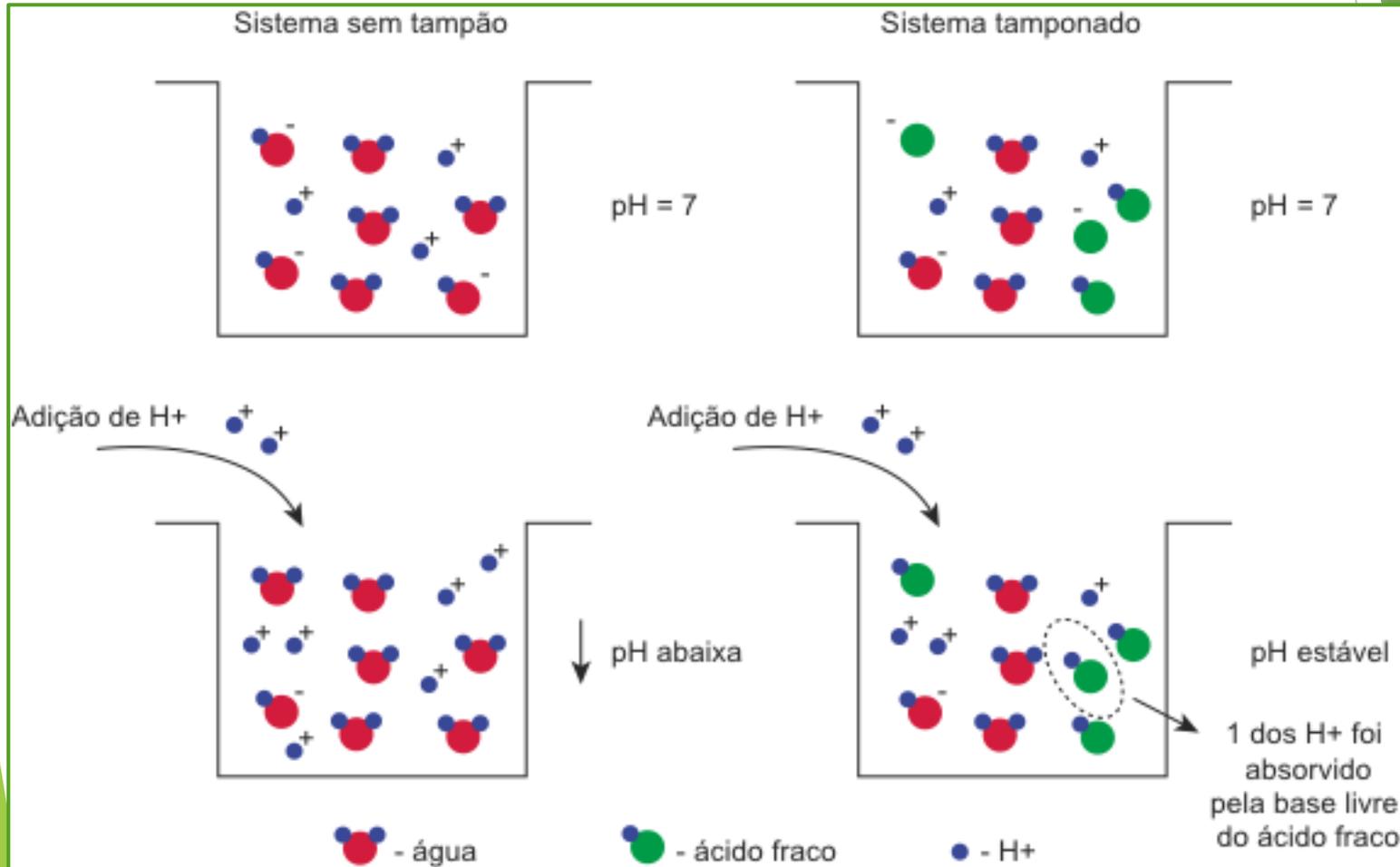
- No caso de ácidos fracos, nem todo o H^+ está na forma livre, parte está ligado ao grupo carboxílico do ácido acético na forma de $-COOH$.

Por isso, o pH se altera menos com a adição de OH^- do que quando não tem ácido acético no meio.



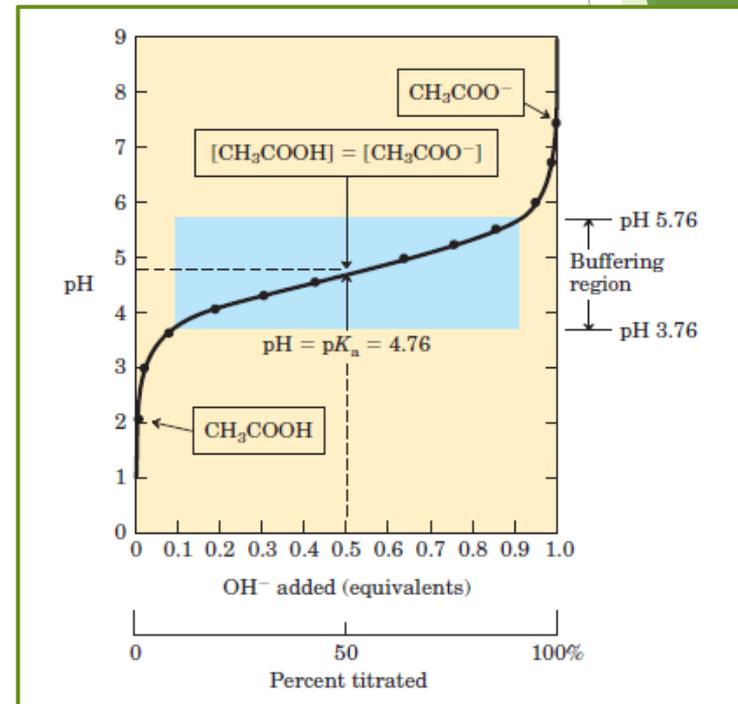
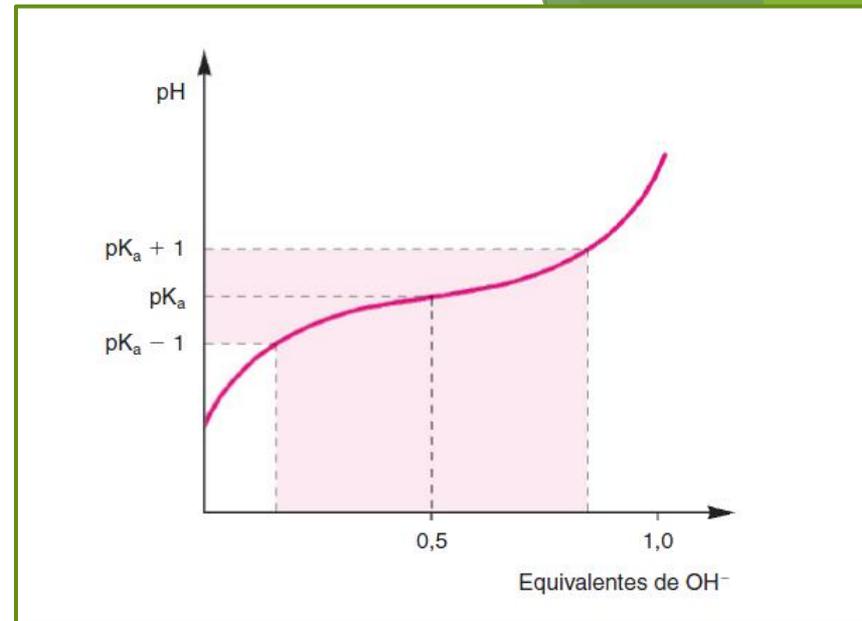
Como funciona um tampão?

- ▶ Ácidos e bases fracas competem pelo H^+ livre em solução, sequestrando o próton e estabilizando o pH.



Tampões

- ▶ Tampões são soluções aquosas que resistem a alterações de pH quando pequenas quantidades de ácidos (H^+) ou bases (OH^-) são adicionados ao sistema.
- ▶ A faixa ótima de tamponamento é da ordem uma unidade de pH acima e uma unidade abaixo do pKa do ácido ou base fraca



Curva de titulação: ácidos e bases fortes

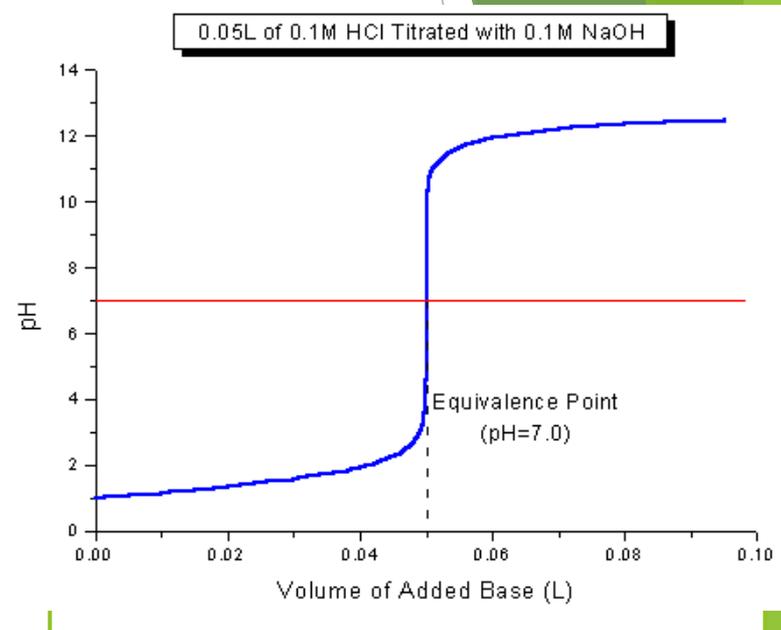
- ▶ A curva de titulação de um ácido forte com uma base forte está mostrada abaixo.



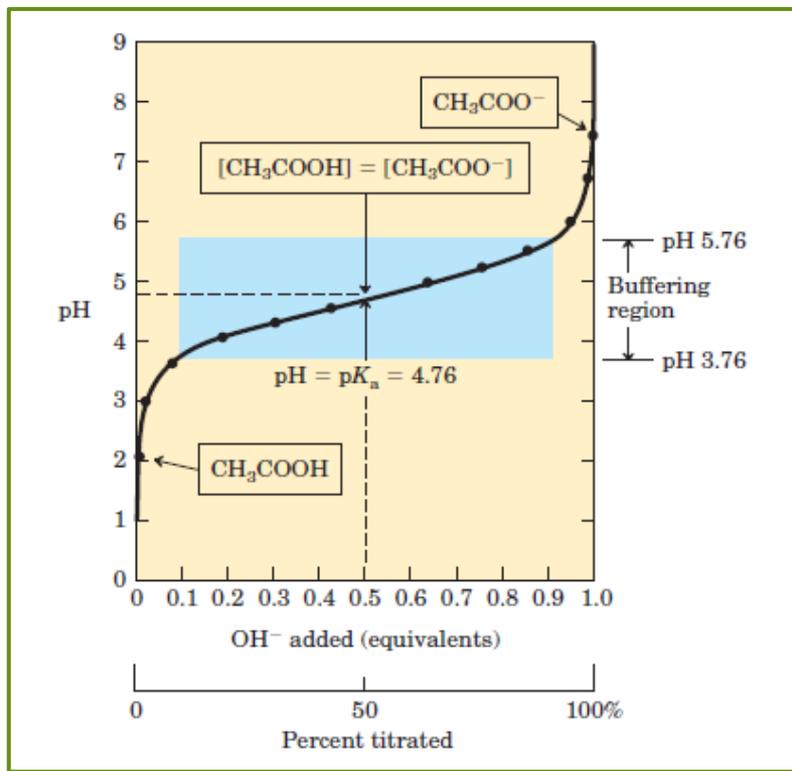
- ▶ Note a variação brusca de pH no meio da curva.



- ▶ Isto ocorre porque assim que o ácido é neutralizado, o OH da base adicional aumenta muito o pH do meio.



Curva de titulação e a equação de Henderson-Hasselbalch



Hasselbalch equation can be derived as follows:

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

First solve for [H⁺]:

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

Then take the negative logarithm of both sides:

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

Substitute pH for $-\log [H^+]$ and pK_a for $-\log K_a$:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Now invert $-\log [HA]/[A^-]$, which involves changing its sign, to obtain the Henderson-Hasselbalch equation:

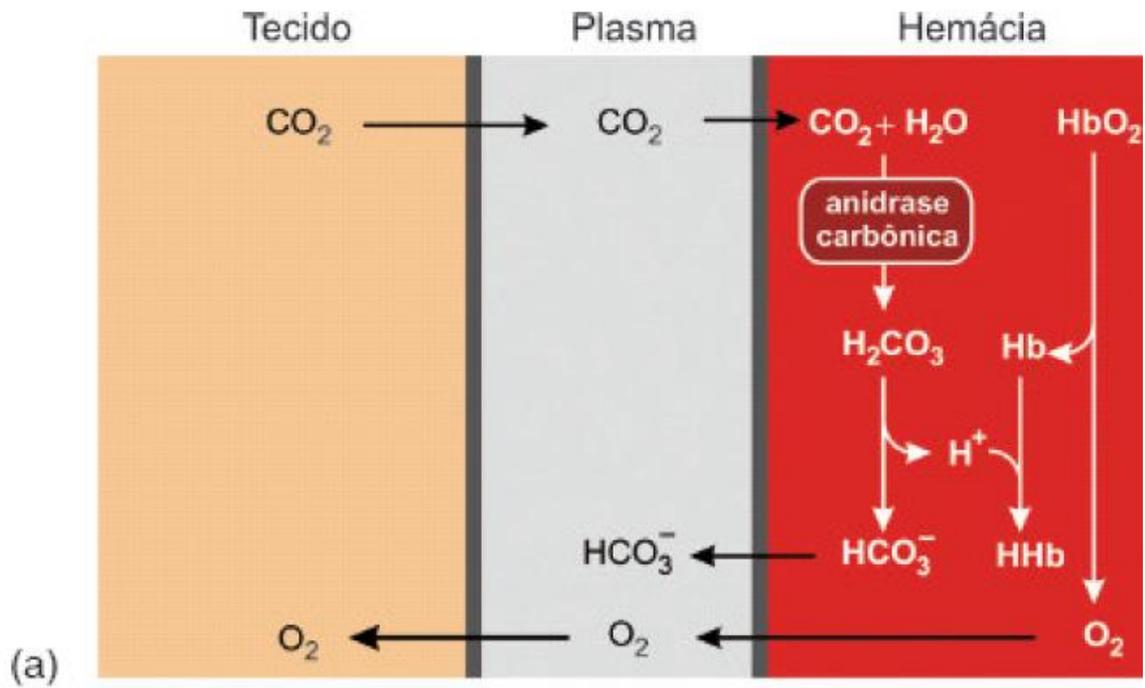
$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (2-9)$$

Stated more generally,

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{proton acceptor}]}{[\text{proton donor}]}$$

This equation fits the titration curve of all weak acids and enables us to deduce a number of important quantitative relationships. For example, it shows why the pK_a of a weak acid is equal to the pH of the solution at the midpoint of its titration. At that point, [HA] equals [A⁻], and

$$pH = pK_a + \log 1 = pK_a + 0 = pK_a$$



Bibliografia

**Ler Capítulo 1-Livro “Bioquímica Básica”
Anita Marzzoco e Bayardo B. Torres**

Exercícios : pH e Sistemas Tampão

1. Definir ácido e base segundo Bronsted.
2. Caracterizar um sistema tampão e indicar os fatores que determinam sua eficiência.
3. Definir pka.
4. Dar exemplos de tampões biológicos.