

Hoja de respuestas. Problema 5. (10 puntos)**a) Calcula el pH de los tres tampones anteriores. (1,5 puntos, 0,5 por cada pH)**

El pH de un tampón puede calcularse mediante la expresión:

$$\text{pH} = \text{pKa} - \log\left(\frac{[\text{ácido}]}{[\text{base}]}\right)$$

$$\text{pH}_A = 10,3 - \log 0,5/0,25 = 9,99$$

$$\text{pH}_B = 4,8 - \log 1/0,8 = 4,70$$

$$\text{pH}_C = 9,2 - \log 0,2/1 = 9,90$$

b) ¿Qué tampón debemos elegir para eluir sólo el péptido 2 que es el único que se muestra activo para inhibir la acción del hongo? (2,5 puntos)

Si $\text{pH} < \text{pI}$ predomina la forma catiónica, el péptido es retenido por la columna y no es posible eluirlo. Si $\text{pH} > \text{pI}$ predomina la forma aniónica, el péptido no es retenido por la columna. En este caso se eluyen los aniones.

Tampón A ; $\text{pH} = 10,6$; se eluyen los péptidos 1, 2 y 3. No se eluye el 4.

Tampón B ; $\text{pH} = 4,9$; No se eluye ninguno.

Tampón C ; $\text{pH} = 8,50$; se eluyen el péptido 2. No se eluyen los 1, 3 y 4.

- a) Ninguno
- b) Cualquiera
- c) Tampón A
- d) Tampón B
- e) Tampón C

La respuesta correcta es: e) Tampón C

c) Una vez purificado el péptido por el método antes descrito es necesario activarlo, ya que dicho péptido solo es activo contra la *Penicilium* si posee carga positiva. Por ello, de los tres tampones anteriores, elige el más adecuado para que al diluir el péptido 2 purificado sea activo y el baño con una solución del mismo proteja a los cítricos del daño del hongo. (1,5 puntos)

Para que el péptido sea activo es preciso que tenga carga positiva, esto es que se encuentre a $\text{pH} < \text{pI}$, por lo tanto para activar el péptido 2 cuyo $\text{pI} = 6$ hay que utilizar un tampón de $\text{pH} < 6$, es decir el tampón B.

- a) Ninguno
- b) Cualquiera
- c) Tampón A
- d) Tampón B
- e) Tampón C

f) La respuesta correcta es: d) Tampón B

d) Para conocer la concentración del péptido 2 y preparar la solución del baño, se mide la absorbancia del mismo a una longitud de onda de 297 nm. La absorbancia de una muestra del péptido purificado, medida en una cubeta de 1 cm de lado, fue de 0,541, siendo el coeficiente de extinción molar (absortividad molar) del péptido $1,050 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Calcula la dilución que debemos hacer de una muestra del péptido eluido purificado con el tampón seleccionado en el apartado c para preparar 3 litros de disolución 0,3 mM del péptido para el baño de los cítricos. (2 puntos)

Cálculos: (1,5 puntos) Resultado (0,5 puntos)

$$A^{297} = 0,541 ; l = 1 \text{ cm} ; e = 1,050 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$A = e \cdot l \cdot C$$

$$C = 0,541/1,050 = 0,515 \text{ M}^{-1}$$

$$3 \text{ litros} \cdot 0,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L} \cdot 1 \text{ L}/0,515 \text{ moles} = 1,75 \cdot 10^{-3} \text{ litros y diluirlo hasta 3 litros}$$

e) Si con la cantidad de levadura inicial hemos podido preparar suficiente disolución como para bañar 2 kg de cítricos, ¿de qué cantidad de levadura deberíamos partir para tratar 1 tonelada de cítricos si el péptido es activo a una concentración 0,3 mM? (1 punto)

5 g de levadura/2 kg de cítricos · 1000 kg cítricos = 2500 g de levadura.

f) Dibuja la estructura general catiónica (ácida) y aniónica (básica) de un aminoácido y la estructura en el punto isoeléctrico. (1 punto)

| | | |
|---|--|--|
| $\begin{array}{c} \text{R} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ | $\begin{array}{c} \text{R} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ | $\begin{array}{c} \text{R} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ |
| Estructura catiónica | Estructura aniónica | Estructura en el punto isoeléctrico |