

Problema 5. Cítricos.

10 PUNTOS

Una de las mayores pérdidas económicas que sufren las cooperativas citrícolas de Castellón es el ataque del hongo *Penicilium expansum* sobre los frutos. Se ha demostrado que al bañar los cítricos en una solución de un péptido obtenido de un extracto de la levadura *Candida albicans*, se inhibe la acción del hongo.

En el procedimiento de extracción del péptido activo se obtienen 4 péptidos diferentes, siendo necesaria su purificación.

Para la extracción inicial cultivaremos y obtendremos 5 g de la levadura *Candida albicans*. Posteriormente, la purificación se realizará empleando una columna rellena de un polímero que sólo retiene cationes, dejando eluir a los aniones. Disponemos de tres tampones (A, B y C), cuyas concentraciones y valores de pK_a se detallan en las Tablas 1 y 2, respectivamente. Los valores de los puntos isoeléctricos de los cuatro péptidos obtenidos del extracto de la levadura se indican en la Tabla 3.

NOTA: Tampón = solución amortiguadora o reguladora

Tabla 1

Tampón	concentración	concentración
A	0,50 mM NaHCO ₃	0,25 mM Na ₂ CO ₃
B	1,00 mM CH ₃ COOH	0,80 mM CH ₃ COONa
C	1,00 mM NH ₃	0,20 mM NH ₄ Cl

Tabla 2

Sustancia	pK_{a1}	pK_{a2}
H ₂ CO ₃	6,4	10,3
CH ₃ COOH	4,8	--
NH ₃	9,2	--

Tabla 3

Péptido	1	2	3	4
pI	9,5	6,0	8,9	11,0

A partir de los datos anteriores:

- a) Calcula el pH de los tres tampones anteriores.
- 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?
- 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.
- 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 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

Nombre:	País	Código
---------	------	--------

(absortividad molar) del péptido $1,05 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Calcula la dilución que debemos hacer de una muestra del péptido eluído purificado con el tampón seleccionado en el apartado c para preparar 3 litros de disolución $0,3 \text{ mM}$ del péptido para el baño de los cítricos.

- 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 $0,3 \text{ mM}$?
- f) Dibuja la estructura general catiónica (ácida) y aniónica (básica) de un aminoácido y la estructura en el punto isoelectrico.

Hoja de respuestas. Problema 5.

a) Calcula el pH de los tres tampones anteriores.

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?

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

La respuesta correcta es: _____

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.

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

La respuesta correcta es: _____

Hoja de respuestas. Problema 5.

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 eluído 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.

Cálculos:

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?

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

Estructura catiónica	Estructura aniónica	Estructura en el punto isoelectrico