

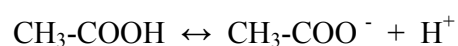
## SOLUCIONES AMORTIGUADORAS

*Soluciones amortiguadoras* son aquellas soluciones cuya concentración de hidrogeniones varía muy poco al añadirles ácidos o bases fuertes. El objeto de su empleo, tanto en técnicas de laboratorio como en la finalidad funcional del plasma, es precisamente impedir o amortiguar las variaciones de pH y, por eso, suele decirse que sirven para mantener constante el pH. Los más sencillos están formados por mezclas binarias de un ácido débil y una sal del mismo ácido con base fuerte, por ejemplo, una mezcla de ácido acético y acetato de sodio; o bien una base débil y la sal de esta base con un ácido fuerte, por ejemplo, amoníaco y cloruro de amonio.

La aplicación más importante de esta teoría de los amortiguadores es, para los fisiólogos, el estudio de la regulación del equilibrio ácido-base. Para dar una idea de la importancia de los amortiguadores de la sangre, recordemos que la concentración de hidrogeniones del agua pura experimenta una elevación inmediata cuando se añade una mínima cantidad de un ácido cualquiera, y crece paralelamente a la cantidad de ácido añadido. No ocurre así en la sangre, que admite cantidades del mismo ácido, notablemente mayores, sin que la concentración de hidrogeniones aumente de una manera apreciable.

### **Mecanismo de la acción amortiguadora**

Supongamos un amortiguador constituido de ácido acético y acetato de sodio. El ácido estará parcialmente dissociado estableciendo un equilibrio entre las partículas de ácido sin dissociar los iones hidrógenos y los iones de base conjugada. El acetato de sodio, como todas las sales, está dissociado completamente y, por esta causa, el ión acetato procedente de la sal desplaza el equilibrio hacia la formación de ácido, disminuyendo la concentración de hidrogeniones libres. La presencia conjunta de la sal y el ácido hace decrecer la acidez libre. Si las cantidades de sal y ácido son del mismo orden de magnitud, la concentración de iones hidrógenos se regulará por la reacción de equilibrio del ácido, es decir



Si añadimos al sistema un ácido fuerte, por ejemplo ácido clorhídrico, se produce un aumento instantáneo de la concentración de iones hidrógenos, los cuales son neutralizados por la base conjugada del ácido liberando así, una cantidad equivalente de ácido débil.

Si añadimos al sistema una base fuerte, por ejemplo hidróxido de sodio, los iones hidroxilos consumen rápidamente iones hidrógenos del sistema para formar agua, lo que provoca la transformación de una parte del ácido acético libre en acetato que es una base menos fuerte que el hidróxido de sodio.

La utilidad de las mezclas amortiguadoras en la regulación del equilibrio ácido-base del plasma sanguíneo, estriba precisamente en la posibilidad de mantener la concentración de iones hidrógeno dentro de límites estrechos, que con razón puede considerarse invariable. El pH se puede mantener muy aproximadamente al nivel que convenga, escogiendo las mezclas adecuadas. Por un ejemplo, con un determinado amortiguador el pH de una cierta reacción puede ser tres, y con otro amortiguador la misma reacción se puede estudiar a pH ocho.

### **Ecuación de Henderson-Hasselbach**

La Ecuación de Henderson-Hasselbach permite calcular el pH de una mezcla amortiguadora conociendo su composición. En su deducción, para un amortiguador compuesto de un ácido débil y una sal de su base conjugada, se considera que la concentración de ácido libre es aproximadamente igual a la del ácido total, y la concentración del ión base conjugada coincide con la concentración de la sal. Con ello, La Ecuación de Henderson-Hasselbach expresa que el pH de una solución amortiguadora se calcula sumando al pK del ácido, el logaritmo de la relación concentración de sal / concentración de ácido, es decir

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log [\text{sal}]$$

De acuerdo con todo lo anterior, el  $\text{pK}_a$  de un ácido débil se puede definir como el pH del

sistema amortiguador que resultaría al añadirle una cantidad equimolar de una sal fuerte del mismo ácido, o bien el pH alcanzado después de neutralizar con base fuerte, exactamente, la mitad de ácido. Para el ácido acético, una solución uno molar de ácido puro tiene un pH de 2.38, mientras que un sistema amortiguador con cantidades equimolares de ácido y sal tiene un pH igual al pK del ácido acético, es decir, 4.76.

### Propiedades de los amortiguadores

1. El pH de una solución amortiguadora depende de la naturaleza del ácido débil que la integra, es decir del  $pK_a$  del ácido.
2. El pH de un sistema amortiguador depende de la proporción relativa entre la sal y el ácido, pero no de las concentraciones absolutas de estos componentes. Por ejemplo, un sistema amortiguador 2 M en sal y 1 M en ácido, regula el mismo pH que un sistema amortiguador 4 M en sal y 2 M en ácido, debido a que la relación concentración de sal / concentración de ácido es igual.
3. La modificación del pH, en una solución amortiguadora, resulta exigua hasta que uno de los componentes esté próximo a agotarse, debido a que el pH varía con el logaritmo del cociente concentración de sal / concentración de ácido. Este cociente es afectado por la adición de ácido o base fuerte, pero el valor logarítmico de la relación concentración de sal / concentración de ácido varía muy poco.

### Ejercicios Propuestos

**Ejercicio 1.** Calcular el pH de la solución que resulta al mezclar dos soluciones acuosas que contienen, respectivamente, 2 moles de ácido acético y 6 moles de acetato de sodio. El  $pK_a$  del ácido acético es 4.75

Se aplica la ecuación de Henderson-Hasselbach

$$pH = 4.75 + \log \frac{6}{2} = 5.22$$

**Ejercicio 2.** Calcular el pH de una mezcla de 3 moles de ácido acético 1 mol de hidróxido de sodio en un litro de solución acuosa al terminar la reacción

Una mol de hidróxido de sodio reacciona con una una mol de ácido acético, convirtiéndose la mezcla en una solución amortiguadora que contiene 2 moles de ácido acético y 1 mol de acetato de sodio

Aplicando la ecuación de Henderson-Hasselbach tenemos que

$$pH = 4.75 + \log \frac{1}{2} = 4.45$$

**Ejercicio 3.** Calcular el pH de una mezcla de 5 moles de lactato de sodio y mol de ácido clorhídrico en un litro de solución acuosa al finalizar la reacción. El pKa del ácido láctico es 3.86

Una mol de ácido clorhídrico reacciona con una mol de lactato de sodio, convirtiéndose la mezcla en una solución amortiguadora que contiene una mol de ácido láctico y 4 moles de acetato de sodio

Aplicando la ecuación de Henderson-Hasselbach tenemos que

$$pH = 3.86 + \log \frac{4}{1} = 4.46$$

**Ejercicio 4.** Calcular el pH de una mezcla equimolar de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . El  $\text{pK}_b$  del amoníaco es 4.75

Para una solución amortiguadora compuesta de una base débil y una sal de su correspondiente ácido conjugado, la ecuación de Henderson-Hasselbach es de la forma

$$pOH = pK_b + \log \frac{[sal]}{[base]}$$

Al aplicar esta ecuación al sistema amortiguador amoniaco / cloruro de amonio resulta que el

$$pOH = pK_b = 4.75$$

$$\text{y entonces, el } pH = 14 - 4.75 = 9.25$$

### Capacidad o eficacia amortiguadora

La capacidad de amortiguación puede definirse como "La cantidad de ácido o base fuerte que deben añadirse a un litro de solución amortiguadora para producir un cambio de pH de una unidad". También puede definirse como "El cambio de pH que se produce por la adición de una cantidad dada de ácido o base fuerte".

Puede demostrarse que la eficacia máxima de un amortiguador, tanto para neutralizar ácidos como bases, está en la zona de pH próxima al pK del ácido. El máximo de eficacia de un amortiguador frente a una base está en el punto de pH igual a pK - 0.5, mientras que la eficacia máxima frente a un ácido fuerte está en el punto de pH igual a pK + 0.5. A medida que nos alejamos del pK, la capacidad amortiguadora decrece, considerándose nula a tres unidades de distancia, es decir, a un valor de pK + 3 frente a las bases y de pK - 3 frente a los ácidos. En estas condiciones solo encontramos, prácticamente, uno de los componentes del sistema. Los amortiguadores fisiológicos rara vez tienen un valor de pK que coincide con el pH que van a amortiguar. Normalmente sus pK están unas décimas más abajo del pH fisiológico. Esto se traduce en una mayor eficacia de los sistemas para amortiguar ácidos que para amortiguar bases. De todo lo expuesto anteriormente, se deduce que puesto que el pH celular es próximo a siete, la eficacia amortiguadora máxima corresponde a los sistemas cuyo valor de pK esté comprendido entre seis y ocho.

### Neutralización de un ácido débil con una base fuerte

Cuando se neutraliza un ácido débil con una base fuerte, el ácido débil se disocia en solución dando una pequeña cantidad de iones hidrógeno que son neutralizados por los iones hidroxilos alterando el equilibrio entre el ácido débil y sus iones. Por consiguiente, se ioniza mas ácido débil para reestablecer el equilibrio y los iones hidrógeno producidos se pueden neutralizar mediante mas hidroxilos y así sucesivamente hasta que todo el hidrógeno inicial sea neutralizado.

Consideremos la neutralización de un volumen de una solución de ácido acético 0.1 M con hidróxido de potasio 0.1 M. Cuando se haya valorado menos de la mitad del ácido, el pH es menor que el pK del ácido; cuando se haya valorado mas de la mitad del ácido, el pH es mayor que el pK del ácido y cuando se haya valorado la mitad del ácido, el pH es igual al pK del ácido y la mezcla amortiguadora presenta la mayor eficacia.

En la práctica se considera que una mezcla de un ácido débil y su base conjugada forman un amortiguador satisfactorio sobre el margen de pH desde  $pK - 1$  hasta  $pK + 1$ . Una mezcla cuyo pH sea igual a  $pK - 1$  en la que la proporción sal / ácido es 0.1, es un amortiguador efectivo contra un álcali, pero mucho menos efectivo contra un ácido fuerte y la eficacia máxima está en el punto de pH igual a  $pK - 0.5$ . Una mezcla cuyo pH es igual a  $pK + 1$  y cuya proporción sal / ácido es 10, es un amortiguador efectivo contra ácidos fuertes, pero mucho menos efectivo contra bases y la eficacia máxima esta en el punto de pH igual a  $pK + 0.5$ .

Cuando se haya valorado completamente el ácido débil, este se ha transformado íntegramente en su respectiva base conjugada pero, sin embargo, su pH en este punto no es siete (mayor que siete), por la hidrolización de la base conjugada.

En el metabolismo se liberan ácidos que forman sistemas amortiguadores como el del ácido acético/acetato, como por ejemplo, pirúvico, láctico, acetoacético, butírico, etc, pero como su concentración en sangre no es elevada en condiciones normales y su pK está lejos del pH

de la sangre, su acción amortiguadora en el plasma tiene poco interés, aunque pueden ser mas interesantes como amortiguadores intracelulares.

### **Neutralización de una base débil con un ácido fuerte**

En este caso, el pH en el punto de equivalencia es, ahora, menor que siete y la curva en total parece la imagen especular de la curva de valoración de un ácido débil con base fuerte.

Las mezclas de una base débil con su ácido conjugado son amortiguadores de pH tan efectivos como las mezclas de ácido débil-base conjugada formadas durante la neutralización de un ácido débil con una base. Por idénticas razones, las mezclas cuyo pH, aproximadamente, esté entre una unidad del pK del ácido componente, tendrán una sustancial capacidad amortiguadora. Como los valores de pK de los ácidos conjugados de bases débiles son normalmente mayores que siete, esto significa que las mezclas de base débil-ácido conjugado son buenos amortiguadores en pH alcalino, como por ejemplo, en orinas alcalinas.

### **Neutralización del ácido fosfórico**

El ácido fosfórico es triprótico y, por lo tanto, disocia en tres etapas. En cada etapa se forma una base conjugada anfótera la cual, a su vez, disocia en la etapa siguiente como un ácido. La curva de neutralización muestra dos puntos intermedios de equivalencia, en los cuales el pH es la medida de los valores de pK a ambos lados del punto de equivalencia. Los iones intermedios son las especies predominantes en los puntos de equivalencia intermedios.

El pK de la segunda disociación ( $pK_2 = 6.8$ ) es el más próximo al pH del medio interno y, por lo tanto, esta segunda disociación es la que tiene lugar reversiblemente según el pH; de ahí la acción amortiguadora del sistema fosfato monosustituido / fosfato monosustituido. La primera y tercera disociación ( $pK_1 = 2$ ;  $pK_3 = 12$ ), no tienen interés biológico.

A un pH fisiológico de 7.4, la concentración de fosfato monoácido es unas cuatro veces

superior a la de fosfato diácido, el sistema es más eficaz para amortiguar ácidos fuertes que para amortiguar bases fuertes, lo que es una ventaja biológica porque en el organismo predomina la tendencia a las variaciones hacia el lado ácido.

Como la eficacia de un amortiguador depende de la concentración absoluta del amortiguador en el medio y de la proximidad de su pK al pH que se trata de regular, el sistema de los fosfatos, aunque está bastante diluido en el plasma cumple bien el segundo requisito, y por eso contribuye eficazmente a amortiguar las variaciones de pH.

Los ácidos policarboxílicos, también producidos en el metabolismo, como el succínico, fumárico, málico, oxaloacético, cetoglutárico, cítrico, etc, se comportan según los pK de sus diversos grados de disociación, análogamente al ácido fosfórico. Tampoco tienen mucho interés cuantitativo como amortiguadores biológicos.

### **Aminoácidos y péptidos**

Los aminoácidos comunes son sencillamente ácidos polipróticos débiles. La característica más específica de la molécula de los aminoácidos es la existencia en una misma molécula de grupos ácidos y básicos simultáneamente, que corresponden a su carácter anfótero. Los grupos ácidos y básicos suelen neutralizarse mutuamente constituyendo una sal interna, formando el llamado ion híbrido o zwitterion (especie de carga negativa y positiva). Los aminoácidos neutros son ácidos dipróticos y los aminoácidos ácidos y básicos son ácidos tripróticos. El primer grupo que disocia es el carboxilo. La segunda disociación, para los aminoácidos ácidos es la del carboxilo de su radical característico y para los aminoácidos básicos la del grupo alfa-amonio.

El punto isoeléctrico de un aminoácido es el pH en el que este no lleva ninguna carga neta, es decir, la forma iónica predominante es la especie isoeléctrica (positiva y negativa) y hay cantidades iguales de las formas iónicas positiva (+) y negativa (-).

Las curvas de neutralización de los aminoácidos son de las mismas características de los

ácidos polipróticos, donde los pK corresponden a los puntos de inflexión de las dos regiones en que el pH varía lentamente con la adición de ácido o base, es decir, las dos regiones de pH en que el aminoácido presenta mayor capacidad amortiguadora. En la zona del punto isoeléctrico, el poder amortiguador del aminoácido es nulo.

El interés fisiológico de los aminoácidos como amortiguadores sanguíneos depende de la proximidad del pK al pH fisiológico, destacándose por su importancia la histidina por su  $pK_2 = 6.0$ .

Conocido el poder amortiguador de los aminoácidos, poco hay que añadir para interpretar la acción amortiguadora de los péptidos en general. El enlace peptídico entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del otro, bloquea las propiedades ácido-básicas y amortiguadoras que tendrían estos grupos. Sin embargo, todos los péptidos tienen algunos grupos disociables. En efecto, por lo menos habrá un grupo carboxilo terminal ( $pK = 3.5$ ) y un grupo amino terminal ( $pK = 8.0$ ). Además, los aminoácidos ácidos aportan los segundos grupos ácidos de sus cadenas laterales (carboxilo de los ácidos aspártico y glutámico,  $pK = 4$  y sulfidrilo de la cisteína,  $pK = 10$ ). Y, por otra parte, están los segundos grupos básicos de los aminoácidos básicos como el de la lisina ( $pK = 10$ ), el de la histidina ( $pK = 7.0$ ) y el de la arginina ( $pK = 12.5$ ).

Las proteínas del plasma, cuyo pK está en la zona débilmente ácida, a pH ligeramente alcalino se comportan como ácidos débiles y, así, al pH de la sangre son aniones, dato esencial para la interpretación correcta de su acción amortiguadora correspondiente al contenido de proteinato.

### **El sistema bicarbonato / anhídrido carbónico: $HCO_3^- / CO_2$**

El sistema bicarbonato/anhídrido carbónico es uno de los amortiguadores sanguíneos principales. El ácido carbónico se ioniza como un ácido diprótico débil típico. Sin embargo, la mayoría del ácido conjugado disuelto en la sangre y en el citoplasma está como anhídrido carbónico y no como ácido carbónico. El anhídrido carbónico disuelto está en

equilibrio con el anhídrido carbónico gaseoso relacionados de acuerdo a La Ley de Henry. En el plasma sanguíneo la etapa de ionización de interés biológico es la segunda cuyo  $pK_2 = 6.1$ , y para un pH sanguíneo de 7.4 la relación concentración de bicarbonato / concentración de anhídrido carbónico es de 20/1. Todo cambio en esta relación significa, como es evidente, variación de pH. Un aumento de ella corresponde al trastorno denominado alcalosis y si disminuye se llama acidosis.

En condiciones in vivo, el amortiguador bicarbonato/anhídrido carbónico es un sistema abierto en el que la concentración de anhídrido carbónico disuelto se mantiene constante. Cualquier exceso de anhídrido carbónico producido por la reacción entre el ion hidrógeno y el ion bicarbonato es eliminado por los pulmones y contribuye, por lo tanto, a mantener el pH alrededor de 7.4. A primera vista, podría aparecer que en un sistema abierto, la reserva de bicarbonato se agotaría rápidamente. Sin embargo, in vivo, el bicarbonato se recupera constantemente mediante los procesos metabólicos oxidativos.

### **Sistema hemoglobina reducida / oxihemoglobinato: Hb/HbO<sub>2</sub>**

Además de su conocida función como transportador de oxígeno, la hemoglobina juega un papel importante como amortiguador sanguíneo. Con el fin de entender la interrelación entre la toma y liberación de oxígeno y la acción amortiguadora de la hemoglobina, debemos considerar la interacción entre algunos equilibrios simultáneos.

En cualquier momento, la hemoglobina se presenta como una mezcla de formas oxigenadas (HbO<sub>2</sub>) y desoxigenadas (Hb). La proporción de cada una depende de la concentración o presión parcial de oxígeno.

La hemoglobina contiene muchos grupos ionizados. Uno en particular es el residuo de histidina que tiene un pK casi neutro. Así, en cualquier momento, la hemoglobina está presente también como una mezcla de formas protonadas (ácidas) y no protonadas (básicas). La proporción de cada una depende del pH de la sangre. Con el fin de combinar los dos equilibrios simultáneos, debemos admitir que la desoxihemoglobina representa una

mezcla de desoxihemoglobina protonada o reducida (ácido conjugado, HHb) y desoxihemoglobina no protonada o desoxihemoglobinato (base conjugada, Hb<sup>-</sup>). Por decirlo de otra forma, el ácido conjugado de la hemoglobina existe en las formas oxigenadas (HHbO<sub>2</sub>) y desoxigenadas (HHb). Lo mismo le ocurriría a la base conjugada de la hemoglobina (HbO<sub>2</sub><sup>-</sup>, Hb<sup>-</sup>). Así, hay en cualquier momento, cuatro especies de hemoglobina. La proporción de cada una depende de la concentración de oxígeno y el pH.

La hemoglobina de los eritrocitos llega a los pulmones, principalmente, como mezcla de formas desoxigenadas, HHb mas Hb<sup>-</sup>. En los pulmones, la desoxihemoglobina se une al oxígeno produciéndose la oxihemoglobina, la cual es un ácido más fuerte que la desoxihemoglobina. Un cambio conformacional en las moléculas debido a la oxigenación, disminuye el pK de la histidina de la región del grupo hemo hasta aproximadamente 5.7. Como resultado, el equilibrio se desplaza hacia la liberación de iones hidrógeno y con cuyo incremento se acelera su reacción con el ion bicarbonato, provocando la eliminación del ion hidrógeno y el desprendimiento de anhídrido carbónico a la atmósfera. Esta especial propiedad hace de la hemoglobina un amortiguador extraordinariamente eficaz, puesto que al modificar su pK puede confiar la proporción base conjugada /ácido sin que se produzca cambio alguno en el pH.

La hemoglobina oxigenada (principalmente base conjugada) se transporta a los tejidos donde la baja presión parcial de oxígeno provoca que se disocie, es decir, libere oxígeno produciéndose hemoglobina desoxigenada que es una base mas fuerte que el oxihemoglobinato. Así, después de la liberación del oxígeno, la oxidación de los alimentos libera anhídrido carbónico que al disolverse en agua produce ácido carbónico que con su ionización libera iones hidrógeno los cuales son captados por el desoxihemoglobinato transformándose en desoxihemoglobina. El ácido conjugado de la hemoglobina tiene una menor afinidad por el oxígeno (menor constante de disociación) que la base conjugada de la hemoglobina.