

ANALISIS DE ABSORCION DE LA LUZ EN LOS ENLACES PEPTIDICOS EN LA REGION 200 MILIMICRONES

A. KALAJDIEW * y O. POMARES **

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba
(Trabajo recibido en Septiembre de 1968)

RESUMEN

Se midió la dependencia de la absorción del enlace peptídico con la concentración en pH 4.6, 5.8 y 8.2.

También se midió la dependencia de la absorción de dicho enlace y el pH.

La extinción cambia en pH 6-8, es decir, en la región fisiológica, debido a que los iones OH reaccionan con el enlace peptídico.

SUMMARY

The dependence of the peptid bond absorption from concentration in pH=4.6; 5.8 and 8.2 was measured. The dependence of the peptid bond absorption from pH was also measured. The extinction changes about pH 6-8 (that is to say in the physiological region), because OH⁻ ions were bond on the peptid bond.

El estudio de la absorción de la luz en los enlaces peptídicos en la región ultravioleta ha sido enfocado desde distintos aspectos. De una parte, la dependencia que existe entre la extinción en función de la concentración $E = F(C)$, de péptidos o proteínas con el objetivo práctico de utilizar esa absorción como método de análisis cuantitativo en la determinación de los péptidos o las proteínas;^(1, 2, 3) y por otra parte esta absorción ha sido estudiada con objetivos teóricos para la determinación de la energía de transición de los enlaces peptídicos como comprobación de los cálculos de mecánica cuántica en las estructuras de los enlaces peptídicos. Se han encontrado grandes dificultades en la reproducción de los resultados en los dos aspectos mencionados.

El estudio de las absorciones de los enlaces peptídicos es interesante porque enseña el cambio de estructura conformativa en una región de pH

* Doctor en Medicina. Miembro de la Academia de Ciencias de Bulgaria. Colaborador Científico de la Universidad de Humboldt, Berlín.

** Licenciado en Ciencias Químicas.

fisiológico (pH 6-8).^(4, 5, 6) Esto nos ha llevado a analizar los componentes de la absorción.

MATERIALES Y METODO

En nuestros experimentos utilizamos el equipo "Unicam" SP800 con una sola cubeta de cuarzo de paso variable y una longitud de 1 mm utilizando como referencia el aire.

Disminuyendo la longitud de la cubeta se atenúa la influencia del solvente con la muestra y así se obtienen las mediciones con una extinción hasta 1.0 donde se cumple la Ley de Lambert-Beer.

Las concentraciones de las disoluciones están dadas en cada experimento.

RESULTADOS

En los experimentos se utilizaron soluciones de albúminas de suero de res.

1. Una serie de concentraciones en una solución buffer de fosfato albúmina con un pH = 4,6 (Fig. 1).
2. Una serie de concentraciones de albúmina en agua con pH = 5,8 (Fig. 2).
3. Una serie de concentraciones de albúmina en una solución buffer de fosfato con un pH = 8,2 (Fig. 3).
4. Una serie con distintos pH (de 3 hasta 10) de buffer fosfato con una concentración constante de fosfato (Fig. 4).
5. Una serie de varios pH con una concentración constante de buffer y de albúmina (Fig. 5).
6. Figura 6. Muestra la dependencia entre la extinción con la concentración $E = f_c$.
7. En la Fig. 7 se observa la dependencia de la extinción máxima con el pH.

CONCLUSIONES

1. La inclinación de la función $E = f(C)$ con un pH = 4,6 en una solución buffer de fosfato y en agua con pH = 5,8 es mayor que con un pH = 8,2.

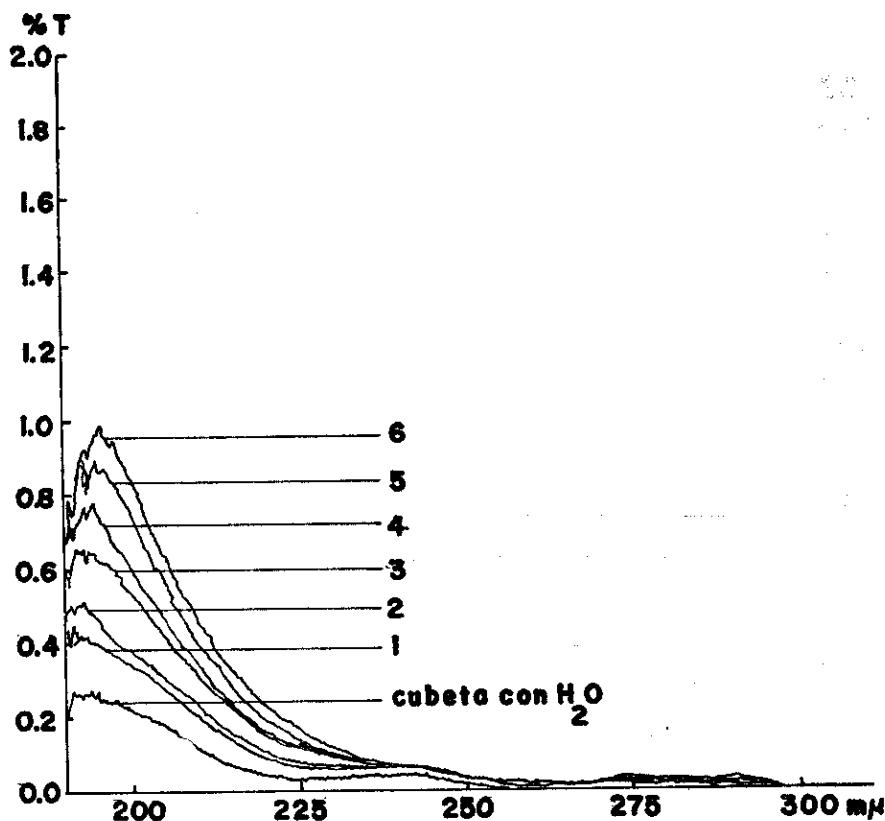


FIG. 1. Una serie de concentrados de albúmina de suero de res en una solución Buffer de fosfato en un pH 8.3/0.05 mol.

- 1: Buffer
- 2: Buffer + suero de albúmina de res 0.034 mg/ml.
- 3: Buffer + suero de albúmina de res 0.068 mg/ml.
- 4: Buffer + suero de albúmina de res 0.102 mg/ml.
- 5: Buffer + suero de albúmina de res 0.136 mg/ml.
- 4: Buffer + suero de albúmina de res 0.160 mg/ml.

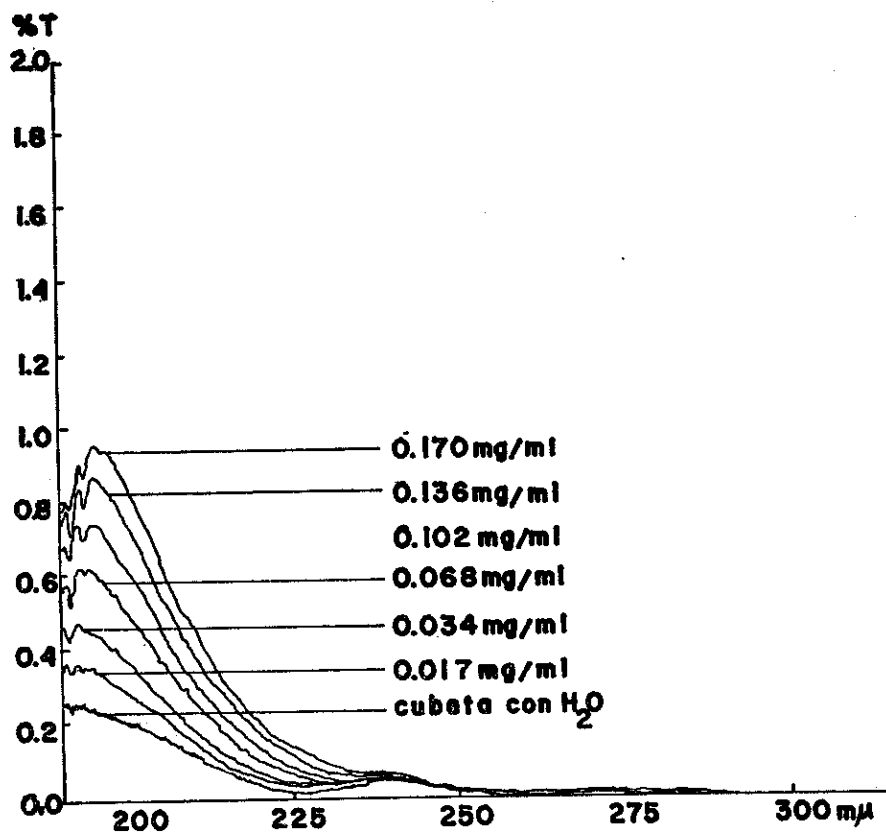


FIG. 2. Una serie de concentrados de albúmina de suero de res en agua con un pH 5.5.

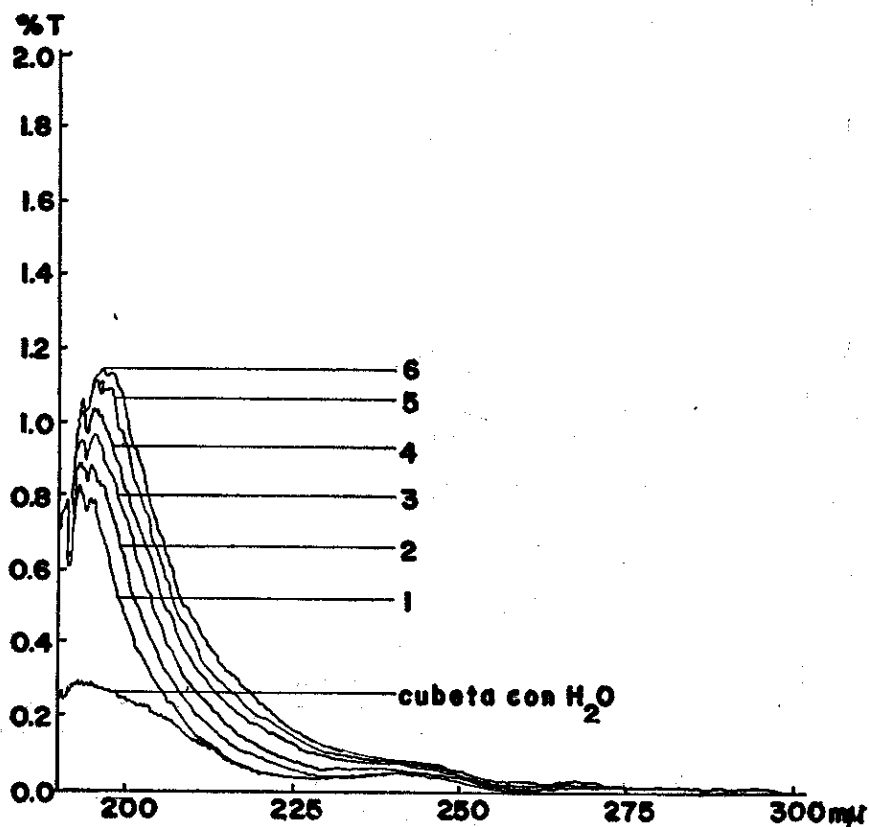


FIG. 3. Serie de concentrados de albúmina de suero de res en una solución Buffer de Fosfato con pH 4,6/0.05 mol.

- 1: Buffer
- 2: Buffer + Suero de albúmina de res 0.034 miligramos/ml.
- 3: Buffer + Suero de albúmina de res 0.068 miligramos/ml.
- 4: Buffer + Suero de albúmina de res 0.102 miligramos/ml.
- 5: Buffer + Suero de albúmina de res 0.136 miligramos/ml.
- 6: Buffer + Suero de albúmina de res 0.170 miligramos/ml.

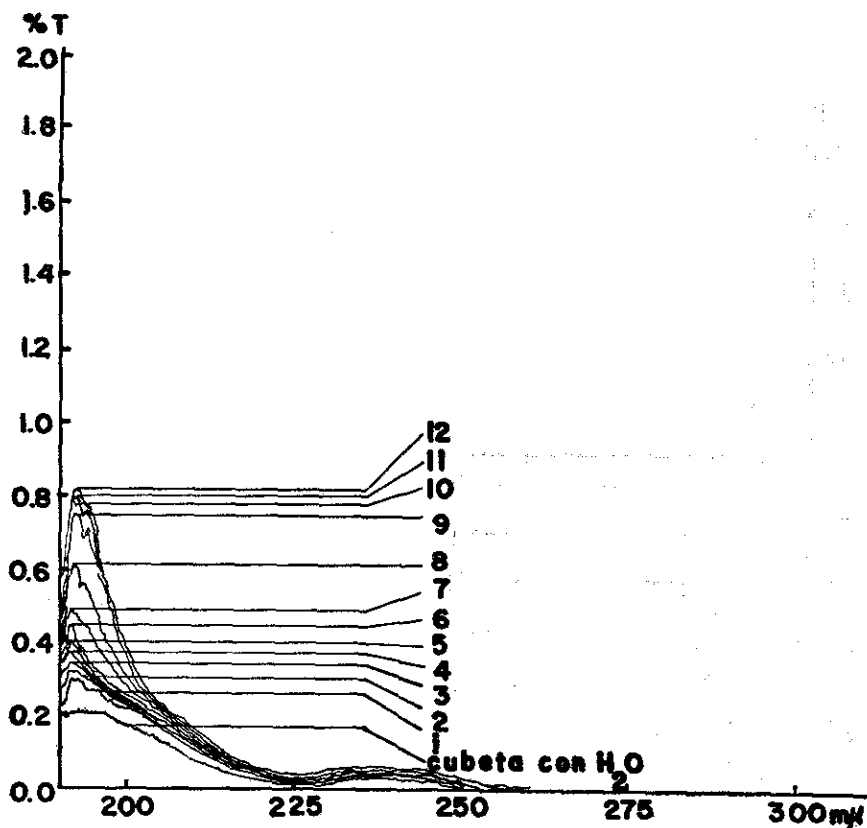


FIG. 4. Serie pH de Buffer de Fosfato 0.06 mol.

- 1: pH = 3.00
- 2: pH = 3.58
- 3: pH = 4.60
- 4: pH = 5.12
- 5: pH = 5.50
- 6: pH = 6.00
- 7: pH = 6.40
- 8: pH = 6.88
- 9: pH = 7.33
- 10: pH = 7.97
- 11: pH = 8.55
- 12: pH = 9.98

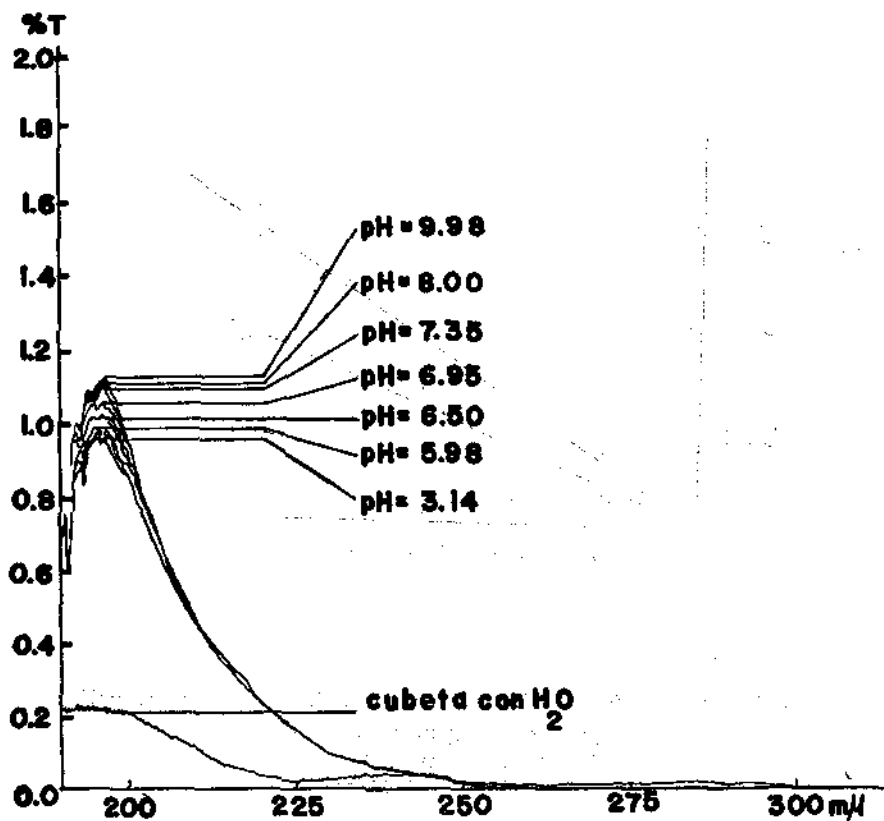


FIG. 5. Serie de pH. Buffer de Fosfato 0.05 mol + suero de albúmina de res 0.170 mg/ml.

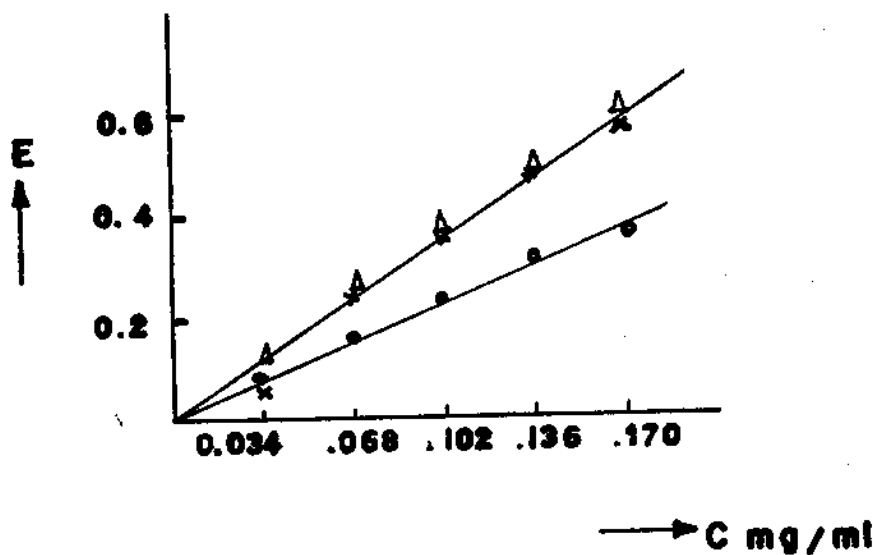


FIG. 6. Dependencia del máximo de E (Extinción) de la concentración).

- × — × con el Buffer pH = 4.6
- △ — △ con agua pH = 5.8
- — ○ con Buffer pH = 8.3

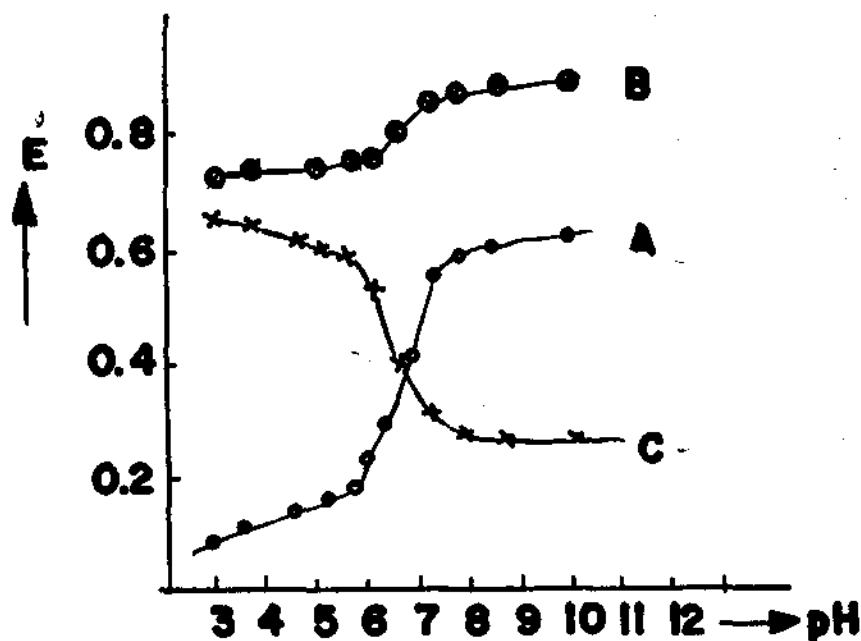


FIG. 7. Dependencia de la E (Extinción) del pH:

A: Buffer de Fosfato 0.05 mol.

B: Buffer de Fosfato + suero de albúmina de res 0.170 mg/ml.

C: Curva diferencial entre A y B: absorción propia de las proteínas.

2. La función de extinción $E=F$ (pH) de fosfato da un brusco cambio en la región de pH 6-8.

3. La función de extinción $E=F$ (pH) de proteína en una solución de fosfato muestra pequeños cambios.

4. De esto se deduce que las proteínas disminuyen la extinción de fosfato, la cual aumenta cuando aumenta la concentración de OH^- , de eso podemos decir que las proteínas disminuyen la extinción de iones hidroxilo.

5. Los enlaces peptídicos de las proteínas se unen o reaccionan con el ion hidroxilo y cambia su conformación en una región fisiológica de pH=6-8.

Esto tiene una gran significación para las reacciones de proteínas durante la desnaturalización, reacciones fermentativas y transmisión de la energía.

REFERENCIAS

1. Ham, T.S., Platt, J. R. — J. Chem. Phys. **20**, 335 (1952).
2. Hunt, H.D., Simpson, W.T. — J. Am. Chem. Soc. **75**, 4540 (1953).
3. Imahori, K., Tanaka, J. — J. mol. biol. **1**, 359 (1959).
4. Tomps, M.P. et al. — Biochem. J. **73**, 167 (1959).
5. Glaser, ... et al. — J. Biol. Chem. **236**, 11, 2942 (1961).
6. Kalaidjev, A., Segal, J. — Die Struktur biologisch aktiver Eiwiße, Berlin, 1966, p. 93.