

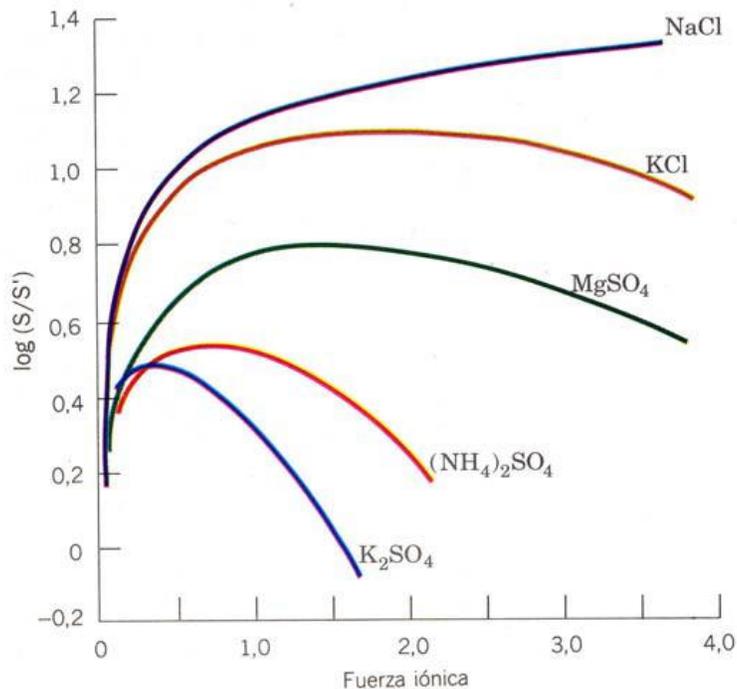
La solubilidad es la medida de la capacidad de disolverse una cierta sustancia en un determinado medio, a una temperatura y presión determinadas.

Las proteínas en disolución muestran grandes cambios en su solubilidad, en función de 1) concentraciones salinas, 2) disolventes orgánicos, 3) pH y 4) temperatura. Estas variables que son el reflejo del hecho de que las proteínas son electrolitos de peso molecular muy grande, pueden utilizarse para separar mezclas de proteínas, ya que estas poseen una composición en aminoácidos característica, la cual determina su comportamiento como electrolito.

1) Concentraciones salinas: solubilización y precipitación por salado.

Las sales neutras ejercen efectos pronunciados sobre la solubilidad de las proteínas globulares. A baja concentración, las sales incrementan la solubilidad de muchas proteínas, fenómeno que recibe el nombre de solubilización por salado o salting in, en el que los contraiones adicionales recubren con mayor eficacia las numerosas cargas iónicas de las moléculas proteicas, con lo que se incrementa la solubilidad de las proteínas.

Las sales de los iones divalentes tales como el  $K_2SO_4$  y el  $(NH_4)_2SO_4$ , son mucho más eficaces en la solubilización de las proteínas que las sales de iones monovalentes tales como el NaCl y el KCl. Este efecto lo observamos en el siguiente gráfico que muestra la solubilidad de la carboxihemoglobina en su punto isoeléctrico dependiendo de la fuerza iónica y del tipo de ion. S y S' representan respectivamente las solubilidades de la proteína en la disolución de la sal y en el agua pura.

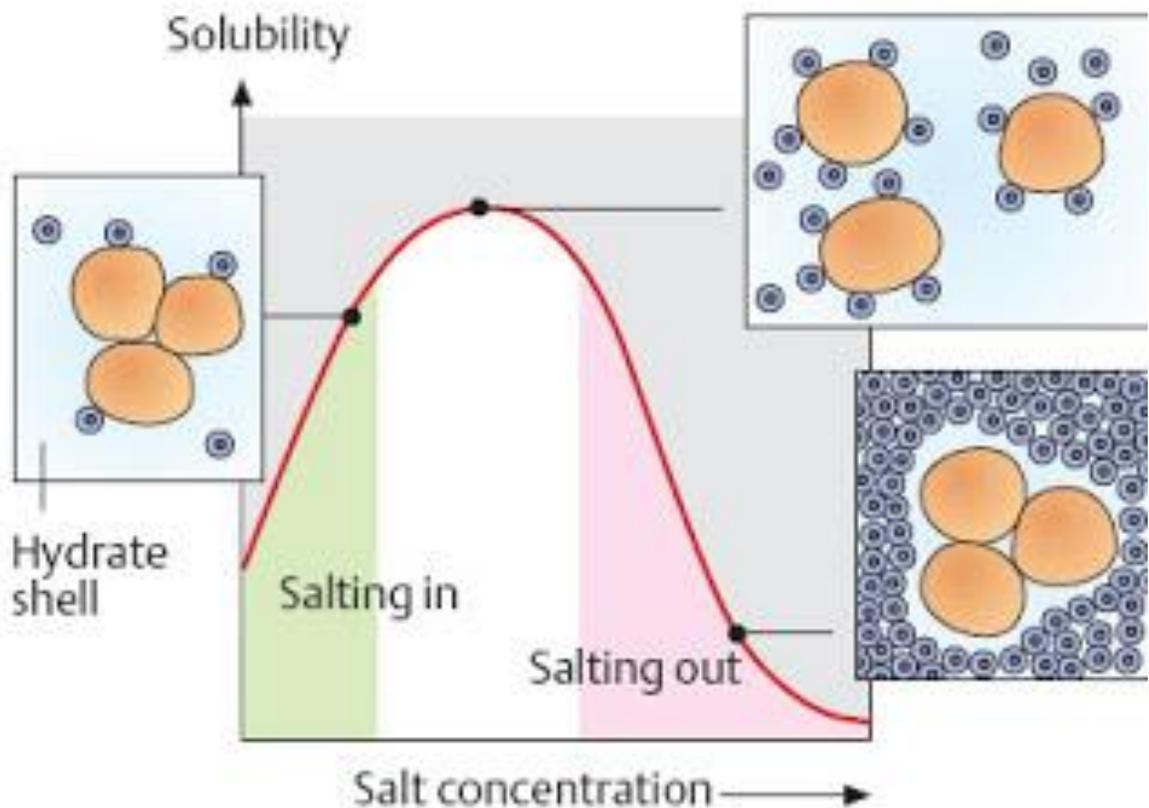


La capacidad de las sales neutras para influir en la solubilidad de las proteínas está en función de su fuerza iónica, que constituye una medida tanto de la concentración como del número de las cargas eléctricas existentes en los cationes y los aniones aportados por la sal. El efecto de solubilidad por salado está causado por cambios de la tendencia a la ionización, de los grupos R disociables de la proteína.

Por otra parte, a medida que la fuerza iónica aumenta, la solubilidad de una proteína comienza a disminuir. A una fuerza iónica lo suficientemente elevada, una proteína puede ser casi completamente precipitada de su disolución, efecto llamado insolubilización por salado o salting out, que es el resultado de la competencia por moléculas de solvatación entre los iones salinos agregados y los otros solutos disueltos.

Uno de los factores que explican este efecto es que la concentración elevada de la sal puede eliminar el agua de hidratación de las moléculas de proteína, reduciendo entonces su solubilidad.

La solubilización e insolubilización por salado, son procedimientos importantes para la separación de mezclas de proteínas, ya que las diferentes proteínas varían en su respuesta frente a la concentración de sales neutras. Las proteínas precipitadas por salado retienen su conformación nativa y pueden disolverse de nuevo, normalmente sin experimentar desnaturalización. El sulfato amónico es el preferido para precipitar las proteínas por salado, debido a su gran solubilidad en agua, lo que permite alcanzar fuerzas iónicas muy elevadas.



### Ecuación de la precipitación con sales:

$$\log S = A - m[\text{Sal}]$$

Donde:

**S** = Solubilidad de la proteína a un valor dado de concentración salina.

**A** = Constante que depende fuertemente del pH y la temperatura. Esta constante usualmente toma un valor mínimo en el punto isoeléctrico, es característica de cada proteína e independiente del tipo de sal.

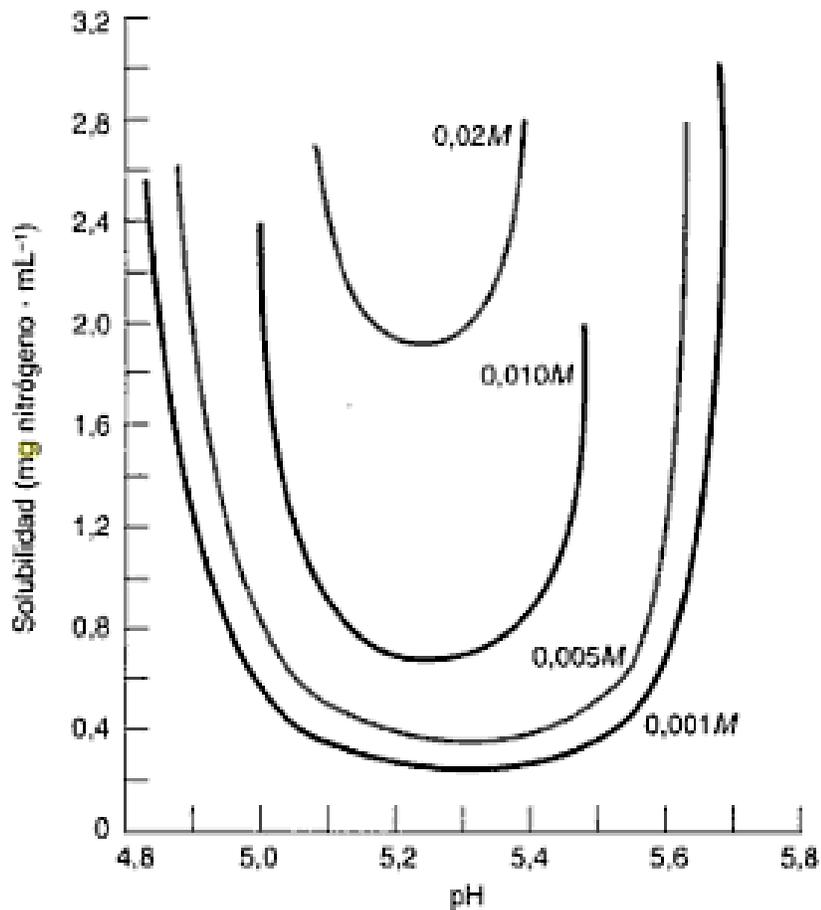
**m** = Pendiente de la curva de solubilización por salado. Ésta es independiente del pH y la temperatura, pero varía con el tipo de sal y de proteína. Las sales que contienen aniones polivalentes tales como sulfatos y fosfatos tienen valores de **m** mayores que las sales univalentes. Los cationes polivalentes como el calcio y el magnesio disminuyen el valor de **m**.

### 2) Disolventes orgánicos:

La adición de disolventes orgánicos neutros miscibles con el agua, particularmente etanol o acetona, disminuye la solubilidad de la mayor parte de las proteínas globulares en el agua, de tal manera que precipitan de su disolución. El estudio cuantitativo de este efecto muestra que la solubilidad de una proteína a un pH y fuerza iónica determinados está en función de la constante dieléctrica del medio. Puesto que el etanol posee una constante dieléctrica, menor que la del agua su adición a una disolución acuosa de proteína incrementa la fuerza de atracción entre las cargas opuestas, disminuyendo de este modo el grado de ionización de los grupos R de la proteína. Como resultado, las moléculas de proteína tienden a agregarse y precipitan.

### 3) Efecto del pH:

La solubilidad de la mayor parte de las proteínas globulares se halla profundamente influida por el pH del sistema. La siguiente figura muestra que la solubilidad de la beta-lactoglobulina, una proteína de la leche, es mínima cuando el pH se encuentra entre 5,2 y 5,3, independientemente de la concentración de cloruro sódico presente. A cada lado de este valor crítico del pH la solubilidad experimenta un incremento muy agudo.



Casi todas las proteínas globulares muestran un mínimo de solubilidad, aunque el pH al que ello ocurre varía de una proteína a otra.

El pH al que una proteína muestra un mínimo de solubilidad es su pH isoelectrico, definido como aquel valor de pH al que la molécula no posee carga eléctrica y es incapaz de desplazarse en un campo eléctrico. En estas condiciones no existe repulsión electrostática entre moléculas de proteína vecinas y tienden a precipitar. Puesto que las diferentes proteínas poseen valores de pH isoelectrico también diferentes, debido a que difieren en el contenido de aminoácidos con grupos R ionizables, con frecuencia pueden separarse unas de otras, mediante precipitación isoelectrica. Cuando el pH de una mezcla de proteínas se ajusta al pH isoelectrico de uno de sus componentes, la mayor parte o casi todo el componente precipitara, quedando en la disolución las proteínas cuyos valores de pH isoelectrico se hallen por encima o por debajo de aquel. La proteína isoelectrica precipitada permanece en su conformación nativa, y puede re disolverse en un medio de pH apropiado y concentración salina adecuada.

Efecto de la temperatura:

Dentro de una fluctuación limitada entre los 0 y los 40°C aproximadamente, la mayor parte de la solubilidad de las proteínas globulares aumenta al aumentar la temperatura, aunque existen algunas excepciones, como ocurre con los electrolitos sencillos. Por encima de los 40 y los 50°C, la mayor parte de las proteínas aumentan en inestabilidad y comienzan a desnaturalizarse, generalmente con pérdida de solubilidad en la zona neutra de pH.