

## 6. pH y amortiguadores: Tampones fisiológicos

Isaac Túnez Fiñana<sup>1</sup>, Aurora Galván Cejudo<sup>2</sup>, Emilio Fernández Reyes<sup>2</sup>

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, <sup>1</sup>Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004-Córdoba, <sup>2</sup> Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa, 14071-Córdoba*

### RESUMEN

Un aspecto fundamental en la fisiología de todos los organismos es la homeostasis o capacidad para mantener una situación de equilibrio dinámico favorable. En este fenómeno tiene gran importancia los sistemas amortiguadores que equilibran la presencia de sustancias ácidas y básicas para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos. Los objetivos de la presente práctica son el conocimiento de conceptos elementales (ácido, base, pH, pK, amortiguador, etc.) así como entender la base química del funcionamiento de los tampones fisiológicos.

*Palabras Clave:* Ácido, base, tampones, tampones fisiológicos

### 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En los organismos vivos se están produciendo continuamente ácidos orgánicos que son productos finales de reacciones metabólicas, catabolismo de proteínas y otras moléculas biológicamente activas. Mantener el pH en los fluidos intra y extracelulares es fundamental puesto que ello influye en la actividad biológica de las proteínas, enzimas, hormonas, la distribución de iones a través de membranas, etc... La manera en que podemos regular el pH dentro de los límites compatibles con la vida son: 1) los tampones fisiológicos y 2) la eliminación de ácidos y bases por compensación respiratoria y renal.

Los tampones fisiológicos son la primera línea de defensa frente a los cambios de pH de los líquidos corporales, entre los que destacan: el tampón fosfato, el tampón bicarbonato y el tampón hemoglobina.

Los objetivos de la práctica son entender:

- 1) Cómo funciona una solución tampón.
- 2) Porqué el tampón bicarbonato es un sistema abierto.
- 3) Que el mecanismo del tampón hemoglobina, para regular el pH, según esté o no oxigenada, radica en la capacidad y pK de sus residuos activos y en su capacidad de liberar O<sub>2</sub>.
- 4) Importancia de los tampones fisiológicos en el organismo humano.

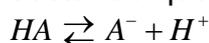
## 1.2. Concepto de ácido y base

### 1.2.1 Datos históricos

**Lavoisier (1777)** observó que sustancias como el azufre y el fósforo en combinación con oxígeno, y en disolución acuosa, daban lugar a sustancias ácidas. Pensó que el responsable era el oxígeno y lo llamó *principio acidificante*. **Arrhenius (1887)** propuso la *Teoría de la disociación electrolítica iónica*: Cuando los electrolitos (ácidos, bases y sales) se disuelven en  $H_2O$  se disocian en partículas cargadas (*iones*).



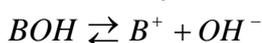
Ácido: Sustancia que en disolución acuosa libera iones de hidrógeno



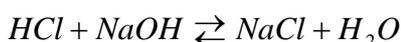
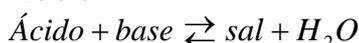
ó



Base: Sustancia que en disolución acuosa libera iones hidroxilo ( $OH^-$ )



Neutralización:



**Brönsted y Lowry (1923)** definieron como

Ácido: Toda especie capaz de ceder protones.

Base: Toda especie capaz de aceptar protones.

Reacción ácido-base, aquella que implica transferencia de protones.



Las sustancias que pueden actuar tanto como ácido como base, se llaman *anfólitos*, *anfóteros* o *anfipróticos*.

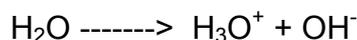
**Lewis (1938)** propuso que no todas las reacciones ácido-base implican transferencia de protones, pero sin embargo forman siempre un enlace covalente dativo.

Ácido: Sustancia que puede aceptar un par de electrones de otros grupos de átomos, para formar un enlace covalente dativo.

Base: Sustancia que tiene pares de electrones libres, capaces de ser compartidos para formar enlaces covalentes dativos.

### 1.3. Concepto y definición de pH

El agua es un electrolito débil con una conductividad de  $4 \times 10^{-8} \Omega/\text{cm}$ . Esto indica que aunque muy débilmente el agua se disocia en iones:



Al disociarse el agua, coexisten iones disociados con moléculas no disociadas pudiéndose aplicar la ley de acción de las masas:

$$K = (H^+) \times (OH^-) / (H_2O)$$

Introduciendo en la fórmula anterior las molaridades correspondientes y sabiendo que la concentración de  $H^+$  es igual a la de  $OH^-$ , se puede calcular la concentración del agua sabiendo que su peso molecular es de (18 g/mol). Si se considera que la concentración de agua no disociada es muy grande, puede suponerse que esta permanece constante y no se modifica, por lo que:

$$(H^+) \times (OH^-) = K_w = K \times (H_2O) = 10^{-13,98} \text{ (a } 25^\circ\text{C)}$$

$K_w$  es el producto iónico del agua

El producto iónico del agua depende de la temperatura, pudiendo expresarse el valor de  $K_w$  diciendo que el producto de iones  $H^+$  por el de  $OH^-$ , a una temperatura dada, es constante. Si la concentración de uno aumenta debe disminuir proporcionalmente la del otro.

Del producto iónico del agua se parte para establecer el concepto de pH. Si  $K_w$  es igual a  $10^{-14}$  y la concentración de  $H^+$  es igual al de  $OH^-$  puede hacerse:

$$(H^+)^2 = 10^{-14} \text{ o } (H^+) = 10^{-7}$$

aplicando logaritmos:  $\log (H^+) = -7 * \log 10 = -7$ ; multiplicando por -1 tenemos:  $-\log (H^+) = 7$ . Si hacemos:  $-\log (H^+) = \text{pH}$  tenemos que **pH = 7**. Por lo tanto, **pH es el logaritmo de la concentración de hidrogeniones cambiado de signo**.

Toda sustancia con pH 7, el correspondiente al agua, se denomina **neutra**. Las de valor inferior a 7, se consideran **ácidas** y las superiores a 7 **básicas o alcalinas**.

#### 1.4. Ácidos y bases fuertes y débiles

Son ácidos o bases fuertes los que al disociarse lo hacen de forma total. Ejemplo:

- Clorhídrico, sulfúrico, en el caso de los ácidos  
 $HCl \text{ -----} > Cl^- + H^+$   
 $H_2SO_4 \text{ -----} > SO_4^{2-} + 2H^+$
- Sosa y potasa en el caso de las bases  
 $NaOH \text{ -----} > Na^+ + OH^-$   
 $KOH \text{ -----} > K^+ + OH^-$

Los ácidos y bases débiles se disocian de modo parcial. Ejemplo:

- El acético y el carbónico, respecto a los ácidos débiles  
 $HCH_3COO \text{ <-----} > CH_3COO^- + H^+$   
 $H_2CO_3 \text{ <-----} > HCO_3^- + H^+$

- El hidróxido de amonio, respecto a las bases débiles  

$$\text{NH}_4\text{OH} \rightleftharpoons \text{NH}_3^+ + \text{OH}^-$$

### 1.5. Amortiguadores, buffer o tampones

El pH de los medios biológicos es una constante fundamental para el mantenimiento de los procesos vitales. La acción enzimática y las transformaciones químicas de las células se realizan dentro de unos estrictos márgenes de pH. En humanos los valores extremos compatibles con la vida y con el mantenimiento de funciones vitales oscilan entre 6,8 y 7,8; siendo el estrecho margen de 7,35 a 7,45 el de normalidad. También en el trabajo de laboratorio, es imprescindible el mantenimiento de un pH para la realización de muchas reacciones químico-biológicas. Los sistemas encargados de evitar grandes variaciones del valor de pH son los denominados “amortiguadores, buffer, o tampones”. Son por lo general soluciones de ácidos débiles y de sus bases conjugadas o de bases débiles y sus ácidos conjugados. **Los amortiguadores resisten tanto a la adición de ácidos como de bases.**

### 1.6. Ecuación de Henderson-Hasselbalch. Concepto de pK

La concentración de  $\text{H}^+$  está vinculada a la naturaleza del electrolito débil. Considerando un ácido débil, de modo genérico como HAc, su equilibrio de disociación sería:



Aplicando la ley de acción de masas, la constante de equilibrio K será:

$$K = (\text{Ac}^-) \times (\text{H}^+) / (\text{HAc})$$

despejando ( $\text{H}^+$ )

$$(\text{H}^+) = \frac{K \times (\text{HAc})}{(\text{Ac}^-)}$$

aplicando logaritmos

$$\log (\text{H}^+) = \log K + \log (\text{HAc}) - \log (\text{Ac}^-)$$

multiplicando por -1

$$-\log (\text{H}^+) = -\log K - \log (\text{HAc}) + \log (\text{Ac}^-)$$

Si hacemos que

- $-\log (\text{H}^+) = \text{pH}$
- $-\log K = \text{pK}$

Se obtiene la ecuación de Henderson-Hasselbalch

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \left( \frac{\text{base}}{\text{ácido}} \right)$$

Si en la ecuación la concentración de ácido es igual a la de la base, el cociente es 1, siendo el log de 1 = 0, se tiene que

$$\text{pH} = \text{pK}$$

por tanto, se puede definir el **pK** como el valor de pH de una solución amortiguadora en el que el ácido y la base se encuentran a concentraciones equimoleculares o al 50% cada una.

## 1.7. Tampones fisiológicos

Son los sistemas encargados de mantener el pH de los medios biológicos dentro de los valores compatibles con la vida. Permitiendo con ello la realización de funciones bioquímicas y fisiológicas de las células, tejidos, órganos, aparatos y sistemas. Según su naturaleza química, los amortiguadores se clasifican en *orgánicos* e *inorgánicos* y, así mismo, atendiendo a su ubicación, se distribuyen en *plasmáticos* y *tisulares*.

### 1.7.1. Tampones orgánicos

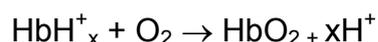
#### 1.7.1.1. Las proteínas y aminoácidos como tampón

Los aminoácidos y proteínas son electrolitos anfóteros, es decir, pueden tanto ceder protones (ácidos) como captarlos (bases) y, a un determinado pH (en su pI), tener ambos comportamientos al mismo tiempo. La carga depende del pH del medio. En un medio muy básico se cargan negativamente, mientras que en el fuertemente ácido lo hacen positivamente. Desde el punto de vista fisiológico este tipo de amortiguador es resulta de especial interés a nivel tisular.

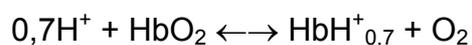
#### 1.7.1.2. Tampón hemoglobina

Es un tampón fisiológico muy eficiente debido tanto al cambio de pK que experimenta al pasar de la forma oxidada a la reducida, como a la gran abundancia de esta proteína en la sangre (15 % del volumen total sanguíneo).

La oxihemoglobina (pK= 7,16) es un ácido más fuerte que la desoxihemoglobina (pK= 7,71). Los valores de pK son tales que determinan que en la disociación siguiente, el valor x sea, aproximadamente, 0,7.



Esta propiedad de la hemoglobina, de cambiar su valor de pK, demuestra el efecto tampón, permite el transporte de una determinada cantidad de CO<sub>2</sub> liberada en los tejidos. La hemoglobina oxigenada que llega a los tejidos se disocia liberando O<sub>2</sub>, un proceso que está favorecido por el estado de los tejidos (baja pO<sub>2</sub>, menor pH y alta pCO<sub>2</sub>).



## 1.7.2. Tampones inorgánicos

### 1.7.2.1. Tampón carbónico/bicarbonato

Está constituido por  $\text{H}_2\text{CO}_3$  y  $\text{HCO}_3^-$ . Aunque su valor de  $\text{pK}$  (6,1) está algo alejado del  $\text{pH}$  fisiológico de la sangre (7,4), es un sistema muy eficaz debido a que: 1) La relación  $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$  es muy alta (20/1), lo que le proporciona una alta capacidad tampón frente a los ácidos; 2) es un sistema abierto, con lo que el exceso de  $\text{CO}_2$  puede ser eliminado por ventilación pulmonar de manera rápida; y 3) además, el  $\text{HCO}_3^-$  puede ser eliminado por los riñones mediante un sistema de intercambio con solutos.

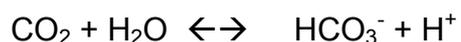
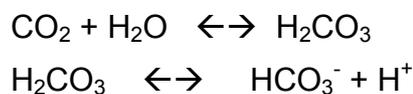
Respecto al origen y formación de este sistema **carbónico/bicarbonato**, resaltaremos lo siguiente:

En el plasma el  $\text{CO}_2$ , procedente del metabolismo celular, se encuentra como:

- $\text{CO}_2$  disuelto, que según la ley de Henry es directamente proporcional a la presión parcial del gas ( $P_{\text{CO}_2}$ )
- $\text{HCO}_3^-$ , que es la fracción más importante, y
- Formando compuestos carbamínicos con los grupos  $\text{NH}_2$  de la hemoglobina.

Alrededor del 10% es transportado en el eritrocito en forma de carbaminohemoglobina

El  $\text{CO}_2$  disuelto es hidratado a  $\text{H}_2\text{CO}_3$  en una reacción reversible y muy eficiente catalizada por la anhidrasa carbónica:



En este sistema acoplado, todo el  $\text{CO}_2$  disuelto es considerado como la forma ácida del tampón ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). La concentración de  $\text{CO}_2$  disuelto ( $\text{CO}_2\text{d}$ ) dependerá de su constante de solubilidad y de la presión parcial de  $\text{CO}_2$ .

$$\begin{aligned}K_{\text{solubilidad}} &= 3 \times 10^{-5} \text{ M} \cdot \text{mm Hg}^{-1}. \text{ Así pues} \\ \text{CO}_2\text{d} &= (3 \times 10^{-5}) \cdot P_{\text{CO}_2}\end{aligned}$$

---

Aplicando la ecuación de Henderson-Hasselbalch al tampón bicarbonato:

$$\begin{aligned}\text{pH} &= \text{pK} + \log \frac{\text{HCO}_3^-}{\text{CO}_2\text{d}} \\ &\quad \text{ó} \\ \text{pH} &= 6,1 + \log \frac{\text{HCO}_3^-}{(3 \times 10^{-5}) \cdot P_{\text{CO}_2}}\end{aligned}$$

El contenido total de  $\text{CO}_2$  sería igual al  $\text{CO}_2$  disuelto más el  $\text{HCO}_3^-$ , esto es:



Este contenido total de  $\text{CO}_2$  de una muestra de plasma se determina a partir de la medida del volumen de  $\text{CO}_2$  liberado por acidificación con un ácido fuerte. Lo que ocurre al añadir ácido es que desplazamos el equilibrio de disociación hacia la izquierda, y al ser el sistema bicarbonato un sistema abierto, el  $\text{CO}_2$  formado se desprende en forma de gas. Dado que el  $\text{CO}_2$  es un gas no ideal, 1 mmol ocupa 22,26 ml en condiciones estándar de presión y temperatura ( $0^\circ\text{C}$  y 760 mm Hg ó 101,33 kPa). La temperatura en el laboratorio suele ser de  $22^\circ\text{C}$  y la presión atmosférica de 750 mm Hg (100 kPa), por lo que corrigiendo para las condiciones estándar tendremos:

$$V_{\text{CO}_2} \times 750/760 \times 273/275 = \text{ml CO}_2 \text{ en condiciones estándar.}$$

$$\text{ml CO}_2 \text{ en condiciones estándar} / 22,26 = \text{mmol CO}_2.$$

Teniendo en cuenta estas consideraciones, la ecuación de Henderson-Hasselbalch para el tampón bicarbonato se puede escribir de la siguiente forma:

$$\text{pH} = 6,1 + \log \left( \frac{\text{HCO}_3^-}{0,0301 \times \text{pCO}_2} \right)$$

en donde 0,0301 hace referencia a los mmoles de  $\text{CO}_2$  disuelto por litro de plasma y por mm de Hg.

### 1.7.2.2. Tampón fosfato

A pH fisiológico, las especies del fosfato con capacidad de tamponar son  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  ya que su valor de pK es de 6,8. Así pues, para el tampón fosfato:

$$\text{pH} = 6,8 + \log \frac{\text{HPO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{PO}_4^-}$$

A pH fisiológico de 7,4, la concentración de  $\text{HPO}_4^{2-}$  (un 80%) es 4 veces superior a la de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (un 20%). Así pues, el tampón fosfato es un sistema muy eficaz para amortiguar ácidos. La concentración de fosfato en la sangre es baja (2 mEq/L) por lo que tiene escasa capacidad de tamponar si lo comparamos con otros tampones (ej el bicarbonato). En cambio, a nivel intracelular, las concentraciones de fosfato son elevadas lo que le convierte en un tampón eficiente. Las grandes cantidades de fosfato dentro de las células corporales y en el hueso hacen que el fosfato sea un depósito grande y eficaz para amortiguar el pH.

## 2. LISTADO DEL MATERIAL NECESARIO

- \* Pipetas
- \* Buretas
- \* Soporte universal
- \* Agua destilada
- \* Vasos de precipitado
- \* Erlenmeyer
- \* Fenolftaleína

- \* Azul de bromofenol
- \* NaOH 0,1 M
- \* HCl 0,1 M
- \*  $\text{HPO}_4 \text{Na}_2$  0,2 M
- \*  $\text{H}_2\text{PO}_4\text{Na}$  0,2 M
- \*  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- \* Tiras de pH
- \* Calculadora

### 3. PROTOCOLO

√ Pipetear en los 5 tubos los siguientes reactivos, excepto los indicados con el símbolo

Reactivos	Tubos				
	1	2	3	4	5
H <sub>2</sub> O	1 ml	1 ml	-	-	-
Fenolftaleína	10 µl		10 µl		
Azul de bromofenol		10 µl		10 µl	
NaOH 0,1 M	√		√		
HCl 0,1 M		√		√	
HCl 0,2 M					√
$\text{HPO}_4 \text{Na}_2$ 0,2 M			1 ml	1 ml	
$\text{H}_2\text{PO}_4\text{Na}$ 0,2 M			1 ml	1 ml	
$\text{Na}_2\text{CO}_3$					1 ml

√ Añadir HCl o NaOH

Añadir con pipeta HCl o NaOH, en los tubos indicados, hasta que el indicador vire de color. Anotar el volumen de ácido o base añadido.

En este protocolo vamos a utilizar dos indicadores, fenolftaleína y azul de bromofenol, para visualizar los cambios de pH en zonas concretas, Sin embargo, las medidas de pH, se pueden realizar también de modo más preciso con un pH-metro, con papel indicador. Realizar estas medidas de pH tanto al inicio como al final del experimento. Anotar estos datos.

Tanto la fenolftaleína como el azul de bromofenol son indicadores de pH. Se trata de compuestos ionizables en los que las formas disociada y sin disociar tienen diferente color. La fenolftaleína tiene un valor de pK de 8,9 y la forma no disociada es incolora y la disociada es rosa. El azul de bromofenol tiene un valor de pK de 4, la forma no disociada es amarilla y la forma disociada es azul.

### 4. CUESTIONES, PROBLEMAS Y CASOS CLÍNICOS

#### 4.1. Cuestiones

- 1) ¿Qué especies del tampón fosfato están presentes en condiciones fisiológicas?
- 2) ¿Qué valor de pH inicial tendrán los tubos 3 y 4? Compruébalo con tiras de pH.
- 3) ¿Qué capacidad amortiguadora tendremos en los tubos 3 y 4?
- 4) Calcula la cantidad de HCl (en el tubo 4) y NaOH (en el tubo 3) que es necesario añadir para que vire el indicador de color. ¿Coincide con lo que ha salido en la práctica?. Comprobar lo que ha ocurrido en los tubos 1 y 2.
- 5) Discute lo que ha ocurrido en el tubo 5 al añadir HCl. ¿Por qué el tampón bicarbonato es un sistema abierto?

#### 4.2. Problemas para entender los mecanismos de los tampones fisiológicos (Cárdenas J, Fernández E, Galván F, Márquez AJ, Vega JM. Problemas de Bioquímica, editorial Alhambra, 1988)

1. Sabiendo que los pK del fosfórico son  $pK_1= 2,1$ ;  $pK_2= 6,8$  y  $pK_3= 12,7$ . Calcula las proporciones de las siguientes especies  $H_3PO_4$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  y  $PO_4^{3-}$  a pH fisiológico de 7,4.

**Solución:**  $H_3PO_4 = 10^{-4} \%$   $H_2PO_4^- = 20\%$ ,  $HPO_4^{2-} = 80\%$  y  $PO_4^{3-} = 4 \times 10^{-4} \%$

2. Calcula la relación  $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^-$  en las siguientes condiciones:

a) en la sangre a pH 7,4; b) en la orina a pH 7,2; c) en la orina a pH 6,2; d) en la orina a pH 5,5. Considerar un valor de  $pK_2$  de 7,2.

**Solución:** a) 1,6; b) 1, c) 0,1, d) 0,02

3. Por adición de un ácido fuerte a un plasma de pH 7,4 se liberan 31,5 mEq de  $CO_2$  por litro. Calcula las concentraciones de  $CO_2$  y  $HCO_3^-$  disueltos en este plasma.

**Solución:** 1,5 mEq/l de  $CO_2$  y 30 mEq/l de  $HCO_3^-$

4. El pH de una muestra de sangre arterial es de 7,15. Después de la acidificación de 10 ml de sangre total se producen 5,91 ml de  $CO_2$ . Calcula: a) la concentración total de  $CO_2$  en sangre y b) la concentración de  $CO_2$  y  $HCO_3^-$  disuelto así como la presión parcial en mm de Hg del  $CO_2$  disuelto.

**Solución:** a)  $2,65 \times 10^{-2} M$ ; b)  $2,43 \times 10^{-2} M (CO_2) = 2,17 \times 10^{-3} M$ ;  $P_{CO_2} = 72,2$  mm Hg

5. A una solución de hemoglobina, oxigenada al máximo a pH 7,3, se le añade 24 mmoles de HCl. Indicar: a) el nuevo pH que alcanzará y b) ¿qué cantidad de  $O_2$  deberá liberarse para recuperar el pH anterior?. ( $pK_{Hb_{ox}} = 6,7$ ;  $pK_{Hb} = 7,9$ ).

**Solución:** a) 6,8 y b) 40 mmoles de  $O_2$

6. Calcula la variación de pH en el plasma sanguíneo de un astronauta al pasar de la atmósfera natural ( $P_{CO_2} = 40$  mm de Hg) a la atmósfera artificial de un traje espacial que tenía accidentalmente una  $P_{CO_2} = 85$  mm de Hg, sabiendo que la concentración del sistema  $HCO_3^-/CO_2$  en el plasma es de 24,9 mM, a presión atmosférica.

**Solución:** -0,33

#### 4.3. Caso Clínico

Mujer latinoamericana de 15 años de edad es llevada a la sala de urgencias en

estado comatoso. Sus familiares comentan que durante todo el día viene sufriendo de náuseas y vómitos y que hace un rato ha perdido el estado de conciencia. También comentan que la paciente no había ingerido alcohol o cualquier otro tipo de drogas. Al efectuar el examen físico el médico de guardia aprecia que la paciente presenta:

- Respiración profunda y rápida
- Aliento a frutas
- Piel y mucosas secas

Se solicita un análisis bioquímico y hematimetría. A la recepción del estudio de laboratorio, el médico puede destacar los siguientes datos

- Potasio 5,9 mmol/L (3,5-5,1 mmol/L)
- Cloruro 80 mmol/L (98-106 mmol/L)
- pH 7,10 (7,35-7,45)
- PCO<sub>2</sub> 29 mm Hg (34-35 mmHg)
- Glucemia 695 mg/dl (80-120 mg/dL)
- Cetonemia 5<sup>+</sup> (0)
- Glucosuria 3<sup>+</sup> (0)

Preguntas:

1. A partir de los datos del laboratorio y de una forma razonada indique: ¿Qué trastorno presenta la paciente?
  - Acidosis. Debido al descenso del pH sanguíneo por debajo del límite de normalidad.
  - Metabólica. Por que se debe a la excesiva producción de cuerpos cetónicos
2. ¿Por qué se produce una cetoacidosis?  
Por la metabolización parcial de ácidos grasos como fuente de energía
3. ¿Cuáles son los tres cuerpos cetónicos formados?  
Acetoacetato, β-hidroxiacetato y acetona
4. ¿Por qué disminuyen el bicarbonato y la presión de CO<sub>2</sub>?  
Por su intento en compensar el desequilibrio:
  - El dióxido por la hiperventilación
  - El bicarbonato por su transformación en ácido carbónico y posterior eliminación en forma de dióxido de carbono

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Arilla E (1998): Preparación de disoluciones. En: González de Buitrago JM, Arilla E, Rodríguez-Segade M, Sánchez A (eds): "Bioquímica Clínica", 1ª ed. Editorial Alhambra (Madrid, España), pp. 529 – 552.
- Berezov TT, Korovkin BF (1992): Blood. En Berezov TT, Korovkin BF (eds): "Biochemistry", 1ª ed. Editorial Mir Publishers Moscow (Moscú, Rusia), pp. 415 – 445.

- Devlin TM (2004): Estructura celular eucariota. En Devlin TM (ed): Bioquímica, 4ª ed. Editorial Reverté (Barcelona, España), pp. 3 – 26.
- D'Ocon MC, García MJ, Vicente JC (1998). Estudio del equilibrio ácido-base. En D'Ocon MC, García MJ, Vicente JC (eds): "Fundamentos y Técnicas de Análisis Bioquímico", 1ª ed. Editorial Paraninfo (Madrid, España), pp. 27 – 38.
- McEnerney K (1995). Fisiología acidobásica. En Anderson SC, Cockayne (eds): "Química Clínica", 1ª ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill (México D.F., México), pp. 410 – 441.
- McKee T, McKee JR (2003). El agua: el medio de la vida. En McKee T, McKee JR (eds): "Bioquímica. La Base Molecular de la Vida", 3ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana (Madrid, España), pp. 65 – 91.