

Especialización en Bioquímica Clínica

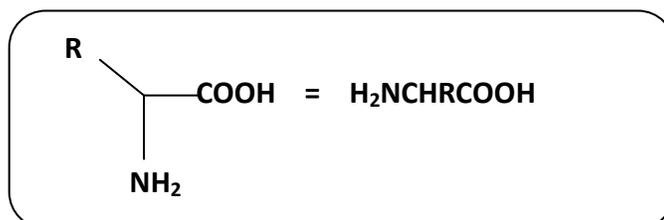
Propiedades ácido-base de la glicina

-2007-

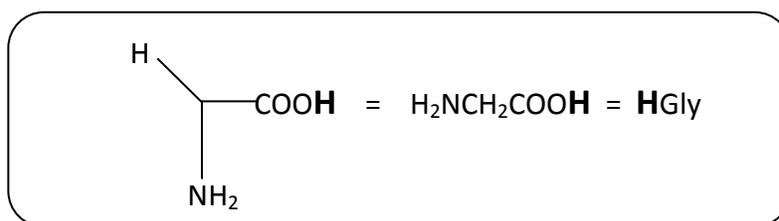
Dr. Alejandro Baeza

Documento de Apoyo
Propiedades ácido-base de los α -aminoácidos: la glicina.
Dr. Alejandro Baeza.

Los ácidos aminados en la posición alfa son muy importantes en Química Analítica, Química Sintética y Bioquímica. Presentan a la fórmula general siguiente:



Los aminoácidos más comunes se componen de 20 diferentes sustituyentes R. Para ilustrar las propiedades ácido-base de estos compuestos en agua se estudia el aminoácido más simple, la glicina, R = H. Se simboliza a la glicina como **HGly** donde H representa el protón carboxílico.

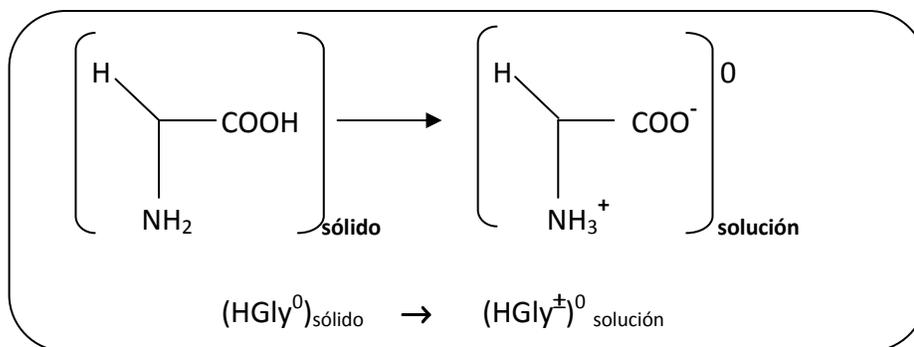


a) Disoluciones de glicina de formalidad $F_{\text{HGly}} = C_0$ (en mol/L).

Si se disuelven m_0 gramos del compuesto de *fórmula* **$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$** , ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ MM = 75.07 g/mol) , en un volumen inicial V_0 expresado en litros, L, la concentración formal es:

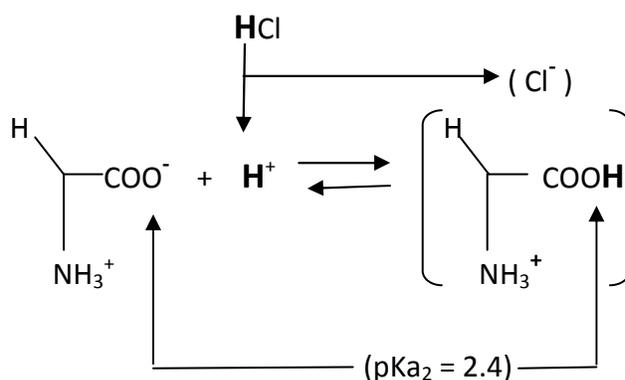
$$F_{\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}} = \frac{m_0}{(\text{MM})(V_0)} = C_0$$

El polvo blanco sólido de la glicina se *disuelve* totalmente y una vez disuelta (solvatada) ocurre una reacción interna también total llamada *autoprototonación* característica de todos los aminoácidos y que determina un estado de equilibrio muy interesante y útil conocido como *punto isoeléctrico* donde la carga neta del aminoácido es cero. Los procesos de reacción en la *formación* de esta *disolución* se muestran a continuación:



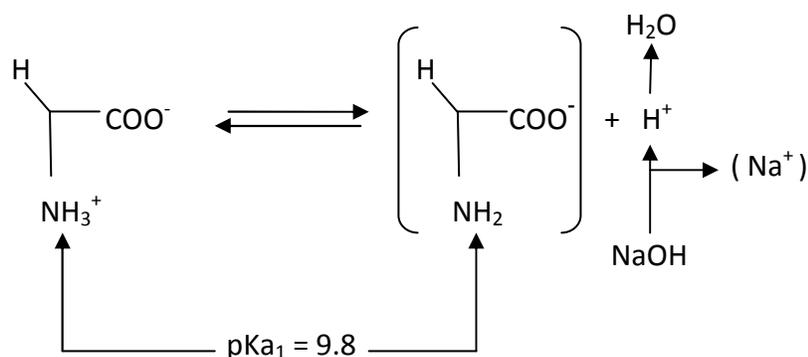
La especie HGly^{\pm} es muy importante en cuanto a su reactividad química y metabólica y se le dio el nombre en alemán de *zwitterion* (ión *hermafrodita*). Este ión presenta *bifuncionalidad*:

1a) La parte del carboxilo, $-\text{COO}^-$, puede protonarse por adición externa de un ácido fuerte, HCl, para regenerar al ácido carboxílico correspondiente. El par generado glicinio/glicina, ($\text{H}_2\text{Gly}^+/\text{HGly}^{\pm}$), esta caracterizado por un pK_a_2 :

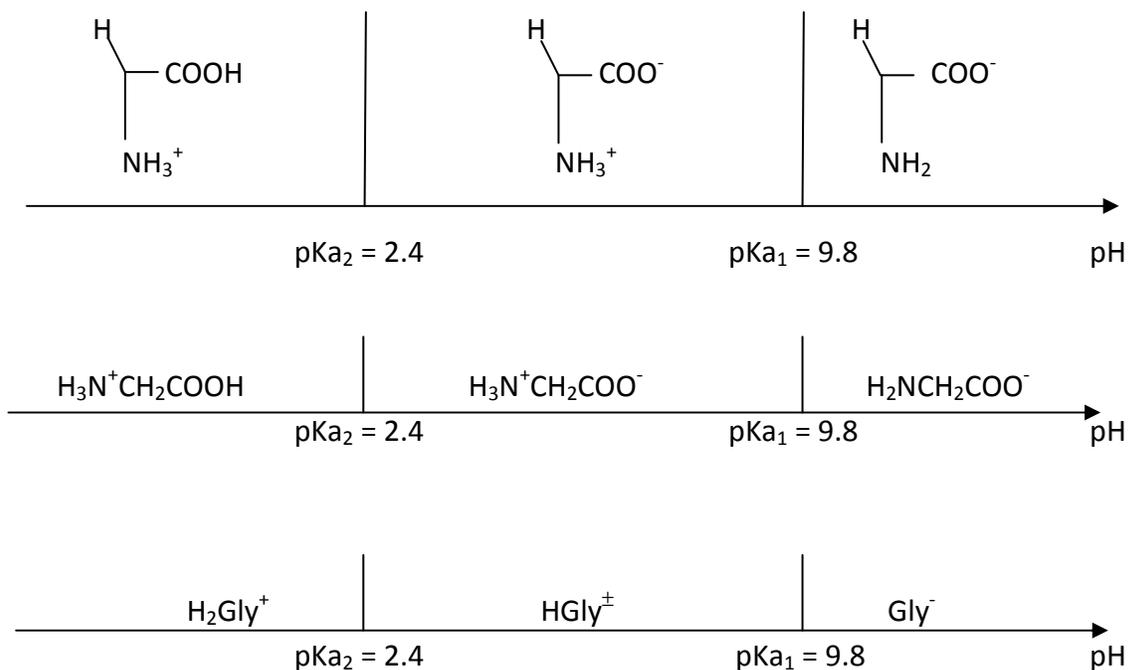


El ácido conjugado de la glicina *zwitterion*, $\text{H}_2\text{Gly}^+\text{Cl}^-$, producto de la reacción con el HCl recibe el nombre de cloruro de glicinio (de manera análoga al cloruro de amonio) pero también se le conoce como *clorhidrato de glicina*.

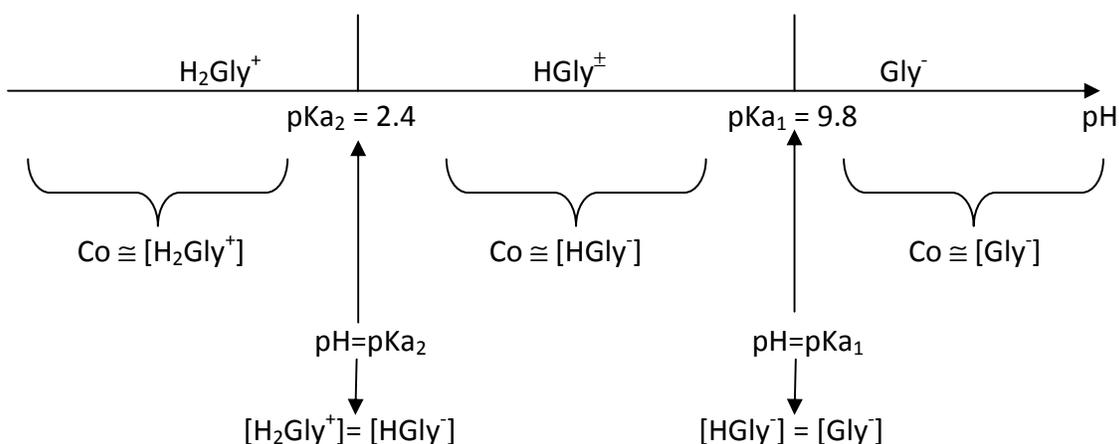
2a) La parte del aminio, $-\text{NH}_3^+$, puede desprotonarse por adición de NaOH y regenerar la función amina. El par generado glicina/glicinato, $\text{HGly}^{\pm}/\text{Gly}^-$, esta caracterizado por un $\text{pK}_a_1 = 9.8$:



De esta manera dependiendo del **pH impuesto** por adición de ácido fuerte o base fuerte dependerá la forma en que predomine la glicina: en forma ácida, *glicinio*; en forma neutra glicina *zwitterion*; o en forma básica, *glicinato*. La predominancia de las especies de la glicina en función del pH impuesto se resume en un DIAGRAMA UNIDIMENSIONAL DE PREDOMINIO DE ESPECIES, **DUZP**, presentados a continuación con tres formas diferentes de representación de las especies de la glicina:



Del DUZP anterior se desprende que la *abundancia relativa* de las especies de la glicina cambia alrededor de sendos valores de pKa. Si la concentración **analítica o total** de la glicina disuelta es: $C_o = C_{gly} = [H_2Gly^+] + [HGly^\pm] + [Gly^-]$, para las diferentes zonas de predominio a pH impuesto se cumplen las siguientes situaciones límite químicas:



Las expresiones que relacionan matemáticamente las especies de la glicina lo son por un lado el **balance de masa** mostrado arriba y por otro las **constantes de disociación ácida sucesivas** también conocidas como **constantes de acidez**:

$$\text{Co} = \text{C}_{\text{gly}} = [\text{H}_2\text{Gly}^+] + [\text{HGly}^\pm] + [\text{Gly}^-]$$

$$K_{a_2} = \frac{[\text{HGly}^\pm][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{Gly}^+]} = 10^{-2.4}$$

$$K_{a_1} = \frac{[\text{Gly}^-][\text{H}^+]}{[\text{HGly}^\pm]} = 10^{-9.8}$$

En agua las variaciones del nivel de acidez van desde $[\text{H}^+] = 1 \text{ M}$ hasta 10^{-14} M , el bioquímico danés *Sorensen* propuso en 1955 manejar de manera logarítmica *adimensional* dichas variaciones: $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$, de esta manera la escala de acidez en agua se expresa desde $\text{pH} = 0$ hasta $\text{pH} = 14$.

Las formas logarítmicas adimensionales de las K_{a_i} de la glicina quedan de siguiente manera:

$$\text{pH} = \text{pKa}_2 + \log \frac{[\text{HGly}^\pm]}{[\text{H}_2\text{Gly}^+]}$$

$$\text{pH} = \text{pKa}_1 + \log \frac{[\text{Gly}^-]}{[\text{HGly}^\pm]}$$

Los bioquímicos *Hendersson y Hasselbach* demostraron que las concentraciones al equilibrio de la base y del ácido conjugado corresponden a sus concentraciones formales o totales en la disolución:

$$pH = pKa_2 + \log \frac{C_{\text{glicina}}}{C_{\text{glicinio}}}$$

$$pH = pKa_1 + \log \frac{C_{\text{glicinato}}}{C_{\text{glicina}}}$$

La relación entre el porcentaje de cada especie en función del pH puede calcularse si se relacionan las expresiones de Ka_i con el balance de masa $C_o = \Sigma [H_i \text{Gly}^{i-1}]$ con ayuda de las constantes de formación acumulativas o globales β_i :

$$\beta_1 = \frac{[\text{HGly}^\pm]}{[\text{Gly}^-][\text{H}^+]} = \frac{1}{Ka_1} = 10^{9.8}$$

$$\beta_2 = \frac{[\text{H}_2\text{Gly}^+]}{[\text{Gly}^-][\text{H}^+]^2} = \frac{1}{Ka_1 Ka_2} = 10^{9.8+2.4} = 10^{12.2}$$

$$[\text{Gly}^-] = \frac{C_o}{[1 + \beta_1[\text{H}^+] + \beta_2[\text{H}^+]^2]} = \frac{C_o}{\alpha_{\text{Gly}}}$$

La fracción molar relativa del glicinato queda entonces:

$$\Phi_{\text{Gly}} = \frac{[\text{Gly}^-]}{C_o} = (\alpha_{\text{Gly}})^{-1}$$

Para HGly^\pm y H_2Gly^+ :

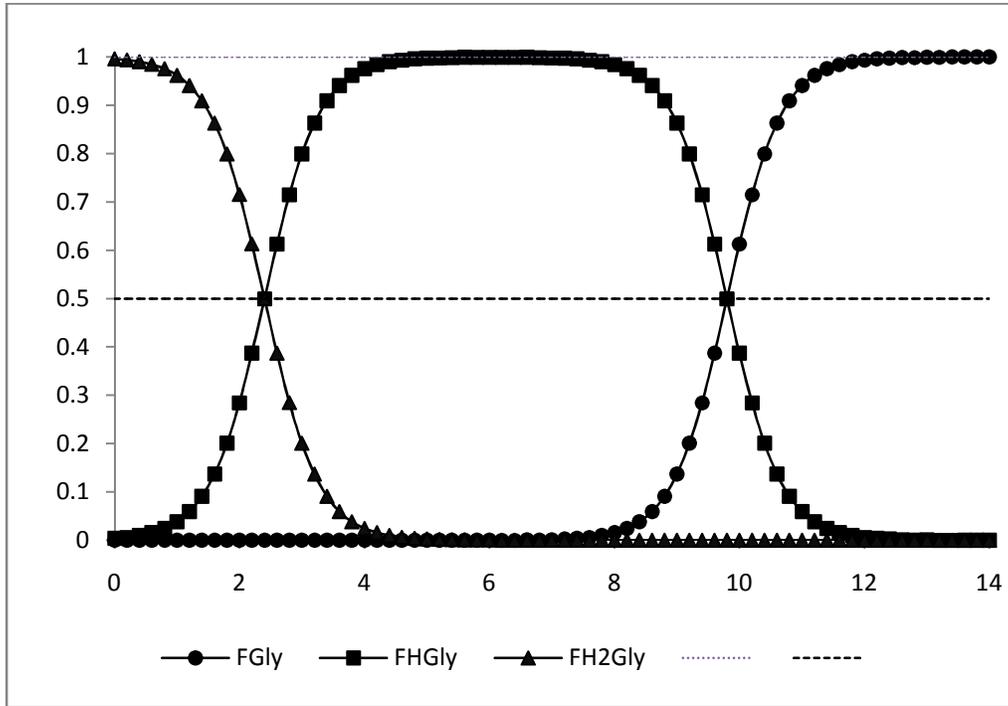
$$\Phi_{\text{HGly}} = \Phi_{\text{Gly}} \beta_1 [\text{H}^+] = \Phi_{\text{Gly}} \beta_1 10^{-pH}$$

$$\Phi_{\text{H}_2\text{Gly}} = \Phi_{\text{Gly}} \beta_2 [\text{H}^+]^2 = \Phi_{\text{Gly}} \beta_2 10^{-2pH}$$

Adicionalmente se cumple que:

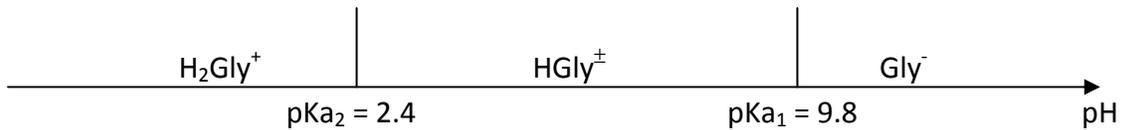
$$\Phi_{\text{Gly}} + \Phi_{\text{HGly}} + \Phi_{\text{H}_2\text{Gly}} = 1$$

La gráfica siguiente muestra la variación de la fracción molar relativa de cada especie de la glicina, Φ_i , en función del pH:

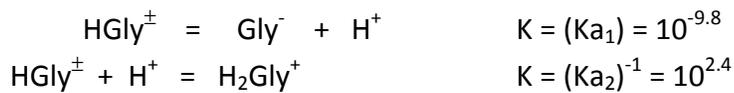


Punto Isoeléctrico:

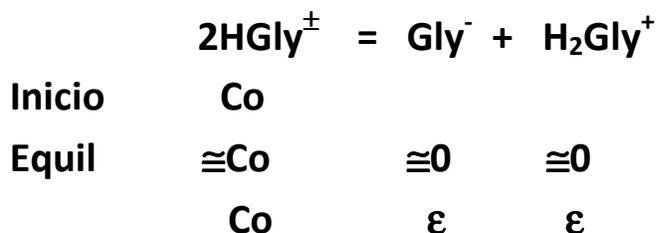
De acuerdo al DUZP mostrado arriba y al diagrama de fracción molar relativa se observa que la máxima formación de glicina en forma *zwitterion*, de carga neta cero se encuentra en el intervalo $pK_{a2} < pH < pK_{a1}$:



La característica bifuncional de la glicina (*anfólito*) establece una reacción de dismutación o autorreacción que puede calcularse con base a sendos valores de K_a



En efecto la constante de dismutación de la glicina es muy pequeña lo que indica que el equilibrio de dismutación esta desplazado preferentemente hacia la glicina:



La glicina como ácido bajará el pH pero como base lo subirá. El pH de la disolución esta dado por:

$$pH = pK_{a_2} + \log \frac{[\text{HGly}^{\pm}]}{[\text{H}_2\text{Gly}^{+}]}$$

$$pH = pK_{a_1} + \log \frac{[\text{Gly}^{-}]}{[\text{HGly}^{\pm}]}$$

$$2pH = (pK_{a_1} + pK_{a_2}) + \log \left(\frac{[\text{HGly}^{\pm}]}{[\text{H}_2\text{Gly}^{+}]} \frac{[\text{Gly}^{-}]}{[\text{HGly}^{\pm}]} \right)$$

$$2pH = (pK_{a_1} + pK_{a_2}) + \log \left(\frac{[\text{Gly}^{-}]}{[\text{H}_2\text{Gly}^{+}]} \right)$$

$$2pH = (pK_{a_1} + pK_{a_2}) + \log \left(\frac{\epsilon}{\epsilon} \right)$$

$$pH = \frac{1}{2}(pK_{a_1} + pK_{a_2})$$

Cuando el $pH = \frac{1}{2}(pK_{a_1} + pK_{a_2}) = 6.1$ se alcanza la máxima abundancia de la glicina *zwitterion*. Este valor de pH se conoce como **punto isoeléctrico**.

En este punto se cumple que:

$$C_o = C_{\text{gly}} = [\text{H}_2\text{Gly}^+] + [\text{HGly}^\pm] + [\text{Gly}^-]$$

$$C_o \cong [\text{HGly}^\pm]$$

Usando las ecuaciones de Φ al pH isoelectrico, pH = 6.1 se tiene:

$$\Phi_{\text{Gly}\%} = 00.0019$$

$$\Phi_{\text{HGly}\%} = 99.9601$$

$$\Phi_{\text{H}_2\text{Gly}\%} = 00.0199$$

Comentarios finales.

El porcentaje de cada especie de la glicina puede cambiarse si se modifica externamente el pH por adición de un ácido fuerte o una base fuerte. Esta operación es muy importante para ciertas operaciones analíticas como la separación electroforética de aminoácidos, péptidos y proteínas o bien la cromatografía de intercambio iónico en la cuantificación de aminoácidos en proteínas hidrolizadas.

El conocimiento de las propiedades ácido-base es muy importante en el diseño de soluciones amortiguadoras muy usadas en Bioquímica Clínica. El bioquímico Van Slyke estudio la capacidad amortiguadora de los sistemas ácido-base de interés bioquímico y fisiológico.

Bibliografía de apoyo:

- 1) George M. Bodner
Assigning the pKa's of Polyprotic Acids.
Journal of Chemical Education **63-3**(1986)246-247
- 2) Alejandro Baeza
Química Analítica. Expresión Gráfica de las Reacciones Químicas.
Editorial S y G.
2006.