

PROPIEDADES VOLUMÉTRICAS DE AMINOÁCIDOS EN SOLUCIONES ACUOSAS DE UREA

Carmen María Romero*, Ricardo E. Munar L. y José Eccehomo Rojas B.

*Laboratorio de Investigaciones Básicas. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.

Keywords: Amino Acid; partial molar volume; density; aqueous solution; urea.

RESUMEN

A partir de medidas de densidad a 25.0° C se determinaron los volúmenes molares aparentes de algunos α -aminoácidos en soluciones acuosas de urea 0.5 y 2.0 M. Los resultados obtenidos se usan para calcular los volúmenes molares parciales límites \bar{V}° de los solutos y los cambios de volumen asociados con su transferencia de agua a soluciones acuosas de urea.

ABSTRACT

The apparent molar volumes of some α -amino acids in 0.5 and 2.0 M aqueous urea solutions were determined at 25.0°C from density measurements. The results obtained were used to evaluate the limiting partial molar volumes \bar{V}° of the solutes and the volume change associated their transfer from water to aqueous urea solutions.

INTRODUCCION

El estudio de las propiedades fisicoquímicas de aminoácidos en agua y en soluciones acuosas de urea ha sido emprendido en los últimos años por diversos investigadores para obtener información acerca de la naturaleza de las interacciones entre los aminoácidos y el solvente acuoso y sobre el papel que éste último ejerce sobre la estabilidad termodinámica de solutos más complejos como las proteínas (1-5).

Dentro de este contexto, las propiedades volumétricas de los aminoácidos en agua y en solventes mixtos juegan un papel fundamental en la interpretación de los posibles cambios estructurales que pueden ocurrir en solución. Los trabajos realiza-

dos, hasta el momento muestran que en agua el volumen molar aparente de los aminoácidos varía linealmente con la concentración cuando ésta es superior a 0.05 molal (6-12). Por otra parte la información sobre los volúmenes molares aparentes y parciales de aminoácidos en el solvente mixto urea-agua es escasa y sólo hay datos para soluciones acuosas de urea de concentración 3 molar o superior (13-15).

En este trabajo se presentan los volúmenes molares aparentes a 25.0 °C de glicina, dl-alanina, dl-valina, l-leucina, dl-norvalina, y dl-norleucina en soluciones acuosas de urea 0.5 y 2.0 molar. Los datos se utilizan para calcular los respectivos volúmenes molares parciales límites \bar{V}° y los volúmenes de transferencia al pasar de agua a las respectivas soluciones acuosas de urea. Con estos resultados y la información reportada en la literatura se discute el efecto de la urea en el comportamiento de las soluciones acuosas de aminoácidos.

MATERIALES Y METODOS

Los aminoácidos empleados fueron glicina (Merck), dl-alanina (Merck), dl-valina (Sigma), l-leucina (Merck), dl-norvalina (Sigma), y dl-norleucina (Sigma). Tanto la urea (Merck) como los aminoácidos fueron secados a temperatura ambiente sobre cloruro de calcio por un período de tiempo superior a 48 horas antes de ser utilizados.

Las soluciones fueron preparadas por pesada y se usó agua purificada por doble destilación y desionización, de acuerdo con los procedimientos recomendados en la literatura (16). Como solventes se emplearon soluciones acuosas de urea 0.5 y 2.0M y con ellas se prepararon soluciones de aminoácidos de concentración variable entre 0.05 molal y un límite superior impuesto por la solubilidad de cada soluto.

La densidad de cada solución incluyendo soluciones 0.5 y 2.0M de urea fue medida por triplicado (17,18) usando picnómetros de cuello capilar similares a los descritos por Wood y Brusie y de capacidad cercana a 50 cm³ cuyo volumen se determinó por calibración con agua. Los picnómetros se colocaron en un termostato controlado a $\pm 0.005^{\circ}$ y a una temperatura de 25.0°C que fue leída en un termómetro Parr de $\pm 0.02^{\circ}$ F de precisión, con certificación NBS (actualmente National Institute of Standards and Technology, NIST) que posteriormente fue revisada en el Centro de Metrología de la Superintendencia de Industria y Comercio (Bogotá-Colombia).

Todas las pesadas se hicieron en una balanza Mettler H-34 calibrada con pesas certificadas por el N.B.S., y con una incertidumbre de ± 0.00005 g. Posteriormente fueron corregidas a fin de tener en cuenta el efecto de empuje del aire y obtener los correspondientes pesos en el vacío. Con estos datos y con la densidad reportada en la literatura para el agua (0.997047 g·cm⁻³), se calculó la densidad de las soluciones obteniéndose una desviación máxima de ± 0.00005 g cm⁻³.

RESULTADOS Y DISCUSION

El volumen molar aparente ϕ_v de los aminoácidos se calculó usando la siguiente ecuación general:

$$\phi_v = \frac{M_s}{d} + \frac{(d_o - d)1000}{m d d_o} \quad (1)$$

En ella M_s representa el peso molecular del soluto, m la molalidad de la solución que tiene una densidad d correspondiente al promedio de las determinaciones efectuadas y d_o la densidad del solvente. Puesto que en este trabajo se utilizan solventes mixtos (urea-agua) se midió su densidad a 25.0° obteniéndose un valor promedio de 1.00502 g cm⁻³ para la solución de urea 0.5M y de 1.02854 g cm⁻³ para la solución de urea 2.0M.

La figura 1., muestra el comportamiento del volumen molar aparente de los aminoácidos en solución acuosa de urea y permite apreciar su dependencia con la molalidad en el rango de concentraciones anotado.

En el caso de la glicina, los datos correspondientes a la región de concentración inferior a 0.08 m muestran un cambio en la tendencia lineal observada a concentraciones superiores. Este mismo efecto aparece en los demás aminoácidos a concentraciones menores que 0.05 molal pero no se reporta debido al incremento de la incertidumbre en la densidad al aumentar la dilución (17-18). Se espera comprobar los resultados obtenidos en la región diluida por un método más preciso que el pnométrico para establecer claramente el comportamiento en la región muy diluida.

Teniendo en cuenta la observación anterior, los resultados obtenidos para cada aminoácido fueron ajustados por mínimos cuadrados a la ecuación (9,10).

$$\phi_v = \phi^* + S_v m \quad (2)$$

A partir de ella se determinó por extrapolación a molalidad cero, el volumen molar aparente límite ϕ^* que corresponde al volumen molar parcial límite \bar{V}^* y la pendiente experimental S_v . Estos valores aparecen en la tabla 1 y se incluye además el \bar{V}^* reportado en la literatura para los aminoácidos en agua.

Tanto el volumen molar parcial límite como la pendiente S_v , que representa el cambio en el volumen molar con la molalidad a temperatura y presión constantes, dependen de la naturaleza del aminoácido y de la concentración de urea en el solvente acuoso.

En cada solvente (agua o solución acuosa de urea), el volumen \bar{V}° aumenta con el peso molecular del aminoácido. Usando los esquemas de aditividad propuestos para solutos mixtos se encuentra que el volumen molar parcial límite \bar{V}° varía linealmente con el número de átomos de carbono de la cadena del aminoácido como se muestra en la figura 2 (2, 3, 5, 9). La gráfica de los volúmenes en agua se construyó con los datos de literatura que se reportan en la tabla 1.

Se observa además, que el volumen molar parcial límite de cada aminoácido es mayor a medida que aumenta la concentración de urea. Este efecto se cuantificó determinando los volúmenes de transferencia $V_{tr}^\circ = V_u^\circ - V_A^\circ$ asociados a la transferencia del aminoácido entre agua (A) y la solución acuosa de urea (U) de concentración C_u .

Los resultados, que aparecen en la tabla 2, así como la información gráfica muestran que en todos los casos los volúmenes de transferencia son positivos. Aunque en el caso de la glicina, la incertidumbre es mayor que el ΔV_{tr}° obtenido, el dato sigue la tendencia general observada por lo cual se incluye en la tabla.

Este aumento en el volumen molar parcial límite de los aminoácidos al pasar de agua a soluciones acuosas de urea puede ser explicado si la urea ejerce un efecto disruptor sobre la estructura del agua, cuya consecuencia sería un debilitamiento de la interacción entre los residuos apolares de los aminoácidos y las moléculas de agua (1-3, 5, 19). Este comportamiento de los aminoácidos se observa también en soluciones acuosas de urea de mayor concentración (13-15) y en soluciones acuosas de sales como NaCl, KCl (20) y cloruro de guanidinio (2,1) todas ellas consideradas como sustancias disruptoras de la estructura del agua.

Para efectos de comparación, se calcularon los ΔV_{tr}° para la transferencia de aminoácidos a soluciones acuosas de urea 7.0 y 8.0 M con base en los volúmenes molares parciales límites reportados por Jolicoeur (9).

No se aprecia una influencia definida de la longitud de la cadena apolar sobre la magnitud del ΔV_{tr}° tanto en los sistemas considerados en este trabajo, como en sistemas similares en que se analiza la transferencia de aminoácidos entre agua y soluciones concentradas de urea. Se espera que un estudio detallado de las propiedades volumétricas de soluciones acuosas de aminoácidos, en un rango de concentración inferior a 0.05 m, permita obtener la información necesaria para aclarar este punto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CINDEC (U.N) y a Colciencias la ayuda financiera para ejecutar este trabajo.

Tabla 1. Volumen Molar Parcial Límite \bar{V}° de Aminoácidos en Agua en Soluciones Acuosas de Urea a 25.0 °C*

Aminoácido	Agua	Urea 0.5 M	Urea 2.0 M
	\bar{V}° ($\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$)	\bar{V}° ($\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$)	\bar{V}° ($\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$)
	S_v ($\text{cm}^3\text{mol}^{-2}\text{kg}$)	S_v ($\text{cm}^3\text{mol}^{-2}\text{kg}$)	S_v ($\text{cm}^3\text{mol}^{-2}\text{kg}$)
Glicina(Gly)	43.19±0.02 (6,7)	43.25±0.14	46.46±0.14
dl-Alanina(Ala)	60.50±0.02 (6)	60.92±0.15	63.68±0.50
dl-Valina(Val)	90.79±0.01 (9)	91.11±0.16	92.82±0.44
dl-Norvalina(Nval)	91.70±0.02 (7)	93.04±0.08	93.28±0.18
l-Leucina(Leu)	107.74±0.05 (6)	110.34±0.32	111.25±0.62
dl-Norleucina(Nleu)	107.93±0.05 (7)	109.34±0.04	113.85±0.18

*El conjunto de datos de densidad y volumen molar aparente puede ser solicitado directamente a los autores.

Tabla 2. Volumen de Transferencia de Aminoácidos entre Agua y Soluciones Acuosas de Urea a 25.0°C

C_u (mol·l ⁻¹)	$\Delta\bar{V}_{tr}^{\circ}$ (cm ³ ·mol ⁻¹)					
	Gly	dl-Ala	dl-Val	N-val	I-Leu	N-leu
0,5	0.06±0.16	0.42±0.17	0.32±0.17	1.34±0.10	2.60±0.37	1.41±0.09
2.0	3.27±0.16	3.18±0.52	2.03±0.45	1.58±0.20	3.51±0.67	5.92±0.23
7.0 (9)	3.33	2.90	2.87	-	3.24	-
8.0 (9)	4.14	3.70	3.29	-	3.26	-

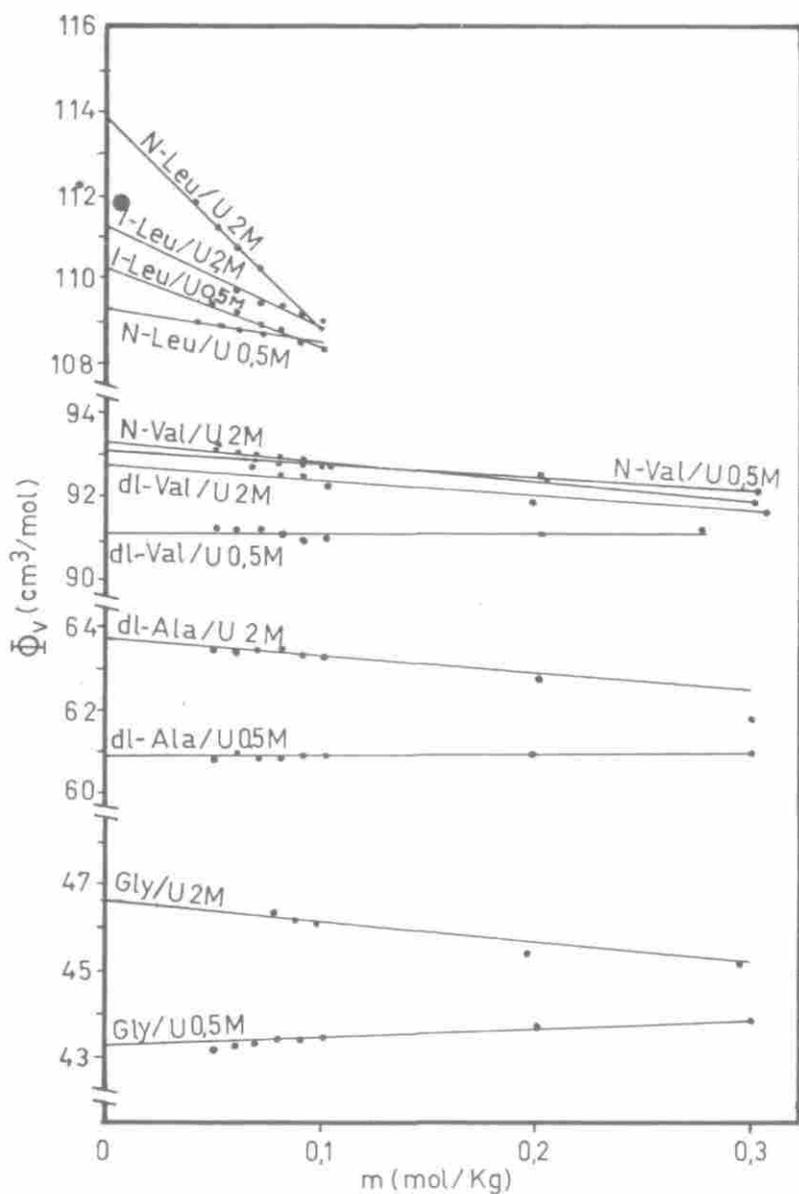


Figura 1
 VOLUMEN MOLAR APARENTE DE AMINOACIDOS
 EN SOLUCIONES ACUOSAS DE UREA A 25.0 °C

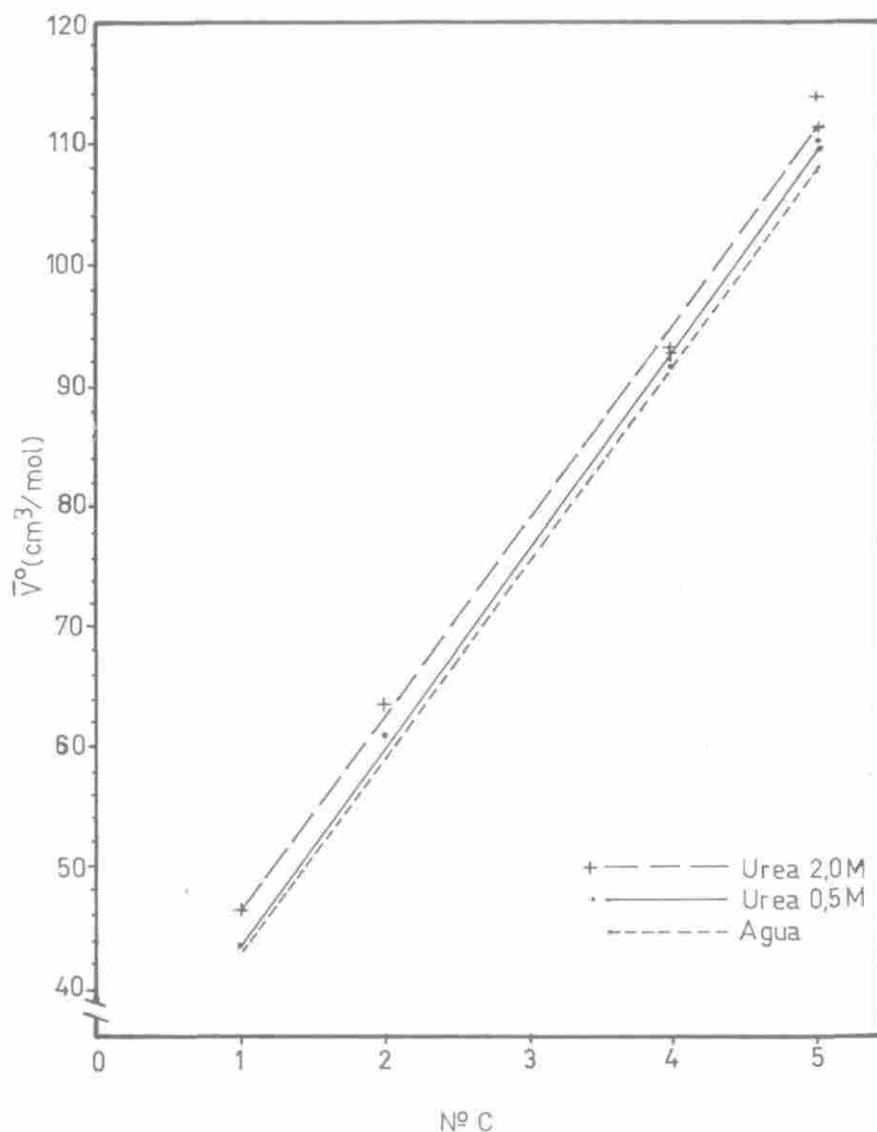


Figura 2
 VOLUMEN MOLAR PARCIAL LIMITE DE AMINOACIDOS EN AGUA
 Y EN SOLUCIONES ACUOSAS DE UREA A 25.0 °C

BIBLIOGRAFIA

1. Franks, F.; Ed., Water., *A Comprehensive Treatise*, Vol. I - III, Plenum Press., New York, 1978.
2. Lilley, T. H., *The Chemistry and Biochemistry of Aminoacids*, Barret G. C. Ed., Chapman Hall - Metthuen, London, 1985.
3. Lilley, T. H., *Water and Aqueus Solutions*, Neilson G.W. y Enderby J. E. Eds., Adam Hilger, Bristol, 1986.
4. Wetlaufer, D. B. *The protein Folding Problem*, A. A. A. S. Selected Symposia Series, Westview Press Inc. Colorado, 1984.
5. Tanford, C., *The Hydrophobic Effect*, Willey Interscience, New York, 1980.
6. Millero, F.J.; Lo Surdo, A.; Shin, C., *J. Phys Chem.* 1978, 82, 784.
7. Mishra, A. K.; Ahluwalia, J. C., *J. Phys Chem.* 1984, 88, 86.
8. Bhat, R.; Ahluwalia, J. C., *J. Phys Chem.* 1985, 89, 1099.
9. Jolicoeur, C; Riedl, B.; Desrochers, D.; Lemelin, L.; Zamojska, R.; Enea, O., *J. Solution Chem.* 1986, 15, 109.
10. Reading, J. F.; Carlisle, P. A.; Hedwing, G. R.; Watson, I. D., *J. Solution Chem.* 1989, 18, 131.
11. Kharakoz, D. P., *Biophys Chem.* 1989, 34, 115.
12. Abrosimov, B. K., *Izv. Akad, Naauk, S. S. S. R. Ser Khim*, 1989, 6, 1256.
13. Mishra, A. K.; Prasad, K. P.; Ahluwalia, A., *Biopolymers*, 1983, 22, 2397.
14. Hargraves, W. A.; Kresheck, G. C., *J. Phys Chem.* 1969, 73, 32 y 9.
15. Enea, O.; Jolicoeur, C., *J. Phys. Chem.* 1982, 86, 3870.
16. Weissberger, A., *Techniques of Chemistry*, Vol I, Parte 4, Wiley Interscience, New York, 1972.
17. Munar, R. E., Tesis de Grado. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1988.

18. Rojas, J. E., Tesis de Grado. Universidad Nacional de Colombia, 1991.
19. Ben Naim, A., *Hydrophobic Interactions*, Plenum Press, New York. 1975.
20. Ogawa, T.; Mizutani, K; Yasuda M., *Bull Chem Soc. Jpn.* 1984, 57, 2064.
21. Belibagli, K. B.; Ayranci, E., *J. Solution Chem.* 1990, 19, 867.