

Bazı α -Amino Asitlerin Etil- ve Metil- Esterlerinin Protonasyon Sabitlerinin Su Ortamında Potansiyometrik Yöntemle Tayini

Determination of Protonation Constants of Some Ethyl- and Methyl- Esters of α -Amino Acids in Water by Potentiometric Method

Alev DOĞAN*

*G.Ü., Gazi Eğitim Fakültesi, Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümü, Kimya Eğitimi Anabilim Dalı, Teknikokullar/Ankara

ÖZET

Bu çalışmada, glisin, L-alanin, L-valin, L-lösin, L-fenilalanin, L-serin ve L-metioninin etil ve metil esterlerinin protonasyon sabitleri su ortamında potansiyometrik titrasyon yöntemi ile tayin edilmiştir. Titrasyonlar 25 °C' ta, azot atmosferinde ve 0,1 M NaCl'lü ortamda yapılmıştır. Potansiyometrik titrasyon verilerinden yararlanarak PKAS bilgisayar programı ile stokiyometrik protonasyon sabitleri hesaplanmış ve amino asit esterlerinin bazikliği yönünden tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Amino asit esteri, protonasyon sabiti, potansiyometrik yöntem

ABSTRACT

In this study, the protonation constants of ethyl- and methyl- esters of glycine, L-alanine, L-valine, L-leucine, L-phenylalanine, L-serine, L-methionine were determined by potentiometric titration method in water. The titrations were performed at 25 °C, in nitrogen atmosphere and during the titrations ionic strength of the medium was maintained at 0.1M by using sodium chloride. The data of potentiometric titration were evaluated by PKAS computer programme and effects of alkyl group on the basicity of α -amino acid esters are discussed.

Key Words: α -Amino acid esters, protonation constant, potentiometric method

GİRİŞ

Bilindiği gibi, pek çok reaksiyonların asit-baz dengelerine dayanmaktadır. Bu dengelerin açıklanabilmesi için, reaksiyona giren maddelerin iyonlaşma sabitlerinin veya protonasyon sabitlerinin bilinmesi gerekmektedir.

Amino asitler, canlı organizmasında peptitlerin, proteinlerin ve enzimlerin yapı taşları olduğundan, çeşitli kimyasal madde grupları arasında özel bir öneme sahiptir ve biyolojik sistemlerdeki çeşitli olayların aydınlatılabilmesi için de amino asitlerin ve onların türevlerinin protonasyon sabitlerinin bilinmesi gereği açıktır. Protonasyon sabitlerinin bilinmesi sadece biyolojik yönden değil organik, fizikokimya ve özellikle analitik kimya yönünden de oldukça önem taşımaktadır.

Protonasyon sabitlerinin tayin edilmesinin sebeplerini kısaca şöyle özetlemek mümkündür:

Protonasyon sabiti, bir maddenin herhangi bir pH'da oluşan farklı iyonik türlerin kesri ile ilgili bir sabit olduğundan, bu sabit kullanılarak herhangi bir pH değeri için iyonlaşma yüzdesi hesaplanabilir. Genellikle farklı iyonik türler farklı UV spektrumuna sahiptir ve ancak tek bir iyonik türün mevcut olduğu uygun pH seçildiğinde spektrofotometrik tayin yapılabilir. Bu pH'nın seçilmesi için protonasyon sabitinin bilinmesi gerektiği açıktır. Protonasyon sabitleri, yeni izole edilmiş maddelerin yapılarının bulunmasında yardımcı olabilir. Bu amaçla, deneysel pK_a değerinin, önerilen yapı için teorik pK_a değerine uyup uymadığına bakılır. Eğer uyuyorsa önerilen yapıya önemli destek var demektir. Analitik kimyada pK_a değerleri poliprotik asit veya bazların asit-baz titrasyon eğrilerinin yorumlanmasında da kullanılabilir. pK_a değerlerinin bilinmesi metal-kompleks dengesi yönünden de önemlidir. Protonlanmış ve protonlanmamış ligandlar metallerle bağlanabilir ve bu tipteki metal kompleksleri, metal ve ligandların kalitatif ve kantitatif tayini için kolaylık sağlar.

DENEYSEL KISIM

Bu çalışmada, glisin etil ester, glisin metil ester; alanin etil ester, alanin metil ester, valin etil ester, valin metil ester, lösin etil ester, lösin metil ester, fenilalanin etil ester, fenilalanin metil ester, serin etil ester, serin metil ester, metionin etil ester ve metionin

metil esterlerinin protonasyon sabitleri su ortamında potansiyometrik titrasyon yöntemi ile tayin edilmiştir. Titrasyonlar, HAAKE DC3 su banyosu kullanılarak 25°C'ta, azot atmosferinde ve 0,1 M NaCl' lü ortamda yapılmıştır. Sabitlerin, stokiyometrik protonasyon sabitleri olabilmesi için potansiyometrik titrasyon hücresi tayinlerden önce hidrojen iyonu aktivitesi yerine derişimini ölçecek şekilde kalibre edilmiştir. Deneylerde titrant olarak kullanılan NaOH çözeltileri her bir ortamda 0,1 M NaCl' lü olacak şekilde hazırlanmış ve Gran yöntemi ile dönüm noktası belirlenerek ayarlanmıştır (Gran, G., 1950., Gran, G., 1952).

Çalışmada kullanılan amino asit ester hidroklorürleri Sigma firmasından temin edilmiş ve Çizelge 1'de verilmiştir. Bu maddelerden doğrudan 0,03 M'lık çözeltiler hazırlanarak kullanılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında ve titrasyonlarda deiyonize su kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada Kullanılan α -Amino Asit Esterleri

α -Amino Asit Esteri	Firma	Saflik Derecesi, %
Glisin etil ester	Sigma	99
Glisin metil ester	Sigma	99
L-Alanin etil ester	Sigma	99
L-Alanin metil ester	Sigma	99
L-Valin etil ester	Sigma	99
L-Valin metil ester	Sigma	99
L-Lösin etil ester	Sigma	99
L-Lösin metil ester	Sigma	99
L-Fenilalanin etil ester	Sigma	99
L-Fenilalanin metil ester	Sigma	99
L-Serin etil ester	Sigma	98
L-Serin metil ester	Sigma	98
L-Metionin etil ester	Sigma	99
L-Metionin metil ester	Sigma	99

Kullanılan Cihaz

Potansiyometrik titrasyonlar, inert atmosferde ve sabit sıcaklıkta çalışmaya uygun cam reaksiyon kabında yapıldı. Hücrenin elektromotor kuvveti (emk) ORION 720 A model pH-iyonmetre yardımıyla ölçüldü. Ölçümlerde elektrot olarak referans kısmı Ag/AgCl olan Ingold marka (104023311) kombine cam pH elektrodu kullanıldı. Sıvı temas

potansiyelini minimuma indirmek için, elektrodun referans kısmının dolgu çözeltisi olan gümüş klorürce doygun potasyum klorür çözeltisi boşaltılarak yerine gümüş klorürce doygun 0,1 M NaCl çözeltisi dolduruldu. Elektrot kullanılmadığı zaman suda saklandı.

Kullanılan Hücrenin Kalibrasyonu

Stokiyometrik protonasyon sabitlerinin tayininde kullanılan potansiyometrik titrasyon hücresi, kombine pH elektrodu hidrojen iyonu aktivitesi yerine hidrojen iyonu konsantrasyonunu ölçecek şekilde kalibre edildi. Çalışmada kullanılan deney çözeltisinin iyonik şiddeti sabit tutulduğundan, hücre potansiyeli ($E_{\text{hücre}}$) şu şekilde yazılabilir.

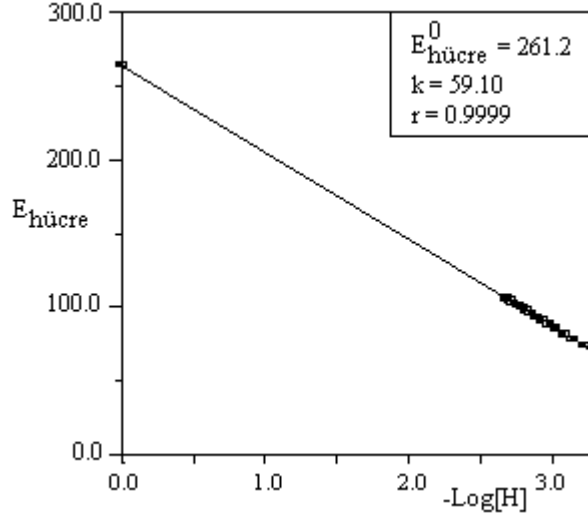
$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{hücre}}^{\circ} + E_j + k \log [H] \quad (1)$$

Burada $E_{\text{hücre}}^{\circ}$ hidrojen iyonu derişimine bağılı olmayan fakat elektrodun dolgu çözeltisindeki klorür iyonu aktivitesine ve deney çözeltisindeki hidrojen iyonlarının aktivite katsayısına bağılı bir büyüklüğü gösterir (Kratz, L., 1950). Deney çözeltisinin iyonik şiddeti sodyum klorürle hemen hemen sabit tutulduğundan, hidrojen iyonu aktivite katsayısı sabit kabul edilebilir. E_j , deney çözeltisiyle elektrodun dolgu çözeltisinin temas ettiği yerde ortaya çıkan sıvı-temas potansiyelidir. Elektrodun kalibrasyon eğimi olarak adlandırılan k sabiti, Nernst faktörüdür. $[H]$ ise, çözeltideki serbest hidrojen iyonu derişimini gösterir.

Kalibrasyon sabitleri $E_{\text{hücre}}^{\circ}$ ve k , çalışılan her bir ortam için $2,0 \times 10^{-3}$ M hidroklorik asit çözeltisinin 0,1000 M sodyum hidroksit çözeltisiyle titrasyonu sonucunda tayin edildi. Titrasyonlarda elde edilen potansiyel değerleri ($E_{\text{hücre}}$) kalibrasyon için kullanıldı. Burada $\text{pH} = -\log[H]$ ve bu $\text{p}[H]$ bölgesinde E_j değeri sabit kabul edildi (May, P., Williams, D.R and Torrington, R.G., 1982). $\log[H]$ değerlerine karşı $E_{\text{hücre}}$ grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun $E_{\text{hücre}}$ eksenini kestiği yerden $E_{\text{hücre}}^{\circ}$ ($=E_{\text{hücre}}^{\circ} + E_j$) eğiminden ise k değerleri bulundu (Şekil 1).

En küçük kareler metodu ile tayin edilen $E_{\text{hücre}}^{\circ}$ ve k 'dan yararlanılarak stokiyometrik protonasyon sabitlerinin tayininde titrasyonlar sırasında her bir titrant ilavesinden sonra ölçülen $E_{\text{hücre}}$ lere karşı gelen hidrojen iyonu derişimi Eşitlik 2'den hesaplandı:

$$\text{Log}[H] = (E_{\text{hücre}} - E_{\text{hücre}}^0) / k \quad (2)$$



Şekil 1. Su Ortamında Kalibrasyon Sabitleri $E_{\text{hücre}}^0$ ve k 'nin Bulunması

Dönüm Noktası Tayini

Bu çalışmada titrant olarak kullanılan sodyum hidroksit çözeltisi herbir ortam için ayrı ayrı hazırlanmış ve ayarlı hidroklorik asit çözeltisi ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Potansiyometrik titrasyonların herbirinde dönüm noktası Gran yöntemi ile bulunmuştur. Gran yöntemi kısaca aşağıda anlatılmıştır.

Potansiyometrik titrasyon verilerinin doğrusallaştırılmasında kullanılan başlıca metot Gran yöntemidir (Gran, G., 1952). Bu yöntem titrimetrik verilere uygulanırken iki fonksiyon türetilir; bunlardan biri eşdeğerlik noktasından önce diğeri eşdeğerlik noktasından sonra elde edilen verilerle ilgilidir. Herbir \emptyset fonksiyonu titrant hacmi v' ye doğrusal olarak bağlıdır ve bu fonksiyonların her ikisi de eşdeğerlik noktasında sıfır olur. Böylece bu noktaya ulaşmak için gerekli hacim fonksiyonlarından elde edilen doğruların herhangi birinin veya her ikisinin hacimlerinin geçirildiği yatay eksen kestiği noktadan bulunabilir. Gran tarafından türetilen \emptyset fonksiyonları titrant-titre edilen sistemin durumuna bağlı olarak değişmektedir (Serjeant, E.P., 1984, Rosotti,

I.J.C and Rosotti, H.,1965). Burada bizim kullandığımız kuvvetli asit-kuvvetli baz sistemi için Gran fonksiyonları üzerinde duracağız .

Hidrojen iyonlarına tersinir olan elektrotla kombine referans elektrot bulunduran bir hücrede başlangıç derişimi H_i olan bir asidin V hacmi, derişimi B_i olan kuvvetli bazın v hacmi ile titre edilmiş olsun. Sırasıyla asidik ve bazik bölgelerde \emptyset ve \emptyset' gibi iki fonksiyonu şöyle tanımlayabiliriz :

$$\emptyset = (V + v)10^{\frac{EF}{2,303RT}} \quad (3)$$

$$\emptyset' = (V + v)10^{-\frac{EF}{2,303RT}} \quad (4)$$

Burada E hücrenin emk sı, F ise Faradaydır.

$10^{\frac{EF}{2,303RT}}$ büyüklüğü serbest hidrojen iyonu derişimi ile doğru orantılı olduğundan şu ifadeleri yazabiliriz :

$$\emptyset \propto (V + v)[H] \quad (5)$$

$$\emptyset' \propto (V + v)[OH] \quad (6)$$

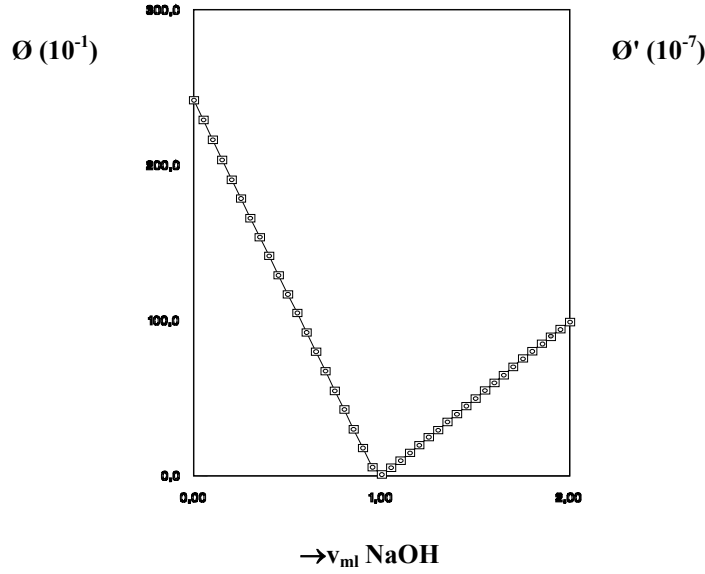
Dönüm noktasına ulaşılmadan önce ve sonra şu eşitlikler geçerlidir:

$$[H] = (H_i V - B_i v) / (V + v) \quad (7)$$

$$[OH] = (B_i v - H_i V) / (V + v) \quad (8)$$

Böylece \emptyset ve \emptyset' büyüklüklerinin her ikisi de v 'nin doğrusal fonksiyonlarıdır. v eşdeğerlik noktasında harcanan hacim olduğunda her ikisinde sıfır olur. Bu yüzden $\emptyset(v)$ ve $\emptyset'(v)$ eğrileri birbirini ve x eksenini eşdeğerlik noktasında kesmelidir. x ekseninin altındaki bir kesişme bazın karbonatla kirlendiğini gösterir. Böyle durumlarda $\emptyset'(v)$ eğrisi göz önüne alınmamalıdır ve eşdeğerlik noktası $\emptyset(v)$ ve x ekseninin kesişim noktasından elde edilmelidir. Gran yöntemi çabuk, uygun ve doğru bir metottur.

Çalışmamızda kullanılan su ortamında hazırlanan sodyum hidroksit çözeltilerinin ayarlanmasında elde edilen titrasyon verilerinden Gran fonksiyonları hesaplanarak Gran eğrileri çizilmiş ve Şekil 2’de buna bir örnek verilmiştir.



Şekil 2. Su ortamında titrant olarak kullanılan NaOH çözeltisi için elde edilen Gran Eğrisi

Protonasyon Sabitlerinin Tayini

Glisin etil ester, glisin metil ester, alanin etil ester, alanin metil ester, valin etil ester, valin metil ester, lösin etil ester, lösin metil ester, fenilalanin etil ester, fenilalanin metil ester, serin etil ester, serin metil ester, metionin etil ester ve metionin metil esterlerinin stokiometrik protonasyon sabitlerini tayin etmek için aşağıda bileşimi verilen çözeltiler, ilgili çözücü karışımında hazırlanmış karbonatsız ayarlı NaOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyon hücresinde 25°C’ta ve azot atmosferinde titre edildi. Ortamın iyonik şiddeti sodyum klorür ile 0,1 M olacak şekilde ayarlandı. Titrant olarak kullanılan ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi de 0,1 M sodyum klorürlü olacak şekilde hazırlandı.

Deney çözeltisinin bileşimi

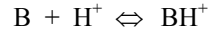
Amino asit esteri için analitik derişim	: $1,5 \times 10^{-3}$ M
Hidroklorik asitin analitik derişimi	: $3,5 \times 10^{-3}$ M
Toplam hacim	: 50,0 mL

Yukarıdaki şekilde hazırlanan 50,0 mL'lik deney çözeltisi ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilirken her 0,05 mL baz ilavesinden sonra hücre potansiyelleri ($E_{\text{hücre}}$), potansiyellerin kararlı hale geldiğinden emin olduktan sonra kaydedildi. $E_{\text{hücre}}$ potansiyeli ve su ortamı için bulunan kalibrasyon sabitleri ($E_{\text{hücre}}^0$ ve k) ve K_{su} kullanılarak amino asit esterleri için protonasyon sabitleri PKAS bilgisayar programı ile hesaplanmıştır (Motekaitis, R.J and Martell, A.E.,1982, Martell, A.E and Motekaitis, R.J., 1988).

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Amino asit esterlerinin protonasyon sabitlerinin hesaplanmasında Martell ve Motekaitis tarafından geliştirilen PKAS bilgisayar programı kullanılmış ve sonuçlar ile ilgili tartışma aşağıda yapılmıştır:

Çalışmamızda bulunan ve Çizelge 2 de verilen amino asit esterlerinin protonasyon sabitleri;



denmesine aittir. Bir bileşiğin bazikliğine dolayısı ile protonasyon sabitine etki eden faktörlerin belki de en önemlisi yapı etkisidir. Çizelge 2'de verilen amino asit esterlerinin protonasyon sabitleri incelendiğinde; amino asitlerin etil esterlerinin metil esterlerine göre daha büyük protonasyon sabiti değerine sahip olduğu görülür. Alkil grupları elektron salıcı gruplar olduğundan, amino asit etil esterlerinde etil grubu, amino asitlerin metil esterlerindeki metil grubuna göre indüktif olarak yapıya daha fazla elektron sağladığından yapıdaki azot atomunun elektron yoğunluğunu arttırır. Bu nedenle amino asitlerin etil esterlerinin protonasyon sabitinin metil esterlerine göre daha büyük olması beklenen bir durumdur.

Fenilalanin, serin ve metioninin etil ve metil esterlerinin protonasyon sabiti değerlerinin diğer amino asit esterlerinin protonasyon sabiti değerlerinden daha küçük olmasının sebebinin de; fenilalanin, serin ve metioninindeki sırasıyla –fenil, –OH ve –SH gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda bulunan amino asit esterlerinin protonasyon sabitleri ile ilgili sonuçlar literatürde yayınlanmış sınırlı sayıdaki çalışmalarla karşılaştırıldığında bu sonuçların literatür sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür (Edsall, J.T. and Blanchard M.H., 1933, Hughes, D.L., Bergan, J. and Grabowski, E.J., 1986.)

Çizelge 2. α -Amino Asit Esterlerinin Stokiyometrik Protonasyon Sabitleri ($\mu=0,1M NaCl, 25^{\circ}C$)

α -Amino Asit Esterleri	Log K
Glisin etil ester	7,90±0,01
Glisin metil ester	7,67±0,01
L-Alanin etil ester	7,85±0,01
L-Alanin metil ester	7,75±0,01
L-Valin etil ester	7,65±0,01
L-Valin metil ester	7,55±0,01
L-Lösin etil ester	7,75±0,01
L-Lösin metil ester	7,65±0,01
L-Fenilalanin etil ester	7,15±0,01
L-Fenilalanin metil ester	7,11±0,01
L-Serin etil ester	7,24±0,01
L-Serin metil ester	7,10±0,01
L-Metionin etil ester	7,28±0,01
L-Metionin metil ester	7,15±0,01

Ayrıca amino asit esterlerinin protonasyon sabitleri, amino asit esterlerinin davranışları ile onların türedikleri amino asitlerin yüksüz formlarının davranışları arasındaki benzerliklerden yararlanılarak, α -amino asitlerin mikroskopik protonasyon sabitlerinin hesaplanmasında kullanılacak önemli verilerdir.

KAYNAKLAR

- Edsall, J.T. and Blanchard M.H., **J.Am. Chem. Soc.**,59, 2337, 1933.
Gran, G., **Acta.Chem.Scand.**, 4, 559, 1950.
Gran, G.,**Analyst**, 77, 661, 1952.
Hughes, D.L., Bergan, J. And Grabowski, E.J., **J.Org.Chem.**, 51, 2579, 1986.
Kratz, L., Die Glasselectrode and ihre anwen dungen verlag von D. Steinkoff.
Frankfurt, 1950
Martell, A.E and Motekaitis, R.J., The determination and use of stability constants,
VCH, Weinheim, 1988.
May, P., Williams, D.R and Torrinton, R.G., **Talanta**, 29, 249, 1982
Motekaitis, R.J and Martell, A.E., **Can. J. Chem.** 168, 1982
Rosotti, I.J.C and Rosotti, H., **J. Chem. Educ.**, 42, 375, 1965.
Serjeant, E.P., 1984, Potentiometry and potentiometric titrations, John Wiley and Sons
New York.