

IL PH DELLE SOLUZIONI TAMPONE E BIOCHIMICA

COSA SONO I TAMPONI?

Si definiscono TAMPONI le soluzioni costituite da:

a) UN ACIDO DEBOLE IN PRESENZA DI UN SUO SALE

ESEMPIO: ACIDO ACETICO ED ACETATO DI SODIO ($\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$)

NEL PLASMA DEL SANGUE IL TAMPONE FONDAMENTALE E' COSTITUITO DA H_2CO_3 E HCO_3^- (ACIDO CARBONICO E BICARBONATO)

ALL'INTERNO DELLA CELLULA IL TAMPONE E' COSTITUITO DALL' ACIDO H_2PO_4^- ED IL SUO SALE

HPO_4^{2-}

b) UNA BASE DEBOLE ED UN SUO SALE

ESEMPIO IDROSSIDO DI AMMONIO E CLORURO DI AMMONIO ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$)

CHE FUNZIONE HANNO I TAMPONI?

essi vengono usati per tamponare (bloccare) il PH di una soluzione quando viene aggiunto dall'esterno UN ACIDO O UNA BASE ANCHE SE FORTI. Il PH, per la presenza del tampone, non varierà in modo sensibile nonostante l'aggiunta.

Per esempio, se abbiamo una soluzione con PH ? 5 e dobbiamo aggiungere HCl, se la soluzione NON viene tamponata ovviamente l'aggiunta di HCl farà variare sensibilmente il PH. Tuttavia, se alla soluzione a PH=5 aggiungiamo un tampone, questo blocca il PH in modo che non si discosti sensibilmente dal valore di PH= 5.

Il tipo di tampone da utilizzare varia a seconda del valore di PH che deve essere tamponato (vedremo in seguito come si sceglie il tampone).

Facciamo un esempio

Consideriamo il tampone costituito da CH_3COOH a concentrazione C_a e CH_3COONa sale a concentrazione C_s

Sappiamo che l'acido acetico si dissocia



la costante di equilibrio K_a è :

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = 1,8 \times 10^{-5}$$

ciò significa che l'acido acetico è poco dissociato cioè $[\text{CH}_3\text{COO}^-]$ è piccola.

Se però aggiungiamo CH_3COONa con una concentrazione C_s , si formerà



PRATICAMENTE NELLA SOLUZIONE LA $[\text{CH}_3\text{COO}^-]$ E' SOPRATTUTTO QUELLA DEL SALE AGGIUNTO IN QUANTO QUELLA DERIVANTE DALL'ACIDO ACETICO E' COSI' PICCOLA SE CONFRONTATA CON QUELLA PROVENIENTE DAL SALE CHE LA POSSIAMO CONSIDERARE TRASCURABILE.

Pertanto, se si sostituiscono i valori nell'espressione della costante di equilibrio si ha:

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = C_a$$

$$[\text{CH}_3\text{COO}^-] = C_s$$

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][C_s]}{C_a} \quad \text{Da cui} \quad [\text{H}_3\text{O}^+] = \frac{K_a C_a}{C_s} \quad \text{PH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] = -\log K_a - \log C_a + \log C_s \quad \text{cioè}$$

$$\text{PH} = \text{PK}_a - \log C_a / C_s$$

nota come **equazione di Henderson - Hasselbalch** .

Facciamo un esempio

abbiamo 1 litro di **CH_3COOH 1 M** se aggiungiamo **41 gr di CH_3COONa** ($\text{PM} = 82,035$) e se non cambia il volume, quale sarà il PH? ($\text{PK}_a = -\log 1,8 \times 10^{-5} = 4,75$)

risposta

41 gr di CH_3COONa corrispondono a $41 / 82,035 = 0,4998$ moli e siccome sono aggiunte ad 1 litro, la $C_s = 0,4998$ M

pertanto

$$PH = 4,75 - \log \frac{1M}{0,4998 M} = 4,45$$

Come si può osservare, il PH a cui lavora il tampone è molto vicino al valore di PKa.

Nota: in generale il PH di lavoro del tampone, se le concentrazioni di acido e di sale sono uguali, è sempre vicino al PKa.

Esempio pratico su come lavora il tampone

sappiamo che nella formula

$$PH = PKa - \log \frac{Ca}{Cs}$$

il rapporto Ca/Cs cioè tra la concentrazione dell'acido e quella del sale Cs non è altro che il rapporto tra moli cioè

$$Ca/Cs = \text{moli di a} / \text{volume} / \text{moli di b} / \text{Volume}$$

cioè **Ca/Cs = moli di a / Moli di b**

supponiamo di aggiungere alla soluzione tampone n_x moli di HCl,

CH₃COO⁻ in soluzione reagirà con H⁺ dell'acido aggiunto formando CH₃COOH per cui le moli di CH₃COOH saranno date dalla somma tra **na moli dell'acido acetico del tampone + n_x moli provenienti dall'acido aggiunto** mentre ovviamente **diminuiscono le moli di CH₃COO⁻**

pertanto **PH = PKa - log $\frac{na+n_x}{n_{sale}-n_x}$**

se si aggiunge una base forte si avrà

$$PH = PKa - \log \frac{na-n_{OH}}{n_{Sale}+n_{OH}}$$

dove **nOH** sono le moli di **NaOH** aggiunte.

Esercizio 1

calcola come varia il PH di 1 litro di CH₃COOH 1 M contenente 41 g di CH₃COONa a cui vengono aggiunti 100 ml di NaOH 1M (PKa Acidi acetico= 4,75)

soluzione

moli di acido = 1,0

moli di sale iniziali= $41/82,035 \times 1000 = 0,4998$ moli

quando aggiungiamo NaOH aggiungiamo

nOH = moli OH = volume in litri x concentrazione=

= 0,1 litri x 1,0 M= 0,1 moli

sostituendo nella

$$PH = PKa - \log \frac{n_{a-nOH}}{n_{Sale} + nOH}$$

avremo

PH= $4,75 - \log(1-0,1) / 0,4998 + 0,1 = 4,75 - \log 0,90 / 0,60$

PH= $4,75 - 0,176 = 4,57$

come si vede il PH che prima dell'aggiunta era stato calcolato 4,45 adesso diviene 4,57 cioè la differenza di PH ovvero ?PH= 4,57-4,45 =0,12 cioè varia pochissimo per aggiunta di 100 ml NaOH per 1000 ml di Soluzione

Esercizio 2

calcolare il PH della soluzione dell'esercizio 1 dopo aggiunta di 100 ml di HCl 1 M.PKa=4,75

Nel caso dell'aggiunta di un acido, lo ione CH_3COO^- presente nella soluzione reagisce con H^+ che proviene da HCl formando CH_3COOH ciò determina l'aumento delle moli dell'acido CH_3COOH nella soluzione ed ovviamente la diminuzione delle moli di CH_3COO^- che si trasformano in CH_3COOH .

Sappiamo che $Ka = [H_3O^+] [CH_3COO^-] / [CH_3COOH] = 1,8 \times 10^{-5}$??

e che le moli di CH_3COOH sono le moli presenti inizialmente + quelle che si formano dopo aggiunta delle moli di H^+ mentre le moli di CH_3COO^- sono quelle presenti inizialmente - quelle che reagiscono con le moli di H^+

PH= $-\lg [H_3O^+] = -\lg Ka - \log \frac{\text{moli acido}}{\text{moli sale}}$

Abbiamo visto che le moli di acido sono quelle inizialmente presenti (in 1 litro 1 essendo la conc 1

M) **che si sommano a quelle che si formano per aggiunta di 100 ml di HCl 1M cioè 0,1 moli** quindi la concentrazione dell'acido **[CH₃COOH]** è **1+0,1**.

La concentrazione del sale che in 1 litro era 41 g / Pm = 41/ 82,035 x 1000 = 0,4998 Moli /litro diminuisce dopo aggiunta di 0,1 moli di HCl e diviene 0,4998- 0,1 . Pertanto

$$\text{PH} = \text{PKa} - \log (1,0 + 0,1) / (0,4998 - 0,1) = 4,75 - \log 1,1/0,3998 = 4,75 - 0,439 = 4,31$$

quindi come si vede la variazione rispetto al pH della soluzione iniziale che era 4,45 è veramente piccola

$$\text{?PH} = 4,31 - 4,45 = - 0,14$$

esercizio 3

supponiamo che l'acido acetico iniziale e la concentrazione del sale siano 1/4 di quelle fornite nei precedenti esercizi e cioè

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 1/4 = 0,250 \text{ moli/l} \quad \text{e} \quad [\text{CH}_3\text{COO}^-] = 0,4998 / 4 = 0,125 \text{ moli/l}$$

quale sarà in tal caso il PH se aggiungiamo come nell'esercizio precedente 100 ml di HCl 1 M?

soluzione

l'acido aggiunto in 1 litro è pari a $1 \times 100/1000 = 0,1$ moli quindi

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0,250 + 0,1 \text{ moli/l}$$

$$[\text{CH}_3\text{COO}^-] = 0,125 - 0,1 = 0,025 \text{ moli/l} \quad \text{pertanto}$$

$$\text{PH} = \text{PKa} - \log (0,250+0,1) / (0,125 - 0,1)$$

$$\text{PH} = 4,75 - \log 0,350 / 0,025 = 4,75 - 1,146 = 3,6$$

in questo caso la differenza non è piccolissima come nei casi precedenti,

?PH = 3,6 - 4,45 = -0,85 che è vicina ad 1 unità di PH .Tuttavia la soluzione mantiene ancora un certo potere tampone anche se l'acido ha neutralizzato i 4/5 (0,1) / 0,125 della base presente che proviene dal sale

esercizio 4

la coppia CH₃COOH e CH₃COONa ha le stesse concentrazioni degli esempi precedenti.
 Qual è il PH della soluzione risultante dall'aggiunta ad 1 litro della miscela dopo aggiunta di 120 ml di HCl 1 M ? PKa= 4,75

soluzione

le moli di acido aggiunte sono $120 \times 1 / 1000 = 0,120$ perciò

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0,250 + 0,12 \text{ moli/l}$$

$$[\text{CH}_3\text{COO}^-] = 0,125 - 0,12 = 0,025 \text{ moli/l} \quad \text{pertanto}$$

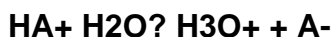
$$\text{PH} = \text{PKa} - \log (0,250+0,12) / (0,125 - 0,12) \quad \text{PH}=\text{PKa} - \log 0,370/0,005$$

$$\text{PH} = 4,75 - 1,87 = 2,88 \text{ a e la variazione di PH è } \text{PH} = 2,88 - 4,45 = - 1,57$$

questo è il limite della capacità tampone della soluzione essendo stato neutralizzato il 96% della base

C'è da chiedersi però se la formula che abbiamo ricavato sopra per il calcolo del PH di un tampone sia ancora valida nei casi in cui bisogna tamponare a valori estremi di PH (alti o bassi). La risposta a questo quesito è che bisogna utilizzare la formula più adeguata che prenda in considerazione sia H⁺ che OH⁻ dell'acqua.

sia infatti un generico acido debole HA che si dissocia in



$$K_a = [\text{H}_3\text{O}^+] [\text{A}^-] / [\text{HA}]$$

Se aggiungiamo un sale MA di concentrazione C_b avremo in soluzione anche M⁺ quindi il bilancio delle cariche è

$$[\text{H}_3\text{O}^+] + [\text{M}^+] = [\text{OH}^-] + [\text{A}^-]$$

ma [M⁺]= C_s quindi

$$[\text{H}_3\text{O}^+] + C_s = [\text{OH}^-] + [\text{A}^-]$$

$$[\text{A}^-] = C_s + [\text{H}_3\text{O}^+] - [\text{OH}^-] \quad (1)$$

consideriamo adesso l'acido sotto tutte le sue forme

$$[\text{HA}] + [\text{A}^-] = C_a + C_s$$

$$[HA] + C_s + [H_3O^+] - [OH^-] = C_a + C_s \text{ da cui}$$

$$[HA] = C_a - ([H_3O^+] - [OH^-]) \quad (2)$$

questi valori di [HA] e di [A-] (1) e (2) sostituiti nell'equazione della costante di equilibrio forniscono

$$K_a = [H_3O^+] [A^-] / [HA]$$

$$K_a = [H_3O^+] (C_s + [H_3O^+] - [OH^-]) / C_a - ([H_3O^+] - [OH^-])$$

questa espressione porta ad un'equazione di terzo grado che è difficile da risolvere per cui se si tratta di tamponare a pH bassi è possibile trascurare [OH-] se si tampona a PH alti si trascura [H3O+].

ESEMPIO

Viene preparato un tampone con 500 ml di acido tricloroacetico Cl₃CCOOH 0,2 M e 500 ml di soluzione 0,4 M. del suo sale sodico Cl₃CCOONa. Calcolare il PH di questo tampone .(PKa TCA = 0,70)

Soluzione

la C_a = 0,5 ml x 0,2 M /1000 =0,1 moli/litro

la C_s = 0,5 ml x 0,4 M /1000 = 0,2 moli/litro

se applicassimo la formula approssimata **PH = PKa - log C_a/C_s = 0,70- log 0,1/0,2 = 1,00**

il PH è molto basso per cui tale formula non è applicabile, si deve allora utilizzare la formula completa

$$K_a = [H_3O^+] (C_s + [H_3O^+] - [OH^-]) / C_a - ([H_3O^+] - [OH^-])$$

trascurando l'[OH-] si ha

$$K_a = [H_3O^+] (C_s + [H_3O^+]) / C_a - [H_3O^+]$$

$$[H_3O^+]^2 + [H_3O^+] (C_s + K_a) - C_a K_a = 0$$

$$[H_3O^+] = \frac{-(C_s + K_a) + \sqrt{(C_s + K_a)^2 + 4 C_a K_a}}{2}$$

$$K_a = 10^{-pH} = 0,2$$

$$[H_3O^+] = \frac{- (0,2+0,2) + \sqrt{(0,2+0,2)^2 + 4 \times 0,1 \times 0,2}}{2} = 0,045 \text{ Moli/l}$$

$$\text{da cui } pH = -\log(0,045) = 1,35$$

questo valore è molto diverso da quello ottenuto con la formula approssimata.

Analogo ragionamento si ha per un tampone costituito da una base debole ed il suo sale

la formula da applicare in caso di PH elevati è :

$$[H_3O^+] = \frac{C_a K_a K_w + \sqrt{(C_a K_a K_w)^2 + 4 C_s K_a K_w}}{2}$$

trattandosi di una base $K_a = K_w / K_b$

COME SI SCEGLIE UN TAMPONE?

La scelta del tampone dipende dal suo valore di K_a , infatti il tampone più adatto è quello che ha un valore di pK_a più vicino al pH da tamponare. Per es. per l'acido acetico il pK_a è 4,75 quindi il tampone acetato è utilizzato per tamponare le soluzioni a pH intorno a 4,74 - 5

IL POTERE TAMPONE o CAPACITA' TAMPONE

nota: per affrontare questo argomento occorre conoscere come fare la derivata di una frazione altrimenti si può passare direttamente alla formula finale.

La capacità tampone e' definita come il limite massimo cui tende il rapporto tra la variazione di concentrazione del sale rispetto alla variazione di pH . (In pratica rappresenta la minima quantità di sale nella soluzione che permette ancora di tamponarla)

Matematicamente questo valore limite è definito da $\beta = \lim_{\Delta pH \rightarrow 0} \frac{\Delta C_s}{\Delta pH}$ che è la derivata di C_s rispetto al pH

$$\beta = \frac{dC_s}{dPH}$$

l'aggiunta di acido o di base ad un tampone fa variare il rapporto C_a/C_s ma NON ALTERA LA SOMMA

$$C_a + C_s \text{ che rimane costante} \quad C_a + C_s = [HA] + [A^-] \quad \text{da cui } [HA] = C_a = C_a + C_s - C_s$$

ricordando che $[H_3O^+] = K_a \frac{Ca}{Cs}$ si ha $Cs = \frac{Ca + Cs K_a}{[H_3O^+] + K_a}$

facendo la derivata di Cs rispetto ad $[H_3O^+]$ si ha

$$\frac{dCs}{d[H_3O^+]} = - \frac{Ca + Cs K_a}{([H_3O^+] + K_a)^2}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = \frac{dCs}{d(-\log[H_3O^+])} = -(\log 10) [H_3O^+] \frac{dCs}{d[H_3O^+]}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = -2,30 [H_3O^+] \frac{dCs}{d[H_3O^+]}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = 2,30 [H_3O^+] \frac{Ca + Cs K_a}{([H_3O^+] + K_a)^2} \text{ ma sappiamo che}$$

$$K_a = [H_3O^+] \frac{Cs}{Ca} \text{ quindi}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = 2,3 \frac{Ca Cs}{Ca + Cs}$$

che per valori di PH ai limiti diviene

$$\frac{dCs}{dPH} = 2,3 ([H_3O^+] + [OH^-])$$

la capacità tampone è quindi calcolabile dai valori di Ca e di Cs

Esempio

calcoliamo la capacità tampone per il tampone acido acetico acetato di sodio in cui

$$Ca = 1 \text{ M}$$

$$Cs = 0,4998 \text{ M}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = 2,3 \frac{Ca Cs}{Ca + Cs}$$

$$\frac{dCs}{dPH} = 2,3 \frac{1 \times 0,4998}{1 + 0,4998} = 0,766$$

I TAMPONI NEI LIQUIDI BIOLOGICI

Negli organismi viventi l'equilibrio acido-base è uno degli aspetti più importanti in quanto il PH sia all'interno che all'esterno delle cellule influenza l'attività degli enzimi che rappresentano una parte fondamentale delle reazioni chimiche che avvengono nel corpo umano. Il pH infatti, deve necessariamente oscillare in un range molto ristretto, poiché

l'attività degli enzimi è notevolmente influenzata dal pH. (Gli enzimi sono dei composti che permettono di realizzare reazioni chimiche che altrimenti in condizioni normali non potrebbero verificarsi). Ne consegue che il PH deve essere mantenuto in un certo intervallo di valori e ciò è possibile solamente perchè sia all'interno delle cellule che all'esterno di esse esistono sistemi che vengono definiti TAMPONI.

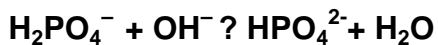
Il PH dei liquidi intracellulari è mantenuto costante dal tampone fosfato. Esso è costituito dallo ione **fosfato biacido** H_2PO_4^- che cede ioni H^+ e che agisce da acido, e dallo **ione idrogeno fosfato monoacido** HPO_4^{2-} che si comporta da base .

L'equilibrio da considerare è :



per cui un aumento di H^+ conduce alla produzione di H_2PO_4^-

un aumento di OH^- conduce alla formazione di HPO_4^{2-}



per la reazione



la costante di equilibrio a 25° è:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 6.23 \times 10^{-8}$$

questa è la seconda delle costanti di equilibrio di H_3PO_4 infatti





$$K_3 = \frac{[\text{H}^+][\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}$$

per calcolare il PH

$$[\text{H}^+] = K_2 \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}$$

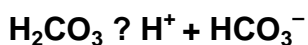
se il rapporto è uguale ad 1 o meglio se le concentrazioni di H_2PO_4^- ed HPO_4^{2-} sono uguali allora

$$[\text{H}^+] = 6,23 \times 10^{-8} \quad \text{PH} = -\log 6,23 \times 10^{-8} = 8 - \log 6,23 = 8 - 0,79 = 7,21$$

Nei fluidi cellulari il PH può oscillare tra 6,9 e 7,4 ed il tampone fosfato presente riesce a mantenere il PH entro questi limiti.

il PH dei liquidi extracellulari quali ad esempio **il plasma sanguigno** è mantenuto costante dal **Tampone Bicarbonato costituito da acido carbonico H_2CO_3 e bicarbonato HCO_3^-**

infatti la CO_2 espulsa dalle cellule reagisce con l' H_2O per formare acido carbonico H_2CO_3 che agisce quale donatore di H^+ , mentre lo ione bicarbonato (carbonato monoacido) HCO_3^- agisce da accettore di protoni e riforma H_2CO_3 .



$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 7,9 \times 10^{-7}$$

$$[\text{H}^+] = K_1 \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{HCO}_3^-]}$$

se il rapporto delle concentrazioni fosse $[\text{H}_2\text{CO}_3] / [\text{HCO}_3^-] = 1$ allora

$$[H^+] = K_1 = 7,9 \times 10^{-7} \quad PH = 7 - \log 7,9 = 7 - 0,89 = 6,11$$

In realtà nel plasma, la concentrazione $[HCO_3^-]$ dello ione carbonato è di circa venti volte quella dell'acido carbonico $[H_2CO_3]$ cioè

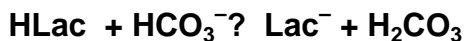
$$[HCO_3^-] = 20 \times [H_2CO_3] \text{ quindi}$$

$$[H^+] = K_1 [H_2CO_3] / [HCO_3^-] = K_1 \cdot 1/20 = K_1 \times 0,05 = 7,9 \times 10^{-7} \times 5 \times 10^{-2}$$

$$[H^+] = 3,95 \times 10^{-8} \quad PH = 8 - \log 3,95 = 8 - 0,6 = 7,4$$

valori superiori sono indice di alcalosi metabolica, valori inferiori di acidosi metabolica che sono ambedue stati patologici.

Nel corpo umano la quantità di HCO_3^- nel sangue è controllata dai reni: se nel sangue vi è idrogeno carbonato in eccesso i reni lo espellono con le urine. Il fatto che lo ione sia presente in quantità 20 volte maggiore di H_2CO_3 è fondamentale in quanto, **normalmente le cellule producono ed immettono nel sangue sostanze acide in particolare acidi carbossilici quali ad esempio l'acido lattico (HLac) che reagisce secondo la reazione**



l'acido carbonico che si forma reagisce con **l'enzima carbonatodeidratasi che lo trasforma in**
CO₂ ed H₂O



l'aumento di CO₂ attiva dei recettori che provocano un aumento dell'attività respiratoria per cui la CO₂ in eccesso viene espulsa coi polmoni. (per esempio durante l'attività fisica il muscolo in ambiente anaerobico produce acido lattico che nel fegato si trasforma in piruvato e poi con un processo detto gliconeogenesi in glucosio che viene rimmesso nel sangue e riutilizzato dai muscoli. Si realizza quindi ciclo di reazioni detto **Ciclo di Cori** in cui il muscolo, in condizioni di anaerobiosi converte il glucosio in acido lattico, ed nel fegato riconverte il lattato in glucosio.

Una parte di CO₂ entra nel globulo rosso dove, l'enzima **anidrasi carbonica**, la converte in acido carbonico che si scinde in H⁺ (che lega l'emoglobina) e in **ione bicarbonato che viene rilasciato nel sangue ed alimenta così la coppia tampone.**



(foto da Giuseppe Castaldo :equilibrio acido base)

la cellula del tubulo contorto prossimale del rene contribuisce a recuperare il bicarbonato. Infatti, una parte del bicarbonato (che è una molecola a basso peso molecolare) del sangue viene filtrata a livello del glomerulo e passa nella preurina. Nel lume del tubulo, l'enzima anidrasi carbonica lega il bicarbonato ad uno ione H⁺ secreto dalla cellula tubulare. **Si forma acido carbonico, che si dissocia in H₂O e CO₂; quest'ultima entra nella cellula tubulare, lega una molecola d'acqua e forma nuovamente acido carbonico che si dissocia in H⁺ e ione bicarbonato. Quest'ultimo viene rilasciato nel sangue (andando quindi a rifornire la coppia tampone) e lo ione H⁺ viene rilasciato nel lume cellulare ma non viene espulso con le urine ma viene riassorbito nella cellula non modificando pertanto il PH dell'urina. All'interno della cellula tubulare, la CO₂ che deriva dal ciclo di Krebs (ciclo di distruzione del glucosio per produrre energia sotto forma di Adenosin trifosfato ATP) lega una molecola d'acqua, forma acido carbonico che si dissocia in H⁺ (secreto nel lume) e ione bicarbonato (che torna in circolo). Questo meccanismo permette di rifornire la coppia tampone nel sangue di ulteriore apporto di bicarbonato che non è il semplice recupero di bicarbonato filtrato come descritto in precedenza.**