**Katedra Biochemii**
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
tel. 081 445 66 08
www.biochwet.up.lublin.pl

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie | WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

# Bufory część 2

**część praktyczna ćwiczenia**

Celem ćwiczenia jest przygotowanie buforu fosforanowego i wyznaczenie jego pojemności buforowej.

## Mechanizm działania buforu fosforanowego

Bufor fosforanowy jest mieszaniną diwodorofosforanu(V) sodu ($NaH_2PO_4$) i wodorofosforanu(V) sodu ($Na_2HPO_4$). Buforujące działanie takiej mieszaniny można wyjaśnić obecnością w roztworze sprzężonego układu kwas-zasada (Brönsteda):

$$H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+$$

– po dodaniu mocnego kwasu, nadmiar jonów wodorowych zostanie związany przez jony $HPO_4^{2-}$ (zasada Brönsteda):

$$HPO_4^{2-} + H^+ \rightarrow H_2PO_4^-$$

– po dodaniu mocnej zasady nadmiar jonów wodorotlenowych zostanie usunięty w wyniku zajścia reakcji z jonem $H_2PO_4^-$ (kwas Brönsteda):

$$H_2PO_4^- + OH^- \rightarrow HPO_4^{2-} + H_2O$$

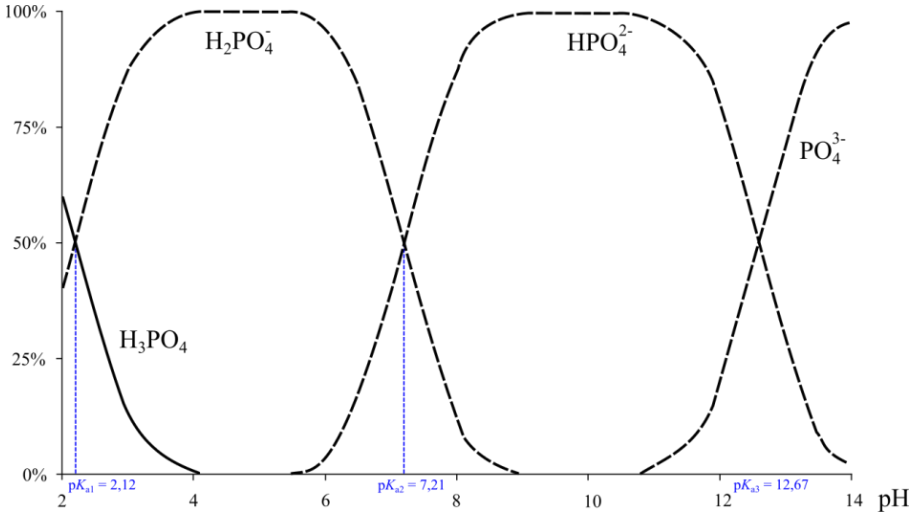
## Obliczenie pH buforu fosforanowego

Do obliczeń pH buforu fosforanowego niezbędna jest znajomość etapów dysocjacji kawasu fosforowego(V) ($H_3PO_4$). Etapy dysocjacji kwasu można zapisać równaniami:

$$H_3PO_4 \leftrightarrow H_2PO_4^- + H^+ \qquad K_1 = 7{,}5\cdot10^{-3}$$

$$H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+ \qquad K_2 = 6{,}3\cdot10^{-8}$$

$$HPO_4^{2-} \leftrightarrow PO_4^{3-} + H^+ \qquad K_3 = 1{,}3\cdot10^{-12}$$




**Wykres 1.** Wykres dysocjacji kwasu fosforowego (V)
(Wolfe-Simon F., Davies P. C. W., Anbar A. D. Int. J. Astrobiol, 2009, 8(2), 69)

Stałą dysocjacji drugiego etapu można zapisać równaniem:

$$K_2 = \frac{[H^+][HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}$$

Dysocjację diwodorofosforanu(V) sodu ($NaH_2PO_4$) zapisujemy równaniem:

$$NaH_2PO_4 \leftrightarrow H_2PO_4^- + Na^+$$

Dysocjację wodorofosforanu(V) sodu ($Na_2HPO_4$) zapisujemy równaniem:

$$Na_2HPO_4 \leftrightarrow HPO_4^{2-} + 2Na^+$$

W roztworze wodnym fosforany są zdysocjowane całkowicie (jako sole dobrze rozpuszczalne w wodzie). Na podstawie powyższych założeń przyjmujemy stężenia jonów równe ilości wprowadzonych soli:

$$[H_2PO_4^-] = [NaH_2PO_4]$$
$$[HPO_4^{2-}] = [Na_2HPO_4]$$

Możemy zapisać wtedy stałą dysocjacji równaniem:

$$K_2 = \frac{[H^+][Na_2HPO_4]}{[NaH_2PO_4]}$$

Zatem aby obliczyć stężenie jonów $[H^+]$ przekształcamy równanie do postaci:

$$[H^+] = \frac{K_2[NaH_2PO_4]}{[Na_2HPO_4]}$$

Aby obliczyć pH podstawiamy odpowiednio:

$$pH = -lg[H^+] \text{ oraz } pK_2 = -lg\,K_2$$

Otrzymując wzór umożliwiający obliczenie pH Buforu fosforanowego:

$$pH = pK_2 - lg\frac{[NaH_2PO_4]}{[Na_2HPO_4]}$$

lub:

$$pH = pK_2 + lg\frac{[Na_2HPO_4]}{[NaH_2PO_4]}$$

**Pojemność buforowa**

Z powyższych obliczeń wynika, że pH roztworu buforowego zależy jedynie od stosunku stężeń poszczególnych jego składników, nie zależy natomiast od wartości tych stężeń. Wartości stężeń wpływają natomiast na pojemność buforową ($\beta$)*. Jest to ilość moli mocnego kwasu lub zasady, która dodana do 1 $dm^3$ roztworu buforowego, powoduje zmianę jego pH o 1 jednostkę. Można zapisać to równaniem:

$$\beta_A = \frac{\Delta C_A}{\Delta(pH)} \text{ lub } \beta_B = \frac{\Delta C_B}{\Delta(pH)}$$

gdzie:
$C_A$ lub $C_B$ – ilośc moli dodanego kwasu lub zasady.

Dla układu buforowego w pobliżu $pK$ sprzężonego układu kwas-zasada pojemność można obliczyć na podstawie uproszczonego równania zaproponowanego przez Van Slyke (J. Biol.Chem. 1922, 52, 525):

$$\beta = lg\,10 \cdot \frac{K[H^+]}{(K + [H^+])^2} \cdot C$$

gdzie:
$K$ – stała dysocjacji sprzężonego układu kwas-zasada będącego podstawą buforu,
$C$ – całkowite stężenie składników buforu.

*Zgodnie z definicją IUPAC (The Compendium of Analytical Nomenclature IUPAC; Pergamon: Elmsford, NY, 1977), pojemność buforową definjujemy jako: “The capacity of a solution to resist changes in pH on the addition of strong acid or strong base which may be expressed numerically as the number of moles of strong acid or strong base required to change the pH by one unit when added to one liter of the specified buffer solution”.

**Zadanie 1**

Przygotowanie roztworów: 0,1 mol/dm$^3$ $NaH_2PO_4$ oraz 0,1 mol/dm$^3$ $Na_2HPO_4$.

**Wykonanie**

Przygotować po 100 cm$^3$ roztworów 0,1 mol/dm$^3$ $NaH_2PO_4$ oraz 0,1 mol/dm$^3$ $Na_2HPO_4$, obliczyć naważki potrzebne do wykonania roztworów.

Uwzględnić w obliczeniach zawartość wody hydratacyjnej oraz stopień czystości odczynników używanych w trakcie ćwiczeń.

Na wadze analitycznej odważyć obliczone ilości odczynników, przenieść do kolby miarowej o pojemności 100 cm$^3$, uzupełnić wodą do kreski i starannie wymieszać.

**Zadanie 2**

Przygotowanie wybranego roztworu buforu fosforanowego.

**Wykonanie**

Używając przygotowanych roztworów $NaH_2PO_4$ i $Na_2HPO_4$ o stężeniu 0,1 mol/dm$^3$ przygotować 200 cm$^3$ roztworu buforowego zgodnie z poniższą tabelą 1. Przygotować tylko jeden bufor o składzie wskazanym przez prowadzącego ćwiczenia.

**Tabela 1.** Przygotowanie buforu fosforanowego

| Nr | Objętość 0,1 M $NaH_2PO_4$ (cm$^3$) | Objętość 0,1 M $Na_2HPO_4$ (cm$^3$) | Bufor (pH-obliczone) | Bufor (pH-zmierzone) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 90 | 10 | | |
| 2 | 80 | 20 | | |
| 3 | 70 | 30 | | |
| 4 | 60 | 40 | | |
| 5 | 50 | 50 | | |
| 6 | 40 | 60 | | |
| 7 | 30 | 70 | | |
| 8 | 20 | 80 | | |
| 9 | 10 | 90 | | |

W tym celu pobrać za pomocą pipety lub cylindra odpowiednie objętości roztworów $NaH_2PO_4$ i $Na_2HPO_4$, przenieść je do kolby miarowej o pojemności 200 cm$^3$. Kolbę uzupełnić wodą destylowaną do kreski i starannie wymieszać.

Obliczyć i zmierzyć pH dla otrzymanego buforu, w tym celu przenieść 5 cm$^3$ przygotowanego buforu do probówki i zmierzyć pH za pomocą pH-metru.

Na podstawie równania Van Slyke obliczyć teoretyczną pojemność buforową otrzymanego buforu.

## Zadanie 3

Wyznaczenie pojemności buforowej dla przygotowanego w zadaniu 2 buforu fosforanowego.

## Wykonanie

W celu wyznaczenia pojemności buforowej w kierunku kwasowym i zasadowym należy wykonać roztwory otrzymanego buforu z zadania 1 na podstawie tabeli 2 oraz 3. Zawartość probówek starannie wymieszać i zmierzyć pH otrzymanego roztworu.

**Tabela 2.** Obliczenie pojemności buforowej w kierunku kwasowym

| Nr | Bufor ($cm^3$) | Objętość 0,1 M HCl ($cm^3$) | Objętość całkowita ($cm^3$) | pH zmierzone | $\Delta C_A$ | $\Delta(pH)$ | $\beta_A$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | – | | | | | |
| 2 | 5 | 0,25 | | | | | |
| 3 | 5 | 0,50 | | | | | |
| 4 | 5 | 0,75 | | | | | |
| 5 | 5 | 1,00 | | | | | |
| 6 | 5 | 1,25 | | | | | |
| 7 | 5 | 1,50 | | | | | |
| 8 | 5 | 1,75 | | | | | |
| 9 | 5 | 2,00 | | | | | |
| 10 | 5 | 2,25 | | | | | |
| 11 | 5 | 2,50 | | | | | |

**Tabela 3.** Obliczenie pojemności buforowej w kierunku zasadowym

| Nr | Bufor ($cm^3$) | Objętość 0,1 M NaOH ($cm^3$) | Objętość całkowita ($cm^3$) | pH zmierzone | $\Delta C_B$ | $\Delta(pH)$ | $\beta_B$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | – | | | | | |
| 2 | 5 | 0,25 | | | | | |
| 3 | 5 | 0,50 | | | | | |
| 4 | 5 | 0,75 | | | | | |
| 5 | 5 | 1,00 | | | | | |
| 6 | 5 | 1,25 | | | | | |
| 7 | 5 | 1,50 | | | | | |
| 8 | 5 | 1,75 | | | | | |
| 9 | 5 | 2,00 | | | | | |
| 10 | 5 | 2,25 | | | | | |
| 11 | 5 | 2,50 | | | | | |

Korzystając z arkusza kalkulacyjnego wykreślić we wspólnym układzie współrzędnych dwie krzywe:

$$pH = f(V_{HCl}) \text{ i } pH = f(V_{NaOH}).$$

Korzystając z poniższych równań obliczyć pojemność buforową przygotowanego buforu w kierunku kwasowym $\beta_A$ i zasadowym $\beta_B$:

$$\beta_A = \frac{\Delta C_A}{\Delta(pH)}, \text{ gdzie: } \Delta C_A = \frac{C_{HCl} \cdot V_{HCl}}{V_T}$$

$$\beta_B = \frac{\Delta C_B}{\Delta(pH)}, \text{ gdzie: } \Delta C_B = \frac{C_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{V_T}$$

gdzie:
$C_{HCl}$ lub $C_{NaOH}$ – stężenie dodanego HCl lub NaOH,
$V_{HCl}$ lub $V_{NaOH}$ – objętość dodanego HCl lub NaOH,
$V_T$ – objętość całkowita bufor plus dodany HCl lub NaOH.

Korzystając z arkusza kalkulacyjnego wykreślić dwie krzywe:

$$\Delta(pH) = f(\Delta C_A) \text{ i } \Delta(pH) = f(\Delta C_B).$$

Wyznaczyć ilość moli HCl i NaOH odpowiadające zmianie pH o 1 w porównaniu z wartością początkową.

## Tabele chemiczne

**Tabela 4.** Masy molowe

| Związek | Masa molowa (g/mol) |
|---|---|
| $NaH_2PO_4$ | 119,98 |
| $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ | 137,99 |
| $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ | 156,01 |
| $Na_2HPO_4$ | 141,96 |
| $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ | 178,01 |
| $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ | 268,07 |
| $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ | 358,14 |

**Tabela 5.** *pK* wybranych reakcji

| Reakcja | *pK* |
|---|---|
| $H_3PO_4 \leftrightarrow H_2PO_4^- + H^+$ | 2,12 |
| $H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+$ | 7,21 |
| $HPO_4^{2-} \leftrightarrow PO_4^{3-} + H^+$ | 12,67 |

Do obliczeń przyjąć gęstość wszystkich roztworów $d = 1\ g/cm^3$.