

SOLUZIONI TAMPONE

proprietà, utilizzo e preparazione

ver 21.11.19



CHE PROPRIETÀ HANNO LE SOLUZIONI TAMPONE?

1) Mantengono inalterato il loro pH con la diluizione.

Ciò è vero fino a concentrazioni superiori a circa 1×10^{-5} M

2) Mantengono **relativamente** inalterato il loro pH (resistono cioè alle variazioni di pH) all'aggiunta di moderate quantità di acido o base forti.

PERCHÉ SONO COSÌ IMPORTANTI IN BIOLOGIA?

Quasi tutte le reazioni enzimatiche cellulari avvengono in maniera efficiente solo a ben determinate condizioni di pH stabile (condizione garantita dai tamponi fisiologici). Se durante la reazione il pH varia, allora la reazione procede meno efficientemente o addirittura si ferma e/o si innescano altre reazioni o l'enzima si denatura o addirittura cambia funzione.

Il mantenimento di un pH costante è una condizione fondamentale in molti liquidi fisiologici: ad es. il sangue è una soluzione tampone a $\text{pH}=7.40$ (ioni fosfato e carbonato). L'efficienza di tutti i singoli passaggi di tutti i cicli cellulari, del trasporto dell' O_2 e dell'eliminazione di CO_2 dipende dal pH e dalla sua stabilità.

COM'È FATTA UNA SOLUZIONE TAMPONE ?

1) da un acido debole ed una sua base coniugata HA/A^-

es. CH_3COOH/CH_3COO^-

Lo ione CH_3COO^- non esiste isolato: si ottiene ad esempio dal sale CH_3COONa che si dissocia in acqua.

oppure

2) da una base debole ed un suo acido coniugato B/HB^+

es. NH_3/NH_4^+

Lo ione NH_4^+ non esiste isolato: si ottiene ad esempio dal sale NH_4Cl che si dissocia in acqua.

Ogni tampone è caratterizzato da una

Capacità tamponante

$$\beta = \frac{dC_b}{dpH} = -\frac{dC_a}{dpH}$$

Numero di moli di acido o di base forti necessarie per far variare **1 litro di soluzione tampone** di **1 unità di pH**.

In pratica è la misura di quanto il tampone resiste alla variazione di pH per aggiunta di acidi o basi forti

Da cosa dipende la capacità tamponante?

2 fattori:

1) dalla concentrazione assoluta dei componenti HA e A^- oppure B e HB^+

La capacità tamponante cresce al crescere della concentrazione assoluta dei componenti.

2) dal rapporto delle concentrazioni dei componenti.

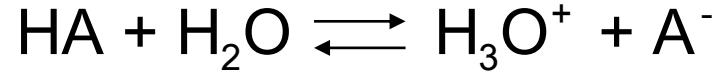
La capacità tamponante è massima quando il rapporto tra i componenti = 1: cioè $[HA] = [A^-]$ oppure $[B] = [HB^+]$

La capacità tamponante è tuttavia ancora accettabile finché il rapporto delle concentrazioni è circa compreso tra 10 e 1/10

Si definisce concentrazione di una soluz. tampone la somma delle concentrazioni dell'acido e della base coniugata

Es se un tampone ha $[HA] = 0.050 \text{ M}$ e $[A^-] = 0.025 \text{ M}$, in totale ha concentrazione 0.075 M

Si consideri l'equilibrio



$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \times [\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \longrightarrow \text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

eq. di Henderson Hasselbalch

La capacità è massima quando $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$

$$\text{ma se } [\text{HA}] = [\text{A}^-] \longrightarrow \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = 0 \longrightarrow \text{pH} = \text{pKa}$$

Un tampone ha la sua massima capacità tamponante quando il pH della soluzione = pKa dell'acido usato per fare il tampone

Quindi la scelta delle specie che formano il tampone non è casuale ma è **condizionata dal pH che si vuole fissare !!!**

Bisogna scegliere l'acido o la base debole con la pK di dissociazione il + vicina possibile al pH che si vuole tamponare.

Tolleranza pH = pKa \pm 1

esempio

pKa per $\text{CH}_3\text{COOH} = 4.73$



Tampone usabile per
 $3.70 < \text{pH} < 5.70$

pKa per $\text{NH}_3 = 9.27$



Tampone usabile per
 $8.30 < \text{pH} < 10.30$

Spesso nelle esperienze di biologia si usa il tampone fosfato (abbreviato **PBS** da Phosphate buffered saline)

è costituito da una soluzione contenente $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$

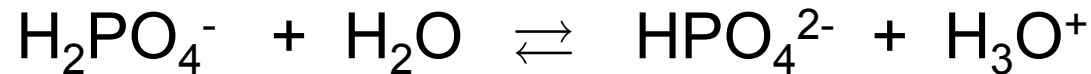
I due sali si dissociano completamente rispettivamente in:



Le due specie H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} sono co-presenti e in equilibrio in soluzione e rappresentano la prima **un acido** e la seconda la **sua base coniugata**.

Si forma dunque una soluzione tampone

equilibrio tra le due specie



$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \times [\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$\text{a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \quad \text{pK} = 7.2$$

Poiché come è stato già detto, i tamponi hanno massima efficienza quando il pH che si vuole fissare è circa = al pK dell'acido, questo tampone è adatto a funzionare a pH fisiologici attorno a 7.

Le soluzioni tampone possono essere

acquistate già pronte al pH voluto da 1 a 13

oppure

preparate in laboratorio



Poiché il compito del biologo è solitamente quello di fare ricerca sui composti di interesse biologico e non sui tamponi, spesso si comprano soluzioni già pronte anche se costano di più.

COME SI PREPARA UNA SOLUZIONE TAMPONE

Ci sono **3 metodi** per preparare una soluzione tampone.

1) Si mescolano le giuste quantità di **acido debole** o **base debole** con il sale appropriato.

Es. **CH₃COOH + CH₃COONa** oppure **NH₃ + NH₄Cl**

2) Si trasforma una certa quantità di **acido debole** o **base debole in sale** per aggiunta rispettivamente di base o acido forte in difetto.

Es. **CH₃COOH + NaOH** in difetto → **CH₃COO⁻ + Na⁺ + H₂O**

oppure

NH₃ + HCl in difetto → **NH₄⁺ + Cl⁻**

3) Si trasforma una certa quantità **di sale in acido debole o base debole** per aggiunta rispettivamente di acido o base forte in difetto.



oppure



In ogni caso perché il tampone sia efficiente è necessario che si formino quantità di acido e base coniugata in rapporto molare compreso tra 10 e 1/10.

Es. di preparazione pratica di una soluzione tampone

- 1) Si scelgono i componenti in base al pH che si vuole ottenere ed alle possibili interazioni tra ioni.
- 2) Si sceglie la **concentrazione assoluta** dei componenti ed **il rapporto delle loro concentrazioni** in base alla forza tamponante e al pH richiesti.
- 3) Si mescolano i componenti nelle giuste proporzioni in un recipiente, diluendoli un po' meno di quanto devono essere diluiti alla fine.



4) Si inserisce nel recipiente un elettrodo a vetro e si controlla il pH della soluzione, che viene eventualmente corretto con l'aggiunta di acidi o basi forti: di solito HCl o NaOH.



5) Una volta raggiunto il pH desiderato, si porta definitivamente a volume in un matraccio tarato o in cilindro graduato in modo da avere la giusta concentrazione dei componenti.

(Il pH non cambia con la diluizione)

Domande e dubbi sui tamponi

Cos'è una soluzione tampone

soluzione che mantiene il pH inalterato con la diluizione e relativamente inalterato con aggiunta di acidi o basi anche forti

Com'è fatta?

acido debole+base coniugata o base debole+acido coniugato

Da cosa dipende la sua forza?

dalla concentrazione assoluta e dal rapporto delle concentrazioni dei componenti

L'acido e la base per fare un tampone sono scelti a caso ?

No! $\text{pH da tamponare} = \text{pKa} \pm 1$

I componenti del tampone in genere non devono interagire con le altre specie presenti in soluzione

Qual è il tampone più frequentemente adoperato in biologia e che pH è più efficiente?

Fosfato: $\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$

efficiente a pH attorno a 7

Quando gli studenti hanno avuto a che fare con tamponi in laboratorio?

- 1) Nell'esperienza della titolazione dell'acido debole $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaOH}$ si forma una soluzione tampone il cui effetto sul pH della soluzione si vede bene dal grafico di titolazione.
- 2) In una delle esperienze viene fatta una soluzione tampone, la cui forza tamponante è stata confrontata con quella all'acqua.
- 3) Nella determinazione della durezza dell'acqua si usa un tampone ammoniacale a $\text{pH} = 10.0$.

Nel corso di chimica generale e inorganica del I anno sono stati svolti numerosi esercizi sulle soluzioni tampone.

Prima di affrontare il secondo test di autovalutazione, si suggerisce di andare a rivedere gli esercizi svolti e a fare quelli tipo qui proposti.

Es. 1

Qual è il pH di un tampone acetato ottenuto mescolando 1.3608 g di $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (mm = 136.08) con 0.570 mL di CH_3COOH con purezza 99.97%, $d = 1,047 \text{ g/mL}$ e mm = 60.05 se il tutto è portato a V finale = 100.0 mL in un matraccio tarato? pK per dissociazione di $\text{CH}_3\text{COOH} = 4.74$

Suggerimento: quando si ha a che fare con tamponi conviene adoperare l'equazione di Henderson Hasselbalch nella quale i termini del logaritmo possono essere le **concentrazioni** oppure le **moli**. Infatti:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad \text{ma } [\text{M}] = \frac{\text{mol A}^-}{V_{\text{soluz}}}$$

$$\text{quindi } \text{pH} = \text{pK} + \log \frac{\frac{\text{mol A}^-}{V_{\text{soluz}}}}{\frac{\text{mol HA}}{V_{\text{soluz}}}} \quad \text{pH} = \text{pK} + \log \frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}}$$

Inoltre: il pH di un tampone non dipende dalla sua diluizione

$$\text{mol A}^- = 1.3608 \text{ g} / 136.08 \text{ g/mol} = 0.010000 \text{ mol}$$

mol HA: 1 L di CH_3COOH pesa 1047 g dei quali acido puro sono $1047 \times 0.9997 = 1047 \text{ g}$ pari a 17.43 mol

in 0.570 mL sono quindi contenute 9.935×10^{-3} mol di HA

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}}$$

$$\text{pH} = 4.74 + \log \frac{0.010000}{9.935 \times 10^{-3}} \qquad \text{pH} = 4.74$$

Come è detto prima, che si proceda alla diluizione oppure no (purché $< 10^{-5}$ circa), il pH non cambia: è influente sul pH il fatto che si diluisca a 100 mL. Invece la diluizione gioca un ruolo importante sulla forza del tampone, ovvero la sua capacità a resistere alle variazioni di pH per aggiunta di acidi o basi forti: più si diluisce e meno resiste.

Es. 2

Quanti mL di una soluzione di NaOH 0.500 M devono essere aggiunti a 10.00 g di un acido debole con $pK = 8.075$ e $m_m = 157.597$ per ottenere un tampone a pH 7.60 e $V = 250$ mL?

$$pH = pK + \log \frac{\text{mol } A^-}{\text{mol HA}}$$

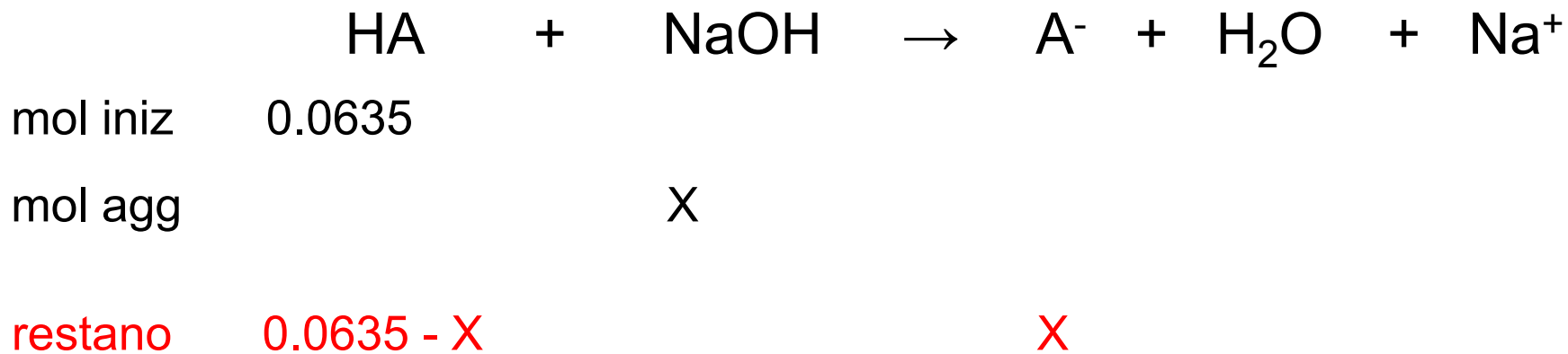
$$7.60 = 8.075 + \log \frac{\text{mol } A^-}{\text{mol HA}}$$

$$-0.475 = \log \frac{\text{mol } A^-}{\text{mol HA}}$$

$$10^{-0.475} = \frac{\text{mol } A^-}{\text{mol HA}}$$

$$0.335 = \frac{\text{mol } A^-}{\text{mol HA}}$$

reazione tra HA e NaOH



$$0.335 = \frac{X}{0.0635 - X}$$

$$X = 0.0159 \text{ mol}$$

$$\text{mol A}^- = 0.0159$$

$$1000 \text{ mL} : 0.500 \text{ mol} = x \text{ mL} : 0.0159 \text{ mol}$$

$$x = 31.8 \text{ mL di NaOH da aggiungere}$$

Es. 3

In quale rapporto in mol devono essere mescolati $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (mm = 359.14) e KH_2PO_4 (mm = 136.10 g/mol) per ottenere un tampone a $\text{pH} = 7.40$? Quanti g rispettivamente di A^- e di HA devono essere pesati perché il tampone abbia $V = 250 \text{ mL}$ e concentrazione 0.10 M ? pK per la dissociazione di HA = 7.20

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}} \quad 7.40 = 7.20 + \log \frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}}$$

$$\frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}} = 1.58$$

$$\text{mol totali HA} + \text{A}^- = 0.10 \times 0.250 \text{ mL} = 0.0250$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\text{mol A}^-}{\text{mol HA}} = 1.58 \\ \text{mol HA} + \text{mol A}^- = 0.0250 \end{array} \right.$$

dal sistema si ottengono le mol dei due componenti che poi moltiplicate per la rispettive mm danno i g da pesare.

	A⁻	HA
mol	0.0153	0.00967
g	5.51	1.32

Es. 4

Qual è il pH di un tampone ottenuto mescolando 12.43 g di tris (base debole con $pK = 8.075$ e $mm = 121.136$) con 4.67 g del suo acido coniugato tris idrocloruro ($mm = 157.597$) con $V = 1.00$ L?

$$pH = pK + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$[A^-] = \frac{12.43 \text{ g / L}}{121.136 \text{ g / mol}} = 0.1026 \text{ M}$$

$$[HA] = \frac{4.67 \text{ g / L}}{157.597 \text{ g / mol}} = 0.0296 \text{ M}$$

$$pH = 8.025 + \log \frac{0.1026}{0.0296} = 8.61$$

Se alla precedente soluzione vengono aggiunti 12.0 mL di HCl 1.00 M, quanto vale il nuovo pH?

L'aggiunta di HCl fa aumentare la [HA] e diminuire la [A⁻]

	A ⁻	+	H ⁺	→	HA
moli iniz	0.1026		0.0120		0.0296
moli finali	0.1026 - 0.0120				0.0296 + 0.0120
	0.0906				0.0416

$$\text{pH} = 8.025 + \log \frac{0.0906}{0.0416} = 8.41$$

Qual è il pH di una soluzione ottenuta aggiungendo 12.0 mL di HCl 1.00 M a 1.000 mL di H₂O (pH = 7.00)?

è una diluizione: $M_1V_1 = M_2V_2$

$$M_2 = 12.0 \text{ mL} \times 1.00 \text{ M} / 1012 \text{ mL} = 0.0119 \text{ M}$$

$$\text{pH} = 1.93$$

Per una stessa aggiunta di moli di HCl, il pH del tampone è variato di 0.2 unità mentre per H₂O è cambiato di circa 5 unità.