



**LABORATIVT ARBETE:  
BEREDA BUFFERTLÖSNINGAR  
NIKLAS DAHRÉN**



# Vad är en buffertlösning (buffert)?

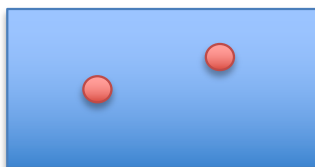
- ✓ **Buffertlösningar:** En buffertlösning är en vattenlösning som vanligtvis innehåller en svag syra och syrans konjugerande/korresponderande bas (den bas som syran ger upphov till när syran deprotoneras/protolyseras) och som har ett specifikt pH-värde. Basen som ingår är vanligtvis också en relativt svag bas.



- ✓ **Funktionen hos buffertlösningen:**
  - Funktionen av en buffertlösning är att upprätthålla ett specifikt pH-värde och motverka pH-förändringar.
  - Buffertlösningen fungerar som en fysiologisk "stötdämpare", som motverkar pH-förändringar.
  - När vi t.ex. utför laborationer med DNA, RNA, enzymer, proteiner etc. så är det jätteviktigt att dessa bibehåller sina laddningar och sina 3D-strukturer. Vi använder därför en buffertlösning med ett anpassat och specifikt pH-värde för de molekyler vi laborerar med. Buffertlösningen hjälper också till att motverka pH-förändringar vid tillsats av andra ämnen som annars skulle kunna påverka pH-värdet.
  - Ett felaktigt pH-värde kan få molekyler att denaturera och göra att molekylerna därmed tappar sin funktion, och det vill vi givetvis undvika.
- ✓ **Bufferten måste bestå av en svag syra och en svag bas:** Tack vare att syran och basen är svaga så reagerar dessa bara i låg grad med vattenmolekyler och kommer därför finnas kvar i vattenlösningen i höga koncentrationer "redo att attackera inkräktare som vill påverka pH-värdet". Det leder till en bra buffertverkan.

# När vi blandar syran med basen minskar koncentrationen av båda dessa (de späds ut)

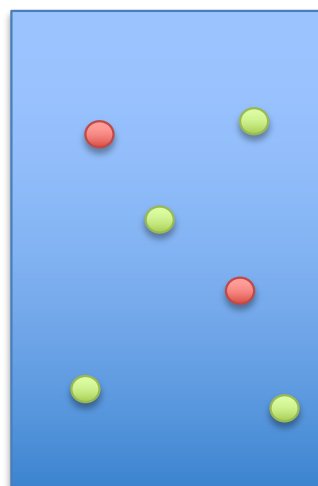
Syran: Ättiksyra



50 ml 0,10 mol/dm<sup>3</sup> HAc



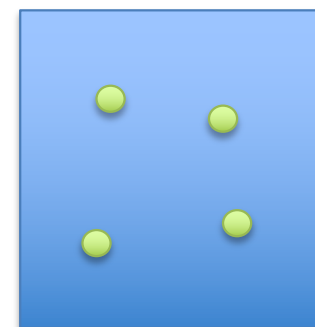
Buffertlösningen:  
Ättiksyra + Acetatjoner



150 ml buffertlösning:  
0,033 mol/dm<sup>3</sup> HAc  
0,067 mol/dm<sup>3</sup> Ac<sup>-</sup>



Basen: Acetatjoner  
(natriumacetat)



100 ml 0,10 mol/dm<sup>3</sup> Ac<sup>-</sup>

$$c_2(\text{HAc}): V_1 \cdot c_1 / V_2 = 0,050 \text{ dm}^3 \cdot 0,10 \text{ mol/dm}^3 / 0,150 \text{ dm}^3 = \mathbf{0,033 \text{ mol/dm}^3}$$

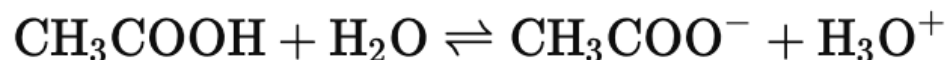
$$c_2(\text{Ac}^-): V_1 \cdot c_1 / V_2 = 0,100 \text{ dm}^3 \cdot 0,10 \text{ mol/dm}^3 / 0,150 \text{ dm}^3 = \mathbf{0,067 \text{ mol/dm}^3}$$

# Deprotonering/protolys av ättiksyra och beräkning av ättiksyrans syrakonstant

- ✓ Deprotonering/protolys av ättiksyra (flera olika skrivsätt):



*Ofta förenklar vi och tar inte med  $\text{H}_2\text{O}$  och  $\text{H}_3\text{O}^+$  i formlerna utan enbart  $\text{H}^+$ !*



- ✓ Formel för att beräkna  $K_a$ -värdet (syrakonstanten):

Allmän formel för alla syror:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Formel för ättiksyra:

$$K_a = \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

- ✓ Formel för att beräkna  $\text{p}K_a$ -värdet:

$$\text{p}K_a = -\log K_a$$

När vi tillsätter ättiksyra (i fast form) till en vattenlösning kommer ättiksyran bara deprotoneras/protolyseras till viss del (det är en svag syra). Acetatjonerna (etanoatjonerna) som bildas fungerar som baser och plockar upp vätejoner/protoner vilket innebär att vi efter en liten stund kommer få en jämvikt där reaktionen går lika fort åt båda riktningarna.

$K_a$ -värdet (och  $\text{p}K_a$ -värdet) visar hur stark syran är. Ett lågt  $K_a$ -värde (men högt  $\text{p}K_a$ -värde) visar att jämviktsekvationen är förskjuten åt vänster och att vi därför har en låg koncentration av vätejoner,  $\text{H}^+$  (eller oxoniumjoner,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ) i lösningen eftersom syran enbart har deprotonerats/protolyserats till viss del. Ättiksyra är en svag syra med  $K_a$ -värdet  $1,8 \cdot 10^{-5}$  samt  $\text{p}K_a$ -värdet 4,74.

# Buffertformeln – variant 1

Vätejonkoncentrationen (eller oxoniumjonkoncentrationen)

$c_2$  av syran

**Förklaring av formeln:** Formeln används bl.a. när vi vill ta reda på en bufferts pH-värde. Hög koncentration av syran och en hög syrakonstant innebär att vätejonkoncentrationen blir hög och därmed blir pH-värdet lågt.

$$[\text{H}^+] = K_a \times \left( \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right)$$

Syrakonstanten

$c_2$  av basen

Med hjälp av ovanstående formeln kan vi beräkna vätejonkoncentrationen (och oxoniumjonkoncentrationen) och sedan kan vi med hjälp av följande samband beräkna buffertens pH-värde:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

## Buffertformeln – variant 2 och 3

Minuslogaritmen  
av  $K_a$ -värdet

$c_2$  av syran

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \left( \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right)$$

$c_2$  av basen

Fördelen med dessa varianter av buffertformeln är att man, om man vet syrans  $\text{p}K_a$ -värde, kan beräkna pH-värdet direkt!

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \left( \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$

*Denna variant kallas för Henderson-Hasselbalch-ekvationen.*

Om vi inte vet syrans  $\text{p}K_a$ -värde men vet  $K_a$ -värdet så kan vi beräkna syrans  $\text{p}K_a$ -värde med följande formel:

$$\text{p}K_a = -\log K_a$$

# Uppgift 1:

En acetatbuffertlösning bereds genom att 50 ml ättiksyra (HAc) med koncentrationen 0,10 M blandas med 100 ml av basen natriumacetat (NaAc) med koncentrationen 0,15 M.  $K_a$  för ättiksyran är  $1,8 \cdot 10^{-5}$ . Vad blir pH-värdet i bufferten?

## Lösning:

- Räkna ut rätt koncentration ( $c_2$ ) av syran resp. basen efter att syran och basen har blandats med varandra (de har då blivit utspädda med varandra). Vi använder spädningsformeln för att göra detta ( $V_1 \cdot c_1 = V_2 \cdot c_2$ ). Vi sätter in de kända värdena i formeln och räknar sedan ut  $c_2$  genom att skriva om spädningsformeln.

	$V_1$	$c_1$	=	$V_2$	$c_2$ av HAc
HAc:	0,050 dm <sup>3</sup>	0,10 M		0,150 dm <sup>3</sup>	$c_2 = \frac{V_1 \cdot c_1}{V_2} = \frac{0,050 \text{ dm}^3 \cdot 0,10 \text{ M}}{0,150 \text{ dm}^3} = \mathbf{0,033 \text{ M}}$
	$V_1$	$c_1$	=	$V_2$	$c_2$ av Ac <sup>-</sup>
Ac <sup>-</sup> :	0,100 dm <sup>3</sup>	0,15 M		0,150 dm <sup>3</sup>	$c_2 = \frac{V_1 \cdot c_1}{V_2} = \frac{0,100 \text{ dm}^3 \cdot 0,15 \text{ M}}{0,150 \text{ dm}^3} = \mathbf{0,1 \text{ M}}$

### Forts. lösning:

Vi sätter nu in de kända värdena i buffertformel 1, 2 eller 3 (alla fungerar lika bra!) och beräknar pH-värdet.

#### Buffertformel 1:

- Först använder vi buffertformel 1:  $[H^+] = K_a \times \left( \frac{[HA]}{[A^-]} \right) = [H^+] = 1,8 \times 10^{-5} \times \left( \frac{0,033}{0,1} \right) = 5,94 \times 10^{-6} \text{ M}$
- Sen måste vi beräkna pH:  $\text{pH} = -\log(5,94 \times 10^{-6}) \approx 5,23$

#### Buffertformel 2:

- Först måste vi beräkna  $\text{p}K_a$ :  $\text{p}K_a = -\log(K_a) = -\log(1,8 \times 10^{-5}) = 4,744727495$
- Sen använder vi buffertformel 2:  $\text{pH} = \text{p}K_a - \log \left( \frac{[HA]}{[A^-]} \right) = \text{pH} = 4,744727495 - \log \left( \frac{0,033}{0,1} \right) \approx 5,23$

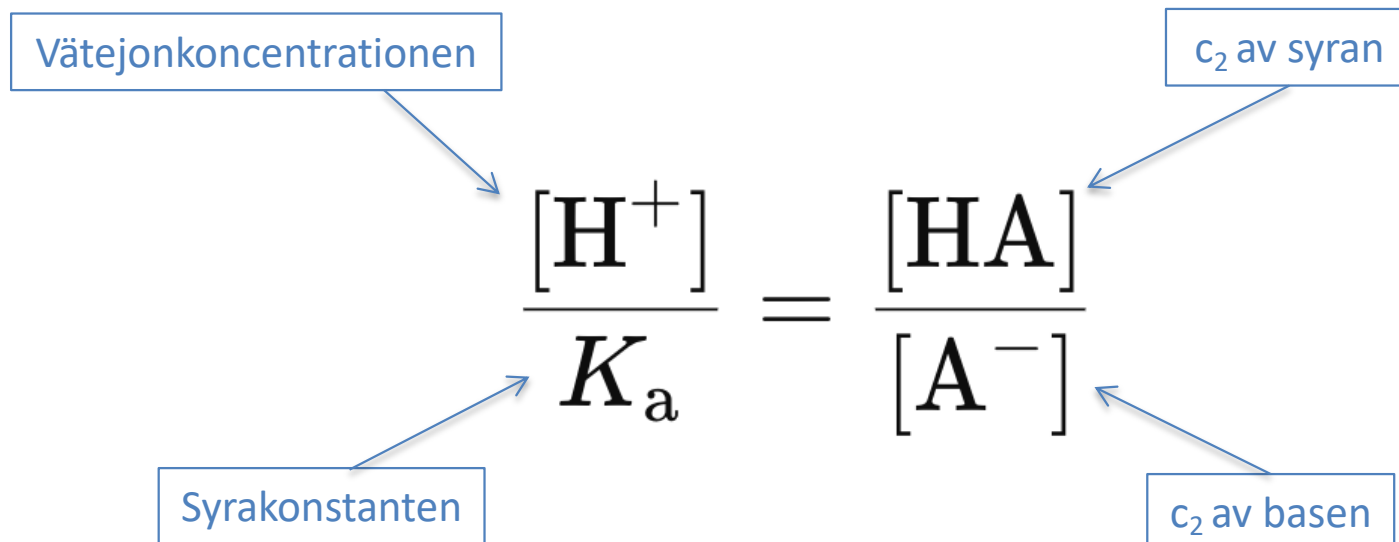
**Svar:** pH-värdet av vår buffert blir 5,23.



# Med hjälp av ”den omskrivna buffertformeln” kan vi enkelt göra en buffert med rätt pH-värde

- ✓ **Viktigt att bufferten har rätt pH-värde:** När vi bereder (tillverkar/blandar) en buffertlösning vill vi göra en buffertlösning som har ett pH-värde som är anpassat till de molekyler som vi ska laborera med. T.ex. kan ett felaktigt pH-värde (för högt eller för lågt) påverka jon- och vätebindningar mellan sidokedjorna i ett protein (p.g.a. att laddningar ändras) vilket innebär att proteinet denatureras, förlorar sin 3D-struktur och därmed också sin funktion.
- ✓ **Om vi skriver om buffertformeln så kan vi lättare göra en buffert med korrekt pH-värde:** Med hjälp av de olika varianterna av buffertformeln kan vi (som har visats tidigare) beräkna vilket pH-värde en buffert har. Men det känns som onödigt arbete om vi först ska gissa vilka värden vi ska sätta in i buffertformeln för att vi ska få rätt pH-värde på vår buffert. Det blir en massa onödiga beräkningar tills vi kommer fram till rätt proportioner mellan syran och basen. Istället kan vi skriva om buffertformeln och förenkla den en aning. Vi kan då på ett mycket enkelt sätt beräkna hur mycket vi ska tillsätta av syran resp. basen för att få det pH-värde vi vill att bufferten ska ha.

# Den omskrivna buffertformeln

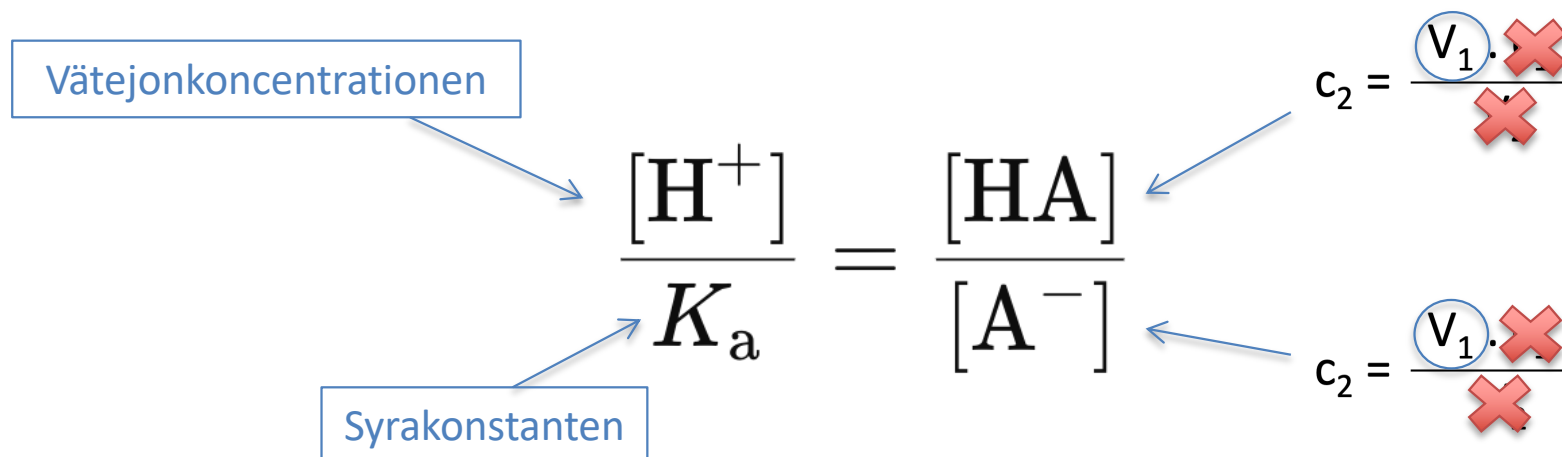


*Buffertformeln – variant 1:*

$$[\text{H}^+] = K_a \times \left( \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right)$$

- ✓ Den här omskrivna buffertformeln visar att förhållandet mellan  $[\text{H}^+]$  och  $K_a$  är lika som förhållandet mellan syrans koncentration och basens koncentration.

# Den omskrivna buffertformeln



- ✓  **$c_1$  är lika för både syran och basen** om vi utgår från stamlösningar av syran och basen som har samma koncentration, t.ex. att båda har koncentrationen 0,1 M. Mitt tips är att göra det eftersom allt blir mycket enklare då!
- ✓  **$V_2$  är lika för både syran och basen** eftersom totalvolymen efter spädningen ( $c_2$ ) blir lika för både syran och basen om vi blandar dessa med varandra.
- ✓ **Slutsats:** Det enda som skiljer mellan syran och basen är alltså  $V_1$ , vilket är den volym vi tar av syran och basen till vår buffertlösning. Detta leder oss till en ännu enklare buffertformel...

# Den omskrivna och förenklade buffertformeln; ”Volymbuffertformeln”

$$\frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{V_1(\text{syra})}{V_1(\text{bas})}$$

**OBS:**  $c_1$  måste vara lika för syran och basen för att denna formeln ska fungera.

- ✓ **Volymförhållandet mellan syran och basen:** Ovanstående formel används för att beräkna volymförhållandet mellan syran och basen när vi ska göra vår buffertlösning. Om vi delar vätejonkoncentrationen med  $K_a$ -värdet får vi ut volymförhållandet mellan syran och basen (i %). Vi vet då hur vi ska gå tillväga för att kunna göra en buffert med det avsedda pH-värdet.
- ✓ **OBS:** Denna formel fungerar dock enbart om vi utgår från stamlösningar av syran och basen med samma koncentration ( $c_1$  ska alltså vara lika för både syran och basen).

*Volymbuffertformeln = Mitt egna påhittade namn!*

# Tillvägagångssätt vid beredning av en buffert

1. **Gör stamlösningar:** Första steget är att bereda en stamlösning av en svag syra resp. en stamlösning av syrans konjugerande/korresponderande bas med samma koncentration (det blir mycket enklare då!). T.ex. en syra resp. en bas med konc.  $0,1 \text{ mol/dm}^3$ .
2. **Bestäm lämpligt pH-värde:** Vi bestämmer sedan vilket pH-värde buffertlösningen ska ha, tex. pH-värdet 4,7.
3. **Räkna ut vätejonkoncentrationen med hjälp av följande formel:**  $[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$
4. **Räkna ut volymen av syran resp. basen:** Vi räknar nu ut hur stor volym vi ska ha av syran jämfört med basen genom att använda den omskrivna och förenklade buffertformeln; "buffertlösningsformeln". Vi delar alltså vätejonkoncentrationen på  $K_a$ -värdet och multiplicerar sedan med 100. Vi får då ut i procent hur stor volym av syran vi ska ha jämfört med basen.

$$\frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{V_1(\text{syra})}{V_1(\text{bas})}$$

5. **Bestäm totalvolym och bered bufferten:** Vi bestämmer lämplig totalvolym av bufferten och räknar utifrån totalvolymen ut hur många ml vi ska ha av syran resp. av basen. Till sist blandar vi syran med basen.

## Uppgift 2:

Bered minst 500 ml acetatbuffert med pH-värdet 6,3. Utgå från stamlösningar av ättiksyra och natriumacetat som båda har konc. 0,2 M.  $K_a$  för ättiksyra är  $1,8 \cdot 10^{-5}$ . Hur stor volym ättiksyra resp. natriumacetat ska vi tillsätta till bufferten för att få rätt pH?

Lösning:

1. Vi börjar med att räkna ut den vätejonkoncentration som behövs för att få pH-värdet 6,3:

$$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}} = 10^{-6,3} = 5,01 \cdot 10^{-7} \text{ mol/dm}^3$$

2. Vi räknar nu ut hur stor procentuell volym vi ska ha av syran jämfört med basen genom att använda "buffertlösningsformeln". Vi delar då vätejonkoncentrationen på  $K_a$ -värdet:

$$\frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{V_1(\text{syra})}{V_1(\text{bas})} \rightarrow \frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{5,01 \cdot 10^{-7}}{1,8 \cdot 10^{-5}} = 0,028 = \mathbf{2,8 \%}$$

**Ovanstående betyder:** Om vi har 100 ml av basen så ska vi ha 2,8 ml av syran (= 2,8 %). Vi behöver minst 500 ml buffert i detta exempel så därför är det lämpligt att ta t.ex. 500 ml av basen och 14 ml av syran ( $500 \cdot 0,028 = 14$ ).

**Svar:** Vi blandar t.ex. 500 ml av basen och 14 ml av syran så totalvolymen blir 514 ml. Då blir pH-värdet 6,3.

# Vill vi bereda exakt 500 ml buffertlösning så kan vi göra på följande sätt:

- ✓ Vi utgår från föregående uppgift där vi kom fram till att syran ska ha en volym som motsvarar 2,8 % av basens volym (ej av totalvolymen):

Vi skriver ned vad vi känner till:

$$\text{Basens volym} = x$$

$$\text{Syrans volym} = 0,028x$$

$$\text{Totalvolym} = 500 \text{ ml}$$

$$\text{Hela bufferten} = x + 0,028x = 500 \text{ ml}$$

Vi löser ut x:

$$x + 0,028x = 500$$

$$1,028x = 500$$

$$x = 500 / 1,028 = 486,381323$$

Vi beräknar basen och syrans volym:

$$\text{Basens volym} = x = 486,4 \text{ ml}$$

$$\text{Syrans volym} = 0,028x = 0,028 \cdot 486,381323 = 13,62 \text{ ml}$$

$$\text{Total volym} = 486,4 \text{ ml} + 13,62 \text{ ml} = 500,0 \text{ ml}$$

**I praktiken:** Överför med en mikropipett 13,62 ml av syran till en 500 ml mätkolv, tillsätt sedan basen direkt i mätkolven upp till 500 ml-strecket.

## Alla formler

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$[\text{H}^+] = K_a \times \left( \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \left( \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \right)$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \left( \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$$

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

$$\text{p}K_a = -\log K_a$$

$$\frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\frac{[\text{H}^+]}{K_a} = \frac{V_1(\text{syra})}{V_1(\text{bas})}$$





**Se gärna fler filmer på:**  
[kemilektioner.se](http://kemilektioner.se)  
[youtube.com/kemilektioner](https://youtube.com/kemilektioner)