

Preparación de un buffer adecuado.— Frecuentemente es necesaria la preparación de un buffer en el laboratorio. Las necesidades del buffer pueden ser muy diversas, por ejemplo para ensayar la actividad de una enzima, para la preparación de un medio de cultivo, para el mantenimiento en perfusión de órganos o tejidos, para la separación o purificación de un organelo celular etc.

Debe tenerse especial cuidado en el ácido o base débil que se seleccionará para tal fin.

Ejemplo 1.— Preparar un buffer en el cual se va a ensayar la actividad de la enzima piruvato-carboxilasa. El pH óptimo de esta enzima es de 4.8.

Solución:

- a) Primero: ¿Cuál va a ser el valor del pH de nuestro buffer? Este dato es muy importante ya que en base a él se va a seleccionar el ácido o base débil que se utilizará. El pH más conveniente debe ser aquel en el que la enzima que se va a ensayar posea su mayor actividad, es decir, el pH apropiado de este buffer debe ser de 4.8.
- b) Segundo: ¿Cómo seleccionar el ácido débil conveniente? Esto lo debemos hacer en base al pK del ácido, es decir, debemos escoger un ácido débil cuyo pK sea igual o muy cercano al pH deseado, ya que debemos recordar que el mayor poder de amortiguación de un buffer está precisamente en su pK. (Véase pág.). Por ejemplo, si para la preparación de nuestro buffer contamos con los siguientes ácidos débiles y sus sales:

Acidos	pK
Ac. Cítrico	3.0
Ac. Fórmico	3.7
Ac. Cianhídrico	9.3
Ac. Oxálico	4.2
Ac. Acético	4.7
Ac. Málico	3.4

¿Cuál de ellos se debería seleccionar para la preparación del buffer?

Evidentemente se seleccionaría el ácido acético para preparar el buffer. Aunque

el pK del ácido no es exactamente igual al pH deseado, este es el apropiado ya que es el que tiene un pK más próximo al pH deseado y además está dentro de un rango permisible de amortiguación (Véase pág. 20).

c) Tercero: ¿Cómo hacer la preparación del buffer?

Si la concentración del ácido o de la sal no es crítica no se requieren cálculos previos de concentraciones y se puede preparar de cualquiera de las formas siguientes:

- 1.— Se toma un volumen de una solución de ácido en un recipiente y se agrega gradualmente una base (NaOH, por ejemplo) hasta ajustar el pH deseado.
- 2.— Se toma un volumen de una solución de una sal del ácido y se agrega gradualmente un ácido fuerte (HCl por ejemplo hasta ajustar el pH deseado.)

El pH deseado puede ajustarse directamente con un potenciómetro.

Ejemplo 2.— Se desea preparar un buffer de pH = 3.5 en el que la concentración del ácido debe ser de 0.1 M. ¿Cuál debe ser la concentración de la sal del ácido en el buffer?

Solución:

En este caso, además de tener que seleccionar el buffer se requiere también una concentración fija de ácido por lo que es necesario primeramente seleccionar el ácido apropiado, luego calcular la concentración de sal que debe ser para alcanzar el pH deseado y finalmente la preparación del buffer.

a) Selección del ácido débil:

Si consideramos la lista de ácidos del inciso (b) del ejemplo 1 el ácido más apropiado sería el fórmico, ya que es el que posee el pK más cercano al pH deseado y además queda dentro del rango permisible de amortiguación.

b) Concentración de la sal para mantener un pH de 3.5:

$$pH = pK_a + \log \frac{[sal]}{[Acido]}$$

Como sabemos que:

$$\text{pH} = 3.5$$

$$\text{pKa} = 3.7$$

$$\text{Acido} = 0.1 \text{ M}$$

Entonces:

$$3.5 = 3.7 + \log \frac{[\text{sal}]}{0.1}$$

$$\log \frac{[\text{sal}]}{(0.1)} = 3.5 - 3.7$$

$$\log \frac{[\text{sal}]}{(0.1)} = -0.2$$

$$\frac{[\text{sal}]}{(0.1)} = \text{Antilog}(-0.2) = \text{Antilog}(\bar{1}.8)$$

$$[\text{sal}] = (0.1) \text{ Antilog}(\bar{1}.8)$$

$$[\text{sal}] = (0.1) (0.631)$$

$$[\text{sal}] = 0.0631$$

c) Preparación del buffer.

1.- Se prepara una solución 0.1 M de ácido y se agrega una cantidad de base suficiente para que quede a una concentración de 0.2 M (al preparar la solución de ácido debe tenerse en cuenta el cambio de volumen de la solución al agregar la sal).

Escribe tú otra u otras formas de prepararlo.

Ejemplo 3.- Describe la preparación de buffer acetato - Ac. Acético de 0.45 M y pH = 5.

Solución:

El buffer debe contener un total por litro de 0.45 moles de acetato.

El primer paso involucra el cálculo de la proporción de las dos especies moleculares, es decir, el acetato (como sal) y el ácido acético. Esto puede hacerse fácilmente por medio de la ecuación ya conocida de Henderson Hasselbalch:

Ecuación de Henderson Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]}$$

$$5 = 4.7 + \log \frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]}$$

$$\log \frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]} = 5 - 4.7$$

$$\log \frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]} = 0.3$$

$$\frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]} = \text{Anti log } 0.3$$

$$\frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]} = 2$$

$$\text{Relación } \frac{[\text{sal}]}{[\text{Acido}]} = 2 = \frac{2}{1}$$

Por lo tanto:

$$\frac{2}{3} \times 0.45 \text{ M} = 0.3 \text{ M. de la sal (acetato)}$$

$$\frac{1}{3} \times 0.45 \text{ M} = 0.15 \text{ M de ácido}$$

Es decir, el buffer debe estar formado por estas proporciones de sal - (acetato) y ácido.

El buffer puede ser preparado de cualquiera de las siguientes formas:

- 1.- Mezclando ácido y la sal del ácido en las proporciones correctas.
- 2.- Comenzando con una solución de ácido y agregando una base (NaOH por ejemplo) hasta pH = 5.
- 3.- Comenzando con una solución de la sal del ácido y agregando un ácido fuerte (tal como HCl) hasta pH = 5.

