

Relatório — Soluções Tampão

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Universidade Nova de Lisboa

Turma 8

2 de Fevereiro de 2009

Conteúdo

1	Introdução Teórica	2
2	Objectivo	5
3	Materiais e Reagentes	6
3.1	Materiais	6
3.2	Reagentes	6
4	Métodos	6
4.1	Grupo 1	6
4.2	Grupo 2	6
4.3	Grupo 3	7
4.4	Grupo 4	7
5	Resultados	7
5.1	Grupo 1 (água+ácido)	7
5.2	Grupo 2 (tampão+ácido)	8
5.3	Grupo 3 (água+base)	8
5.4	Grupo 4 (tampão+base)	9
6	Discussão/ Crítica	10
7	Conclusão	10
8	Bibliografia	11

1 Introdução Teórica

Neste trabalho pretende-se determinar a capacidade tampão de uma solução tampão de fosfato, cujo pH é aproximadamente 7,2 (Weisse-Merck), através da adição de ácido (H_2SO_4) e base ($NaOH$) fortes. Tem-se por objectivo também a comparação da capacidade tampão desta solução com a da água.

A manutenção do equilíbrio ácido-base é de importância fulcral para o bom funcionamento do organismo. Por esta razão, torna-se fundamental referir e apreender alguns conceitos necessários à compreensão deste trabalho.

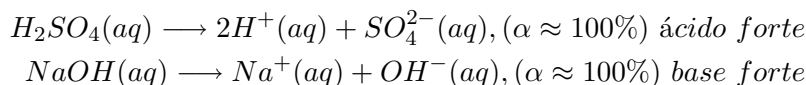
Entende-se por pH de uma solução, o logaritmo negativo da concentração de H^+ :

$$pH = -\log[H^+]$$

Assim, para calcular o pH de uma solução é necessário conhecer a concentração de H^+ . Se o electrólito for forte (ionização completa), o cálculo é directo. No entanto, se os electrólitos forem fracos (grande parte das soluções fisiológicas), para o cálculo do pH é necessário considerar o valor da constante de dissociação.

Define-se, de acordo com Brönsted-Lowry (1923), um ácido como sendo uma espécie química que tem tendência a ceder protões, isto é, iões H_3O^+ (este hidrogenião forma-se uma vez que a existência de H^+ independente é utópica, dando-se a sua ligação por covalência dativa a uma molécula de água) e uma base como uma substância que tem apetência para a captação de protões. A teoria até então patente para caracterizar ácidos e bases era a de Arrhenius (1887) que classificou como ácido qualquer substância capaz de originar iões H^+ e a base como um composto capaz de fornecer iões hidróxido.

Deste modo, os reagentes que utilizados nesta experiência são:



Tanto os ácidos como as bases podem ser fortes ou fracos. A diferença reside na sua maior ou menor ionização. O grau de ionização de um ácido fraco (HA) depende da concentração de iões hidrogénio livres. Este facto pode ser expresso na forma da equação de Henderson-Hasselbalch (1). Esta equação mostra que quanto maior a concentração da base conjugada, maior será o pH.

$$pH = pKa + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \quad (1)$$

O bom desempenho funcional de um organismo depende de todo um conjunto complexo de reacções bioquímicas. Para que estas reacções ocorram

sem qualquer anomalia, evitando problemas que podem levar a patologias graves, é necessário que estas reacções tenham lugar num meio cujas condições sejam favoráveis.

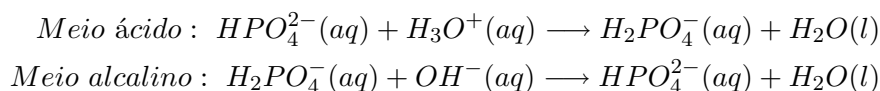
Para evitar variações notórias de pH, assegurando deste modo um meio propício para o bom funcionamento orgânico (já que a ocorrência de variações de pH poderá afectar a conformação de proteínas e, consequentemente a actividade enzimática, assim como poderá provocar o deslocamento das reacções que envolvem o consumo e a produção de H^+), é necessária a existência de vários **sistemas tampão**. Consideram-se tampões biológicos substâncias que, sendo constituídas por um ácido fraco e um sal composto pela sua base conjugada, por adição de ácido ou base fortes, têm a capacidade de neutralizar grande parte dos iões H_3O^+ e OH^- , fazendo com que a variação de pH não seja muito evidente.

Os **principais tampões biológicos** do organismo humano são:

Hemoglobina pigmento respiratório do ser humano, possui apetência para controlar o H^+ produzido no transporte de CO_2 ;

Ácido carbónico/bicarbonato de sódio é o tampão mais importante a nível plasmático e no líquido intersticial. O componente ácido é o CO_2 , já que reage com a água, originando, na presença da anidrase carbónica, o ácido carbónico (ácido fraco). Por sua vez, este último, ioniza-se, originando iões H^+ e HCO_3^- . Por adição de iões hidróxido (resultantes da adição de uma base forte) ou de hidrogénios (resultantes da adição de um ácido forte), estes vão reagir respectivamente com o H_2CO_3 e com o HCO_3^- , de forma a neutralizar o seu efeito, não se alterando o pH;

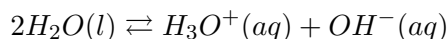
Fosfato monossódico/fosfato dissódico é um tampão existente no rim. O pH do meio não se altera por adição de bases fortes, na medida em que se forma sal e água. Por outro lado, se se adicionar um ácido forte, forma-se sal fraco e o pH não varia consideravelmente. Uma vez que a experiência em causa utiliza este tampão, vamos debruçar-nos sobre as reacções químicas de tamponamento:



Proteínas em geral existentes nas células e no plasma, podem ser consideradas tampões já que são moléculas anfipróticas ou anfotéricas, por serem constituídas por um terminal amina e um grupo carboxílico na extremidade oposta. Deste modo, quando se adiciona uma base forte,

formam-se proteinatos com radicais aniónicos, já que o grupo carboxílico cede o seu protão e, quando se adiciona um ácido forte, o terminal amina capta protões, formando-se proteinatos com radicais catiónicos.

Por outro lado, a água é uma espécie que sofre autoionização:



O K_w da água é 10^{-14} , pelo que a 25°C a concentração de hidrogeniões e hidroxilos é igual e tem o valor de 10^{-7}M .

A água é uma espécie química cujo contributo para a manutenção do pH ou pelo menos resistência à alteração deste é mínimo, à excepção dos raros casos em que o ácido é diluído até apresentar concentração de H^+ de ordem dos 10^{-8} ou menos. Isto é, se tivermos que calcular o pH duma solução HCl de concentração $6,5 \times 10^{-8}\text{M}$, por exemplo, este não será $\log(6,5 \times 10^{-8}) = 7,19$, mas sim $\log(10^{-7} + 6,5 \times 10^{-8}) = 6,78$, pois uma vez que a concentração dos hidrogeniões na água é maior, teremos que os incluir no cálculo. Mesmo assim, a água não se pode considerar um tampão pois as suas capacidades de resistir a alterações de pH são muitíssimo inferiores às dos tampões acima referidos.

Deste modo, é fácil concluir que, no âmbito desta experiência, as quantidades de ácido e de base a adicionar à solução tampão vão ser muito superiores às que se acrescentam à água para que se verifique a variação de uma unidade de pH. Isto significa que a **capacidade tampão** (número de equivalentes grama de ácido ou de base necessários adicionar a 1L de solução tampão para que o pH varie uma unidade) da solução de fosfato é muito superior à da água.

Torna-se importante salientar que a capacidade tampão é máxima (neutralização de bases) quando a concentração do sal que contém a base conjugada do ácido é 10 vezes superior à do último. Explica-se este facto pela própria equação de Henderson-Hasselbalch: para que a variação do pH seja de 1, então

$$\Delta pH = \Delta pKa + \Delta \log\{([A^-]/[HA])\} = 1$$

Como pKa é constante em reacções isotérmicas, então $\Delta pKa = 0$, de onde resulta que $\Delta \log([A^-]/[HA]) = 1$, como se trata de logaritmo decimal, deduz-se que a concentração da base conjugada aumentou 10 vezes em relação à concentração do ácido. A mesma linha de ideias conduz à conclusão que a capacidade mínima tampão, isto é, capacidade para tamponar ácidos, é de $pKa - 1$.

Para se efectuarem medições de pH utilizam-se aparelhos denominados por **medidores de pH**. Estes têm o seu funcionamento baseado em reacções que ocorrem entre os eléctrodos e a solução a analisar. Um **eléctrodo** é constituído por um fio metálico emerso numa solução com os seus iões

(electrólitos) e, da sua reacção com a solução em causa, gera-se uma diferença de potencial (ddp). Esta só é detectável se for utilizado um eléctrodo de referência (com um potencial conhecido) que funciona como termo de comparação.

Os **eléctrodos de referência** são, por este motivo, indispensáveis ao funcionamento dos medidores de pH. O ideal é o eléctrodo de hidrogénio, ao qual é atribuído um potencial nulo. No entanto, o seu manuseamento e manutenção são muito rigorosos, sendo de mais utilizado o eléctrodo de calomelanos. Este é composto por um fio de platina mergulhado numa pasta de mercúrio e cloreto mercurioso (calomelanos), que estão, por sua vez, emersos numa solução saturada de cloreto de potássio (KCl). Outro exemplo é o eléctrodo de prata/cloreto de prata.

Assim, para a determinação do pH da solução, é necessário avaliar a extensão da sua reacção com um eléctrodo de vidro, tendo como base o potencial do eléctrodo de referência usado (neste caso, eléctrodo de calomelanos).

Embora não seja o objectivo deste trabalho prático explorar pormenorizadamente os fenómenos subjacentes às alterações no equilíbrio ácido-base, é importante referir os princípios mais básicos destas.

Na clínica, as alterações do equilíbrio ácido-base podem ser detectadas pela determinação do pH sanguíneo, pressão de CO_2 e teor de bicarbonato. Associa-se à **acidose respiratória** a um aumento absoluto ou relativo da pressão de CO_2 sanguíneo:



Por outro lado, a alcalose respiratória resulta da diminuição absoluta ou relativa da pressão de CO_2 .

As alterações no pH metabólico resultam da acumulação/depleção de ácidos fixos ou então da diminuição/aumento na concentração de HCO_3^- no sangue, são respectivamente **acidose** e **alcalose metabólica**.

2 Objectivo

Pretende-se determinar a capacidade tampão de uma solução específica (tampão fosfato) e de água destilada, perante a adição de um ácido forte (H_2SO_4) e de uma base forte (NaOH). Posteriormente proceder-se-á à comparação entre a capacidade tampão da água destilada e da solução específica e sua interpretação com base nos conhecimentos teóricos subjacentes ao conceito de sistema tampão.

3 Materiais e Reagentes

3.1 Materiais

Pipeta de 5 mL

Provetas de 25 mL ou volume superior

Copos graduados de 50 mL

Esguicho com água destilada

Medidor de pH (Hanna Instruments; pH209 pHmeter)

3.2 Reagentes

Tampão fosfato pH = 7,2 (Weise-Merk)

Solução 0,005 M de ácido sulfúrico

Solução 0,05 M de hidróxido de sódio

Tampões de calibração para uso exclusivo do docente

4 Métodos

4.1 Grupo 1

1. Colocou-se num copo graduado 25 mL de água, com ajuda de uma proveta.
2. Mediu-se o pH da água.
3. Adicionou-se ao copo contendo a água, com auxílio de uma micropipeta, uma pequena quantidade de ácido sulfúrico.
4. Mediu-se o pH da solução de água mais ácido sulfúrico.

4.2 Grupo 2

1. Colocou-se num copo graduado 25 mL da solução tampão fornecida, com ajuda de uma proveta.
2. Mediu-se o pH do tampão.
3. Adicionou-se ao copo contendo o tampão, com auxílio de uma micropipeta, uma pequena quantidade de ácido sulfúrico.
4. Mediu-se o pH da solução de água mais ácido sulfúrico.

4.3 Grupo 3

1. Colocou-se num copo graduado 25 mL de água, com ajuda de uma proveta.
2. Mediu-se o pH da água.
3. Adicionou-se ao copo contendo a água, com auxílio de uma micropipeta, uma pequena quantidade de Hidróxido de sódio.
4. Mediu-se o pH da solução de água mais hidróxido de sódio.

4.4 Grupo 4

1. Colocou-se num copo graduado 25 mL da solução tampão fornecida, com ajuda de uma proveta.
2. Mediu-se o pH do tampão.
3. Adicionou-se ao copo contendo o tampão, com auxílio de uma micropipeta, uma pequena quantidade de Hidróxido de sódio.
4. Mediu-se o pH da solução de água mais hidróxido de sódio.

Nota: Antes de se realizarem quaisquer medições de pH com o sensor, este foi calibrado com tampões de referência supracitados nos reagentes. Previamente à realização de medições de pH em diferentes soluções, o sensor foi lavado com água destilada.

5 Resultados

5.1 Grupo 1 (água+ácido)

	H ₂ O	H ₂ O+1mL	H ₂ O+2mL	H ₂ O+3mL	H ₂ O+4mL
pH	4,68	2,81	2,74	2,6	2,5
Variação de pH		1,87	1,94	2,08	2,18

$$M(H_2SO_4) = 98g/mol$$

$$1ml \text{ — } 1,87(pH)$$

$$x \text{ — } 1$$

$$x = 0,53ml$$

$$1mol \text{ — } 98g$$

$$0,005mol \text{ — } x$$

$$x = 0,49g$$

$$\begin{aligned}
1000\text{ml} &= 0,49\text{g} \\
0,53\text{ml} &= x \\
x &= 2,6 \times 10^{-4}\text{g}
\end{aligned}$$

$$1\text{Eqg}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 98\text{g}/2 = 49\text{g}$$

$$\begin{aligned}
1\text{Eqg} &= 49\text{g} \\
x &= 2,6 \times 10^{-4}\text{g} \\
x &= 5,3 \times 10^{-6}\text{Eqg} \\
5,3 \times 10^{-6}\text{g} &= 25\text{ml} \\
x &= 1000\text{ml} \\
X &= 2,12 \times 10^{-4}\text{Eqg/L}
\end{aligned}$$

5.2 Grupo 2 (tampão+ácido)

		Tampão			
		+ 1mL	+ 2mL	+ 3mL	+ 4mL
pH	7,2	6,75	6,71	6,72	6,5
Variação de pH		0,45	0,49	0,48	0,67

$$\begin{aligned}
4\text{ml} &= 0,67 \\
x &= 1 \\
x &= 5,97\text{ml} \\
1000\text{ml} &= 49\text{g} \\
5,97\text{ml} &= x \\
x &= 0,29\text{g}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
1\text{Eqg} &= 49\text{g} \\
x &= 0,29\text{g} \\
X &= 5,9 \times 10^{-3}\text{Eqg} \\
25\text{ml} &= 5,9 \times 10^{-3}\text{Eqg} \\
1000\text{ml} &= x \\
x &= 0,236\text{Eqg/L}
\end{aligned}$$

5.3 Grupo 3 (água+base)

	H ₂ O	H ₂ O+1mL	H ₂ O+2mL	H ₂ O+3mL	H ₂ O+4mL
pH	5,66	10,23	11,14	11,19	11,38
Variação de pH		4,57	5,48	5,53	5,72

$$M(NaOH) = 40g/mol$$

$$1ml \text{ --- } 4,57$$

$$x \text{ --- } 1$$

$$x = 0,22ml$$

$$1mol \text{ --- } 40g$$

$$0,05mol \text{ --- } x$$

$$x = 2g$$

$$1000ml \text{ --- } 2g$$

$$0,22ml \text{ --- } x$$

$$x = 4,4 \times 10^{-4}g$$

$$1Eqg(NaOH) = 40g$$

$$1Eqg \text{ --- } 40g$$

$$x \text{ --- } 4,4 \times 10^{-4}g$$

$$x = 1,1 \times 10^{-5}Eqg$$

$$25ml \text{ --- } 1,1 \times 10^{-5}Eqg$$

$$1000ml \text{ --- } x$$

$$x = 4,4 \times 10^{-4}Eqg/L$$

5.4 Grupo 4 (tampão+base)

		Tampão			
		+ 1mL	+ 2mL	+ 3mL	+ 4mL
pH	7,2	7,01	8,76	10,8	11,2
Variação de pH			1,56	3,64	

$$2ml \text{ --- } 1,56$$

$$x \text{ --- } 1$$

$$x = 1,28ml$$

$$1000ml \text{ --- } 2g$$

$$1,28ml \text{ --- } x$$

$$x = 2,56 \times 10^{-3}g$$

$$1Eqg \text{ --- } 40g$$

$$x \text{ --- } 2,56 \times 10^{-3}g$$

$$x = 6,4 \times 10^{-5}Eqg$$

$$25ml \text{ --- } 6,4 \times 10^{-5}Eqg$$

$$1000ml \text{ --- } x$$

$$x = 2,56 \times 10^{-3}Eqg/L$$

6 Discussão/ Crítica

Aos resultados obtidos devem estar associados diversos tipos de erros que, apesar de não afectarem as conclusões finais, colocam em causa certos valores obtidos.

Ao longo do procedimento, tomámos medidas para reduzir o erro nas medições efectuadas, nomeadamente a lavagem do eléctrodo com o objectivo de não contaminar as diferentes soluções e, consequentemente alterar as leituras.

No entanto, os dados poderão não ser muito precisos, devido ao facto de adicionarmos sucessivamente pequenas quantidades de ácido ou base à solução preexistente, o que implica um maior número de medições e consequentemente o aumento do número de possíveis erros introduzidos.

Analizando criticamente os resultados, verificou-se que o pH inicial da água nos tubos 1 e 3 é diferente, quando deveria ser igual, tratando-se da mesma substância. À semelhança destes valores, o mesmo acontece nos tubos 2 e 4, com a solução tampão. Estes resultados discordantes, permitem-nos antever algum erro no procedimento ou, mais provavelmente, algum problema na manipulação do medidor de pH.

Os resultados, embora não estando precisa e rigorosamente correctos, deixam antever uma clara conclusão: a solução tampão apresenta uma maior capacidade tampão relativamente à água.

7 Conclusão

Apesar de não possuírmos valores exactos que nos permitam determinar com precisão a capacidade tampão da água e do tampão para cada uma das situações, verificamos que as variações de pH por adição de ácido ou base foram maiores na água que no tampão.

Assim pudemos concluir que, para além de serem mais resistentes à adição de ácidos do que de bases, os tampões têm uma capacidade de resistência a variações de pH superior à da água (maior capacidade de tampão).

Da análise dos resultados obtidos verificou-se não ser possível determinar a capacidade tampão das soluções utilizadas uma vez que as variações de pH foram sempre diferentes de 1. Como a capacidade tampão de uma solução consiste no número de equivalentes ácidos ou básicos necessários para alterar em uma unidade o pH de 1L de solução, podemos apenas constatar que ao contrário da água, as soluções utilizadas apresentam resistência às variações de pH por adição de pequenas quantidades de ácido forte ou base forte, pelo que podem ser consideradas soluções tampão.

Na solução tampão em que adicionámos ácido forte, verificou-se que a variação de pH era, para qualquer volume que foi adicionado, inferior a um. O mesmo acontecia para a solução tampão a que adicionamos base forte. Já

ao adicionar-se à água 1 mL de H_2SO_4 verificou-se uma variação de pH de 3,76 e ao adicionar-se 1 mL de NaOH verificou-se uma variação de pH de 4,29. Como o pH da água varia muito mais que uma unidade não a podemos considerar uma solução tampão.

8 Bibliografia

- Manual das Aulas Práticas, Bioquímica I; 2002-2003;
- Murray, Robert K., et al, 'Harpers Illustrated Biochemistry' 27th Ed., McGraw Hill;
- RODRIGUES, Pedro Orlando e MORAIS, Maria da Graça Bioquímica Humana, Química Orgânica e Física McGraw Hill; 1a edição; Junho de 2002, Portugal