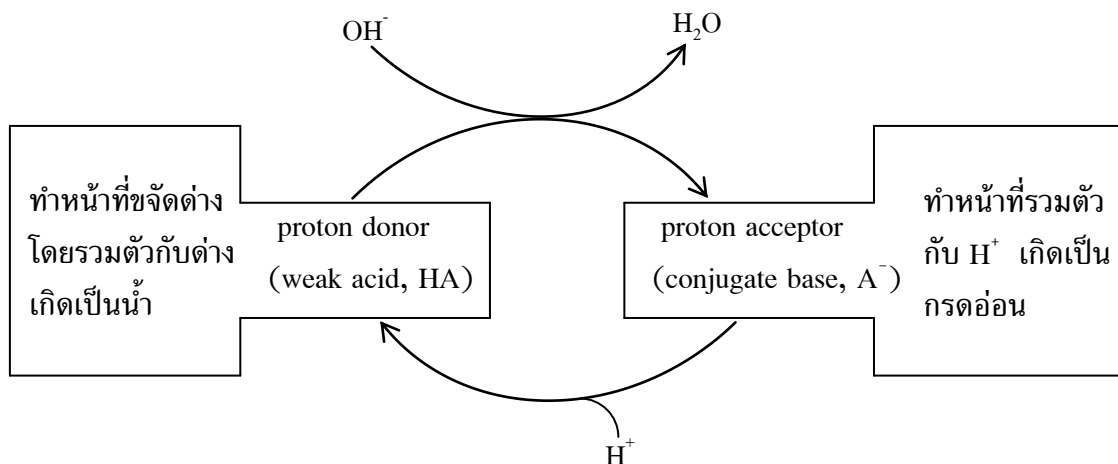


- วัตถุประสงค์
1. เพื่อให้มีความเข้าใจถึงองค์ประกอบและการทำงานของบัฟเฟอร์
 2. สามารถเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชและความเข้มข้นตามที่ต้องการได้
 3. ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพความเป็นบัฟเฟอร์
 4. รู้จักวิธีการหาค่า pK_a ของกรดอ่อน

การควบคุมระดับความเป็นกรด - ด่างภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตให้มีระดับที่เหมาะสมเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต ระดับความเป็นกรด-ด่างซึ่งวัดได้เป็นค่าพีเอช (pH) จะต้องรักษาให้คงที่หรือเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ๆ เพื่อช่วยการทำงานของระบบต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต เช่น การทำงานของเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่าง ๆ การจับกับออกซิเจนของเฮโมโกลบิน เป็นต้น ให้ดำเนินไปได้อย่างปกติและมีประสิทธิภาพสูงสุด สิ่งมีชีวิตจึงต้องมีระบบบัฟเฟอร์เพื่อต่อต้านการเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อาจเกิดขึ้นภายในเซลล์ บัฟเฟอร์ที่มีบทบาทในสิ่งมีชีวิต ได้แก่ ฟอสเฟต ไบคาร์บอเนต และโปรตีน

บัฟเฟอร์ คือ สารละลายที่สามารถต่อต้านการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด - ด่าง เมื่อเติมกรดหรือด่างปริมาณเล็กน้อยลงไป ในสารละลายบัฟเฟอร์ประกอบด้วยกรดอ่อน ซึ่งเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ให้โปรตอน (proton donor) และคู่เบสของกรดอ่อนนั้น (conjugate base) ซึ่งเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่รับโปรตอน (proton acceptor) ทั้งสององค์ประกอบมีการทำงานที่สรุปได้ดังนี้



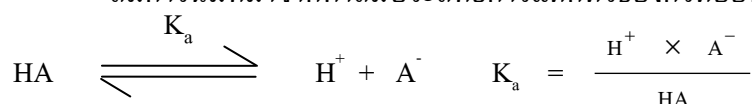
น้ำหรือกรดอ่อนที่เกิดขึ้น มีผลทำให้พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เปลี่ยนแปลงน้อยมาก น้ำมีค่าการแตกตัว (K_w) น้อยมากเท่ากับ 10^{-14} การแตกตัวเป็น H^+ มีปริมาณที่น้อยมาก ส่วนกรดอ่อนแม้ว่าจะแตกตัวเป็น H^+ ได้อีก แต่การแตกตัวนั้นต้องเป็นไปตามค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (K_a) ของกรดนั้น H^+ จึงมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

การที่จะเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ได้นั้นต้องอาศัยสมการที่สำคัญสมการหนึ่งๆ ที่เรียกว่า **สมการ Henderson – Hasselbalch** ซึ่งมีรูปสมการดังนี้

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{conjugate base (proton acceptor)}]}{[\text{weak acid (proton donor)}]}$$

สมการนี้มีที่มาจากค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัวของกรดอ่อน (K_a)



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

$$= \log [\text{H}^+] + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (\text{จากความสัมพันธ์ที่ว่า } \log xy = \log x + \log y)$$

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

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

$$(\text{pH} = -\log [\text{H}^+] \text{ และ } \text{pK}_a = -\log K_a)$$

ในสมการจะระบุว่า พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ขึ้นอยู่กับค่า pK_a ของกรดอ่อน ดังนั้น การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอชใดพีเอชหนึ่ง สิ่งที่ต้องพิจารณาคือ การเลือกชนิดกรดอ่อน ซึ่งต้องมีค่า pK_a ใกล้เคียงกับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ต้องการเตรียม ค่า pK_a นี้บ่งบอกถึงความแรงของกรด กรดอ่อนที่มีค่า K_a สูงจะมีการแตกตัวดีกว่าและเป็นกรดที่แรงกว่ากรดอ่อนที่มีค่า K_a ต่ำ กรดอ่อนบางชนิดสามารถแตกตัวให้ H^+ ได้หลายครั้ง เราเรียกรวมพวกนี้ว่า กรดหลายโปรตอน (**polyprotic acid**) เช่น กรดฟอสฟอริก ค่า pK_a ของสารบางชนิดได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

เมื่อได้ชนิดของสารที่ใช้เตรียมบัฟเฟอร์แล้ว ลำดับต่อมาที่ต้องพิจารณาคือ การปรับอัตราส่วนของ conjugate base : กรด หรือ $[\text{A}^-]/[\text{HA}]$ ให้ได้พีเอชที่ต้องการโดยอาศัยสมการ Henderson – Hasselbalch อัตราส่วนของ conjugate base : กรด ที่จะให้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีสมบัติต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ระหว่าง 1/10–10/1 กล่าวได้ว่าบัฟเฟอร์ชนิดหนึ่งๆ จะมีช่วงพีเอชที่แสดงคุณสมบัติการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอช เท่ากับ $\text{pK}_a \pm 1$ ตัวอย่างเช่น แอซีเตทบัฟเฟอร์ที่เตรียมโดยใช้ค่า pK_a ของกรดแอซีติก สามารถใช้เตรียมบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชอยู่ระหว่าง 3.8 – 5.8 เท่านั้น พ้นจากช่วงพีเอชนี้ไปแล้ว สารละลายที่เตรียมขึ้นไม่ถือว่าเป็นสารละลายบัฟเฟอร์แต่อย่างใด เนื่องจากปริมาณกรดอ่อนหรือ

conjugate base มีไม่เพียงพอต่อการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชต่อการเติมกรดหรือด่าง เมื่อพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมขึ้นมีค่าเท่ากับ pK_a ของกรดอ่อนที่ใช้เตรียมนั้น หรือความเข้มข้นของกรดอ่อนเท่ากับความเข้มข้นของ conjugate base สารละลายบัฟเฟอร์นี้มีประสิทธิภาพในการต่อต้านการเปลี่ยนแปลงพีเอชสูงสุด

ตารางที่ 1 ค่า pK_a ของกรดอ่อนบางชนิด

| | pK_{a1} | pK_{a2} | pK_{a3} |
|--|-----------|-----------|-----------|
| กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) | | | |
| จากการแตกตัวครั้งที่ 1 $H_3PO_4 \longrightarrow H^+ + H_2PO_4^-$ | 2.1 | | |
| จากการแตกตัวครั้งที่ 2 $H_2PO_4^- \longrightarrow H^+ + HPO_4^{2-}$ | | 6.8 | |
| จากการแตกตัวครั้งที่ 3 $HPO_4^{2-} \longrightarrow H^+ + PO_4^{3-}$ | | | 12.3 |
| กรดคาร์บอนิก | | | |
| จากการแตกตัวครั้งที่ 1 $H_2CO_3 \longrightarrow H^+ + HCO_3^-$ | 6.4 | | |
| จากการแตกตัวครั้งที่ 2 $HCO_3^- \longrightarrow H^+ + CO_3^{2-}$ | | 10.3 | |
| ไกลซีน (H_2NCH_2COOH) | | | |
| จากการแตกตัวของ $H_3^+NCH_2COOH \longrightarrow H^+ + H_3^+NCH_2COO^-$ | 2.4 | | |
| จากการแตกตัวของ $H_3^+NCH_2COO^- \longrightarrow H^+ + H_2NCH_2COO^-$ | | 9.6 | |
| กรดแอสติค | | | |
| จากการแตกตัว $CH_3COOH \longrightarrow H^+ + CH_3COO^-$ | 4.8 | | |

ประสิทธิภาพในการต่อต้านการเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer capacity) นอกจากจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของ conjugate base (proton acceptor) ต่อกรดอ่อน (proton donor) แล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของ proton donor และ proton acceptor ที่รวมอยู่ในบัฟเฟอร์นั้น หรืออีกนัยหนึ่งคือ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ ซึ่งเท่ากับผลรวมความเข้มข้นของ conjugate base และความเข้มข้นของกรดอ่อน โดยที่ประสิทธิภาพการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของบัฟเฟอร์

พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ยังขึ้นอยู่กับความแรงไอออน (ionic strength) และอุณหภูมิ โดยแท้ที่จริงแล้วสมการ Henderson – Hasselbalch มีรูปสมการที่ถูกต้องดังนี้คือ

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

ซึ่งต้องมีการคูณค่า activity coefficient, γ ของทั้งกรดอ่อนและ conjugate base เข้าไปด้วย การละทิ้งเสียซึ่งค่า γ นี้ ซึ่งทำนายถึงค่าพีเอชของบัฟเฟอร์จะผันแปรกับความแรงไอออน ทำให้บางครั้งค่าพีเอชที่ได้

จากการคำนวณไม่ตรงกับค่าพีเอชที่วัดได้ การเติมเกลือ เช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์ หรือการเปลี่ยนแปลง ปริมาตรของบัฟเฟอร์จะทำให้พีเอชของบัฟเฟอร์เปลี่ยนแปลงไป ผลกระทบนี้มีมากเมื่อเป็นพวกที่มีประจุ สูง เช่น ซิเตรท และฟอสเฟต การเจือจางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.6 จาก 0.5 โมลาร์ ไปเป็น 0.05 โมลาร์ พีเอชจะเพิ่มเป็น 6.9 บัฟเฟอร์ส่วนใหญ่ยังแสดงถึงความสัมพันธ์ของค่า pK_a ที่ขึ้นกับอุณหภูมิ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับทริสบัฟเฟอร์ (Tris buffer) บัฟเฟอร์ชนิดนี้มีการเปลี่ยนแปลงประมาณ -0.03 หน่วย pK_a / องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 25°C วัดค่าพีเอชได้เป็น 8.08 จะเพิ่มเป็นประมาณ 8.7 ที่ 4°C และ ลดลงเป็นประมาณ 7.7 ที่ 37°C ข้อมูลปัจจัยเหล่านี้ที่มีผลต่อพีเอชของบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ หาและ ศึกษาเพิ่มเติมได้จากหนังสือประเภท Handbook of Biochemistry ทั่ว ๆ ไป

ตัวอย่างการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

ขั้นที่ 1 คำนวณหาความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ทำหน้าที่รับโปรตอนและความเข้มข้นขององค์ประกอบ ที่ทำหน้าที่ให้โปรตอน

ตัวอย่าง การเตรียมแอสีเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์พีเอช 4.9 จำนวน 500 มิลลิลิตร จากสมการ Henderson - Hasselbalch

$$pH = pK_a + \log \frac{\text{conjugate base}}{\text{weak acid}}$$

องค์ประกอบในแอสีเตทบัฟเฟอร์ ได้แก่

CH_3COOH ซึ่งเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ให้โปรตอน มีค่า $pK_a = 4.76$

CH_3COO^- ซึ่งได้จากเกลือโซเดียมแอสีเตทหรือเกลือโปแตสเซียมแอสีเตทเป็นองค์ประกอบ ทำหน้าที่รับโปรตอน

$$\text{แทนค่าลงในสมการจะได้ } 4.9 = 4.76 + \log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]}$$

$$\log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 0.14$$

$$\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 1.38 \text{ (antilog ของ } 0.14 = 1.38 \text{ จากการเปิดตาราง antilog)}$$

$$[CH_3COO^-] = 1.38 [CH_3COOH] \quad \text{_____ (1)}$$

$$[CH_3COO^-] + [CH_3COOH] = 0.2 \text{ โมลาร์} \quad \text{_____ (2)}$$

แทนค่า (1) ลงใน (2) $1.38 [CH_3COOH] + [CH_3COOH] = 0.2$

$$[CH_3COOH] = \frac{0.2}{2.38} = 0.084 \text{ โมลาร์}$$

เพราะฉะนั้นในสารละลายแอสีเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.9 จะต้องประกอบด้วย

$$\text{ความเข้มข้นของ } CH_3COOH = 0.084 \text{ โมลาร์}$$

$$\text{และความเข้มข้นของ } CH_3COO^- = 0.2 - 0.084 = 0.116 \text{ โมลาร์}$$

ขั้นที่ 2 เมื่อทราบความเข้มข้นขององค์ประกอบทั้งสองในสารละลายบัฟเฟอร์แล้ว นำสารที่จะให้องค์ประกอบทั้งสองมาผสมเข้าด้วยกัน โดยใช้ปริมาณเนื้อสารที่ทำให้ได้ความเข้มข้นและพีเอชตามต้องการ

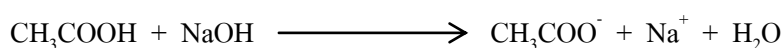
แอสีเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.9 ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้องมีปริมาณเนื้อสารของ

$$\text{CH}_3\text{COOH} \text{ คิดเป็น} = \frac{0.084 \times 500}{1000} = 0.042 \text{ โมล}$$

$$\text{CH}_3\text{COONa} \text{ คิดเป็น} = \frac{0.116 \times 500}{1000} = 0.058 \text{ โมล}$$

ในการเตรียมต้องชั่ง CH_3COONa (น้ำหนักโมเลกุล = 82) มา = $0.058 \times 82 = 4.756$ กรัม มาละลายน้ำแล้วเติมสารละลายกรดแอสีติก เมื่อมีกรดแอสีติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องนำมา = $\frac{0.042 \times 1000}{1} = 42$ มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

การเตรียมอีกวิธีหนึ่งคือ การใช้กรดแอสีติกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาผสมกันในกรณีนี้องค์ประกอบที่ขาดอยู่คือ CH_3COO^- จะเกิดขึ้นได้ดังสมการ



เมื่อตั้งต้นเตรียมบัฟเฟอร์ด้วยปริมาณเนื้อสาร CH_3COOH เพียงอย่างเดียว ในระบบบัฟเฟอร์จะต้องมี CH_3COOH อยู่ คิดเป็น 0.042 โมล และจะต้องใช้ CH_3COOH อีก 0.058 โมล ในการทำปฏิกิริยากับ NaOH ให้เกิดเป็น CH_3COO^- 0.058 โมล ดังนั้นในการเตรียมต้องใช้ CH_3COOH เท่ากับ 0.1 โมล กรณีที่มีกรดแอสีติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์อยู่ ต้องนำกรดแอสีติกความเข้มข้นนี้มา 100 มิลลิลิตร และเมื่อมีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องนำมา 58 มิลลิลิตร มาผสมกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

เมื่อเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ได้แล้ว ก่อนที่จะนำไปใช้งาน ควรตรวจสอบค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH meter)

เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH meter)

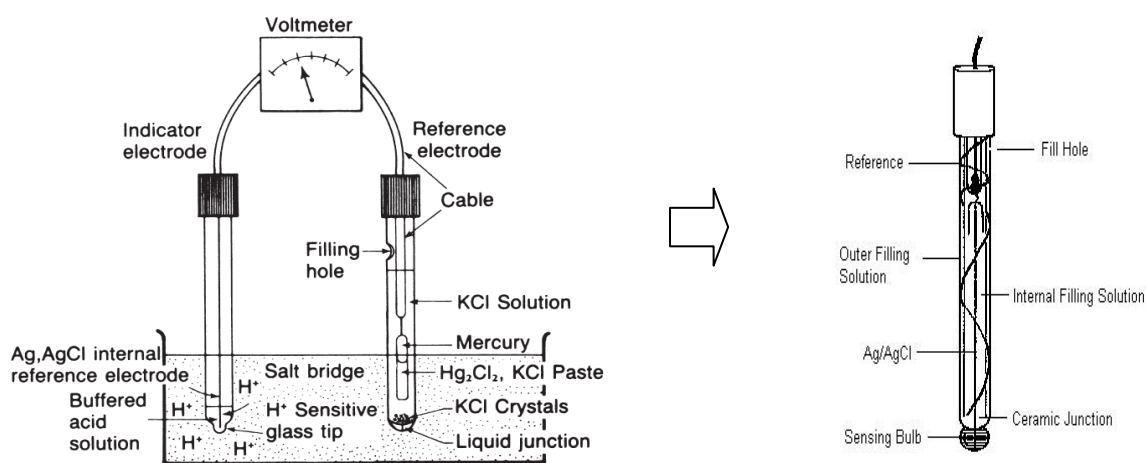
เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดระดับความเป็นกรด-ด่างหรือค่าพีเอช (pH) ของสารละลาย โดยอาศัยหลักการทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) มีส่วนประกอบหลักอยู่ 2 ส่วน คือ ตัวเครื่องและแท่งอิเล็กโทรด ที่เชื่อมต่อกันด้วยสายไฟ ทำให้เครื่องวัดสามารถทำงานได้ครบวงจร

1. อิเล็กโทรด (electrode) ในปัจจุบันอิเล็กโทรดส่วนใหญ่ทำเป็นแบบ Combination pH Electrode ซึ่งมีความสะดวกในการใช้งาน โดยรวมส่วนของอิเล็กโทรดอ้างอิง (Reference Electrode) และอิเล็กโทรดตรวจวัด (Indicator Electrode) มาอยู่ร่วมกัน มีลักษณะเป็นแท่งอิเล็กโทรดที่ตรงปลายเป็นกระเปาะใช้จุ่มลงในสารละลาย บริเวณกระเปาะทำด้วยแก้วชนิดพิเศษที่มีช่องยอมให้ผ่านเฉพาะไฮโดรเจนไอออน (H^+) ส่วนนี้เป็นส่วนของอิเล็กโทรดตรวจวัด ที่ภายในมีเส้นลวดเงินที่เคลือบไว้ด้วยซิลเวอร์คลอไรด์ (AgCl) แลอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีกรดไฮโดรคลอริก 0.1 มิลลิโมลาร์อยู่ด้วย อิเล็กโทรดอ้างอิงมักทำเป็นเส้น

ลวดเงินที่เคลือบไว้ด้วยซิลเวอร์คลอไรด์พันรอบอิเล็กโทรดตรวจวัด ทำหน้าที่ให้ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่ขั้วตรวจวัดเดินครบวงจร โดยมีโปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl) อิ่มตัวทำหน้าที่เป็นสะพานเกลือ (Salt Bridge) เชื่อมอิเล็กโทรดตรวจวัด

ในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน (Standard pH Buffer) pH 7 ความต่างศักย์ระหว่างอิเล็กโทรดอ้างอิงกับอิเล็กโทรดตรวจวัด จะมีค่าความต่างศักย์เท่ากับศูนย์มิลลิโวลต์ (0 MV) ความต่างศักย์จะเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารละลายนั้น

2. ตัวเครื่อง ทำหน้าที่เป็น Volt Meter แปลงสัญญาณให้เป็นความต่างศักย์ทางไฟฟ้า แล้วขยายสัญญาณให้เพิ่มขึ้นอย่างเพียงพอให้แสดงผลบนหน้าจอ



รูปที่ 1. อิเล็กโทรดอ้างอิง (Reference Electrode) และอิเล็กโทรดตรวจวัด (Indicator Electrode) รวมเข้าด้วยกันเป็น Combination pH Electrode

ที่มา : Bishop, Fody และ Schoeff (2010)

ก่อนวัดค่าพีเอชต้องมีการปรับมาตรฐานเครื่องวัดเสียก่อนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่ทำซื้อได้จากบริษัทผู้ผลิตเครื่องทั่วไป เพื่อความถูกต้องแม่นยำควรใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน 2 ค่าพีเอชที่ครอบคลุมค่าพีเอชที่เราต้องการวัด เช่น ต้องการวัดค่าพีเอช 5 ควรปรับมาตรฐานด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน พีเอช 4 และพีเอช 7

การบำรุงรักษาเครื่องวัดพีเอช ส่วนที่สำคัญที่สุดและมีราคาแพง คือ อิเล็กโทรด โดยเฉพาะที่บริเวณกระเปาะของอิเล็กโทรด ต้องระวังอย่าให้กระทบกับของแข็ง เมื่อฉีกล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นเสร็จ ให้ใช้กระดาษทิชชูซับเบาๆ หลังการใช้งาน ควรเก็บแช่ไว้ในสารละลาย เช่น บัฟเฟอร์ พีเอช 4.0 หรือสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์อิ่มตัว อย่าปล่อยให้แห้งโดยเด็ดขาด

การทดลองที่ 1.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

สารเคมีที่ใช้ 1. สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) หรือ สารละลายไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.5 โมลาร์

2. สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) หรือ สารละลายไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.5 โมลาร์
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์
4. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์

วิธีทดลอง

1. คำนวณหาปริมาตรของ 0.5 โมลาร์ Na_2HPO_4 (หรือ K_2HPO_4) และ 0.5 โมลาร์ NaH_2PO_4 (หรือ KH_2PO_4) ที่ต้องใช้ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์พีเอช 6.8 จำนวน 100 มิลลิลิตร โดยการใช้สมการ Henderson - Hasselbalch
2. ผสมสารละลายทั้งสองที่มีปริมาตรตามที่คำนวณได้ในข้อ 1 เข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 90 - 95 มิลลิลิตร
3. ตรวจสอบค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้ ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ถ้าพีเอชของสารละลายไม่ได้เท่ากับ 6.8 ให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์ ที่ละน้อยลงในสารละลาย จนได้ค่าพีเอชเท่ากับ 6.8 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

(การใช้และการระวังรักษาเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ให้ศึกษาจากอาจารย์ผู้ควบคุมในห้องปฏิบัติการ)

วิธีคำนวณและการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

สารที่มีบทบาททำหน้าที่ให้โปรตอน คือ.....

สารที่มีบทบาททำหน้าที่รับโปรตอน คือ.....

คำนวณโดยใช้สมการ

แทนค่า

ความเข้มข้นของ.....ที่จะต้องมี =โมลาร์

ความเข้มข้นของ.....ที่จะต้องมี =โมลาร์

ปริมาตรของ 0.5 โมลาร์ NaH_2PO_4 ที่ต้องตวงมา =มิลลิลิตร

ปริมาตรของ 0.5 โมลาร์ Na_2HPO_4 ที่ต้องตวงมา =มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน แล้วเติมน้ำกลั่น มิลลิลิตร

แล้วปรับพีเอชให้ได้ 6.8 ด้วยเมื่อได้พีเอชตามต้องการแล้วปรับปริมาตรให้ได้.....มิลลิลิตร ก็จะได้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์พีเอช 6.8

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาสมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์และผลของความเข้มข้นที่มีต่อประสิทธิภาพความเป็นบัฟเฟอร์ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเดียวกัน

- สารเคมีที่ใช้**
1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 1.1
 2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์
 3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.2 โมลาร์
 4. น้ำกลั่นที่ปรับพีเอชเป็น 6.8
 5. สารละลายอินดิเคเตอร์ 4 ชนิด ได้แก่ เมทิลเรด (methyl red) บรอมไธมอลบลู (bromthymol blue) ฟีนอลเรด (phenol red) และฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein)

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 โมลาร์ จากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 1.1 (โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น) โดยใช้ น้ำกลั่น และสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้ตามตารางข้างล่างนี้

| ความเข้มข้นของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (โมลาร์) | 0.05 | 0.1 |
|---|------|-----|
| ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มิลลิลิตร) | 10 | 25 |
| น้ำกลั่น (มิลลิลิตร) | 30 | 25 |

2. เตรียมหลอดทดลองไว้ 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 หลอด ปิดสารละลายลงในแต่ละหลอดดังนี้

| | | |
|--|---|-----------|
| หลอดที่ 1. ใส่ น้ำกลั่นที่ปรับพีเอชเป็น 6.8 | 4 | มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 2. ใส่สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.8 | 4 | มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 3. ใส่สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.8 | 4 | มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 4. ใส่สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 | 4 | มิลลิลิตร |

3. ชุดการทดลอง 3 ชุด หยดสารละลายอินดิเคเตอร์ลงในหลอดทดลองแต่ละชุด หลอดละ 1 หยด โดยให้ใช้สารละลายอินดิเคเตอร์ 1 ชนิดต่อ 1 ชุดการทดลอง ส่วนอีก 2 ชุดการทดลองที่เหลือ ให้หยดสารละลายอินดิเคเตอร์ที่เป็นบรอมไธมอลบลู ลงในทุกหลอดของทั้งสองชุด หลอดละ 1 หยด สังเกตสีของอินดิเคเตอร์ในแต่ละหลอดหลังเขย่าให้เข้ากัน บันทึกสีของอินดิเคเตอร์ไว้

4. ชุดการทดลองที่มีการเติมสารละลายอินดิเคเตอร์เมทิลเรด และชุดการทดลองที่มีการเติมสารละลายอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลู 1 ชุด ให้เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.2 โมลาร์ โดยเริ่มจากหลอดที่ 1 ของชุด ค่อยๆ หยดสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจากกระบอกตวงที่ตวงปริมาตรและอ่านค่าไว้แล้ว จนกระทั่งถึงช่วงพีเอชที่สารละลายอินดิเคเตอร์เมทิลเรดเปลี่ยนสี สังเกตจากสีของอินดิเคเตอร์ที่เปลี่ยนไปคงตัว บันทึกจำนวนหยดของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้และอ่านปริมาตรที่ใช้ไปในการนี้ จากกระบอกตวง (อย่าลืมปล่อยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เหลือค้างในหลอดหยดลงในกระบอกตวงให้หมด ก่อนอ่านปริมาตรในกระบอกตวง ซึ่งค่าที่อ่านได้นี้ คือ ปริมาตรกรดที่เหลืออยู่เมื่อการทดลองเสร็จสิ้น

เมื่อลบด้วยค่าปริมาตรก่อนทำการทดลอง คือค่าที่อ่านได้ก่อนดูจากกระบอกตวงเพื่อหยดลงในหลอดทดลอง ก็จะได้ปริมาตรของกรดที่ใช้ไปในการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์)

จากนั้นทำลักษณะเดียวกันนี้กับหลอดที่ 2, 3 และ 4 ของชุดการทดลอง ตามลำดับ โดยที่ให้ทุกหลอดมีสีของอินดิเคเตอร์ที่เปลี่ยนไปเป็นเฉดสีเหมือนกันทั้ง 4 หลอด (เฉดสีเดียวกับหลอดที่ 1)

5. ชุดการทดลองที่มีการเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ฟีนอลเรด ชุดการทดลองที่มีการเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาเลอิน และอีกชุดการทดลองที่มีการเติมสารละลายอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลู ที่เหลืออีกชุด ให้ทำการทดลองในลักษณะเดียวกับที่กล่าวไว้ในข้อ 4. แต่เปลี่ยนเป็นให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์แทน

อินดิเคเตอร์แต่ละชนิดมีช่วงการเปลี่ยนสีดังนี้

| อินดิเคเตอร์ | ช่วงพีเอช ที่เปลี่ยนสี | การเปลี่ยนสี |
|----------------|------------------------|------------------|
| เมทิลเรด | 4.2 – 6.3 | แดง - เหลือง |
| บรอมไธมอลบลู | 6.0 – 7.6 | เหลือง - น้ำเงิน |
| ฟีนอลเรด | 6.8 – 8.4 | เหลือง - แดง |
| ฟีนอล์ฟธาเลอิน | 8.3 – 10.0 | ไม่มีสี - ชมพู |

6. เปรียบเทียบจำนวนหยดและปริมาตรของกรดหรือเบสที่ใช้ในแต่ละหลอดของการทดลองแต่ละชุด แล้วสรุปผลสมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์และผลของความเข้มข้นที่มีต่อประสิทธิภาพความเป็นบัฟเฟอร์

แนวทางการวิเคราะห์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ให้แบ่งเป็น 2 กรณี คือ การดูประสิทธิภาพการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชเมื่อมีการเติมกรด เป็นกรณีหนึ่ง และการเติมด่าง อีกกรณีหนึ่ง ซึ่งทั้ง 2 กรณีให้ยึดผลการทดลองที่ใช้อินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลูเป็นหลัก แล้วขยายผลโดยนำผลการทดลองที่ใช้อินดิเคเตอร์อื่นมาประกอบ เพื่อนำไปสู่ข้อสรุปว่า สารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้นนั้นๆ ต้านทานการเติมกรด (หรือด่าง) ได้แค่ไหน และเมื่อต้านทานไม่ได้แล้ว พีเอชจะเปลี่ยนแปลงไปสู่ค่าเท่าใด

ความรู้พื้นฐานที่ต้องรู้คือ สารละลายบัฟเฟอร์ชนิดหนึ่งๆ จะมีช่วงพีเอชที่ยังคงแสดงคุณสมบัติการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชได้ $= pK_a \pm 1$ ซึ่งสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมขึ้นในการทดลองนี้ โดยใช้ค่า $pK_a = 6.8$ จะคงความเป็นบัฟเฟอร์ได้ในช่วง 5.8-7.8 เท่านั้น พ้นจากช่วงพีเอชดังกล่าวไป จะสูญเสียความเป็นบัฟเฟอร์ไป (แต่จะกลับมาแสดงความเป็นบัฟเฟอร์ได้อีกที่ช่วงพีเอชอื่น เพราะ ...?)

ตัวอย่าง หลอดที่เติมอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลู เมื่อมีการเติมกรด จนสีเปลี่ยนเป็นเหลือง แสดงว่าพีเอชลงไปต่ำกว่า 6.0 ต่ำลงไปแค่ไหน ใช้ข้อมูลผลการทดลองหลอดที่เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรดมาประกอบ (ซึ่งปริมาตรกรดที่ใช้ในการเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ควรใกล้เคียงกับปริมาตรกรดที่ใช้ในหลอดที่เติมอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลู)

ผลการทดลองที่ 1.2

| ชุดการทดลอง | | ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ พีเอช 6.8 (โมลาร์) | | | |
|--------------------|--|---|----------------|---------------|---------------|
| อินดิเคเตอร์ที่ใช้ | | 0 (หลอดที่1) | 0.05(หลอดที่2) | 0.1(หลอดที่3) | 0.2(หลอดที่4) |
| เมทิลเรด | สีของอินดิเคเตอร์ก่อนเติมกรด | | | | |
| | สีของอินดิเคเตอร์หลังเติมกรด จนเปลี่ยนสี | | | | |
| | จำนวนหยดของกรดที่ใช้ (หยด) | | | | |
| | ปริมาตรของกรดที่ใช้ (มิลลิลิตร) | | | | |
| บรอมไธมอลบลู | สีของอินดิเคเตอร์ก่อนเติมกรด | | | | |
| | สีของอินดิเคเตอร์ หลังเติมกรด จนเปลี่ยนสี | | | | |
| | จำนวนหยดของกรดที่ใช้ (หยด) | | | | |
| | ปริมาตรของกรดที่ใช้ (มิลลิลิตร) | | | | |
| บรอมไธมอลบลู | สีของอินดิเคเตอร์ก่อนเติมต่าง | | | | |
| | สีของอินดิเคเตอร์ หลังเติมต่าง จนเปลี่ยนสี | | | | |
| | จำนวนหยดของต่างที่ใช้ (หยด) | | | | |
| | ปริมาตรของต่างที่ใช้ (มิลลิลิตร) | | | | |
| ฟีนอลเรด | สีของอินดิเคเตอร์ก่อนเติมต่าง | | | | |
| | สีของอินดิเคเตอร์ หลังเติมต่าง จนเปลี่ยนสี | | | | |
| | จำนวนหยดของต่างที่ใช้ (หยด) | | | | |
| | ปริมาตรของต่างที่ใช้ (มิลลิลิตร) | | | | |
| ฟีนอล์ฟธาไลน์ | สีของอินดิเคเตอร์ก่อนเติมต่าง | | | | |
| | สีของอินดิเคเตอร์ หลังเติมต่าง จนเปลี่ยนสี | | | | |
| | จำนวนหยดของต่างที่ใช้ (หยด) | | | | |
| | ปริมาตรของต่างที่ใช้ (มิลลิลิตร) | | | | |

เพื่อช่วยในการวิเคราะห์ผล นำไปสู่การสรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง ให้นักเรียนตอบคำถามเหล่านี้ให้ได้ก่อน

| | ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ พีเอช 6.8 (โมลาร์) | | |
|---|---|-----|-----|
| | 0.05 | 0.1 | 0.2 |
| ปริมาณเนื้อสาร NaH_2PO_4 ใน 4 มิลลิลิตร (มิลลิโมล) | | | |
| ปริมาณเนื้อสาร Na_2HPO_4 ใน 4 มิลลิลิตร (มิลลิโมล) | | | |
| จะทำลายระบบบัพเฟอร์นี้ต้องใช้ปริมาณเนื้อสารกรด 0.2 โมลาร์ อย่างน้อย (มิลลิโมล) | | | |
| จะทำลายระบบบัพเฟอร์นี้ต้องใช้ปริมาณเนื้อสารต่าง 0.2 โมลาร์ อย่างน้อย (มิลลิโมล) | | | |

1. ปริมาตรกรดที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลูเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ควรเท่ากับ ปริมาตรต่างที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลูเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ หรือไม่ เพราะอะไร

.....

.....

.....

2. ปริมาตรกรดที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลูเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ควรเท่ากับ ปริมาตรกรดที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์เมทิลเรดเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ หรือไม่ เพราะอะไร

.....

.....

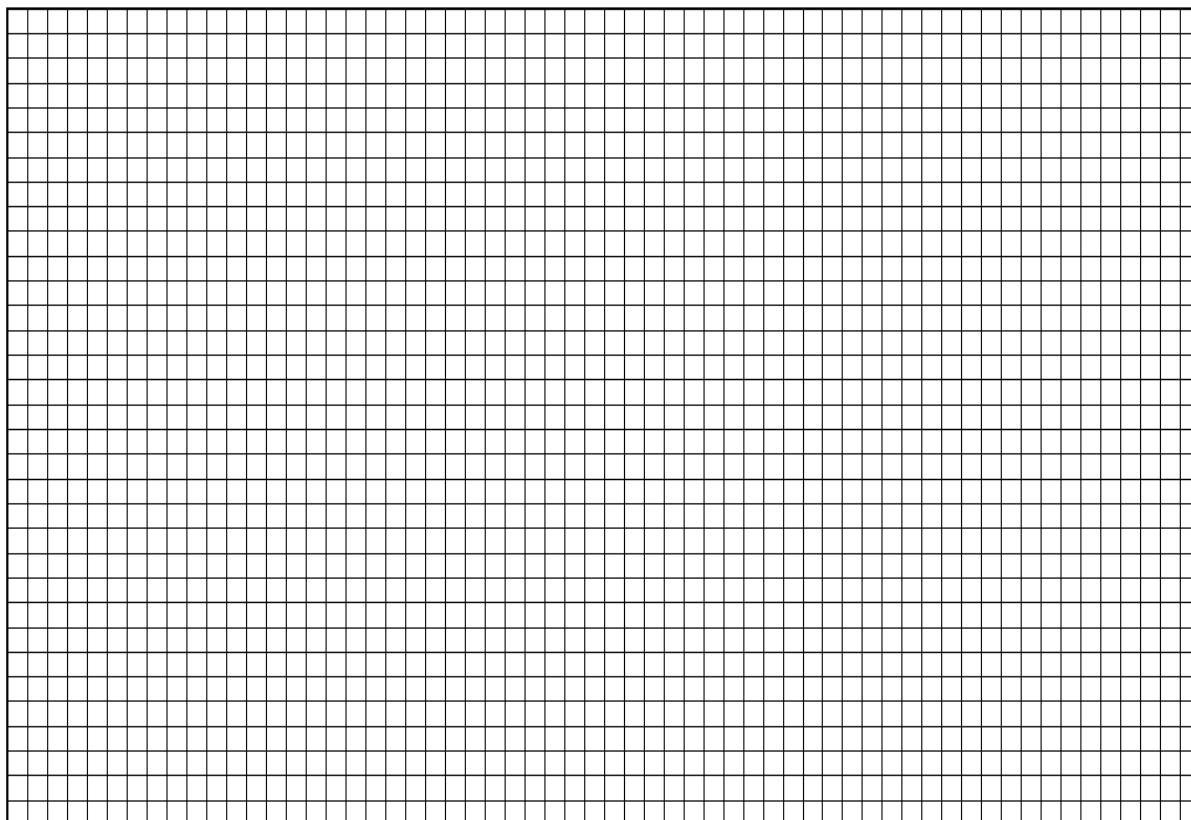
.....

3. ปริมาตรต่างที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์บรอมไธมอลบลูเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ควรเท่ากับ ปริมาตรต่างที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์ฟีนอลเรดเปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ และปริมาตรต่างที่ใช้ในการทำให้สีของอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาไลน์เปลี่ยนสีในทุก ๆ ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ หรือไม่ เพราะอะไร

.....

.....

.....



รูปที่ 1. กราฟการไตเตรทระหว่างกรดอ่อนตัวอย่างกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 1.3

ค่า pK_a ของกรดอ่อนตัวอย่าง = คือ กรดอ่อน

คำถาม

1. สารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมขึ้นจากคู่สารต่อไปนี้ จงขีด ✓ ลงในช่อง เพื่อบอกว่าสารใดมีบทบาทเป็น proton donor และสารใดเป็น proton acceptor

| | คู่สารคู่ที่ 1 | | คู่สารคู่ที่ 2 | | คู่สารคู่ที่ 3 | |
|-----------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------|-----------------|----------------|
| | H_3PO_4 | NaH_2PO_4 | Na_2CO_3 | NaHCO_3 | HCOONa | HCOOH |
| proton donor | | | | | | |
| proton acceptor | | | | | | |

2. สารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมจาก $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$ โดยใช้ค่า $\text{pK}_{a2} = 9.78$ จะมี proton donor และ proton acceptor เป็นสารใด

3. ในการเตรียมบัฟเฟอร์ 0.25 โมลาร์ พีเอช 7.0 จำนวน 100 มิลลิลิตร จะต้องใช้

ก. 0.25 M NaH_2PO_4 , 0.25 M K_2HPO_4 และน้ำกลั่นอย่างละกี่มิลลิลิตร

ข. 0.5 M NaH_2PO_4 , 0.5 M NaOH และน้ำกลั่นอย่างละกี่มิลลิลิตร

4. เมื่อนำ 10 มิลลิลิตร 0.5 M CH_3COOH ผสมกับ 10 มิลลิลิตร 0.2 M CH_3COONa สารละลายที่ได้จะมีพีเอช เท่าใด (กำหนด $\text{pK}_a = 4.76$) และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์เป็นเท่าใด

ปริมาตรรวมหลังผสมรวมกัน เท่ากับ.....มิลลิลิตร

หลังผสมรวมกันแล้ว ความเข้มข้นของ CH_3COOH จะเป็นโมลาร์

หลังผสมรวมกันแล้ว ความเข้มข้นของ CH_3COONa จะเป็นโมลาร์

แทนค่าลงในสมการ Henderson – Hasselbalch

ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เกิดขึ้น เป็น โมลาร์

5. การผสมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกกับสารละลายโซเดียมแอสีเตทเข้าด้วยกัน จะได้สารละลายบัฟเฟอร์หรือไม่ ถ้าได้ จะมีความแตกต่างจากการผสมสารละลายกรดแอสีติกกับสารละลายโซเดียมแอสีเตท และการผสมสารละลายกรดแอสีติกกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อย่างไรบ้าง จงอธิบาย

สมการเคมีของการผสมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกกับสารละลายโซเดียมแอสีเตท เป็นดังนี้

สมการเคมีของการผสมสารละลายกรดแอสีติกกับสารละลายโซเดียมแอสีเตท เป็นดังนี้

สมการเคมีของการผสมสารละลายกรดแอสีติกกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นดังนี้

เมื่อพิจารณาทั้งสามสมการเคมี ความแตกต่างอยู่ที่