

Un método fácil para preparar la solución de *fosfato disódico*

utilizada en la confección de mezclas « buffers » ⁽¹⁾

POR S. SORIANO

Las soluciones de *fosfato monopotásico* y *fosfato disódico* aconsejadas por SÖRENSEN para la confección de mezclas de distinto pH son las soluciones madres que se utilizan con mayor frecuencia para la determinación de la concentración de iones H por el método colorimétrico. La escala de pH que puede obtenerse con ellos varía de $\text{pH} = 5$ a $\text{pH} = 8,6$ siendo pues suficiente para las determinaciones en los trabajos corrientes de biología. Su empleo, se ha extendido especialmente en los laboratorios de bacteriología para la determinación del pH en los medios de cultivos y para el estudio de la acidez actual en la fermentación de los hidratos de carbono.

Cuando se preparan estas soluciones, puede notarse que, mientras la preparación del fosfato monopotásico no presenta mayores dificultades y se efectúa con rapidez, la obtención del fosfato disódico a la concentración deseada es particularmente larga o insegura.

El fosfato disódico cristaliza con 12 moléculas de agua, pero como efflorece al aire con gran facilidad, nunca se puede estar seguro de que contenga exactamente 12 moléculas de agua de cristalización por lo cual no es posible por simple pesada preparar una solución de concentración conocida.

(1) Las soluciones « buffers », « tampons », *paragolpes* o *reguladoras*, tienen, como se sabe, la característica común de resistir en cierto modo al cambio de su concentración en iones H, cuando varía la acidez por acción de algunas sustancias y por la dilución con agua. Se utilizan como términos de comparación, en el método colorimétrico de determinación de iones H de las soluciones, o para dar, aproximadamente, a una solución un pH determinado.

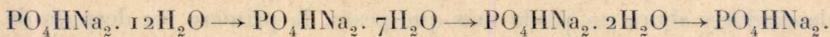
Esta dificultad hizo aconsejar a SÖRENSEN el uso de la sal que lleva su nombre, es decir, el mismo fosfato con 2 moléculas de agua de cristalización. Cuando se abandona al aire una capa extendida de fosfato disódico con 12 moléculas de agua, éste efflorece perdiéndola gradualmente hasta obtenerse un compuesto con 2 moléculas de agua que según SÖRENSEN, es estable a la temperatura ambiente.

Siguiendo las indicaciones de CLARK, para preparar la solución de fosfato monopotásico, la sal pura (recristalizada), se deseca en desecador de sulfúrico, hasta peso constante (lo cual se consigue en pocas horas) y luego se pesa la cantidad deseada; en esa forma puede prepararse rápidamente una solución de concentración exactamente conocida.

Pero no sucede lo mismo con la solución del fosfato disódico: dejando efflorecer al aire la sal pura no hemos podido llegar nunca a obtener un peso constante, dependiendo esto seguramente de las condiciones de humedad de la atmósfera variables con el tiempo y en cada lugar.

Aun desecando en estufa a 38° por 24 horas después de quince días de exposición al aire, según aconseja MICHAELIS, tampoco se obtiene la constancia de peso en dos pesadas consecutivas con diferencia de una hora. Una porción de la sal analizada en esas condiciones resultó tener más de tres moléculas de agua de cristalización.

Si después de haber dejado efflorecer, se coloca en un desecador de sulfúrico, la sal sigue perdiendo agua y eso por un tiempo relativamente largo. Por otra parte al pesar la sal que ha permanecido en el desecador de sulfúrico, ésta absorbe rápidamente agua de la atmósfera y el platillo de la balanza no puede equilibrarse. La pérdida de agua del fosfato disódico está de acuerdo con las siguientes fórmulas:



Luego, a temperatura elevada, el fosfato anhídrido se transforma en pirofosfato como veremos más adelante.

Si bien no resulta fácil preparar la solución de fosfato disódico con la sal llamada de SÖRENSEN (con 2 moléculas de agua), por las variaciones que presenta el método en las condiciones de nuestro clima, se puede, sin embargo, llegar al mismo fin efectuando un dosaje de fosfatos: se prepara una solución concentrada, se determina su riqueza en fosfatos y luego se diluye hasta la concentración que se quiera. Muchos de los que utilizan esta mezcla de SÖRENSEN en sus trabajos sobre determinación de pH emplean este método. El doctor WERNICKE, del Instituto bacteriológico determina el anión fosfórico o el catión alcalino de la sal, utilizando un aparato de electro-diálisis, con el cual en pocos minutos (menos de $\frac{1}{4}$ de hora) puede efectuarse una determinación cuantitativa.

Visto el comportamiento del fosfato disódico en la pérdida de su agua de cristalización, el doctor REICHERT, de la Facultad de agronomía, nos aconsejó preparar esta solución empleando la sal al estado anhídrido, es decir: colocar en el desecador de sulfúrico, el fosfato disódico ya parcialmente desecado y obtenerlo anhídrido. En seguida se pesa cuidadosamente empleando un recipiente con tapa esmerilada para evitar la absorción del vapor de agua de la atmósfera (1).

Después de varios ensayos hemos llegado a establecer las manipulaciones en la siguiente forma, que nos parece bien sencilla y práctica:

Una cantidad de fosfato disódico cristalizado igual a unas tres veces la cantidad de fosfato anhídrido que se necesita, se hace fundir a baño de María en una cápsula de porcelana en su misma agua de cristalización, dejando desecar todo lo que sea posible, removiendo frecuentemente con una varilla.

Cuando se tiene una masa pastosa, se saca del baño de María y se deja enfriar, separando luego el fosfato endurecido, coleándolo en un mortero y pulverizándolo.

El fosfato pulverizado se coloca en una cápsula más pequeña y se deja a estufa a 105°-110° durante unas horas, removiendo con bastante frecuencia por medio de una varillita.

Al final se pasa el fosfato seco a un pesa-filtro que cierre bien y que haya sido previamente desecado en un desecador de sulfúrico (2).

Se coloca en seguida por un rato más a estufa a 105° removiendo varias veces con la varillita o por inclinación del recipiente, pasando en fin el pesafiltro a un desecador con ácido sulfúrico, en el cual, después de cerrado, se hace el vacío con la bomba de agua.

Cuando se haya obtenido una presión bastante reducida, se cierra el desecador y ahora no queda más que pesar, la primera vez después de unas horas y luego a intervalos más cortos, controlando que dos pesadas consecutivas acusen el mismo peso o presenten tan solo una variación de unos pocos décimos de miligramo.

Lo más práctico (aunque no es necesario) resulta dejar el fosfato durante una noche, en el pesa-filtro abierto, en el desecador de sulfúrico a presión reducida, y luego, a la mañana siguiente pesar dos veces con una hora de intervalo para verificar si el fosfato está completamente anhidro.

(1) Aprovechamos esta ocasión para agradecer al doctor FRITZ REICHERT por su ayuda en la preparación de este trabajo. Quedamos igualmente muy reconocidos al doctor RAÚL WERNICKE por habernos sugerido algunas importantes modificaciones y por haber revisado el manuscrito.

(2) Resulta útil colocar dentro del pesafiltro una varillita de vidrio corta que se utilizará para remover el fosfato si este no estuviera ya suficientemente seco. (Queda entendido en este caso que la varilla entra también en la tara del pesafiltro.)

En esta forma, el fosfato disódico queda listo para preparar las soluciones, pesando la cantidad necesaria en recipientes con tapa esmerilada, o bien disolviendo directamente todo en la cantidad de agua calculada (1).

Las tablas y cifras que siguen nos darán una idea del grado de exactitud a que se llega en la preparación de la solución de fosfato disódico por este método rápido de la sal anhidra.

Los pesos atómicos utilizados son los que figuran en las tablas de 1923 (Comisión internacional) notándose una pequeña diferencia con las cantidades citadas en CLARK y MICHAELIS, diferencia que no tiene en este caso mayor importancia por entrar en los límites de otras causas de error.

En la tabla que sigue están calculados los pesos moleculares de las substancias mencionadas en el trabajo :

Fosfato disódico anhidro	PO_4HNa_2	142.048
Fosfato monopotásico	$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	136.156
Fosfato disódico Sørensen	$\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	178.08
Fosfato disódico cristalizado	$\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	358.240
Pirofosfato de Na	$\text{P}_2\text{O}_7\text{Na}_4$	266.08
Pirofosfato de Mg	$\text{P}_2\text{O}_7\text{Mg}_2$	222.72

La solución de fosfato disódico de las mezclas de SÖRENSEN debe ser M/15, es decir exige tener una concentración de :

Fosfato disódico con 2 moléculas de agua :

$$178.08 \div 15 = 11.872 \text{ grs. en } 100 \text{ cc.}$$

o bien : fosfato disódico anhidro :

$$142.048 \div 15 = 9.470 \text{ grs. } \frac{\circ}{\circ}.$$

La del fosfato monopotásico debe tener :

$$136.156 \div 15 = 9.077 \frac{\circ}{\circ} \quad (2).$$

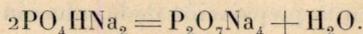
En lo que sigue daremos algunos ejemplos de análisis de soluciones de fosfato disódico preparadas con la sal anhidra. Incluimos también algunas de fosfato monopotásico efectuadas paralelamente, para servir de término de comparación y darnos un índice de exactitud de los métodos empleados.

(1) Al disolver la sal conviene comenzar agregando el agua, en porciones, directamente en el pesa-filtro en que ha sido secada, e ir echando todo lo disuelto, por medio de un embudo, en el recipiente tarado de 1 litro.

(2) Las cantidades dadas en CLARK y MICHAELIS son : 11,876 (correspondiente a 9,474 de anhidro) para el fosfato disódico y 9,078 para el monopotásico.

COMPROBACIÓN DE LA PÉRDIDA DE AGUA A LA IGNICIÓN

Llevando la sal a ignición ésta se transforma en pirofosfato por pérdida de agua, según la ecuación :



El porcentaje de disminución en peso está indicado por la relación entre los pesos moleculares :

Peso molecular del fosfato disódico $\times 2 = 284.096$

— pirofosfato de Na = 266.08

Pérdida de agua = $284.096 - 266.08 = 18.016$

luego :

$$284,096 : 18,016 :: 100 : X ; X = 1801,60 \div 284,096 = 6,34.$$

En la tabla que sigue figuran los porcentajes teóricos de disminución en peso, en las distintas transformaciones de los fosfatos disódico y monopotásico :

Substancia	Al transformarse en	Pierde en peso
PO_4HNa_2	$\text{P}_2\text{O}_7\text{Na}_4$	6.34 %
$\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	PO_4HNa_2	20.23 »
$\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{P}_2\text{O}_7\text{Na}_4$	25.29 »
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	PO_3K	13.23 »

El fosfato disódico pierde por ignición transformándose en pirofosfato el 6,34 por ciento de su peso.

Hay una tolerancia de 0,1 en más o en menos según indica CLARK, de modo que la pérdida de agua oscila entre 6,24 y 6,44 por ciento del peso inicial.

El fosfato monopotásico pierde en idénticas condiciones el 13,23 \pm 0,1 por ciento.

Cuando se trata de verificar la pérdida de agua a ignición, puede procederse en la siguiente forma : Se limpia cuidadosamente un crisol de porcelana, se calienta algo y se lleva a un desecador de sulfúrico para secarlo ; se pesa y se obtiene la tara. Se colocan luego en el crisol unos gramos de fosfato anhidro (conservados en desecador de sulfúrico). se deja un rato en el desecador y luego se pesa : la diferencia de pesos da la cantidad de substancia utilizada. Se calienta en seguida con mucho cuidado el crisol con la substancia y se obtiene el pirofosfato. Luego se deja enfriar algo, se coloca en desecador de sulfúrico y después de unas horas se pesa. La pérdida de peso es la cantidad de agua que pierde el fosfato.

Algunos ejemplos nos han dado los siguientes resultados :

Fosfato disódico

Número de la muestra	Número 1	Número 2	Número 3
Peso del crisol con fosfato	14.5110	14.9342	9.1628
Peso del crisol solo, seco	13.0058	13.6302	7.8431
Peso después de incinerar	14.4141	14.8510	9.0783
Peso de la substancia	1.5052	1.3040	1.3197
Pérdida de agua	0.0969	0.0832	0.0845
Pérdida por ciento calculada	6.437	6.38	6.40

Cálculo del porcentaje de pérdida de agua :

Número 1 : $1.5052 : 0.0969 :: 100 : X$; $X = 9.69 \div 1.5052 = 6.437$ por ciento

Número 2 : $1.3040 : 0.0832 :: 100 : X$; $X = 8.32 \div 1.3040 = 6.38$ —

Número 3 : $1.3197 : 0.0845 :: 100 : X$; $X = 8.45 \div 1.3197 = 6.40$ —

(La pérdida teórica es, como hemos visto, de 6.34 ± 0.1 por ciento).

Fosfato monopotásico

Número de la muestra	Número 1	Número 2	Número 3
Peso del crisol con fosfato	15.2489	15.8547	10.6708
Peso del crisol solo, seco	13.3096	14.3410	7.8629
Peso después de incinerar	14.9914	15.6533	10.2994
Peso de la substancia	1.9393	1.5137	2.8079
Pérdida de agua	0.2575	0.2014	0.3714
Pérdida por ciento calculada	13.27	13.30	13.23

(Pérdida teórica = 13.23 ± 0.1 por ciento).

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN

Partiendo de la sal anhidra obtenida según hemos explicado en la página 348 bastará pesar en un pesa-filtro tarado y seco la cantidad de fosfato calculado y disolverlo en agua destilada privada de CO_2 .

Como no es posible pesar de antemano la cantidad deseada y es contraproducente abrir y cerrar repetidas veces el pesa-filtro para introducir o sacar las pequeñas cantidades de substancia necesarias para llegar al peso que se quiera, resulta mucho más cómodo y práctico pesar la cantidad calculada más un pequeño exceso (que puede ser solo de 0,01 gramos) y luego calcular la cantidad de agua que deberá agregarse correspondiente a ese exceso. Para proceder con exactitud conviene hechar en un pesa-filtro, secado en desecador y tarado, unos 9,5 gramos (tratando de no excederse) de fosfato disódico anhidro (previamente desecado); colocar de nuevo por un rato en el desecador de sulfúrico,

(haciendo el vacío a la bomba), luego abrir el desecador, cerrar el pesa-filtro y pesar cuidadosamente.

El peso menos la tara nos dará exactamente la cantidad de fosfato que se utilizará (esta deberá ser siempre mayor de 9,470 gramos para 1 litro).

Se calculará ahora el volumen de solución necesario para tener la dilución de 9,470 por mil utilizando la proporción

$$9,470 : 1000 :: a : X$$

siendo a la cantidad de fosfato pesada.

Sólo resta hacer una corrección referente a la temperatura, pues los volúmenes de los recipientes usados están marcados para la temperatura de 15° o 17°,5 de manera que es indispensable colocarse en las mismas condiciones ya sea enfriando la solución a esas temperaturas antes de completar el volumen exacto, o bien consultando en las tablas la corrección necesaria.

Ejemplos :

Fosfato disódico

Número de la muestra	Número 1	Número 2
Peso del pesa-filtro con fosfato	45.0054	42.3551
Peso del pesa-filtro solo, seco	35.5212	32.8409
Peso del fosfato (anhidro)	9.4842	9.5142
Cantidad (cc.) de solución calculada	1001.5 (1)	1004.67
Corrección por la temperatura	—	0.95
Total de la solución (cc.)	1001.5	1005.62

Fosfato monopotásico

Número de la muestra	Número 1	Número 2
Peso del pesa-filtro con fosfato	39.1402	39.2649
Peso del pesa-filtro solo, seco	30.0600	30.0599
Peso del fosfato	9.0802	9.2050
Centím. cúbicos de solución calculados	1000.35	1014.10
Corrección por la temperatura (cc.)	—	0.95
Total de la solución (cc.)	1000.35	1015.05

Cálculo del volumen total de la solución :

Fosfato disódico :

Número 1 : $9,470 : 1000 :: 9,4842 : X$; $X = 9484,2 \div 9,47 = 1001,5$.

Se disuelven los 9,4842 gramos de fosfato en agua hasta 1 litro a 15° y se agregan 1,5 cc. más de agua.

(1) A 15° de temperatura.

Número 2: Como la cantidad de fosfato necesaria para 1 litro es de 9,470 gramos, tendremos que sobran:

$$9,5142 - 9,470 = 0,0442 \text{ grs.}$$

El volumen de solución correspondiente a este exceso es de:

$$9,470 : 1000 :: 0,0442 : X ; X = 44,2 \div 9,470 = 4,67 \text{ cc.}$$

Además como la temperatura de la solución es de 21° y el recipiente está marcado para 15° la corrección correspondiente es, según tablas de 0,95 cc. por litro.

De manera que después de haber disuelto el fosfato y enrasado exactamente a un litro, se agregarán:

$$4,67 + 0,95 = 5,62 \text{ cc. más de agua destilada.}$$

• Fosfato monopotásico.

$$\text{N}^\circ 1 : 9,0802 : X :: 9,077 : 1000 ; X = 9080,2 \div 9,077 = 1000,35.$$

Se disuelve hasta 1 litro (a 15°) y luego se agregan 0,35 cc. más de agua.

Nº 2: Sobran: $9,2050 - 9,077 = 0,128$ gramos de fosfato, que requieren: $(9,077 : 1000 :: 0,128 : X)$ $X = 128 \div 9,077 = 14,10 \text{ cc.}$

Sumándole la corrección por la temperatura a 21° = 0,95 cc. por litro, resulta: corrección total:

$$14,10 + 0,95 = 15,05 \text{ cc.}$$

de agua que se agregarán después de haber completado los 1000 cc.

COMPROBACIÓN DE LA EXACTITUD DEL TÍTULO ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS FOSFATOS

Se precipitan los fosfatos de un volumen medido de la solución, por medio de la mixtura magnésiana (véase TREADWELL) obteniéndolos cuantitativamente al estado de fosfato amónico-magnésico. Este precipitado se filtra, se lava y se incinera obteniéndose al final pirofosfato de magnesio ($P_2O_7Mg_2$).

La relación entre la cantidad de fosfato, necesaria para la formación del pirofosfato, está-dada por la ecuación:

$$2(P_2O_4HNa_2) : P_2O_7Mg_2 :: X : a ; X = a \frac{2(P_2O_4HNa_2)}{P_2O_7Mg_2}$$

llamando a la cantidad de pirofosfato de Mg encontrado.

Siendo el peso molecular (1) del $P_2O_7Mg_2 = 222,72$ tendremos :

$$X = a \frac{2(PO_4HNa_2)}{P_2O_7Mg_2} = a \frac{2(142,048)}{222,72} = a \times 1,2756.$$

Es decir que después de haber precipitado el fosfato amónico-magnésico y de haberlo transformado al estado de pirofosfato de magnesio, obtendremos fácilmente el fosfato disódico X, conociendo el peso del pirofosfato a , de acuerdo a la fórmula :

$$X = a \times 1,2756.$$

Para el fosfato monopotásico, la fórmula es :

$$X = a \frac{2(PO_4H_2K)}{P_2O_7Mg_2} = a \frac{2(136,156)}{222,72} = a \times 1,2227.$$

Siendo a igualmente, la cantidad de pirofosfato encontrada y X la de fosfato monopotásico a deducir.

En nuestros ensayos hemos procedido según TREADWELL utilizando invariablemente 30 cc. de solución, agregándole 15 cc. de mixtura magnésiana y 15 cc. de NH_4Cl precipitando en caliente con amoníaco al 2,5 por ciento agregado gota a gota y luego dejando 24 horas con 12 cc. más de NH_3 concentrado.

Los resultados obtenidos están agrupados en las tablas adjuntas :

Soluciones de fosfato disódico

Número de la solución	Número 1	Número 2	Número 3	Número 4
Centímetros cúbicos analizados...	30	30	30	30
Peso del crisol incinerado.....	6.0199	8.0675	8.0625	8.3962
Peso del crisol solo.....	5.7970	7.8435	7.8398	8.1731
Peso del pirofosfato.....	0.2229	0.2240	0.2227	0.2231
Por ciento del fosfato calculado...	0.9477	0.9524	0.9469	0.9486
La solución resulta ser.....	M/14.99	M/14.91	M/15	M/14.97

Soluciones de fosfato monopotásico

Número de la solución	Número 1	Número 2	Número 3	Número 4
Centímetros cúbicos analizados...	30	30	30	30
Peso del crisol incinerado.....	8.0875	8.3968	8.0585	7.9407
Peso del crisol solo.....	7.8629	8.1735	7.8348	7.7176
Peso del pirofosfato.....	0.2246	0.2233	0.2237	0.2231
Por ciento del fosfato calculado..	0.9154	0.9101	0.9117	0.9093
La solución resulta ser.....	M/14.87	M/14.96	M/14.93	M/14.97

(1) Peso molecular del pirofosfato de Mg : ($P_2 = 31,04 \times 2 = 62$; $O_7 = 16 \times 7 = 112$; $Mg_2 = 24,32 \times 2 = 48,64$; $62,08 + 112 + 48,64 = 222,72$).

La cantidad teórica de pirofosfato correspondiente a una solución exactamente M/15 de fosfato alcalino es de 0,2227, para 30 cc. de solución.

El porcentaje puede calcularse según el ejemplo siguiente:

Solución de fosfato disódico número 1;

$$0,2229 \times 1,2756 = 0,2843 \text{ para } 30 \text{ cc.}$$

$$\text{Para } 100 \text{ cc.} = \frac{0,2843 \times 100}{30} = 0,9477 \text{ grs. } \%.$$

Esta solución resulta ser M/15, puesto que:

$$142,048 \div 0,9477 = 14,99,$$

es decir, en cifras redondas M/15.

Las soluciones número 1 fueron también tituladas en el laboratorio del doctor Wernicke con el aparato de electro-diálisis dando los siguientes resultados:

Fosfato disódico: 1 cc. de la porción alcalina del dializado neutraliza 6,67 cc. de H_2SO_4 n/50, luego la concentración será:

$$6,67 \frac{\text{N}}{50} = 6,67 \frac{71,024}{50} = 0,9475 = \text{M}/14,99. \text{ (1)}$$

Fosfato monopotásico: 1 cc. de la porción alcalina neutraliza 3,36 cc. de H_2SO_4 n/50, luego:

$$3,36 \frac{\text{N}}{50} = 3,36 \frac{136,156}{50} = 0,9150 \text{ } \% = \text{M}/14,88.$$

Para las distintas soluciones examinadas pueden aceptarse las siguientes concentraciones.

Número de las soluciones	Número 1	Número 2	Número 3	Número 4
Fosfato disódico	M/15	M/14.9	M/15	M/15
Fosfato monopotásico.....	M/14.9	M/15	M/14.9	M/15

RESUMEN

Se describe un método fácil para preparar la solución de *fosfato disódico* de las mezclas de SÖRENSEN utilizadas en la determinación colorimétrica del pH de las soluciones.

El método consiste en partir del *fosfato disódico anhidro* que se pesa

1) Se utiliza 71,024 por ser la mitad del peso molecular del fosfato disódico (142,048) puesto que éste tiene dos iones Na en su molécula.

en recipientes de tapa esmerilada, preparando las soluciones por un simple cálculo del volumen total que debe alcanzarse.

En el trabajo se incluyen los resultados de varios ensayos que demuestran la preparación del fosfato disódico anhidro, su ensayo de pérdida de agua a la ignición y la exactitud del título obtenido al efectuar las soluciones correspondientes.

LIBROS CONSULTADOS

CLARK, W. M., *The determination of Hydrogen ions*, 2nd ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1922.

GUARESCHI, I., *Nuova enciclopedia di Chimica*, vol. XI; artículo; Sodio. Un. Tip. Edit. Torinese. Torino, 1921.

GUILLAUMIN, CH. O., *Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H des liquides biologiques*. *Jour. de Pharm. et de Chim.* 7^e serie, t. XXV, 1922.

MICHAELIS, L., *Manuel de techniques de physico-chimie*, Masson et Co. Paris, 1923.

TREADWELL, F. P., *Trattato di Chimica analitica*, vol. 2^o, casa Dott. Fr. Vallardi, Milano, 1914.