



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen

Institut des Sciences et Techniques Appliquées - ISTA

Spécialité : *Technologie des Industries Laitières et Fromagères -TILF*

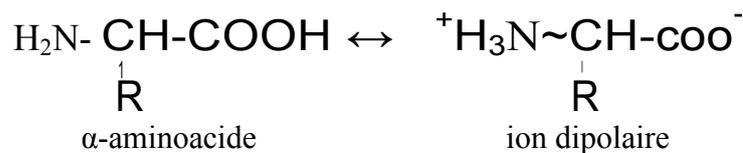
1^{ère} Année TILF

Année universitaire 2019/2020

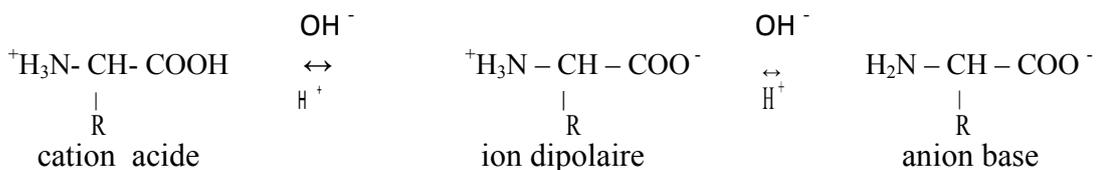
TP N° 7 De Biochimie Structurale

Dosage des aminoacides par pH-mètre

Les α -aminoacides sont des composés dont la molécule contient une fonction amine et une fonction acide carboxylique. En solution aqueuse neutre, un équilibre chimique s'établit entre la molécule neutre et l'ion dipolaire formé par réaction intramoléculaire acide-base (transfert du proton de l'acide -COOH sur la base -NH₂).



L'ion dipolaire est amphotère, il est l'acide du couple -NH₃⁺/NH₂ dont le pKa est noté pKa₂ et la base du couple -COOH/COO⁻ dont le pKa est noté pKa₁. On peut étudier le comportement dipolaire d'un aminoacide en le dosant par un acide et par une base.



Quand l'acide aminoacide contient un troisième groupe ionisable (lysine, acide aspartique...), un équilibre supplémentaire de constante K_r doit être pris en compte. Le pH isoélectrique est la valeur du pH pour laquelle la charge globale de l'acide aminoacide est nulle (placé dans un champ électrique, à pH = pHi l'acide aminoacide ne migre pas). pHi = 1/2 (pKa₁ + pKa₂) quand R est dépourvu de groupement déprotonable.

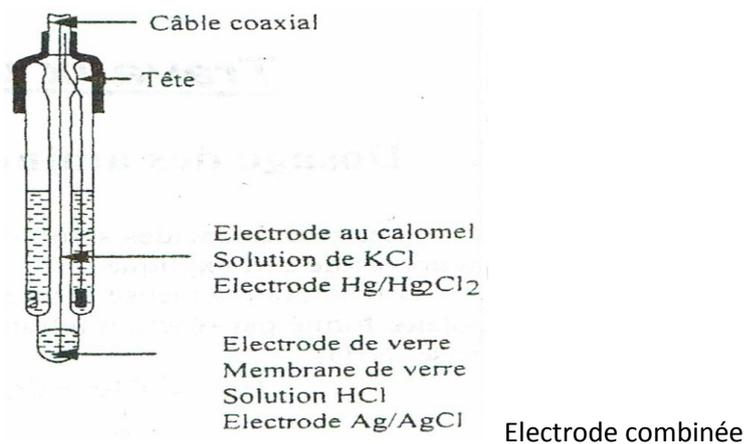
Notions de pH-métrie

Mesurer un pH consiste à mesurer la différence de potentiel entre deux électrodes : - une électrode de référence, généralement une électrode au calomel et une électrode indicatrice (électrode de verre) dont le potentiel dépend du pH.

Il existe des électrodes combinées où l'électrode de verre et l'électrode de référence sont montées sur un même support, la liaison électrique avec le millivoltmètre est réalisée par un câble coaxial. La différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode indicatrice dépend du pH de la solution extérieure :

$$E = E_a - 0,06 \times \text{pH} \quad (\text{à } 25^\circ\text{C})$$

La constante E_a dépend de chaque électrode de verre ; l'emploi d'un millivoltmètre gradué directement en unités pH nécessite donc **un équilibrage (standardisation)** avec une solution tampon dont le pH est connu.



Principe

On dose généralement une solution diluée de l'acide aminé (0,05 mol.L⁻¹) par une base forte ou un acide fort (1 mol.L⁻¹) de sorte que la variation de volume au cours du dosage (5 %) ait un effet négligeable sur la dissociation de l'acide aminé. Le dosage est suivi par pH-métrie.

Mode opératoire

Pour le réglage du pHmètre et les mesures du pH, suivre les instructions se trouvant à proximité de l'appareil.

1. Dosage de la glycine (PM 75,07) par HCl 1 mol/L

- Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire 10 mL de solution de glycine 0,5 mol.L⁻¹.
- Compléter à l'eau distillée, agiter et verser le contenu de la fiole dans un bécher de 200 ml

- Mesurer le pH et le noter.
- Additionner la solution d'acide chlorhydrique 1 M par fractions de 0,2 mL jusqu'à 1 mL ; puis par fractions de 0,5 ml jusqu'à 5 mL. Mesurer le pH après chaque addition.

2. Dosage de la glycine par NaOH 1 mol/L

- Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire 10 mL de solution de glycine 0,5 mol.L⁻¹
- Compléter à l'eau distillée, agiter et verser le contenu de la fiole dans un bécher de 200 ml
- Mesurer le pH et le noter.
- Additionner la solution de soude 1 mol/L¹ par fractions de 0,2 mL jusqu'à 1 mL, puis par fractions de 0,5 ml jusqu'à 5 mL. Mesurer le pH après chaque addition.

Résultats

1. Ecrire les équations des réactions de dosage.
2. Tracer sur papier millimétré la courbe de titration de l'acide.

abs. • 1 cm pour 1 mL de solution d'acide ou de base versée (placer l'origine au milieu de l'axe .
l'acide à gauche et la base à droite).

ord.: 1 cm pour une unité de pH

3. Déterminer graphiquement les pKa et le pHi de la glycine.
4. Tracer le diagramme de prépondérance des différentes espèces en fonction du pH. Calculer le pH isoélectrique de la glycine.