

Point isoélectrique d'un acide aminé

Remarque préalable : les concentrations indiquées sont données à titre indicatif. Il est rappelé qu'un dosage sert à doser ! La concentration exacte des solutions de soude sera donnée lors du TP.

Les acides aminés naturels dont on trouvera ci-jointe la liste avec leurs caractéristiques, présentent, sur le même atome de carbone, une fonction -COOH et une fonction -NH₂.

Quelle est la valeur du pK_a de l'acide acétique ?

Quelle est la valeur du pK_a de NH₄⁺ ?

En supposant que les valeurs des pK soient inchangées dans un acide aminé, porter en fonction du pH les différents types d'ions que l'on peut trouver dans une solution aqueuse.

Dans la réalité les valeurs des pK_a sont modifiées par influence réciproque. Quelle est, en moyenne, la valeur du pK_a correspondant à -COOH et celle du pK_a correspondant à -NH₃⁺ pour un acide α-aminé? Pouvez-vous justifier ces modifications ?

L'espèce globalement neutre s'appelle un amphion HA[±]; on définit le point isoélectrique par [H₂A⁺] = [A⁻]. Montrer que ceci correspond à un maximum de concentration de l'amphion et donc à un minimum de concentration des espèces chargées. Calculer le pH au point isoélectrique.

MANIPULATION

pHmètre: l'électrode de pH utilisée ici, est en fait une électrode double et remplace donc DEUX électrodes: une de verre et une de référence. Quelle est l'électrode de référence utilisée ici ? Donner succinctement son principe.

Tarer le pHmètre à pH=7 puis à pH=4.

Conductimètre: mesurer la constante de cellule au début et en fin de manipulation.

Remarque : certains appareils ne nécessitent pas cette opération. Néanmoins on se renseignera sur la façon de procéder en cas de besoin.

Les concentrations ne sont données qu'à titre indicatif. Seule la concentration de la soude est indiquée avec précision sur le flacon. Rappelons qu'un dosage sert à doser ! Vous devez donc, si possible, déterminer la concentration en acide aminé et en acide perchlorique des solutions fournies.

1) Dosage de la leucine

• Sur un axe de pH indiquer le domaine de prédominance des différentes formes de la leucine. Quelles sont ces formes ?

a) Tracer pH et σV en fonction de v . σ étant la conductivité et V le volume total dans le bécher (pourquoi est-ce mieux que de tracer simplement σ ?

b) Donner la signification des différentes parties des graphes.

c) Où se situe le point isoélectrique. Est-il à la position attendue ?

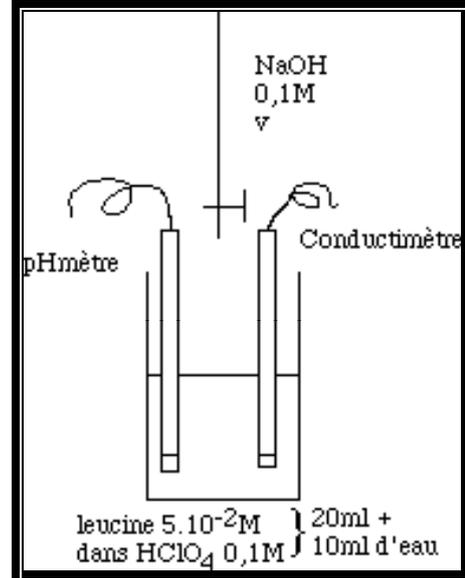
d) Calculer les K_i en prenant des couples pH, v judicieusement choisis. Comparer les valeurs trouvées à celles des tables. Conclusions ?

e) Déterminer les conductivités molaires de H_2A^+ et de

A^- . On prendra :

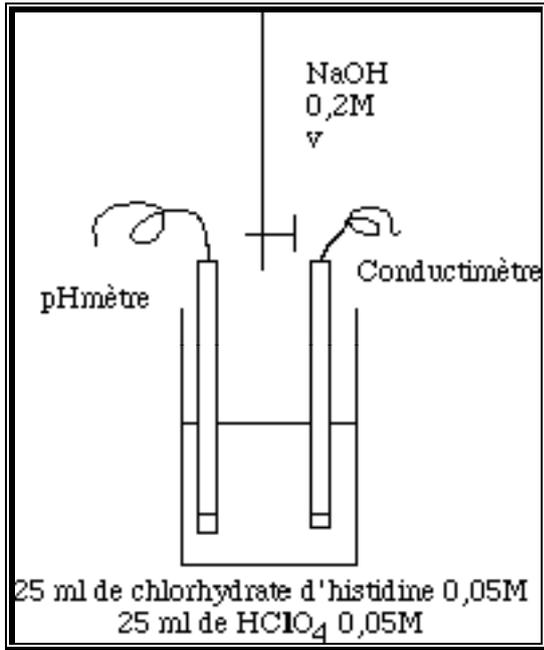
$$\left. \begin{array}{l} \lambda_{Na^+} = 43,6 \\ \lambda_{ClO_4^-} = 54,8 \\ \lambda_{H^+} = 349,8 \\ \lambda_{OH^-} = 199,2 \end{array} \right\} \text{ en } \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$$

f) Peut-on doser simultanément $HClO_4$ et la leucine ? Si oui, donner leurs concentrations, si non, expliquer pourquoi.



On commencera par donner l'expression générale de la conductivité, puis on fera les approximations qui s'imposent dans 2 cas judicieusement choisis. Quel est l'ordre de grandeur de l'incertitude ainsi que les valeurs numériques de $\lambda(H_2A^+)$ et de $\lambda(A^-)$?

Simuler les courbes à l'ordinateur.



2) Dosage de l'histidine

Tracer pH et σ_V en fonction de v .

L'histidine comme vous pouvez le voir sur la liste des acides aminés, possède 3 fonctions acido-basiques. Pouvez-vous attribuer à chacun des pK_i le centre réactionnel qui lui correspond. Donner alors en fonction du pH les différents ions qui prédominent.

Comment définiriez-vous le point isoélectrique ? Quel est le pH en ce point ? Ceci correspond-il à vos résultats expérimentaux ?

Donner l'interprétation des différentes parties des courbes. Calculer les K_i ; les comparer aux valeurs des tables. Conclusions ?

Peut-on doser simultanément HClO₄ et l'histidine ? Quelle méthode vous semble préférable ?

nom usuel	pK1	pK2	pK3	pK4	pHi
alanine	2,3	9,9			6,11
arginine	2,0	9,0	12,5		10,76
acide aspartique	2,1	3,9	9,8		2,98
cystine	1,0	2,1	8,0	10,3	5,02
diiido-tyrosine	2,1	6,5	7,8		4,29
acide glutamique	2,1	4,1	9,5		3,08
glycine	2,4	9,8			6,06
histidine	1,8	6,1	9,2		7,64
hydroxy-proline	1,9	9,7			5,82
isoleucine	2,3	9,8			6,04
leucine	2,3	9,7			6,04
lysine	2,3	9,2	10,5		9,47
méthionine	2,2	9,2			5,74
phénylalanine	2,6	9,2			5,91
proline	2,0	10,6			6,30
serine	2,2	9,2			5,68
tryptophane	2,4	9,4			5,88
tyrosine	2,2	9,1			5,63
valine	2,3	9,7	10,1		6,00