

Préparation d'une solution stock 10x destinée à réaliser des fractions tampon Tris-Cl 0,1M pH 8,8 par dilution au 1/10 et étude de l'effet de la température sur son pH

1. Solution tampon Tris-Cl pH 8,8 0,1M

1.1) Préparation d'une solution stock HCl environ 1 M

Données sur HCl concentré disponible : HCl pureté 37%, $d = 1,190$, $MM = 36,46$ g/mol.

Calculer le volume de HCl concentré nécessaire à la préparation de 1L de solution stock environ 1 M.

Donner la liste du matériel nécessaire, y compris les équipements de sécurité.

Fabriquer la solution.

1.2) Calculs de la masse de Tris (base) et du volume de HCl 1 M nécessaires pour 1 L de solution tampon 0,1 M pH 8,8 à 25°C

Données de la littérature : Tris (tri-hydroxyméthyl-aminométhane, ${}^2HN-C-(CH_2OH)_3$), $MM=121,14$ g/mol; $PK=8,06$ à 25°C.

Utiliser le calculateur de tampon <http://www.liv.ac.uk/buffers/buffercalc.html>. Quel pK est utilisé pour le calcul ? Commenter l'écart avec la valeur de pK proposée ci-dessus.

Vérifier le résultat du calculateur de tampon à l'aide la formule

$$pH = pK + \log\left(\frac{[forme\ base]}{[forme\ acide]}\right)$$

Le tampon sera réalisé par pesée de Tris(base) et la forme acide du Tris nécessaire sera obtenue par déplacement de la forme base par HCl. Ecrire la réaction du déplacement.

Calculer la masse de Tris(base) à peser pour 1 litre de tampon.

Calculer la quantité de HCl (en mol) pour préparer un litre de la solution désirée.

En déduire le volume de solution HCl 1M nécessaire à la fabrication du tampon.

1.3) Réalisation de la solution stock 10 fois concentrée

Donner la liste du matériel nécessaire pour fabriquer 1L de stock 10x.

Fabriquer 1L de stock 10x (grâce aux calculs sur le tampon 0,1M pH 8,8), diluer une fraction aliquote au 1/10 . Mesurer son pH (noter la température).

Le pH de la solution stock 10x 1M est-t-il le même que celui du tampon 0,1 M ?

2) Effet de la température sur le pH d'un tampon Tris-Cl 0,1 M pH 8,8

- Refroidir vers 0-4°C 50 mL de tampon 0,1M pH 8,8.
- Préparer un montage pour pH-métrie avec sonde de température et avec système d'agitation magnétique à barreau aimanté et agitateur chauffant.
- Verser 50 mL de tampon 0-4°C dans un petit Becher avec barreau d'agitation, mesurer le pH de la solution (noter la température exacte).
- Mettre en route le dispositif de chauffage, mesurer le pH aux environs des températures exactement connues suivantes : 10, 20, 30, 40, 50°C.
- Analyser les résultats.

Bibliographie et sitographie

- <http://www.liv.ac.uk/buffers/buffercalc.html>
- <http://www.reachdevices.com/Protein/BiologicalBuffers.html> et http://www.reachdevices.com/Protein/pKa_explanation.html
- <http://www.iue.tuwien.ac.at/phd/windbacher/node63.html>