

Préparation d'un tampon Tris-Cl 0,05 M pH 8,8 et étude de l'effet de la température sur son pH

1. Préparation d'une solution tampon Tris-Cl pH 8,8 0,05 M

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

Données sur HCl concentré disponible : HCl pureté 37%, $d = 1,177$, $MM = 36,46$ 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 (la base du couple, Tris-NH₂) et du volume de HCl 1 M nécessaires pour 1 L de solution tampon 0,05 M pH 8,8 à 37°C

Données de la littérature : Tris (tri-hydroxyméthyl-aminométhane, ${}^2HN-C-(CH_2OH)_3$), $MM=121,14$ g/mol; $PK(thermodynamique)=8,06$ 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 la forme basique du couple (Tris-NH₂) et la forme acide du couple (Tris-NH³⁺, Cl⁻) nécessaire sera obtenue par déplacement de la forme base par HCl. Écrire 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.
- En utilisant les données du calculateur de tampon, indiquer le pH attendu à la température du laboratoire (20°C par exemple).
- Au laboratoire, on fabrique souvent des stocks concentrés. Donner la liste du matériel nécessaire pour fabriquer 1L de stock 10x. Le pH de la solution stock 10x (0,5 M) sera-t-il le même que celui du tampon 0,05 M ?

1.3) Réalisation du tampon

Fabriquer 0,1L de tampon 0,05 M pH 8,8. Mesurer le pH (noter la température). Conclure.

2) Effet de la température sur le pH d'un tampon Tris-Cl 0,05 M, pH 8,8 à 37°C

- Utiliser un pH-mètre avec sonde de température et compensation de température. Préparer un montage pour pH-métrie avec sonde de température en place et avec système d'agitation magnétique à barreau aimanté et agitateur chauffant.
- Refroidir (glace fondante) vers 5-7°C environ 50 mL de tampon 0,05 M pH 8,8 en Bécher adapté aux futures mesures. Y placer un barreau d'agitation, la sonde de température et la sonde de pH afin qu'elles s'équilibrent en température avec le tampon. Homogénéiser doucement de temps en temps.
- Placer (avec précautions) le montage décrit ci-dessus sur le dispositif d'agitation et de chauffage.
- Mettre en route le dispositif d'agitation et 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>