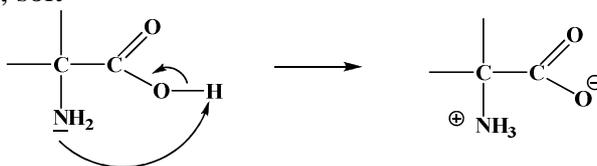


Introduction : un acide α -aminé est caractérisé par le motif structural suivant :



Les protéines sont des macromolécules obtenues à partir de certains acides α -aminés dont la formule est indiquée dans le tableau de l'annexe 1 .

1-Le zwitterion résulte de la **réaction acide-base intramoléculaire** entre le groupe amine (base) et le groupe carboxylique (acide) , soit



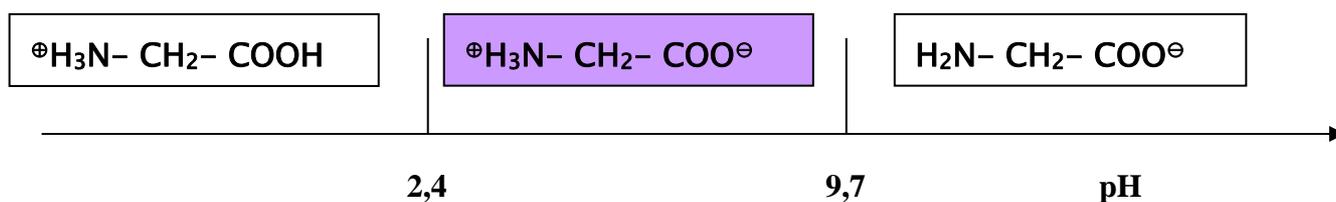
Dans le cas de la glycine $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH} \rightarrow \text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COO}^-$

Les deux couples acido-basiques sont les suivant

Couple		analogue à ...	pka associé
Acide	base		
$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	$\text{RCOOH} / \text{RCOO}^-$	De l'ordre de 2
$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	$-\text{NH}_3^+ / -\text{NH}_2$	De l'ordre de 9

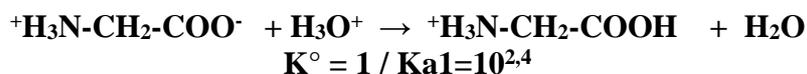
► Ainsi le zwitterion peut intervenir aussi bien comme un acide que comme une base :il s'agit d'une espèce **amphotère**

On en déduit le diagramme des domaines de prédominance :



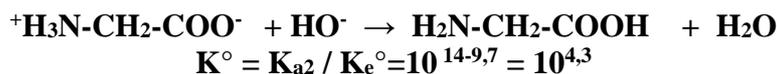
2. Titrage d'une solution aqueuse de glycine

① Si on utilise un acide comme agent titrant , la glycine doit intervenir comme base : l'équation bilan de la réaction qui sert au dosage admet alors comme équation bilan



La réaction n'est pas quantitative : le dosage ne peut pas être envisagé

② Si on utilise une base comme agent titrant, la glycine doit intervenir comme acide : l'équation bilan de la réaction qui sert au dosage admet alors comme équation bilan



Dans ce cas la réaction est quantitative et le dosage peut être envisagé .

► Pour prévoir l'allure de la courbe, on évalue le pH en quelques points particuliers, on regarde en particulier si le saut de pH à l'équivalence est grand ou pas .

Exemple : Soit C la concentration de la solution de glycine et soit 2C la concentration de la solution titrante

On note V_0 le volume de solution de glycine dosé et V_e le volume à l'équivalence .

La relation à l'équivalence s'écrit $n(\text{glycine}) = n(\text{HO}^-)$

Soit $CV_0 = 2C V_e$

$V_e = V_0 / 2$

	Composition de la solution	pH	Valeur
$V=0$	Glycine	$pH = \frac{1}{2}(pKa1 + pKa2)$ <i>Amphotère</i>	6,0
$V = V_0 / 4$	${}^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	pH = pKa2 <i>mélange acide-base conjugués</i>	9,7
$V = V_0/2 = V_e$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$pOH = \frac{1}{2}\left(pKb2 - \log \frac{CV_0}{V_0 + V_e}\right)$ <i>Base faible</i>	$C=10^{-2}$ pH=10,8
$V=V_0$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ HO^-	$pH = 14 + \log\left(\frac{2CV - 2CV_e}{V + V_0}\right)$ <i>Mélange base faible -base forte ; pH imposé par la base forte</i>	$C=10^{-2}$ pH=11,7

L'amplitude du saut de pH est alors en gros de de $11,7 - 9,7 = 2$ unités de pH

Cette amplitude n'est pas très grande : la précision du dosage ne sera pas bonne .

Courbe obtenue par simulation



► Bien observer l'allure de la courbe pour $V < V_e$

Conclusion : aucun des deux dosages pH-métriques envisagés n'est satisfaisant .

3. La condition cherchée s'écrit $n(\text{HCl}) = n(\text{glycine})$ soit

$$C_{\text{HCl}} V_{\text{HCl}} = m / M \quad \text{ou} \quad V_{\text{HCl}} = \frac{m}{MC_{\text{HCl}}}$$

Application numérique :

$$M(\text{glycine}) = 2 \cdot 12 + 2 \cdot 16 + 14 + 5 \cdot 1 = 75 \text{ gmol}^{-1}$$

$$C = 0,5 \text{ molL}^{-1} \quad V_{\text{HCl}} = \frac{0,375}{75 \cdot 0,5} = 0,01 \text{ L} \quad \mathbf{V = 10 \text{ mL}}$$

Préparation de la solution à doser :

- ◆ on utilise une pipette jaugée de 10 mL pour prélever la solution d'acide chlorhydrique .
- ◆ Pour la glycine , on peut noter que la pureté affichée sur le flacon est $> 99\%$. Aussi si on pèse $m = 375 \text{ mg}$, on aura bien $5 \cdot 10^{-3} \text{ mole}$.

► Ici il est important de bien respecter cette masse sinon on n'aura pas le mélange équimolaire

Caractéristiques des produits utilisés :

Glycine	HCl
(Acros Organic, flacon PE , 250g) CAS n° 56-40-6	Solution titrée à $0,5 \text{ molL}^{-1}$
Pureté $> 99\%$	(obtenue par dilution d'une normadose)
Masse molaire de la glycine $M = 75,06 \text{ gmol}^{-1}$	Volume pipeté : 10 mL
Masse pesée : $m = 0,3752 \text{ g}$	incertitude de la pipette : $0,2\%$
incertitude absolue de la balance : 0,0001	incertitude sur la concentration : 1%
$n(\text{glycine}) = 0,3752 \pm 0,0001 / 75,0$	$n(\text{HCl}) = 0,5 \cdot 10 \cdot 10^{-3} \pm 0,2/100 + 1/100$
$= 5 \cdot 10^{-3} \text{ mole}$	

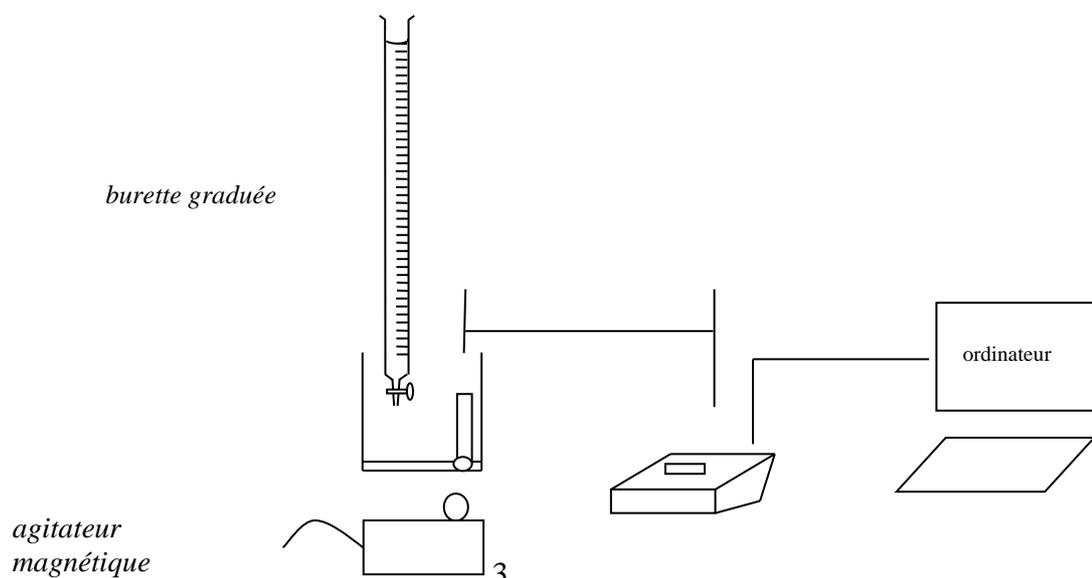
En termes de concentrations $C(\text{glycine}) = 5 \cdot 10^{-3} / 100 \cdot 10^{-3}$

L'incertitude sur la fiole jaugée est de 0,1 mL d'où

$$\mathbf{C(\text{glycine}) = 0,05 \pm 6,3 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1} \quad \text{et} \quad C(\text{HCl}) = 0,05 \pm 6,3 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}}$$

4- Dosage de la solution

Description du montage expérimental :



·A titre de rappels , il est indispensable :

- que l'électrode de verre soit complètement immergée
- qu'il faut attendre la stabilisation des valeurs mesurées avant de les relever.

·En ce qui concerne l'agitation mécanique , idéalement elle devrait être en place lors de l'ajout de l'agent titrant afin de bien homogénéiser mais elle devrait être arrêtée lors de la prise des mesures .

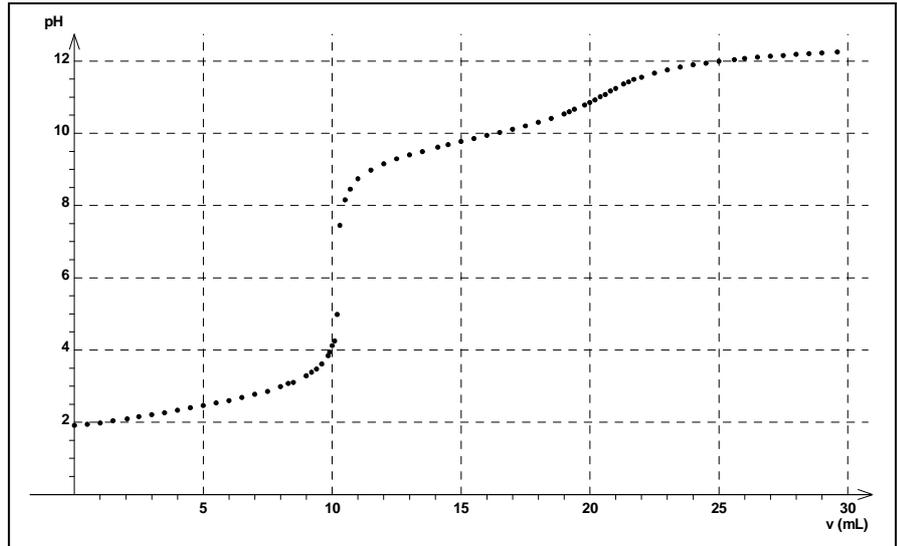
Lors de ce dosage , elle pouvait être maintenue tout le long sans que cela ne nuise à la stabilisation des valeurs .

En tous cas , il faut que toutes les mesures soient réalisées de la même façon ; à chaque binôme de définir sa façon d'opérer.

Courbe expérimentale obtenue :

pH (V)

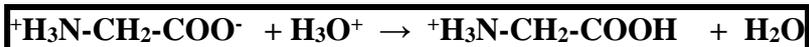
v	pH	v	pH
mL			
0.000	1.910	15.00	9.770
0.5000	1.940	15.50	9.850
1.000	1.980	16.00	9.940
1.500	2.040	16.50	10.02
2.050	2.090	17.00	10.11
2.500	2.150	17.50	10.20
3.000	2.210	18.00	10.30
3.500	2.260	18.50	10.41
4.000	2.330	19.00	10.53
4.500	2.400	19.20	10.59
5.000	2.460	19.40	10.66
5.500	2.530	19.80	10.78
6.000	2.600	20.00	10.85
6.500	2.680	20.20	10.92
7.000	2.770	20.40	11.01
7.500	2.850	20.60	11.07
8.000	2.980	20.80	11.17
8.300	3.070	21.00	11.24
8.500	3.100	21.30	11.36
9.000	3.280	21.50	11.42
9.200	3.380	21.70	11.49
9.400	3.470	22.00	11.55
9.600	3.610	22.50	11.66
9.850	3.840	23.00	11.75
9.900	3.940	23.50	11.83
10.00	4.120	24.00	11.89
10.10	4.250	24.50	11.94
10.20	4.980	25.00	11.99
10.30	7.450	25.60	12.03
10.50	8.150	26.00	12.07
10.70	8.450	26.50	12.10
11.00	8.740	27.00	12.13
11.50	8.980	27.50	12.15
12.00	9.150	28.00	12.18
12.50	9.290	28.50	12.20
13.00	9.400	29.00	12.22
13.50	9.490	29.60	12.25
14.10	9.610		
14.50	9.680		



5- Exploitation des résultats expérimentaux

1. En premier lieu , on détermine la composition de la solution obtenue lors de l'addition de la solution de HCl .

Pour cette réaction , la RP à considérer est



De constante d'équilibre $K^\circ = 10^{2,4}$

Soit x son avancement volumique à l'équilibre ; il vérifie : $K^\circ = \frac{x}{(C-x)^2}$

$$\text{On obtient } x = \frac{(2KC+1) - \sqrt{(2KC+1)^2 - 4K^2C^2}}{2K}$$

Pour $C = 0,05 \text{ molL}^{-1}$, $x = 0,036 \text{ molL}^{-1}$

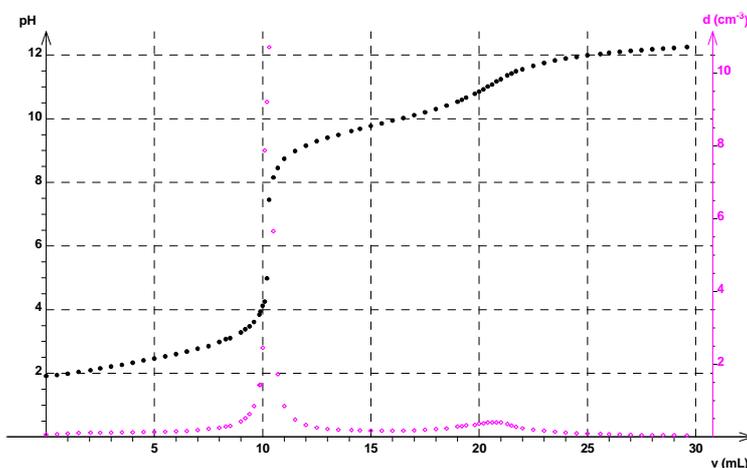
D'où la composition de la solution S

$^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COOH}$: $0,036 \text{ molL}^{-1}$
 $^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$: $0,05 - 0,036 = 0,014 \text{ molL}^{-1}$
 H_3O^+ : $0,05 - 0,036 = 0,014 \text{ molL}^{-1}$ $\text{pH} = 1,85$

En conclusion , la solution obtenue apres l'ajout de HCl est un mélange des trois espèces : $^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$, H_3O^+ et $^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COOH}$

2. Détermination des volumes équivalents :

Pour la courbe pH(V) , on utilise la fonction dérivée :



	V_{e1}	V_{e2}
Courbe pH(V)	10,28 mL	20,67

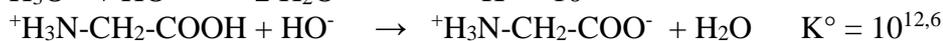
En se reportant au diagramme des domaines de prédominance , on obtient :

	$V=0$	$V=V_{e1}$	$V = V_{e2}$
pH lu sur la courbe	1,91	$4,98 < \text{pH} < 7,45$	$10,92 < \text{pH} < 11,01$
Espèce	$^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COOH}$ $^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$	$^+\text{H}_3\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$	$\text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$

On en déduit qu'avant la première équivalence, l'espèce $^+H_3N-CH_2-COOH$ est consommée et qu'entre les deux équivalences l'espèce $^+H_3N-CH_2-COO^-$ est consommée.

Enfin la solution S contient aussi des ions H_3O^+ , acide fort, qui seront donc dosés en premier.

Pour $V < V_{e1}$, on observe simultanément



Pour $V_{e1} < V < V_{e2}$



Les relations à l'équivalence s'écrivent alors

$$n(OH)_{0 \rightarrow V_{e1}} = n(H_3O^+) + n(^+H_3N-CH_2-COOH)$$

$$C_{HO} V_{e1} = (C-x) V_0 + x V_0 = C V_0$$

$n(OH)_{V_{e1} \rightarrow V_{e2}} = n(^+H_3N-CH_2-COO^-)$ présents dans le bécher pour V_{e1}

$$C_{HO} (V_{e2} - V_{e1}) = (C-x) V_0 + x V_0$$

présents initialement dans la solution S

issus du dosage de H_3N-CH_2-COOH

$$C_{HO} (V_{e2} - V_{e1}) = C V_0 \quad \text{ou} \quad V_{e2} = 2 V_{e1}$$

Valeurs attendues pour les volumes équivalents : avec $C=0,05 \text{ molL}^{-1}$: $V_{e1} = 10,0 \text{ mL}$ et $V_{e2} = 20,0 \text{ mL}$

dosage pH-métrique -

a- expression du pH

pH de la solution initiale : cf ci-dessus, il est déterminé selon $pH = -\log([H_3O^+])$ avec $[H_3O^+] = C-x$ et x solution de l'équation : $x / (C-x)^2 = 1 / Ka1 = 10^{pKa1}$

Avant la première équivalence, il est difficile de donner une expression générale du pH car les deux acides sont dosés simultanément

A la première équivalence, on a une solution d'amphotère, d'où l'expression du pH : $pH = 0,5 * (pKa1 + pKa2)$

Entre la première et la deuxième équivalence, on est en présence d'un mélange d'acide et de base conjugués, associés à pKa de l'ordre de 9 : on peut alors exprimer, sans aucun risque :

$$pH = pKa2 + \log\left(\frac{C_{OH}(V - V_{e1})}{C V_0 - C_{OH}(V - V_{e1})}\right) \quad \text{et alors } pKa2 = pH \text{ à la deuxième demi-équivalence.}$$

A la deuxième équivalence, on a une solution de base faible $pH = 7 + 0,5 * (pKa2 + \log C')$ avec C' concentration de la base, soit en tenant compte de la dilution : $C' = C V_0 / (V_0 + V_{e2})$. Après calcul, on trouve $pH_2 = 11,1$.

Après la deuxième équivalence, le pH est imposé par la base forte OH^- , soit : $pH = 14 + \log(C_{OH}(V - V_{e2}) / (V_0 + V))$

7-Influence de la quantité d'acide chlorhydrique sur le dosage

Il faut d'abord s'interroger sur la composition de la solution avant tout dosage . En reprenant la même démarche que ci-dessus , l'avancement volumique de la réaction à l'équilibre vérifie

$$K^{\circ} = \frac{x}{(C-x)(2C-x)}$$

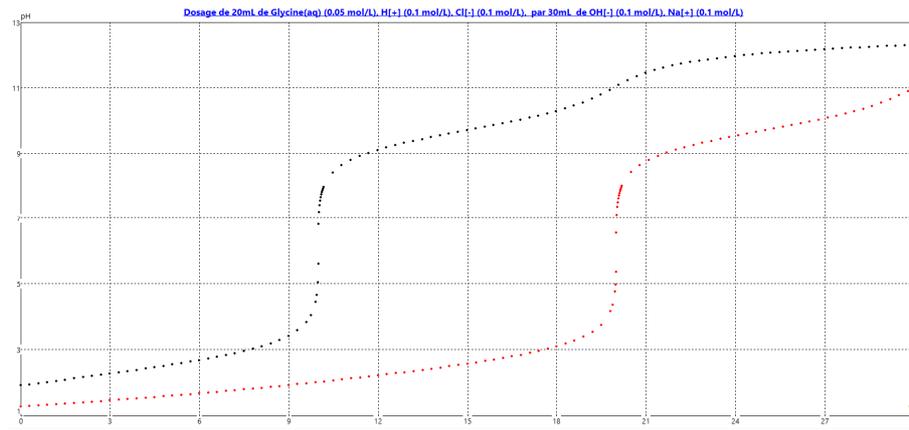
Toujours avec $C = 0,05 \text{ molL}^{-1}$; on obtient alors

$$\text{solve}(10^4 * (0.05-x) * (0.1-x) = x, x) ; \quad x = .04990039762, \quad .1001996024$$

soit $x \approx 0.05 \approx C$

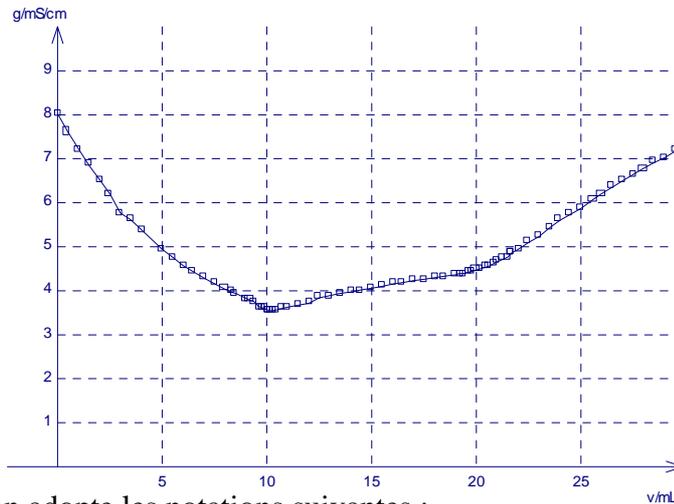
Ainsi , on peut considérer que la solution initiale est constituée d'un mélange équimolaire de $^+H_3N-CH_2-COOH$ ($C \text{ molL}^{-1}$) et de H_3O^+ ($C \text{ molL}^{-1}$)

Lors du dosage par une solution de soude , on ne devrait donc observer qu'une seule equivalence . La relation à l'équivalence s'écrirait : $n(OH)_{0 \rightarrow V_e} = n(H_3O^+) + n(^+H_3N-CH_2-COOH)$ ou $C_{HO} V_e = 2CV$

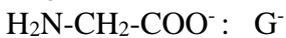
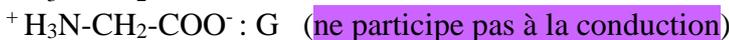
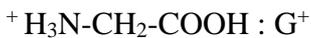


6. Courbe σ (V)

Résultats expérimentaux :



Pour simplifier les écritures , on adopte les notations suivantes :



Pour $V < V_{e1}$, il est également difficile d'établir l'expression de la conductivité puisqu'il n'est pas possible de déterminer les valeurs de n_1 et n_2 ; autrement dit on n'a pas d'expression générale pour les concentrations des ions.

Pour $V_{e1} < V < V_{e2}$, on a

$$\sigma = \lambda_{Na} \frac{C_{OH} V}{V + V_0} + \lambda_{G^-} \frac{C_{OH} (V - V_{e1})}{V + V_0} = (\lambda_{Na} + \lambda_{G^-}) \frac{C_{OH} V}{V + V_0} - \lambda_{G^-} \frac{C_{OH} V_{e1}}{V + V_0}$$

σ est une fonction affine de V si V est négligeable devant V_0 de sorte que $V + V_0 \approx V_0$. Ceci n'est pas le cas ici . Pour obtenir des segments de droite , on doit tracer $G(V + V_0)$ en fonction de V .

Pour $V > V_{e2}$

$$\begin{aligned} \sigma &= \lambda_{Na} \frac{C_{OH} V}{V + V_0} + \lambda_{G^-} \frac{C_{OH} (V_{e2} - V_{e1})}{V + V_0} + \lambda_{OH} \frac{C_{OH} (V - V_{e2})}{V + V_0} \\ &= (\lambda_{Na} + \lambda_{OH}) \frac{C_{OH} V}{V + V_0} + \lambda_{G^-} \frac{C_{OH} (V_{e2} - V_{e1})}{V + V_0} - \lambda_{OH} \frac{C_{OH} V_{e2}}{V + V_0} \end{aligned}$$

Commentaire sur l'allure de la courbe avant la première équivalence :

On peut considérer qu'il existe un tout premier changement de pente au point B avec une décroissance plus rapide entre A et B qu'entre B et C . On peut interpréter ceci en considérant les H_3O^+ initialement présents.

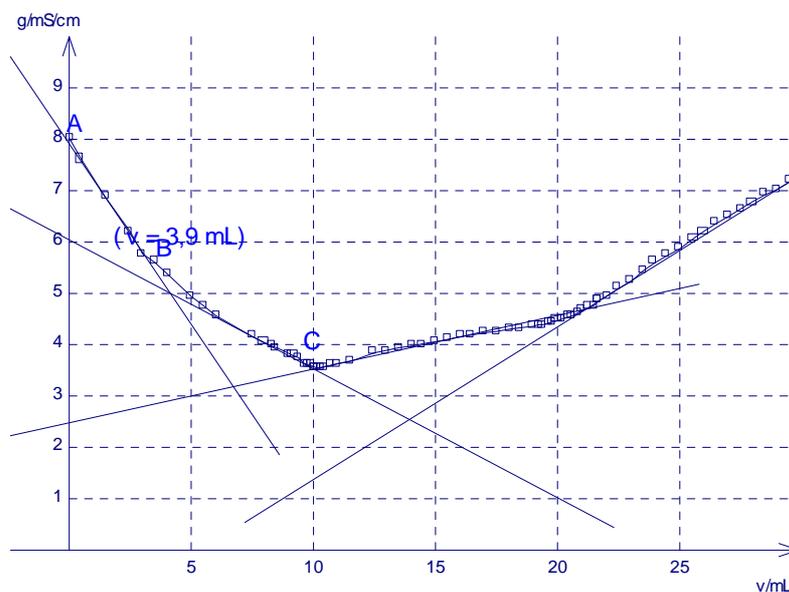
De A à B , les deux acides sont dosés simultanément : il a diminution du nombre de mole d'ions H_3O^+ et d'ions GH^+ ($+ H_3N-CH_2-COOH$) . Globalement la conductivité diminue et la pente dépend de (λ_H et λ_{GH^+}).

Au point B , tous les ions H_3O^+ ont été dosés

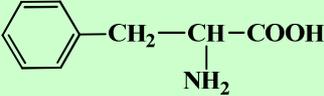
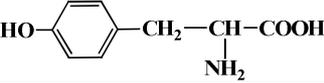
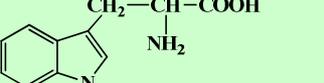
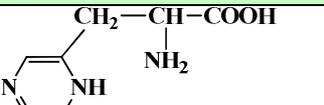
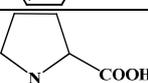
De B à C , seul l'acide GH^+ est dosé et donc la pente dépend uniquement de λ_{GH^+} , d'où une pente plus faible que dans la portion AB (ceci est d'autant plus vrai que λ_H a une valeur nettement supérieure à celle de λ_{GH^+})

A partir de la composition initiale de la solution à doser , on peut déterminer le volume de OH nécessaire au dosage des ions H_3O^+ selon $C_{OH} V = 1,8 \cdot 10^{-2} * 20$ soit $V = 3,6$ mL .

Sur la courbe de conductimétrie , on lit volume au point B = 3,9 mL. Cette valeur supérieure à 3,6 mL est compatible avec le fait que la soude ne sert pas uniquement à doser les ions H_3O^+ dans la portion de A à B



Annexe 1 : Acides α -aminés

Nom	Abréviation	Formule	$[\alpha]_D^{25^\circ}$	pKa - COOH / COO ⁻	pKa -NH ₃ ⁺ / - NH ₂	pKa chaîne latérale
Glycine	Gly	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$		2,34	9,6	
Alanine	Ala	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	+1,8°	2,35	9,69	
Valine	Val	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	+5,6°	2,32	9,62	
Leucine	Leu	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	-11,0°	2,36	9,60	
Isoleucine	Ileu	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	+ 12,4°	2,36	9,68	
Sérine	Ser	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	- 7,5°	2,21	9,15	
Thréonine	Thr	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CHOH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	-28,5°	2,63	10,43	
Cystéine	Cys	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	-16,5°	1,71	8,33	10,78
Méthionine	Met	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	- 10,0°	2,28	9,21	
Acide aspartique	Asp	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	+ 5°	2,09	9,82	3,86
Asparagine	Asn	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	-5,1°	2,02	8,8	
Acide glutamique	Glu	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	+ 12°	2,19	9,67	4,25
Glutamine	Gln	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	+6,3°	2,17	9,13	
Lysine	Lys	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	+ 13,5°	2,18	8,95	10,53
Arginine	Arg	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{NH} \quad \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	+ 12,5°	2,17	9,04	12,48
Phénylalanine	Phe		- 34,5°	1,83	9,13	
Tyrosine	Tyr		- 10°	2,20	9,11	10,07
Tryptophane	Try		-33,7°	2,38	9,39	
Histidine	His		-38,5°	1,82	9,17	6,0
Proline	Pro		-86,2°	1,99	10,6	