

TD/ TP/1h30

Préparation d'une solution tampon en enzymologie

I Quelques définitions :

En chimie, une **solution tampon** est une solution qui maintient approximativement le même pH malgré l'addition de petites quantités d'un **acide** ou d'une **base**, ou malgré une **dilution**

Une solution tampon est composée :

- soit d'un acide faible HA et de son anion A^{-1}

Il s'agit par exemple du couple CH_3COOH/CH_3COO^{-} , ou encore du couple NH_4^{+}/NH_3 .

- soit d'une base faible B et de son cation BH^{+2}

On trouve dans le sang humain une solution tampon physiologique formée par le couple H_2CO_3/HCO_3^{-} qui maintient le pH sanguin entre 7,35 et 7,45.

On évalue la capacité d'une solution tampon à lutter contre les changements de pH par le pouvoir tampon (noté PT ou encore τ).

Le pouvoir tampon maximal d'une solution est obtenu pour un mélange équimolaire entre (*par exemple*) l'acide faible HA et son anion correspondant A^{-} . Dans ce cas le pH est égal à la valeur du pK_a du couple en solution.

Une solution tampon est obtenue par le mélange en quantité du même ordre d'un acide faible et de base conjuguée de façon à se trouver autour de $pH=pK_a$

Les enzymes ont besoin de travailler dans des milieux tampons, comme le corps humain ou in vitro avec des solutions tampons.

L'activité d'une préparation enzymatique est exprimée en nanokatals.

II L'enzyme à étudier dans les futurs TP.

L'enzyme étudiée est la Béta Galactosidase dont on suit son action sur un substrat de synthèse l'orthonitrophényl-B -D-galactopyrannoside : oNPG (PM=301) à la concentration de 0.75g.L-1 dans le tampon standard (TS) à pH 7,5.



III Application : préparation d'une solution tampon en enzymologie.

Comment faire ?

- 1 Préparer 50 ml de phosphate monobasique à 100mM.
A partir d'une solution phosphate monobasique anhydre de PM = 119,98 g/mol.

Il faut peser _____ g et ajuster

- 2 Préparer 100 ml de tampon phosphate (TS pour enzymologie) à 100 mM.

Il faut peser _____ g et ajuster.....

- 3 Il faut prendre les 100ml de solution phosphate dibasique à 100 mM et ajuster le pH à 7.5 en rajoutant quelques gouttes de la solution précédente.

Cf explication de l'enseignant.

Le matériel à utiliser :

Verrerie : béchers de 50 et 100 ml

pH mètre

Solution à pH 4 et pH 7

Agitateur

Burette

