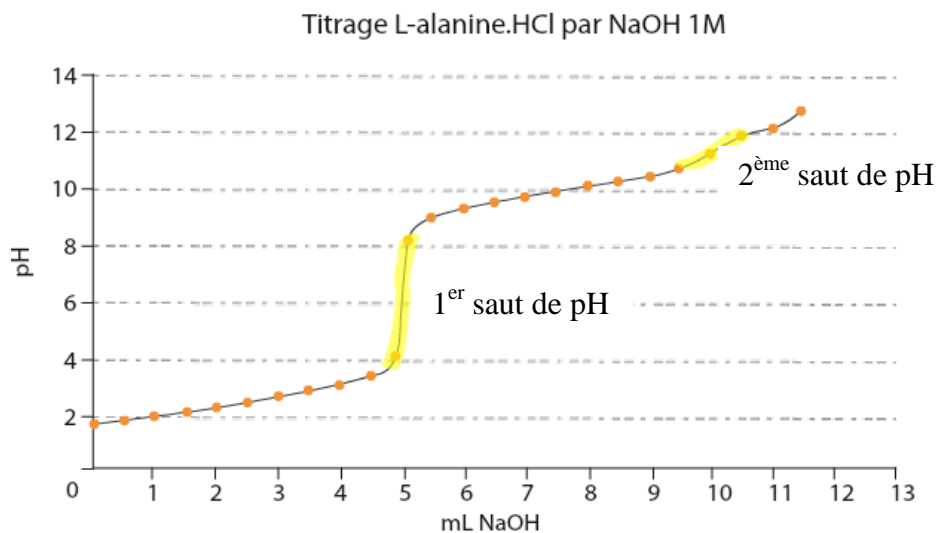


On remplit une burette d'une solution de NaOH 1M et on introduit 50 ml d'une solution de chlorhydrate d'alanine ($\text{Cl}^- \text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$) de concentration 0,1M dans un bécher. On pose le bécher sur un agitateur magnétique placé en-dessous de la burette contenant la solution de NaOH 1M, on ajoute un barreau magnétique et on met l'agitateur sous tension. On introduit ensuite l'électrode d'un pH-mètre dans la solution et on mesure le pH de départ qui vaut 1,68.

On ajoute goutte à goutte la solution de NaOH 1M contenue dans la burette et on relève simultanément les valeurs du pH ainsi que le volume de NaOH 1M ajouté. Quand le pH atteint une valeur supérieure à 12, nous arrêtons le titrage.



Chaque changement « brusque » de pH, appelé aussi **saut de pH**, nous indique où se situent les points d'équivalence du titrage, que nous pouvons déterminer graphiquement grâce à la courbe de titrage. Remarquons que le 2^{ème} saut de pH est moins marqué que le 1^{er} saut.

<p>L'alanine protonée du chlorhydrate d'alanine possède deux fonctions acide. La littérature¹ nous indique une valeur de 2,34 pour le pKa de la fonction COOH et une valeur de 9,69 pour la fonction NH₃⁺.</p>	<p>Littérature : pKa₁ = 2,34 $\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^- + \text{H}_3\text{O}^+$</p> <p>Littérature : pKa₂ = 9,69 $\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{N-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^- + \text{H}_3\text{O}^+$</p> <p>Grâce à la courbe de titrage, nous allons déterminer expérimentalement ces deux valeurs de pKa.</p>																					
<p>L'introduction d'une électrode de pH-mètre dans la solution de chlorhydrate d'alanine 0,1M de départ nous permet de mesurer une valeur initiale de pH valant 1,68.</p> <p>Sur base de ces données expérimentales et connaissant la relation mathématique qui lie le pH d'un acide faible en solution à la concentration initiale en acide et au pKa, nous déterminons par calcul la valeur du pKa de la fonction la plus acide de l'alanine protonée. Nous obtenons une valeur de 2,36, proche de la valeur renseignée par la littérature pour le pKa de la fonction acide carboxylique de cet acide aminé.</p>	<p>① Solution de départ</p> <p>$\text{Cl}^- \cdot \text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH}$ C_A = 0,1M</p> <p>pH mesuré = 1,68</p> <p>Acide faible en solution : $\text{pH} = \frac{1}{2} \text{pK}_a - \frac{1}{2} \log C_A$</p> <p>→ Valeur expérimentale du pK_{a1} = 2,36</p> <p>Valeur pK_{a1} littérature = 2,34</p>																					
<p>On commence le titrage par NaOH 1M. On observe de faibles variations de pH. L'ion OH⁻ réagit avec la fonction COOH de l'alanine protonée pour générer une fonction carboxylate (base conjuguée de COOH). La présence simultanée d'un acide faible et de sa base conjuguée en solution, dans un rapport de concentrations inférieur à 10, forme un <u>mélange tampon</u>. Le pH se calcule suivant l'expression de Henderson-Hasselbach.</p> <p>Après addition de 2,5 mL de NaOH 1M (2,5.10⁻³ mol d'ions OH⁻), le pH mesuré vaut 2,35. Après réaction, nous avons des quantités identiques en alanine protonée et en alanine sous forme de zwitterion. Ce point particulier correspond à la moitié de la neutralisation de la première fonction acide de l'alanine protonée ; on l'appellera premier point de demi-équivalence. L'expression de Henderson-Hasselbach se simplifie : la valeur de pKa obtenue ainsi vaut 2,35, proche de la valeur renseignée par la littérature.</p>	<p>② Après addition de 2,5 mL de NaOH 1M</p> <table border="0"> <tr> <td></td> <td>$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH}$</td> <td>+</td> <td>$\text{OH}^-$</td> <td>→</td> <td>$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^-$</td> <td>+ H_2O</td> </tr> <tr> <td>T₀</td> <td>5.10⁻³ mol</td> <td></td> <td>2,5.10⁻³ mol</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>T</td> <td>2,5.10⁻³ mol</td> <td></td> <td>0</td> <td></td> <td>2,5.10⁻³ mol</td> <td></td> </tr> </table> <p>pH mesuré = 2,35</p> <p>Faible variation du pH : Mélange tampon : $\text{pH} = \text{pK}_{a1} + \log \left(\frac{C_B}{C_A} \right)$</p> <p>C_B = C_A ⇒ « 1er point de demi-équivalence » : $\text{pH} = \text{pKa}$</p> <p>→ Valeur expérimentale de pK_{a1} = 2,35</p> <p>Valeur pK_{a1} littérature = 2,34</p>		$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH}$	+	OH^-	→	$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^-$	+ H_2O	T ₀	5.10 ⁻³ mol		2,5.10 ⁻³ mol				T	2,5.10 ⁻³ mol		0		2,5.10 ⁻³ mol	
	$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH}$	+	OH^-	→	$\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-COO}^-$	+ H_2O																
T ₀	5.10 ⁻³ mol		2,5.10 ⁻³ mol																			
T	2,5.10 ⁻³ mol		0		2,5.10 ⁻³ mol																	

¹ Principles of Biochemistry *Lenhinger* 1984, p104 et suiv.

On continue à ajouter NaOH 1M. On observe une augmentation brutale du pH. La courbe présente un point d'inflexion correspondant à l'addition de 5 mL de NaOH 1M.

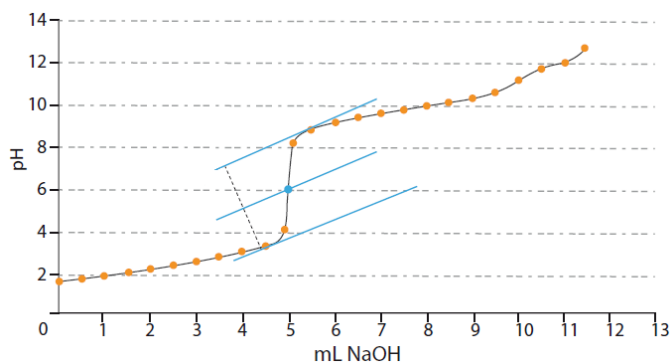
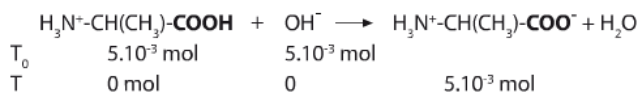
En ce **premier « point d'équivalence »** du titrage, toutes les fonctions COOH sont neutralisées par les ions OH⁻ et l'alanine est entièrement sous forme de zwitterion.

Le pH expérimental déterminé en ce point d'inflexion grâce à la méthode des tangentes vaut 6.0

Le zwitterion possède une fonction acide faible (NH₃⁺) et une fonction base faible (COO⁻). Le pH se calcule donc exactement comme celui d'un sel formé par le mélange équimolaire d'un acide faible et d'une base faible.

En utilisant nos données expérimentales, nous pouvons ainsi déterminer la valeur du second pKa de l'alanine, correspondant à la fonction ammonium. Cette valeur de pKa est très proche de la valeur renseignée par la littérature.

③ Après addition de 5 mL de NaOH 1M



pH mesuré = 6,0

Forte variation du pH : « 1er point d'équivalence » :

$$\text{pH} = \frac{1}{2} \text{p}K_{a1} + \frac{1}{2} \text{p}K_{a2}$$

Valeur expérimentale du pK_{a1} = 2,35

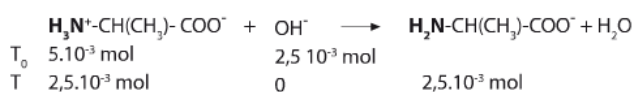
→ Valeur expérimentale de pK_{a2} = 9,65

Valeur pK_{a2} littérature = 9,69

On continue à ajouter NaOH 1M. On observe à nouveau de faibles variations de pH, correspondant à un nouveau mélange tampon, cette fois entre la forme zwitterion de l'alanine qui joue le rôle d'acide faible et sa forme anionique qui joue le rôle de base faible. Le pH se calcule à nouveau suivant l'expression de Henderson-Hasselbach, en tenant compte cette fois du pK_a de la seconde fonction acide.

Après addition de 7,5 mL de NaOH 1M seules 2,5.10⁻³ moles d'ions OH⁻ sont susceptibles de réagir avec la fonction -NH₃⁺, puisque 5.10⁻³ moles ont déjà réagi avec la fonction -COOH de l'alanine protonée pour donner sa forme zwitterion. Nous obtenons après réaction des quantités identiques en alanine sous forme de zwitterion et en alanine sous forme anionique. Ce point particulier correspond à la moitié de la neutralisation de la seconde fonction acide de l'alanine protonée ; on l'appellera **second point de demi-équivalence**. Le pH mesuré en ce point vaut 9,83.

④ Après addition de 7,5 mL de NaOH 1M



pH mesuré = 9,83

Faible variation du pH : **Mélange tampon** : $\text{pH} = \text{p}K_{a2} + \log\left(\frac{C_B}{C_A}\right)$

C_B = C_A ⇒ « 2nd point de demi-équivalence » : $\text{pH} = \text{p}K_a$

→ Valeur expérimentale de pK_{a2} = 9,83

Valeur pK_{a2} littérature = 9,69

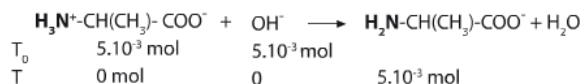
Dans ce cas précis, l'expression de Henderson-Hasselbach se simplifie et le pH devient égal à la valeur du pKa de la fonction acide. La valeur de pKa obtenue ainsi vaut 9,83, toujours proche de la valeur renseignée par la littérature.

On continue à ajouter NaOH 1M. On observe une nouvelle augmentation significative du pH. La courbe présente un nouveau point d'inflexion correspondant à l'addition de 10 mL de NaOH 1M.

En ce **second point d'équivalence** du titrage, toutes les fonctions NH_3^+ ont été neutralisées par les ions OH^- et l'alanine est entièrement sous forme d'anion. Le pH d'une telle solution est donc celui d'une base faible. Le pH expérimental déterminé en ce point vaut 11,28.

En utilisant nos données expérimentales de pH et de concentration en base faible, nous pouvons à nouveau déterminer la valeur du second pK_a de l'alanine, correspondant à la fonction NH_3^+ . Cette valeur de pK_a est très proche de la valeur renseignée par la littérature.

⑤ Après addition de 10 mL de NaOH 1M



pH mesuré = 11,28

Forte variation du pH : « 2nd point d'équivalence » :

$$\text{pH} = 7 + \frac{1}{2} \text{pK}_a + \frac{1}{2} \log C_b$$

Moles d'alanine sous forme d'anion = 5.10^{-3} mol

Volume total de solution = 60 mL

⇒ Concentration en alanine = $8,33.10^{-2}$ (mol/L)

⇒ Valeur expérimentale de $\text{pK}_{a2} = 9,64$

Valeur pK_{a2} littérature = 9,69

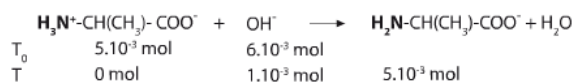
On continue à ajouter de NaOH 1M. On se trouve en présence d'un mélange d'une base forte, (l'ion OH^-) et d'une base faible (l'anion alanine).

Par exemple, après avoir ajouté 11 mL de NaOH 1M, nous avons 5.10^{-3} moles d'alanine sous forme d'anion et 10^{-3} moles d'ions OH^- .

Le pH mesuré expérimentalement vaut 12,25. Cette valeur est proche de la valeur de pH calculée pour une solution qui ne contiendrait que l'ion OH^- .

Dans un mélange d'une base faible et d'une base forte, le pH est fixé principalement par la concentration en base forte.

⑥ Après addition de 11 mL de NaOH 1M



pH mesuré = 12,25

Excès d'une base forte en solution : $\text{pH} = 14 + \log C_b$

Moles d'ions hydroxyde = 10^{-3} mol

Volume total de solution = 61 mL

⇒ Concentration en ions hydroxyde = $1,64.10^{-2}$ (mol/L)

⇒ pH calculé = 12,21

De même, dans un mélange d'un acide faible et d'un acide fort, le pH est fixé principalement par la concentration en acide fort.

Résumé : Titrage pH-métrique de la L-alanine.HCl par NaOH 1M

