

## TP n°09 : Détermination d'un $pK_a$ et solutions tampons

### I. Contexte du sujet

L'étude d'une bactérie nécessite sa culture sur un milieu lui apportant les nutriments nécessaires à sa multiplication. Le pH du milieu a également son importance. En effet, toutes les bactéries ne se développent pas de façon optimale pour la même fourchette de pH :

- Les bactéries neutrophiles se développent en milieu quasi neutre. Par exemple, le développement de la redoutable *Escherichia coli* (responsable entre autres de la gastro-entérite) se fait de façon optimale pour un pH compris entre 6,5 et 7,5.
- Les bactéries alcalinophiles se développent, comme leur nom l'indique, de préférence en milieu alcalin, c'est-à-dire basique. Par exemple, le développement du foudroyant *vibrio cholerae* (responsable des épidémies de choléra chez l'homme) se fait de façon optimale pour un pH compris entre 8 et 9.
- Les bactéries acidophiles se développent préférentiellement en milieu acide. Par exemple, le développement de la délicieuse *lactobacillus acidophilus* (qui transforme le lait en yaourt), se fait de façon optimale pour un pH compris entre 4,0 et 5,5.

Cependant, les déchets produits par les réactions chimiques internes à la bactérie (métabolisme, catabolisme, etc.) tendent à modifier le pH du milieu de culture, au cours du développement du microorganisme et de sa multiplication. Le pH peut alors devenir impropre à sa reproduction, voire létal. Il est nécessaire d'utiliser des solutions dont le pH varie très peu, même après ajout d'acide ou de base : les solutions tampons.

Une des solutions tampon les plus faciles à préparer au laboratoire est le tampon acétate.

« Quelle bactérie, parmi celles citées ci-dessus, peut être mise en culture en utilisant le tampon acétate ? »

### II. Documents à disposition

#### Doc n°1 : Quelques informations

- Une des méthodes les plus simples pour réaliser une solution tampon est de mélanger de façon équimolaire (même quantité de matière) un acide faible et sa base conjuguée. C'est le cas de la solution tampon dite « tampon acétate ».
- Chaque couple acide / base est caractérisé par sa constante d'acidité  $K_a$  ou son  $pK_a$ , qui vaut par définition :  $pK_a = -\log K_a$ .
- Soit une solution contenant un acide faible AH et sa base conjuguée  $A^-$  dissous. On note  $[AH]_f$  et  $[A^-]_f$  leurs concentrations respectives.

Le couple AH /  $A^-$  est caractérisé par son  $pK_a$  et la **relation d'Anderson-Hasselbalch** donne le pH d'une telle solution :

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]_f}{[AH]_f}$$

- L'acide éthanóïque, ou acétique ( $CH_3CO_2H$ ) a pour base conjuguée l'ion éthanóate, ou acétate ( $CH_3CO_2^-$ ).

#### Doc n°2 : Comparaison de protocoles

On trouve dans la littérature scientifique 2 protocoles expérimentaux pour déterminer le  $pK_a$  du couple  $CH_3CO_2H / CH_3CO_2^-$ . Les deux protocoles nécessitent l'utilisation des 2 solutions suivantes :

- une solution  $S_A$  d'acide éthanóïque de concentration en soluté apporté  $C_A = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$  ;
- une solution  $S_B$  d'éthanóate de sodium de concentration en soluté apporté  $C_B = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$ .

Protocole 1 : Mélanger 100 mL de  $S_A$  avec 100 mL de  $S_B$  dans un bécher.

Agiter puis mesurer le pH du mélange obtenu avec un pH-mètre.

Protocole 2 :

- Remplir une première burette graduée avec la solution  $S_A$  et une seconde burette avec  $S_B$ . (1 seule burette par groupe de la rangée)
- Préparer 3 ou 4 des 7 solutions suivantes dans des béchers. Puis passer les béchers à l'autre groupe qui complètera avec l'autre solution.
- Chaque groupe mesure ensuite les pH des 7 solutions.

Bécher n°	1	2	3	4	5	6	7
Volume d'acide versé $V_A$ (en mL)	25,0	25,0	25,0	25,0	20,0	10,0	5,0
Volume de base versé $V_B$ (en mL)	5,0	10,0	20,0	25,0	25,0	25,0	25,0

### III. Matériel à disposition

- 2 burettes graduées
- 7 béchers de 50 mL
- 2 béchers de 100 mL
- Un pH-mètre

- 1 ordinateur avec le logiciel Latis-Pro
- 1 solution d'acide éthanóïque de concentration  $C_a = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$
- 1 solution d'éthanóate de sodium de concentration  $C_b = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$

### III. Travail à effectuer.

#### S'APPROPRIER

- 1°- Quelle est la définition d'une solution tampon ?
- 2°- Quel est l'intérêt d'utiliser un milieu tamponné pour cultiver des bactéries ?
- 3°- Le mélange du protocole 1 est une solution tampon. Justifier cette affirmation.

#### ANALYSER

- 4°- Expliquer en quoi le protocole 1 permet d'accéder directement à la valeur du  $pK_a$  du couple  $CH_3CO_2H / CH_3CO_2^-$ .
- 5°- Expliquer, à l'aide de la relation d'Anderson-Hasselbalch et du matériel disponible, comment les mesures de pH du protocole 2 permettent de déterminer la valeur du  $pK_a$  du couple  $CH_3CO_2H / CH_3CO_2^-$ . Pourquoi ce protocole est-il plus précis ?

#### RÉALISER

- 6°- Préparer un tableau de mesures afin d'y noter :
  - le numéro de chaque solution
  - les concentrations effectives en quantité de matière d'acide éthanóïque  $[CH_3CO_2H]_f$  de chaque solution.
  - les concentrations effectives en quantité de matière d'ions éthanóate  $[CH_3CO_2^-]_f$  de chaque solution.
  - le pH de chaque solution.
- Réaliser le protocole 2. Noter les valeurs de pH obtenues dans le fichier Excel sur l'ordinateur du professeur.
- 7°- Pour chaque solution quelle est la meilleure estimation de son pH ? L'ajouter dans votre tableau de mesure.
- 8°- On admettra que  $[CH_3CO_2H]_i = [CH_3CO_2H]_f$  et  $[CH_3CO_2^-]_i = [CH_3CO_2^-]_f$ . (*facilement démontrable avec un tableau d'avancement*)  
Calculer les concentrations effectives en quantité de matière d'acide éthanóïque  $[CH_3CO_2H]_f$  et d'ions éthanóate  $[CH_3CO_2^-]_f$  dans chacune des 7 solutions préparées.  
*Vous détaillerez le calcul pour la solution n°1 et noterez directement le résultat dans le tableau pour les autres.*
  - Entrer les valeurs du pH et des concentrations dans le tableau de valeur de Latis-Pro en choisissant des notations pertinentes pour les grandeurs. (*Traitement/Tableur puis variable/nouvelle*).
  - Aller dans la feuille de calcul (*onglet traitement*) et créer la grandeur L permettant de calculer les valeurs du logarithme à déterminer (*en utilisant vos propres notations*) puis la calculer.
  - Tracer l'évolution du pH en fonction de L.
  - Modéliser votre courbe à l'aide d'une fonction adaptée et noter l'équation obtenue. (*dans la case « Erreur en Y » rentrer l'incertitude sur le pH et recalculer le modèle afin d'avoir les incertitudes sur les coefficients de l'équation*)

Appel n°1	Appelez le professeur pour lui montrer votre courbe et votre équation
-----------	---

#### VALIDER

- 9°- Déterminer le  $pK_a$  du couple  $CH_3CO_2H / CH_3CO_2^-$ .
- 10°- **Déduire** de la question précédente une réponse **argumentée** à la problématique du sujet.

Appel n°2	Appelez le professeur pour lui montrer vos réponses
-----------	---