

LES AMPHOLYTES

OBJECTIFS DU COURS :

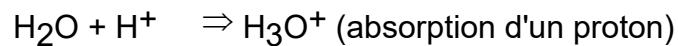
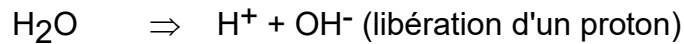
- 1 - Définition d'un ampholyte.**
- 2 - Différentes formes d'un ampholyte selon le pH**
- 3 - définition du pH iso-électrique.**
- 4- conséquences sur la mobilité et la solubilité des protéines**

LES AMPHOLYTES

I - DEFINITION

Les ampholytes ou amphotères sont des corps qui possèdent à la fois des fonctions acides et des fonctions basiques. Les unes et les autres sont à dissociation incomplète.

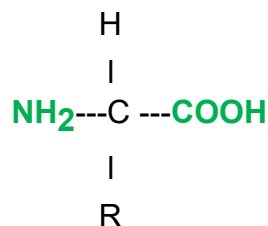
L'eau pour BRONSTED est un ampholyte.



II - ACIDES AMINES

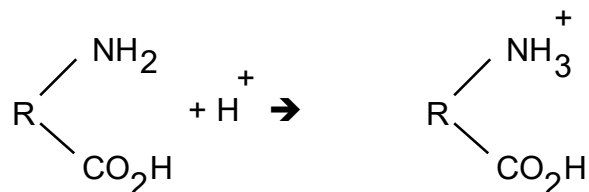
Les acides aminés sont les molécules constitutives des protéines. Ils possèdent tous au moins deux groupements ionisables.

- un groupement carboxylique COOH
- un groupement amine NH₂



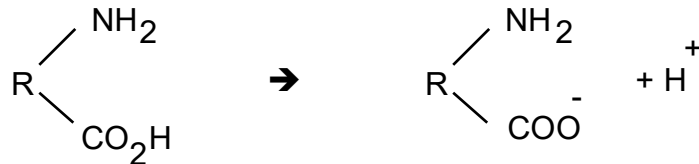
Leur formule générale est NH₂-R-COOH avec le résidu R qui peut être lui-même ionisable.

En milieu acide, il y a un excès de protons H⁺ qui sont absorbés par l'acide aminé :



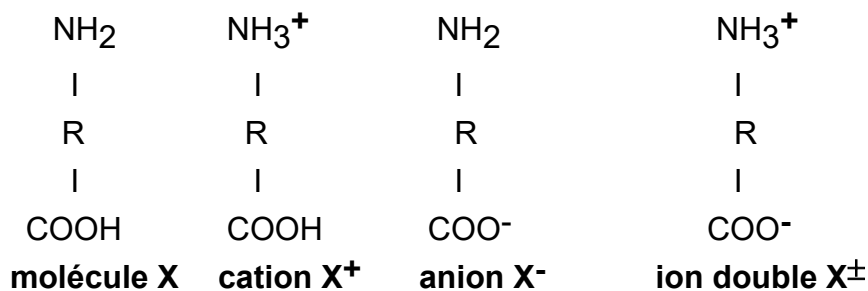
L'acide aminé s'est comporté comme une base.

En milieu basique, il y a un défaut de protons H⁺ et l'acide aminé se comporte comme un acide en fournissant des ions H⁺ :



Dans un milieu neutre (eau distillée), la molécule d'acide aminé peut être soit à l'état neutre soit sous forme dipolaire ou de double ion : les groupements NH_2 et COOH sont ionisés. La molécule reste globalement neutre.

Au total, selon le pH du milieu, un acide aminé peut se présenter sous 4 formes avec les notations suivantes



III - EQUILIBRES D'UN AMPHOLYTE

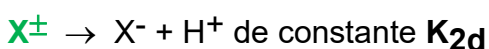
III.1 Expression des constantes de dissociation

Entre ces 4 formes existent 4 réactions d'équilibre retrouvées en considérant X^+ comme un diacide

- la molécule neutre comme étant la forme intermédiaire :



- ou le double ion comme étant la forme intermédiaire :



III.2 Classification des ampholytes

L'importance relative des deux formes intermédiaires X et $\text{X}^\pm$ ne dépend que des constantes de dissociation de l'acide X^+ , et est donc indépendant du pH et de la concentration globales en ampholyte.

✓ Ainsi trois types d'ampholytes peuvent être individualisés :

* **Cas où $(\text{X}^\pm) \gg (\text{X})$ +++**

il n'y a pratiquement pas de molécules non ionisées ; les ions doubles prédominent c'est le cas intéressant car il vaut pour la plupart des protéines.

* **Cas où $(\text{X}^\pm) \ll (\text{X})$**

il n'y a pratiquement pas d'ions doubles . C'est le cas de l'AMINOPHENOL 3

* **Cas où $(X^{\pm}) \approx (X)$**

Il y a autant d'ions doubles que de molécules non ionisées. C'est le cas des acides aminés aromatiques.

IV - pH ISOELECTRIQUE

Aspect expérimental :

En milieu acide, l'ampholyte soumis à un champ électrique migre vers la cathode ; en milieu basique, il se déplace vers l'anode. L'expérience prouve qu'il existe un pH intermédiaire pour lequel n'apparaît aucun déplacement : c'est le pH isoélectrique.

Le pH isoélectrique pH_i est donc le pH pour lequel, en moyenne, la charge électrique de l'ampholyte est nulle. Cette charge est individuellement nulle pour les molécules non ionisées et pour les ions doubles (égalité des charges + et - sur chaque ion double). Il est donc nécessaire pour que la charge moyenne sur l'ensemble des formes que peut prendre l'ampholyte, soit nulle. On aura donc au pH_i : $(X^+) = (X^-)$.

Explication :

Aux pH extrêmes, l'ampholyte est entièrement ionisé sous forme d'ions de même charge. Il se déplace vers un des pôles électriques.

A un pH intermédiaire, toutes ces réactions sont partielles (acide ou base faible) et il y a coexistence des ions X^+ et X^- . Le déplacement de ces ions sous l'effet d'un champ électrique se fait en sens opposé. Leur mouvement est très faible du fait de l'attraction électrostatique entre eux. S'il y a égalité des concentrations $(X^+) = (X^-)$, il n'y a aucun déplacement et le pH est le pH isoélectrique.

Deux cas sont à discuter :

- si $pH > pH_i \rightarrow (X^-) > (X^+)$

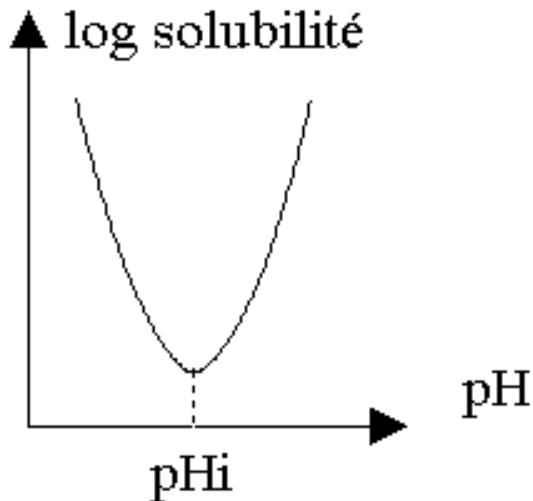
l'ampholyte cède des protons et se dissocie de façon acide.

- si $pH < pH_i \rightarrow (X^+) > (X^-)$

l'ampholyte fixe des protons, il se comporte comme une base.

CONSEQUENCES :

- **Mobilité** : Placées dans un champ électrique, les molécules de l'ampholyte ne se déplaceront pas globalement, leur mobilité est nulle.
- **Solubilité** : - A un pH donné différent du pH_i , toutes les protéines de même nature ont la même charge. En solution, Les forces électrostatiques ont tendance à les repousser les unes des autres (solubilité $\nearrow$).



- Au pH_i la charge globale des protéines est nulle, les forces électrostatiques de répulsion s'annulent. Dans ce cas la protéine peut précipiter : cela explique que la solubilité est minimale au pH_i .

V - COMPORTEMENT DES AMPHOLYTES EN FONCTION DU PH DU MILIEU :

Si on impose le pH du milieu par un tampon à un pH nettement supérieur au pH_i , la concentration en (X^+) est négligeable devant celle des (X^-) : au dessus du pH_i , une protéine se dissocie comme un acide faible et sa charge est globalement négative. Ce sera le cas du plasma sanguin où le pH 7,40 est supérieur au pH_i de toutes les protéines plasmatiques.

Inversement : au dessous du pH_i une protéine est dissociée comme une base faible (charge positive).

Dans l'organisme humain :

$pH \simeq 7,40$. Les pH_i des protéines étant inférieurs à 7,40, les protéines sont chargées négativement et la charge varie entre -5 et -20 par molécule.

Application :

Electrophorèse de l'hémoglobine.

Placée dans un milieu de pH donné, sous l'effet d'un champ électrique, l'Hb anormale de charge différente aura un déplacement différent de l'Hb normale.

Exemple : dans le cas de la drepanocytose, cette différence de charge permet de séparer l'hémoglobine normale (Hb) de l'hémoglobine pathologique. Ces deux hémoglobines ne diffèrent que par un seul acide aminé situé au même endroit de la chaîne polypeptidique.

