

Centre universitaire Abd-Elhafid BOUSSOUF, Mila
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Master 1 Biotechnologie Végétale

TP 02 : Techniques expérimentales **Préparation des solutions et des Tampons**

1. Préparation d'une solution :

On désire préparer des solutions de bleu de Coomassie (PM. = 855,028+/-0.054g/mol) dans 10ml d'eau distillée selon les concentrations suivantes :

- 0.5% (concentration pourcentage)
- 0.5mM (concentration molaire)
- 0.5g/l (concentration pondérale)

a. Calculer la masse du bleu de Coomassie à peser pour chaque concentration

b. Préparer les solutions selon le mode opératoire suivant :

- Peser la quantité désirée du bleu de Coomassie en utilisant une balance électronique et une coupelle ou un verre de montre ;

- Solubiliser la quantité dans un peu d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 10ml ;

- Agiter pour accélérer la dissolution et homogénéiser la solution

c. A partir de ces trois solutions mères du bleu de Coomassie, vous préparer les dilutions suivantes :

- 1ml d'une solution de concentration 0.3g/l ;
- 2ml d'une solution de concentration 0.05g/l ;
- 3ml d'une concentration 0.025g/l

d. A partir de ces trois solutions mères du bleu de Coomassie, vous préparer des dilutions simples et successives $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{6}$, ...

2. Préparation d'un Tampon :

2.1. Préparation d'un tampon par mélange d'un acide faible et de sa base conjuguée : exemple **le tampon phosphate** (2mM, pH = 7)

- Acide NaH_2PO_4 (PM = 138g/mole), 100ml.

- Base Na_2HPO_4 (PM = 142g/mole), 100ml.

Pour préparer ce tampon, il faut suivre les étapes suivantes :

a. Préparer la solution acide par solubilisation de la quantité désirée du NaH_2PO_4 dans l'eau distillée ;

b. Préparer la solution basique par solubilisation de la quantité désirée du Na_2HPO_4 dans l'eau distillée ;

c. Ajuster le pH de la solution basique à pH = 7 par addition successive de la solution acide.

2.2. Préparer d'un tampon par mélange d'un acide fort et d'une base faible : exemple **le tampon Tris-HCL** (2mM, 100ml, pH = 6.2).

- Acide fort : HCL

- Base faible : Trizma base

De la même manière comme le tampon phosphate, vous préparer la solution basique (Trizma base), puis vous ajustez le pH à 6.2 par addition goutte à goutte de l'acide fort HCL.