

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Spécialité : Microbiologie M1
Corrigé type : Techniques d'analyses biochimiques
Durée : 1h30min

Question 01 (8,5 pts) : Donnez brièvement :

- La définition d'une colonne C18 en HPLC (1pt)
- ✓ C'est le greffage d'une chaîne carbonée de 18 carbones (CH₂)₁₇-CH₃ sur le gel de silice
- La différence entre la LOD et la LOQ (2pts)
- ✓ La limite de détection (LOD – *Limit of Detection*) est la plus petite concentration du composé à doser que la méthode analytique est capable de détecter avec un bon niveau de confiance, tandis que la limite de quantification est la plus petite concentration du composé à doser pour laquelle la méthode analytique est capable de donner une valeur quantifiée avec une bonne précision
- La différence entre la chromatographie préparative et analytique (1,5 pt)
- ✓ La quantité d'échantillon, le volume d'éluant et le débit d'éluant sont plus grands dans la chromatographie préparative en comparaison avec la chromatographie analytique
- La différence entre la chromatographie en phase normale et en phase inverse (1pt)
- ✓ Chromatographie en phase normale : la phase stationnaire polaire et la phase mobile apolaire et pour la chromatographie en phase inverse : la phase stationnaire apolaire et la phase mobile polaire
- Les conditions de validité de la loi de Beer-Lambert (2pts)
- ✓ La lumière utilisée est monochromatique, la concentration n'est pas trop élevée, la solution n'est pas fluorescente et la solution doit être limpide.
- La signification du RPM et du FGR (1pt)
- ✓ RPM : c'est la vitesse de rotation exprimée en rotations par minute et FGR c'est la force gravitationnelle relative de la centrifugation.

Exercice 01 (7,5 pts)

Pour déterminer la concentration des polyphénols dans le raisin, un dosage a été réalisé selon le protocole suivant : Un volume de 200 µl de la solution de raisin a été mélangé à 1 ml du réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée) et 800 µl d'une solution aqueuse de 7,5 % (m/V) de carbonate de sodium (Na₂CO₃). Après 2 heures d'incubation à une température ambiante, l'absorbance est lue par spectrophotométrie UV-Vis à une longueur d'onde de 765 nm. Une courbe d'étalonnage est effectuée dans les mêmes conditions en utilisant une gamme de concentrations (0 - 300 µg/ml) d'une solution hydroalcoolique d'acide gallique.

- Donnez le nom de ce dosage (0,5pt)
- ✓ Dosage par étalonnage
- Comment préparer la solution de carbonate de sodium ? (1pt)
- ✓ 7,5 % c'est une concentration en pourcentage, une quantité de 7,5 g de Na₂CO₃ est solubilisée dans l'eau distillée, le volume total de la solution est 100 ml.
- Donnez la composition du blanc ? (1,5 pt)
- ✓ Le blanc est composé de : 200 µl de la solution hydroalcoolique, 800 µl de carbonate de sodium et 1 ml de Folin Ciocalteu

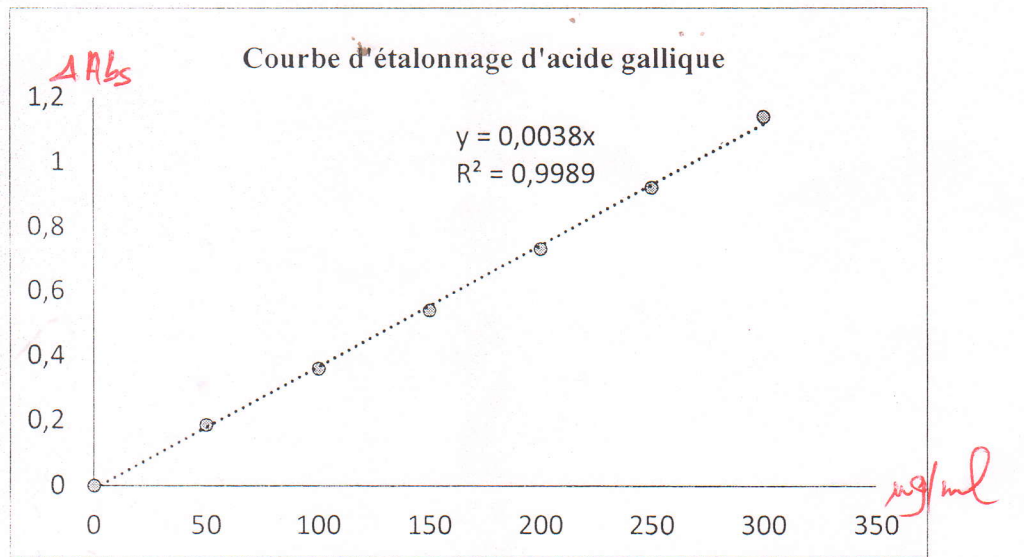
Après avoir dilué 100 fois notre échantillon, on mesure dans les mêmes conditions expérimentales une absorbance égale à $A = 0,9$.

- Déterminez la concentration des polyphénols contenus dans la solution de raisin

Les valeurs d'absorbance de la gamme d'étalonnage sont illustrées dans le tableau suivant :

Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	150	200	250	300
Absorbances	0,27	0,455	0,63	0,81	1	1,19	1,41
ΔAbs (1,5 pt)	0	0,185	0,36	0,54	0,73	0,92	1,14

La courbe d'étalonnage : (0,5 pt)



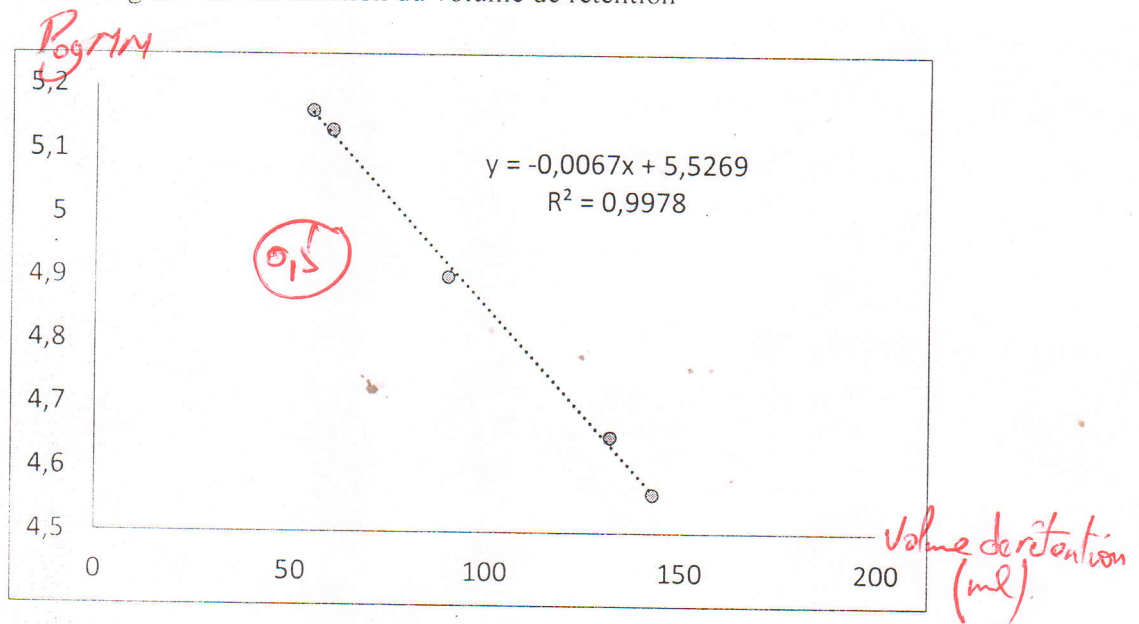
- ΔAbs de l'échantillon = $0,9 - 0,27 = 0,63$ (0,5 pt)
- La concentration de l'échantillon dilué : $165,79$ ($\mu\text{g eq}$ acide gallique/ml) (1pt)
- La concentration de l'échantillon initial : $165,79 \times 100 = 16,58$ mg eq acide gallique/ml (1pt)

Exercice 03 (4pts)

On détermine les temps de rétention (t_r) de quelques protéines, dont on connaît les masses moléculaires (MM), par une chromatographie d'exclusion sur gel. Le débit est de 5 ml / min

Protéines	Aldolase	Lactate déshydrogénase	Phosphatase alcaline	Ovalbumine	Lactoglobuline
MM (Da)	145000	135000	80000	45000	37100
Log (MM) (1,25 pt)	5,16	5,13	4,9	4,65	4,56
Tr (min)	11	12	18	26,4	28,6
Volume de rétention (ml) (1,25 pt)	55	60	90	132	143

- Portez le log de MM en fonction du volume de rétention



- Pour une protéines P, le $Tr=15$ min, déterminez sa masse moléculaire
- ✓ Protéine P, $Tr = 15$ min, $V_r = 75$ ml (0,5 pt), $\log MM = 5,02$, $MM = 104712$ Da (0,5 pt)