

Devoirs Surveillés de Travaux Pratiques

Devoir surveillé 1

On s'intéresse au dosage des protéines par la méthode du biuret. Dont voici le principe :

Pour toute chaîne polypeptidiques contenant au moins 2 liaisons peptidiques, les liaisons peptidiques forment, en milieu très alcalin, un complexe coloré avec les ions Cu^{2+} . Si on met en œuvre un réactif standardisé, en excès, on peut ainsi doser les protéines par colorimétrie à 540 nm.

Le réactif standardisé utilisé est appelé réactif de Gornall (sa concentration en Cu^{2+} , en OH^- est standardisée, il contient du KI).

La molécule de biuret donne la même réaction que les liaisons peptidiques avec les ions Cu^{2+} c'est pourquoi la méthode a été appelée méthode du biuret.

Le dosage est réalisé sur des volumes essais de 1 mL (on utilise une solution de NaCl à 9 g/L pour compléter à 1 mL les volumes essais qui seraient choisis inférieurs à 1 mL). Chaque tube d'étalonnage ou d'échantillon à doser est mis à réagir avec 4 mL de réactif de Gornall. Après développement de la coloration, on lit les absorbances à 540 nm contre un témoin réactif.

On désire réaliser un étalonnage permettant de doser de 1 à 5 mg de protéines dans les échantillons. Pour réaliser la gamme d'étalonnage, on dispose d'un étalon de sérum albumine bovine à 10,0 g/L exactement.

Question: Proposer un tableau de gamme d'étalonnage.

Voici des résultats obtenus pour l'étalonnage :

tube	TR	1	2	3	4	5
protéines en mg/tube	0	1	2	3	4	5
absorbance à 540 nm	0	0,054	0,110	0,159	0,212	0,276

Voici les résultats obtenus pour un échantillon à doser :

Volume essai = 0,200 mL. Absorbance obtenue contre le tube TR = 0,258. Pas d'absorbance propre de l'échantillon à 540 nm.

Question : Quelle est la concentration de l'échantillon dosé ?

Devoir surveillé 2

Exercice 1

Calculer la concentration en $[\text{HCl}]$ d'une solution commerciale concentrée dont les caractéristiques sont: pureté 37% ; $d = 1,190$; masse molaire = 36,46 g/mol

Exercice 2

On suppose un dosage de l'azote total d'échantillons de sols. Les conditions sont les suivantes :

- Minéralisation sulfurique d'une niasse exacte aux alentours de 0,2 g.
- Alcalinisation du minéralisât puis dosage en retour de l'ammoniac entraîné à la vapeur d'eau.
- Le dosage en retour met en œuvre 20,00 mL exactement de solution d'acide sulfurique ajustée exactement à 0,0100 mol/L pour recueillir l'ammoniac hydrodistillé et une solution de NaOH aux environs de 0,02 mol/L. NaOH est versé à la burette jusqu'au virage à la goutte près de l'indicateur coloré de pH rouge de méthyle.

1. Donner la formule littérale du dosage en moles d'N/g d'échantillon. Justifier le fait que la concentration exacte de la de soude n'a pas à être calculée.

2. Un dosage a donné :

- volume de NaOH pour un témoin négatif : 19,50 mL,
- volume de NaOH pour un essai sur une pesée de 0,1994 g : 9,75 mL.

Calculer la teneur en N de l'échantillon en g/g. On prendra la valeur 14 g/mol pour l'azote.

3. Calculer la limite supérieure de praticabilité du dosage en moles d'azote dans l'échantillon puis en % (m/m) d'azote dans l'échantillon.

Devoir surveillé 3

Cours 1

Représenter la structure d'un photomètre de flamme sous forme schématique (schéma légende).

Note: il n'est pas nécessaire de « dessiner ». On se contentera de montrer l'assemblage fonctionnel des constituants de l'appareil. Ainsi, le nébuliseur pourra être représenté sous forme d'un « rectangle » annoté « nébuliseur ».

Cours 2

En photométrie d'émission atomique de flamme, quelle(s) est(sont) la(les) fonction(s) de la flamme ?

Exercice 3

On dose du calcium par photométrie d'émission atomique de flamme (FEP) à la raie spécifique 622 nm.

1. On utilise un appareil à flamme air/propane (2000°C). On l'étalonne avec une série de solutions réalisées par solubilisation de carbonate de calcium pur anhydre en milieu acide puis dégazage (le calcium se retrouve sous forme $\text{Ca}^{2+}, 2 \text{Cl}^-$).

La fonction d'étalonnage a pour équation :

signal mesuré = $180,0 [\text{calcium}] + 1,0$ (pour une expression de [calcium] en mmol/L) (la fonction est linéaire jusqu'à plus de 1 mmol/L de calcium)

Le tableau ci-dessous donne les résultats du dosage de deux échantillons :

Référence de l'échantillon	E101	X007
Dilution préalable	1/100	1/100
Signal FEP obtenu	91	46

2. On utilise un deuxième appareil à flamme protoxyde d'azote/acétylène (3200°C). On l'étalonne avec une série de solutions réalisées par solubilisation de carbonate de calcium pur anhydre en milieu acide puis dégazage.

La fonction d'étalonnage avec ce nouvel appareil a pour équation :

signal mesuré = $198,0 [\text{calcium}] + 0,8$ (pour une expression de [calcium] en mmol/L) (la fonction est linéaire jusqu'à plus de 1 mmol/L de calcium)

On dose à nouveau les 2 échantillons E101 et X007 avec cet appareil. On obtient les résultats qui figurent dans le tableau ci-dessous

Référence de l'échantillon	E101	X007
Dilution préalable	1/100	1/100
Signal FEP obtenu	100	92

Analyser et interpréter les résultats obtenus.

Devoir surveillé 4

Exercice 1 : Dessalage par dialyse

Il s'agit d'un travail de purification/caractérisation de protéines à activité glucose-phosphatase à partir d'un extrait protéique «extrémité racinaire de maïs en germination». Le mode opératoire débute par une précipitation fractionnée au sulfate d'ammonium. L'échantillon obtenu devant ensuite être dessalé avant utilisation ultérieure.

Un échantillon protéique de 20mL contenant 100g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4^{2-}$ a été obtenu. On décide de le dessaler par dialyse. On réalise une première dialyse contre 200 mL de tampon phosphate sodique pH7,0 0,02 mol/L + 2-mercaptoéthanol 1 mmol/L pendant 6 heures, sous agitation, à 4°C. Le volume d'échantillon passe alors à 24mL. On renouvelle alors en totalité le liquide de dialyse externe à l'échantillon: 200 mL de tampon phosphate sodique pH 7,0 0,02 mol/L + 2-mercaptoéthanol 1 mmol/L. On dialyse pendant 6 heures, sous agitation, à 4°C. Le volume d'échantillon passe alors à 25,5mL.

1. Définir les termes dessalage et dialyse.
2. Pourquoi le volume d'échantillon augmente-t-il lors de chaque dialyse ?
3. On souhaite que la concentration résiduelle en sulfate d'ammonium dans l'échantillon soit inférieure à 2 g/L après les 2 dialyses. En supposant les deux dialyses à l'état d'équilibre au bout de 6 heures, peut on prétendre avoir atteint cet objectif de valeur inférieure à 2 g/L dans les 25,5 mL d'échantillon ?

Exercice 2 : Dosage d'éthanol par chromimétrie après distillation.

1. Quelle est la fonction de la distillation ?

2. La formule du dosage est :

$$C_{\text{eth}} = \frac{3}{2} C_d \times U \times (1 - V_e / V_t) \times V_{fj} / (E \times E')$$

C_{eth} : concentration en éthanol dans l'échantillon à mesurer en mol/L

E : volume de prise d'essai d'échantillon à doser en mL

V_{fj} : volume de la fiole jaugée de recueil de l'éthanol de E distillé (ajustage à V_{fj} avec de l'eau) en mL

E' : prise d'essai du contenu de la fiole jaugée (V_{fj}) pour le dosage chromimétrique de l'éthanol en mL

C_d : concentration du dichromate de potassium en mol/L

U : volume de dichromate de potassium en mL

V_e : chute de burette pour l'essai à mesurer en mL

V_t : chute de burette pour le témoin négatif en mL

Dans les conditions opératoires du dosage, avec $E = 10\text{mL}$, $V_{fj} = 100\text{mL}$ et $E' = 5\text{mL}$, un vin à 10% en éthanol conduit à une chute de burette vers 10mL et le volume de chute de burette pour le témoin réactif est de 20mL.

Proposer E , V_{fj} , E' pour le dosage d'un alcool de bouche de type rhum ou cognac titrant vers 40% en éthanol.