



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen**

Spécialité : *Production végétale*

**Master 1 année**

**Année universitaire 2019/2020**

**TP 1 Analyse Instrumental**

**UV-V (Photocolorimétrie)**

**I. Photocolorimétrie (V) : Dosage des protéines de l'œuf de poule par la méthode colorimétrique au BIURET**

**1) Principe**

En milieu alcalin les composés contenant au moins 2 groupements -CO-NH- voisins forment avec les ions cuivriques  $\text{Cu}^{2+}$  un complexe bleu-violet. Cette coloration se développe en particulier avec le BIURET ( $\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$ ) d'ou son appellation de coloration du biuret. Les liaisons peptidiques étant de la forme -CO-NH-, cette coloration sera donc caractéristique des peptides et des protéines. La vitesse de développement de la coloration, sa couleur et son intensité dépendant de plusieurs facteurs :

- Alcalinité et concentration en ions  $\text{Cu}^{2+}$
- Température
- nature du peptide ou de la protéine (nombre de liaisons peptidiques)
- concentration protéique

**2) Matériels**

- 7 tubes à essais + 1 portoir
- 1 pipette graduée de 5 ml
- 1 pipette graduée de 1 ml
- 2 petits béchers
- 1 colorimètre ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ )

**3) Réactifs**

- **Réactif du Biuret** : Dissoudre 3 g de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ ) et 9 g de tartrate double de Na/K dans 500 ml d'eau distillée. Ajouter 5g d'iodure de potassium et compléter avec une solution de soude 0,8 N. Le réactif du biuret doit être conservé dans un flacon bien fermé et à l'abri de la lumière.
- Solution mère de SAB et/ou de gélatine à 10g/l
- Solutions des protéines du blanc d'œuf

#### 4) Préparation des solutions des protéines du blanc d'œuf

- Peser un œuf à l'aide d'une balance de précision
- Casser le en deux et récupérer le blanc d'œuf
- A l'aide d'une éprouvette, mesurer le volume du blanc d'œuf
- Prélever 0,5 ml de blanc d'œuf et le diluer dans NaCl 1% qsp 20 ml : solution du blanc d'œuf (SB)
- Agiter la solution SB et la conserver pour le dosage des protéines.

#### 5) Mode opératoire

##### a) Préparation de la gamme d'étalonnage

A partir de la solution mère de SAB et/ou de gélatine à 10g/l, réaliser une gamme allant de 0 à 10 g/l. Les dilutions sont effectuées avec du NaCl 1% comme indiqué dans le tableau.

							<b>Blanc d'œuf</b>	
<b>TUBE N°</b>	0	1	2	3	4	5	6	7
<b>SAB ou GELATINE 10g/ L (ml)</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1		
<b>EAU PHYSIOLOGIQUE (ml)</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0	0,5	0,5
<b>ECHANTILLONS (ml)</b>							0,5	0,5
<b>REACTIF DE BIURET (ml)</b>	4	4	4	4	4	4	4	4
<b>PROTEINES / TUBE (mg/ml)</b>	0	2	4	6	8	10		
<b>A L'OBSCURITE</b>	30 min							
<b>ABSORBANCE (DO) à 540 nm</b>	0							

#### 6) Principe du colorimètre (voir au laboratoire)



Colorimètre de paille

Un **colorimètre** est un outil qui analyse les échantillons colorés. C'est un appareil permettant de mesurer l'absorbance, ou le pourcentage de transmittance, d'une solution pour un petit nombre de longueurs d'onde prédéterminées. La valeur d'absorbance peut être reliée à la concentration de l'entité colorée soit grâce à une courbe d'étalonnage, soit grâce à la loi de Beer-Lambert.

## 7) **Résultats**

- Tracer la courbe de la gamme étalon en portant sur la courbe toutes les indications nécessaires
- En tenant compte des différentes dilutions, calculer la concentration en protéines, dans le blanc d'œuf

## **II. UV : Mise en évidence du spectre d'absorption de la gélatine et/ou du blanc d'œuf**

Prendre une aliquote de solution de gélatine diluée et déterminer son spectre d'absorption moléculaire