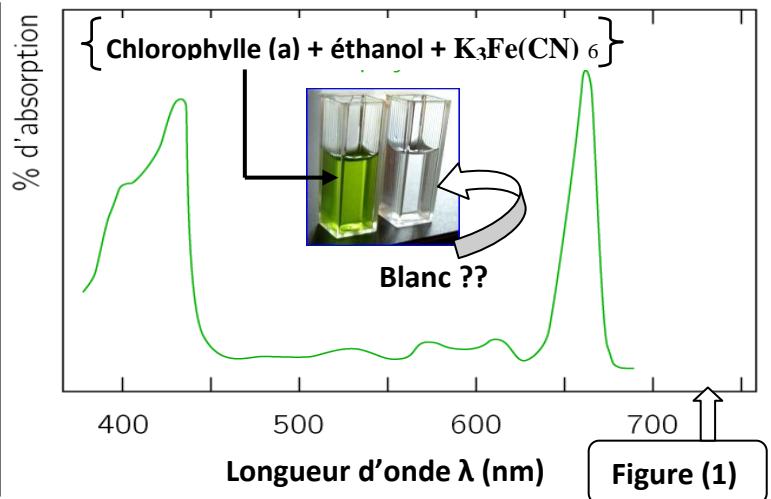
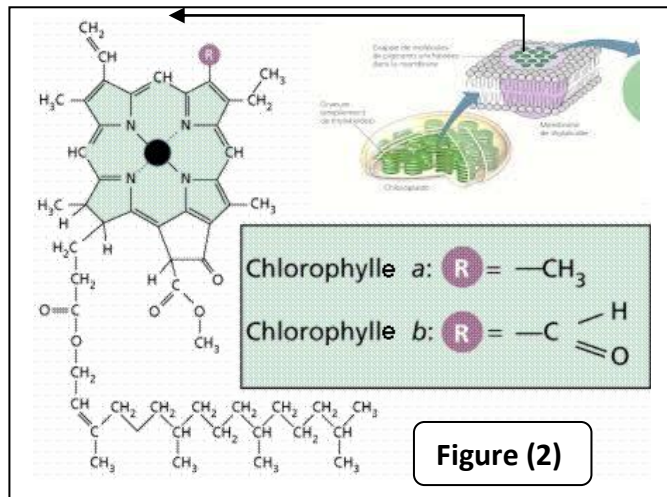


Corrigé type de l'Examen « Méthodes modernes d'analyses et de Dosages en Biologie »

Exercice 1 : (4 pts)

La Figure (1) représente le Spectre d'absorption de la « chlorophylle (a) » isolée à partir d'une plante X (Figure 2). La solution de l'extrait est constituée de « l'éthanol + chlorophylle (a) + $K_3Fe(CN)_6$ ».



- 1- A quelle(s) longueur(s) d'onde absorbe la chlorophylle A ? $\lambda_1 = 430 \text{ nm}$; $\lambda_2 = 660 \text{ nm}$ → 0,5*2 = 1 pts
- 2- Une des caractéristiques spectroscopiques de la chlorophylle A est la suivante : $\epsilon = 111000 \text{ SI}$; $A = 0,74$.
 - Donner l'expression de la loi de Beer Lambert ? $A = \epsilon \cdot l \cdot C$ → 1 pts
- 3- Quelle est l'unité du ϵ ? $L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (0,5 pt); Quelle est la composition du blanc: éthanol + $K_3Fe(CN)_6$ (0,5 * 2 = 1 pts)
- 4- Déterminer la concentration de la chlorophylle A dans cet échantillon ? La largeur de la cuve = 1,0 cm ?

$A = \epsilon \cdot l \cdot C \rightarrow C = \frac{A}{\epsilon \cdot l} = \frac{0,74}{111000} / C = 6,66 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l} \rightarrow 0.5 \text{ pts}$

Exercice 2 : (4 pts)

On dispose d'une échelle de teinte en diode dont les concentrations C sont connues. Un spectrophotomètre, réglé sur la longueur d'onde $\lambda = 450 \text{ nm}$, permet de mesurer l'absorbance A des solutions de l'échelle de teinte. On peut alors tracer le graphe $A = f(C)$.

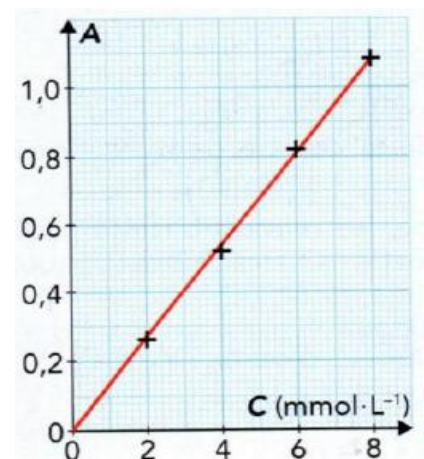
1. Comment appelle-t-on le graphe $A = f(C)$?

Le graphe $A = f(C)$ est une courbe (droite) d'étalonnage (1 pts)

2. La loi de Beer-Lambert est-elle vérifiée? (2 pts)

La loi de Beer-Lambert est vérifiée, car le graphe $A = f(C)$ est une droite passant par l'origine.

Ainsi, ces deux grandeurs : absorbance A et concentration de l'espèce absorbante sont proportionnelles entre elles : $A = k \cdot C$.



3. Sans modifier les réglages du spectrophotomètre, on mesure l'absorbance $A_s = 0,64$ d'une solution "S" d'eau iodée. **En déduire la concentration C5 en diode de la solution S. → (1 pts)**

En reportant la valeur de $A_s = 0,64$, on détermine graphiquement la valeur de l'abscisse correspondante : $C_s = 5,0 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Exercice 3 : (12 pts)

1 – Quelles sont les conditions opératoires à respecter pour un dosage de substrat par voie enzymatique ?

a- [S] à doser : facteur limitant b- [E] en grande quantité pour que la réaction soit totale rapidement **2 pts (0.5*4)**

c- PH optimal + Température optimale

d- Temps de contact : long pour que la réaction soit totale.

2- Partie QCM :

A- Parmi les propositions suivantes, laquelle n'est pas applicable à la mesure d'une activité enzymatique ?

a) Une UI (unité internationale) correspond à la quantité d'enzyme qui transforme une μmole de substrat par minute

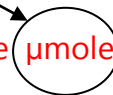
b) L'activité mesurée dépend de la nature du substrat choisi

c) Elle est influencée par le pH et la température du milieu

d) L'activité catalytique se mesure par la détermination de la vitesse maximale de la réaction enzymatique

e) Un katal correspond à la quantité d'enzyme qui transforme une μmole de substrat par seconde **(2 pts)**

mole



B- Parmi les propositions suivantes concernant les méthodes spectrales, quelles sont celles qui sont exactes ? La loi de Beer-Lambert est vérifiée pour un acide faible en spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'UV si : **(4 pts = 2* 2)**

a. **Les solutions sont limpides (claire = la clarté de la solution)**

b. Le rayonnement incident est polychromatique

c. L'acide absorbe la lumière à 450 nm

d. **Les cuves de mesure sont en quartz (dosage UV)**

e. La concentration est de l'ordre de la molarité

C- Parmi les propositions suivantes concernant la séparation chromatographique d'acide L-glutamique (pH isoélectrique=3,22) et de L-leucine (pHi=5,96) sur une résine substituée par des groupements fonctionnels sulfonate (SO_3^-). Quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s) ? **(4 pts = 2* 2)**

a. La résine utilisée est une résine échangeuse d'anions

b. **A pH = 8, les 2 acides aminés ne sont pas retenus par la colonne**

c. Met en jeu des liaisons covalentes entre la résine et les acides aminés

d. **A pH = 2, les 2 acides aminés sont retenus par la colonne**

e. Est une chromatographie de partage