

Techniques chimiques pour la biologie



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

Normale

Handwritten notes in the top right corner.

Université Abdelmalek Essaadi
Faculté des Sciences
Tétouan

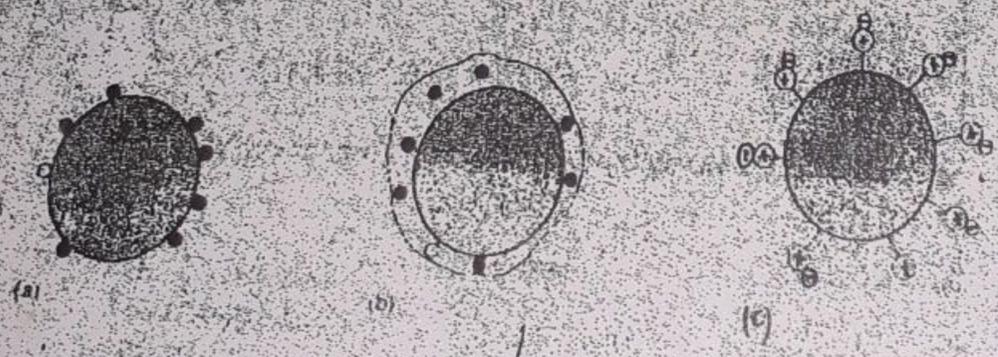
Contrôle Techniques Chimiques
Durée 1h 30

Janvier 2015

- I) On dispose d'un soluté X, dissout dans un volume V_a d'une solution aqueuse.
- 1) Que se passe-t-il pour X si cette solution est mélangée avec un volume V_o d'un solvant organique.
 - 2) Qu'en déduisez vous si le coefficient de répartition (ou de distribution) de X est égal à 1000, égal à 0,001 ?
 - 3) Quel pourcentage de la quantité initiale de X serait extraite par le solvant organique, si le coefficient de distribution pour X est de 10 et $V_a = V_o$.
 - 4) Quel volume V_o de solvant organique serait nécessaire pour extraire 99% de soluté X à partir de V_a ml de solution aqueuse.

II) la figure ci après schématise l'interaction de deux solutés (petits cercles noirs ou gris) avec la phase stationnaire (gros cercle gris) d'une chromatographie a) d'adsorption, b) de partage ou c) d'échange d'ions.

Commentez brièvement la figure, en soulignant les similarités et les différences entre les trois types de chromatographie (mécanisme de rétention, d'éluion...



A. LOUKTIBI

2015

Contrôle Technique Chimique

Janvier 2015 (Normale)

I -

① - La soluté x se distribue entre les deux solvant en fonction de la solubilité dans les deux phases (phase aqueuse, phase organique)

② - Si $K_D = 1000$

$\Rightarrow K_D > 1$ la soluté appolaire hydrophobe.

Si $K_D = 0,001$

$\Rightarrow K_D < 1$ la soluté est polaire hydrophyle.

③ - $K_D = 10$ et $V_a = V_o$

$$\varepsilon = \frac{Q_o}{Q_{int}} = \frac{[x]_o \cdot V_o}{[x]_o \cdot V_o + [x]_a \cdot V_a}$$

$$\varepsilon = \frac{[x]_o \cdot V_o}{[x]_o \cdot V_o + \frac{[x]_o \cdot V_o}{K_D}}$$

$$\varepsilon = \frac{1}{1 + \frac{1}{K_D} \cdot \frac{V_a}{V_o}} = \frac{1}{1 + \frac{1}{10} \cdot \frac{V_a}{V_o}}$$

$$\varepsilon = \frac{1}{1 + \frac{1}{10} + 1} = 0,90 = 90\%$$

①

④ - $\Rightarrow \varepsilon = \frac{1}{1 + \frac{1}{K_D} \cdot \frac{V_a}{V_o}}$

$$0,99 = \frac{1}{1 + \frac{1}{10} \cdot \frac{V_a}{V_o}} \Rightarrow 0,99 = \frac{1}{1 + \frac{V_a}{10 \cdot V_o}}$$

$$0,99 = \frac{1}{\frac{10 \cdot V_o + V_a}{10 \cdot V_o}}$$

$$0,99 = \frac{10 \cdot V_o}{10 \cdot V_o + V_a} \Rightarrow 0,99 (10 \cdot V_o + V_a) = 10 \cdot V_o$$

$$9,9 \cdot V_o + 0,99 \cdot V_a = 10 \cdot V_o$$

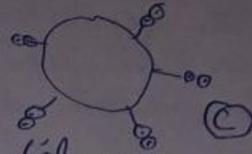
$$9,9 \cdot V_o + 0,99 \cdot V_a = 10 \cdot V_o$$

$$10 \cdot V_o - 9,9 \cdot V_o = 0,99 \cdot V_a$$

$$0,1 \cdot V_o = 0,99 \cdot V_a \Rightarrow V_o = \frac{0,99 \cdot V_a}{0,1} \Rightarrow \boxed{V_o = 9,9 \cdot V_a}$$

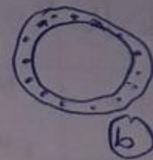
II - chromatographie d'échange d'ion :

- ce mode chromatographique met en jeu un mécanisme d'adsorption du soluté sur la phase stationnaire solide et un mécanisme d'éluion (désorption) par la phase liquide (éluant)
- la phase stationnaire comporte des groupements ionisés (+ ou -) fixés.



→ chromatographie de partage :

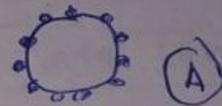
- phase normale : phase stationnaire polaire
- phase mobile apolaire



- phase inverse : phase stationnaire apolaire
- phase mobile polaire

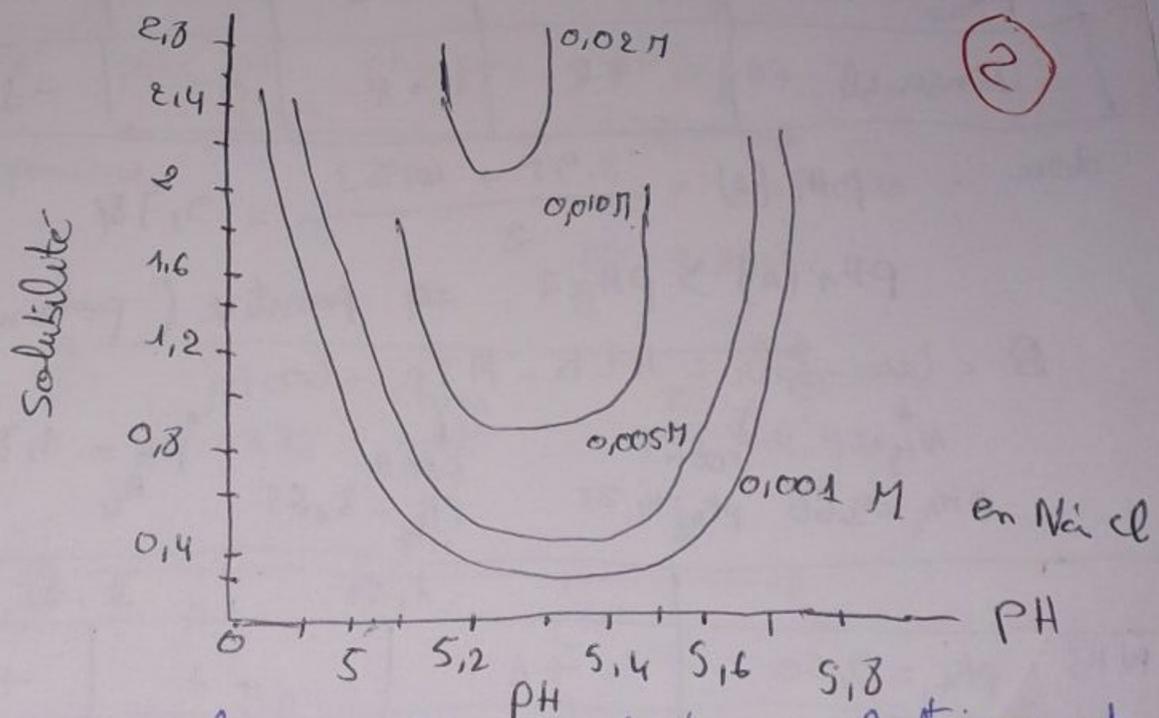
→ chromatographie d'adsorption :

- phase stationnaire solide
- phase mobile liquide



Février 2015 Rattrapage

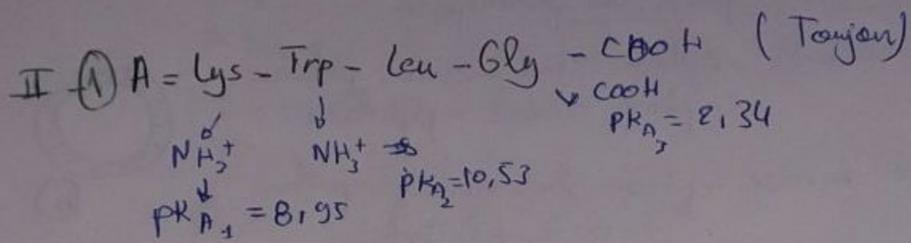
I -



- Ce phénomène sous le nom de précipitation isoélectrique et permet de purifier la protéine sélectivement en augmentant le pH au point isoélectrique de cette protéine.

⇒ dans un mélange de protéine cette situation est compliquée pour la présence d'interaction hétérogène : les protéines qui possèdent

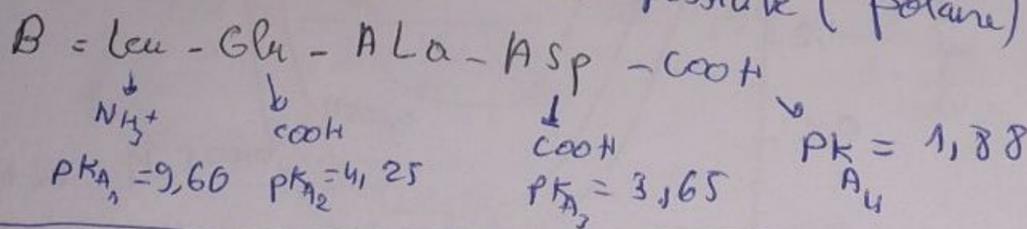
point isoélectrique -
 - différent s'agrègent afin des forme un précipité isoélectrique
 - La spécificité de la précipitation isoélectrique peut être améliorée par l'inclusion d'un sel qui décroît d'avantage la solubilité de la protéine d'intérêt.



		2,34	8,95	10,53
$\text{NH}_3^+ \cdot \text{PK}_{A_1} = 8,95$	+1	+1	0	0
$\text{NH}_3^+ \text{PK}_{A_2} = 10,53$	+1	+1	+1	0
$\text{COOH} \text{PK}_{A_3} = 2,34$	0	-1	-1	-1
Ensemble	+2	+1	0	-1

donc $\text{pH}_i(A) = \frac{8,95 + 10,53}{2} = 9,74$

$\text{pH}_i(A) > \text{pH} = 7 \Rightarrow$ positive (polaire)

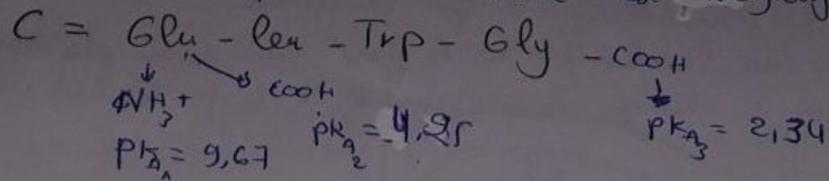


(3)

		1,88	3,65	4,25	9,60
$\text{NH}_3^+ \text{PK}_{A_1} = 9,60$	+1		+1	+1	+1
$\text{COOH} \text{PK}_{A_2} = 4,25$	0		0	0	-1
$\text{COOH} \text{PK}_{A_3} = 3,65$	0		0	-1	-1
$\text{COOH} \text{PK}_{A_4} = 1,88$	0		-1	-1	-1
ensemble	+1	0	-1	-1	-1
			-1	-2	-3

donc $pH_i(B) = \frac{1,88 + 3,65}{2} = 2,76$

$pH_i(B) < pH = 7$ donc est négatif

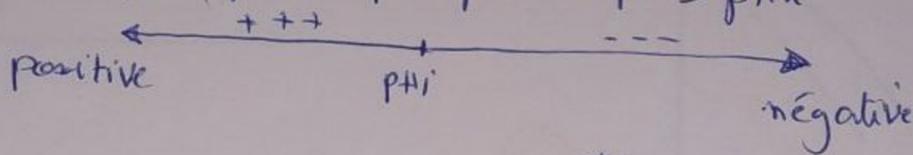


		2,74	4,25	9,67
NH_3^+ $pK_{a1} = 9,67$	+1	+1	+1	0
COOH $pK_{a2} = 4,25$	0	0	-1	-1
COOH $pK_{a3} = 2,34$	0	-1	-1	-1
Ensemble	+1	0	-1	-2

$pH_i(C) = \frac{2,32 + 4,25}{2} = 4,97$

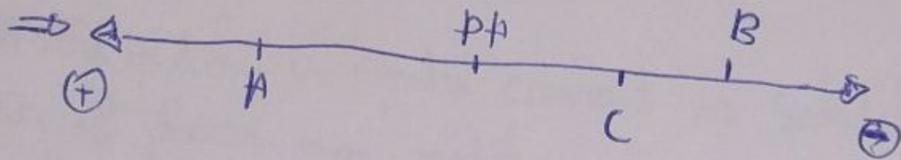
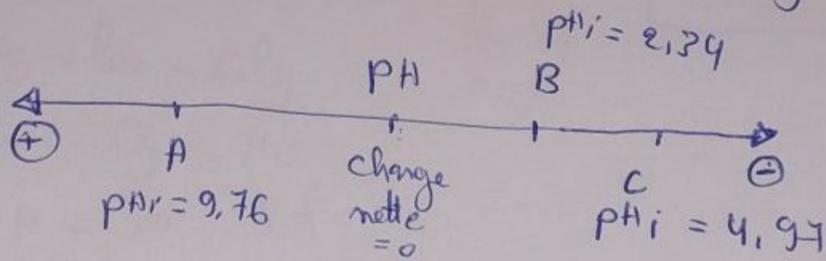
$pH_i(C) < pH$ donc le peptide est négatif

② a / donc $pH < pI$ $pH = pI$ $pH > pI$



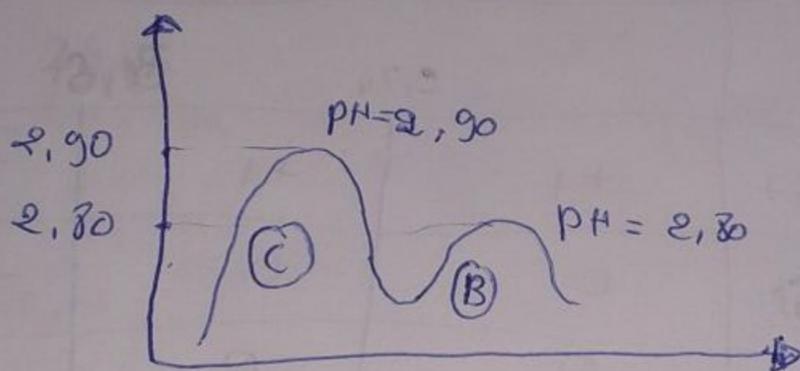
donc

④



A \Rightarrow \oplus éluée avec la phase mobile
 B \Rightarrow \ominus
 C \Rightarrow \ominus } fixation sur la resine Σ^+

b - on pourrait procéder à leur élution de la colonne.
⇒ on peut procéder à l'élution des 2 peptides B et C sur
la colonne par des solutions à pH différents
+ dans ce cas la charge de la phase stationnaire est positive
+ donc on va charger les peptides B et C positivement avec
solution pH
- on peut charger les peptide



Rattrapage

UNIVERSITE ABDELMALEK ESSAADI

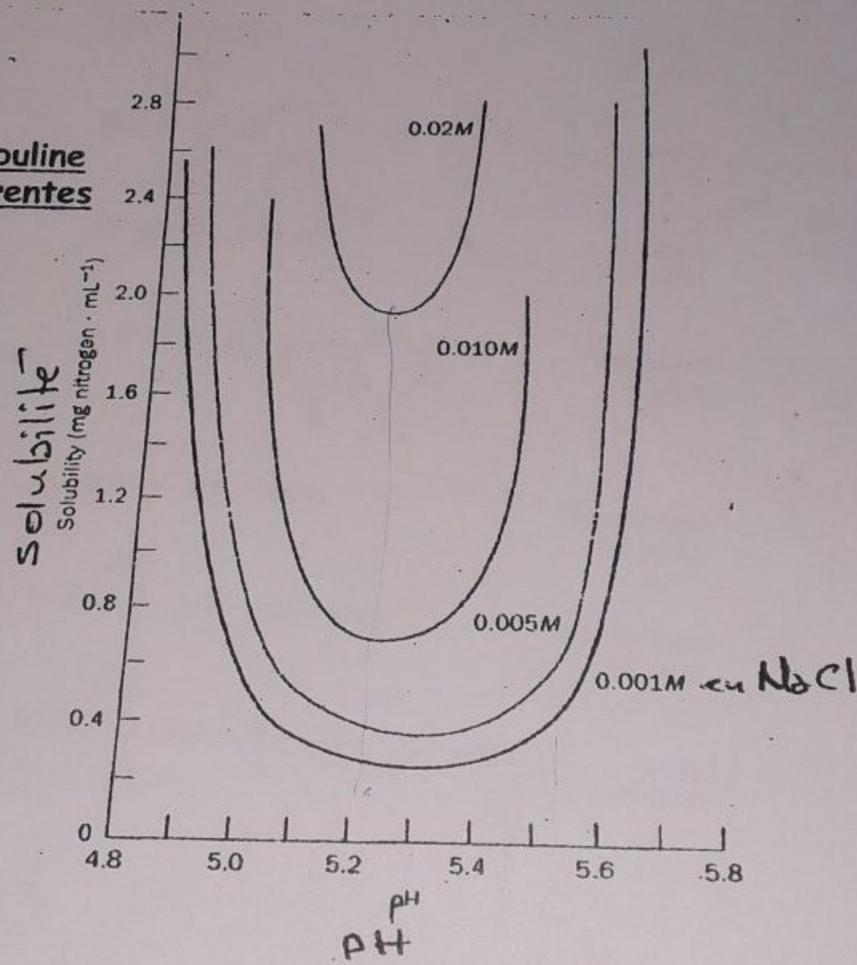
Fevrier 2015

Faculté des Sciences
Tétouan

Examen Techniques Chimiques
SVI-S3 Durée 60min

- 1) Commenter la figure ci-après en indiquant les mécanismes responsables du phénomène observé.

Solubilité de la β -lactoglobuline
fonction du pH à différentes
concentrations de NaCl



A. Louktibi

b - on peut
 => on peut
 la col.
 +

II) On considère les peptides :

- A = Lys-Trp-Leu-Gly
- B = Leu-Glu-Ala-Asp
- C = Glu-Leu-Trp-Gly

- 1- Déterminer la charge électrique nette de ces peptides à pH 7.
 - 2- Ces peptides sont chargés sur une colonne de chromatographie d'échange d'ions préalablement équilibrée à pH 7.
- a-Comment les deux peptides se comportent-ils vis à vis de la resine
 b-Comment pourrait-on procéder à leur élution de la colonne.

Amino Acid	Chemical Structure	pKa 1	pKa 2	pKa 3	pI
Glycine (Gly, G)	<chem>NCC(=O)O</chem>	2.34	9.60		5.97
Alanine (Ala, A)	<chem>CC(N)C(=O)O</chem>	2.34	9.69		6.00
Valine (Val, V)	<chem>CC(C)C(N)C(=O)O</chem>	2.32	9.62		5.96
Leucine (Leu, L)	<chem>CC(C)CC(N)C(=O)O</chem>	2.36	9.60		5.98
Tryptophan (Trp, W)	<chem>C1=CC=C2C(=C1)C=CN2CC(N)C(=O)O</chem>	2.83	9.39		5.89
Aspartic acid (Asp, D)	<chem>OC(=O)CC(N)C(=O)O</chem>	1.88	3.65	9.60	2.77
Glutamic acid (Glu, E)	<chem>OC(=O)CCC(N)C(=O)O</chem>	2.19	4.25	9.67	3.2
Lysine (Lys, K)	<chem>CNCCCC(N)C(=O)O</chem>	2.18	8.95	10.53	9

+

SO₃⁻

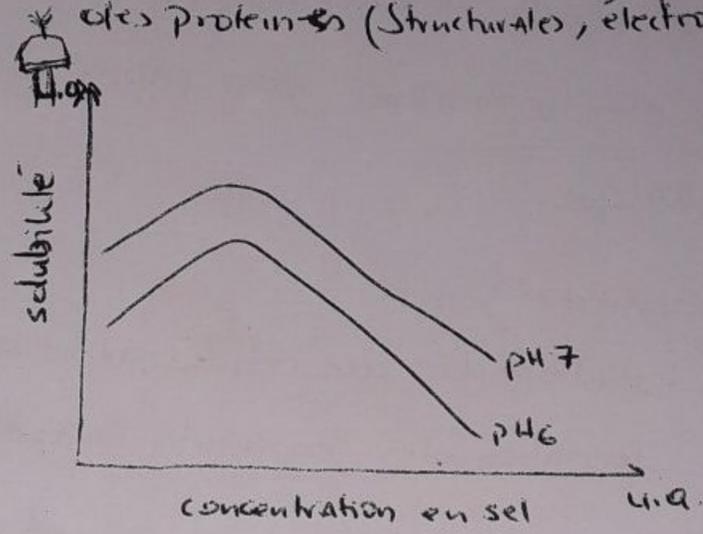
K⁺

A. louktibi

R
 2
 1
 NH₃⁺

Contrôle de Techniques Chimiques
Pour la Biologie
Durée : 60 minutes

I. Le graphique ci-dessous schématise les variations de la solubilité d'une protéine en fonction de la concentration en sel et du pH du milieu.
- Interpréter (mécanismes mis en jeu) en termes de propriétés physico-biochimiques des protéines (Structurales, électrolytiques...)



13

II. On considère les peptides

- A. Arg-Leu-Gly
- B. Leu-Cys-His
- C. Asp-Ser-Val.

1. En admettant que ni le poids moléculaire, ni l'état d'ionisation des peptides, n'influencent sur leurs coefficients de distribution entre

T.S.V.P.

solubilité
à l'eau par
concentration
avec
l'ionisme
6

matériau au

20

deux phases liquides non miscibles, Prevoir
leur migrations relatives avec la phase mobile,
dans un systeme de distribution à contre courant
(Dispositif de CRAIG)

2.a. Quelle serait la charge électrique nette de
chacun des peptides à pH 7

2.b. En admettant que le poids moléculaire n'influe
PAS sur (la mobilité électrophoretique,
quel serait le comportement des peptides
en électrophorèse sur papier ou acetate de
cellulose.

N.B. Documents joints

- Hydrophobies des residus aminocycl.
- Ionisation des Groupements ~~de~~ acides des acides Aminés.

1503 8236

(05) 1997

A. Louk Tibi

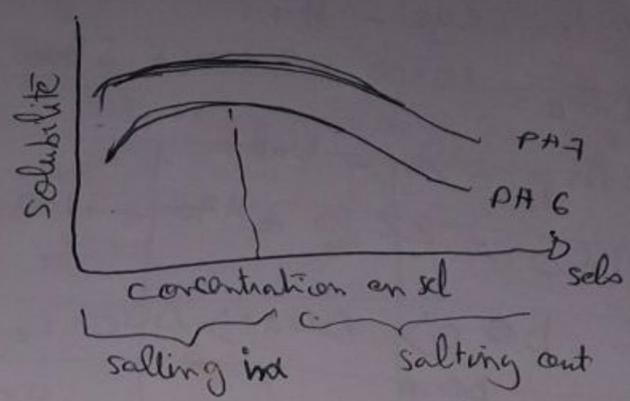
Salt
ang.
alibi-
ns l'e
cible
els

low
Cy
Ser

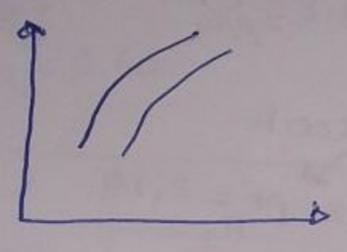
2016

Contrôle Technique chimique
Janvier 2016 (Normale)

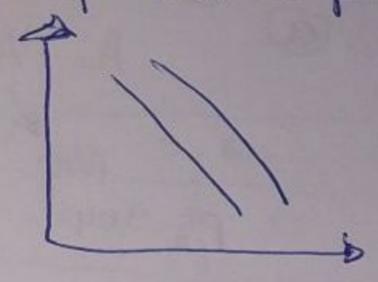
I



Salting in
augmentation de la solubilité d'une protéine dans l'eau par l'ajout de faible concentration de sels



Salting out
diminution de la solubilité d'une protéine dans l'eau par l'ajout de hautes concentrations de sels.
→ la solubilité augmente avec pH=7 et la solubilité diminue avec pH=6
→ précipitation à pH=6



6

- II
- A = Arg - Leu - Gly
 - B = Leu - Cys - His
 - C = Asp - Ser - Val

① ⇒ Distribution à contre courant ⇒ solubilité différentielle entre 2 phases non mobiles

$$K_D = \frac{[x]_{mobile} = Arg}{[x]_{stationnaire} = Arg}$$

$$\Rightarrow \Delta G = Travail$$

⇒ A) Arg - Leu - Gly

$$\Delta G_A = \Delta G(\text{Arg}^+) + \Delta G(\text{Leu}^-) + \Delta G(\text{Gly})$$

$$= 3070 + 10200 + 0 = 13270 \text{ J/mol}$$

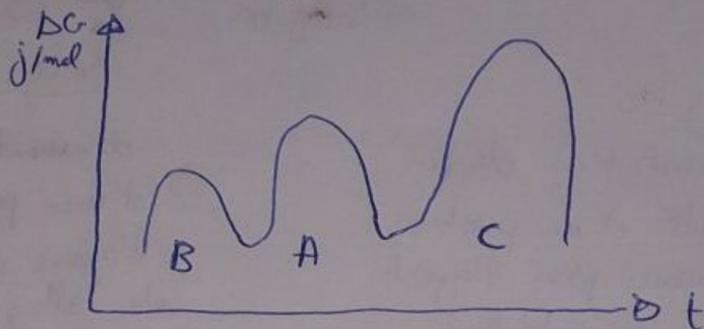
B / Leu - Cys - His

$$\Delta G_B = 10200 + 2700 + 5900 = 18800 \text{ J/mol}$$

C / Asp - Ser - Val

$$\Delta G_C = 2270 + 170 + 7100 = 9540 \text{ J/mol}$$

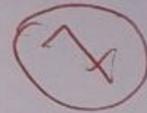
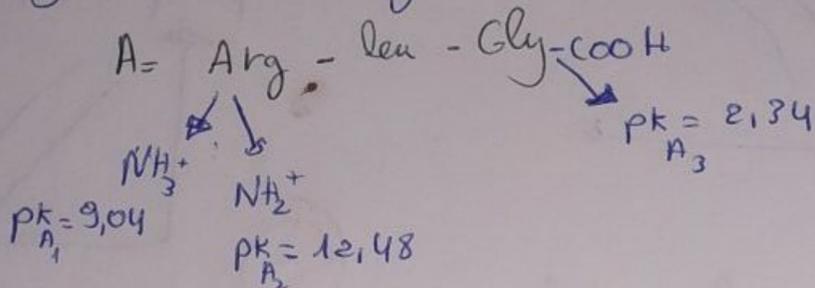
$$\Delta G_B > \Delta G_A > \Delta G_C$$



elle
lala

plus quand ΔG grande plus le peptide nécessite l'apport d'énergie pour le transfer.

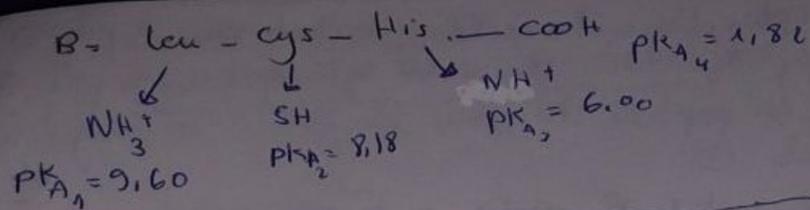
② ①



		2,34	9,04	12,48
NH_3^+ $pK_{A_1} = 9,04$	+1	+1	0	0
NH_2^+ $pK_{A_2} = 12,48$	+1	+1	+1	0
COOH $pK_{A_3} = 2,34$	0	-1	-1	-1
ensemble	+2	+1	0	-1

Donc $pH_i(A) = \frac{9,04 + 12,48}{2} = 10,76$

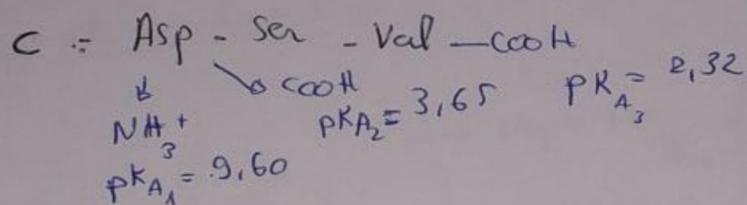
on a $pH \approx 7$ $pH_i > pH$ donc peptide A est positive (+)



	1,82	6	8,18	9,60
NH_3^+ $\text{pK}_{A_1} = 9,60$	+1	-1	+1	+1
SH $\text{pK}_{A_2} = 8,18$	0	0	0	-1
NH^+ $\text{pK}_{A_3} = 6$	+1	+1	0	0
COOH $\text{pK}_{A_4} = 1,82$	0	-1	-1	-1
Ensemble	+2	+1	0	-1

donc $\text{pH}_i = \frac{6 + 8,18}{2} = 7,09$

$\text{pH}_i < \text{pH}$ donc peptide B est neutre



(8)

	2,32	3,65	9,60
NH_3^+ $\text{pK}_{A_1} = 9,60$	+1	+1	-1
COOH $\text{pK}_{A_2} = 3,65$	0	0	-1
COOH $\text{pK}_{A_3} = 2,32$	0	-1	-1
g	+1	0	-1

$\text{pH}_i = \frac{2,32 + 3,65}{2} = 2,985$

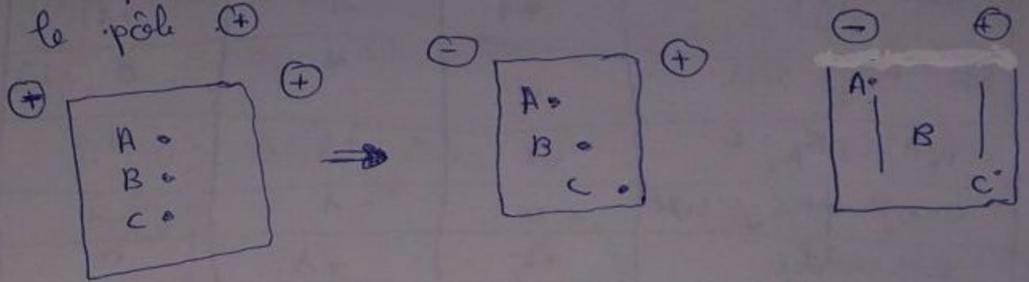
$\text{pH}_i < \text{pH}$ donc le peptide est négative

(b)

⇒ le comportement des peptides en électrophorèse sur papier ou acétate de cellulose.

→ les peptides d'une charge \oplus se migrent vers le pôle \ominus
 et les peptides d'une charge \ominus se migrent vers le pôle \oplus
 donc :

- le peptide A d'une charge \oplus se migre vers le pôle \ominus
- le peptide B neutre reste en milieu
- le peptide C d'une charge \ominus se migre vers le pôle \oplus



Octobre 2016 normale

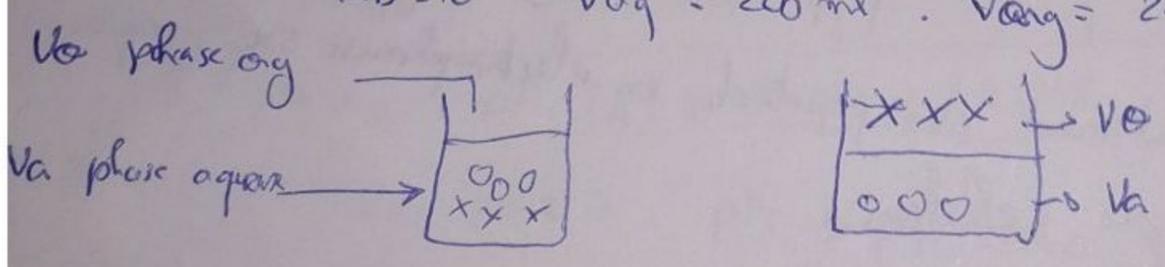
I.

(9)

II - (1) le comportement le soluté X en solution dans la phase aqueuse V_a extraire par la phase organique V_o

• paramètre lorsque les deux phases liquides sont en contact il s'établit l'équilibre de partage cet équilibre est caractérisé par une constante thermodynamique K_D appelé le coefficient de partage $K_D = \frac{[X]_{org}}{[X]_{aq}}$

(2) $K_D = 10$ $V_{aq} = 200 \text{ ml}$ $V_{org} = 200 \text{ ml}$



Le taux d'extraction est:

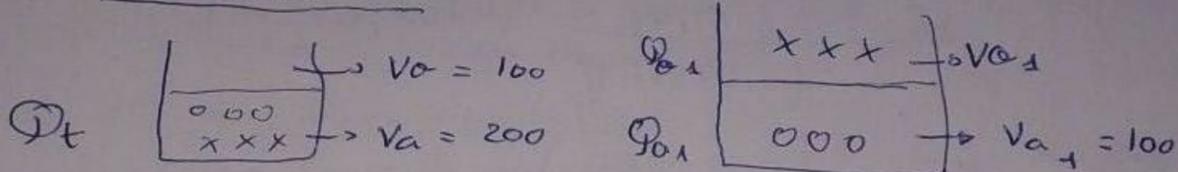
$$\epsilon = \frac{Q_D}{Q_{in}} = \frac{[x]_D \cdot V_D}{[x]_D \cdot V_D + [x]_A \cdot V_A} = \frac{[x]_D \cdot V_D}{[x]_A \cdot V_A} \cdot \frac{1}{1 + \frac{[x]_D \cdot V_D}{[x]_A \cdot V_A}}$$

on a: $K_D = \frac{[x]_D}{[x]_A}$

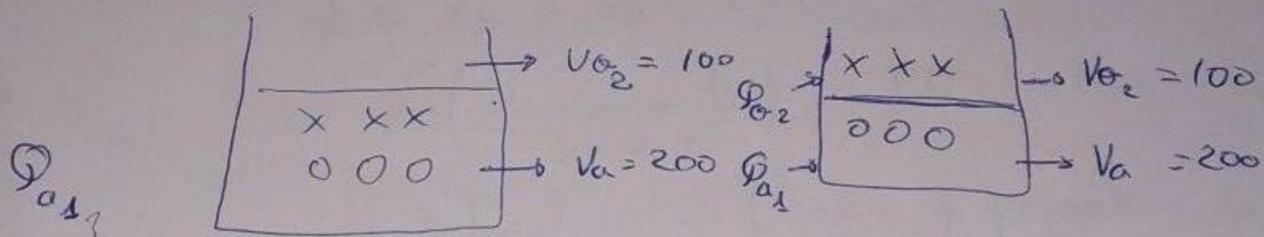
donc: $\epsilon = \frac{1}{1 + \frac{1}{K_D} \cdot \frac{V_D}{V_A}} = \frac{1}{1 + \frac{1}{10} \times \frac{200}{200}} = 0,90$

$$\epsilon = \frac{Q_D}{Q_{in}} = 90\%$$

③ 1^{ère} extraction



2^{ème} extraction



$$\epsilon_{cumulé} + \epsilon' = 1$$

$$\epsilon_{cumulé} = 1 - \epsilon'$$

$$\epsilon' = \frac{Q_{D2}}{Q_A} = \frac{[x]_A \cdot V_A}{[x]_A \cdot V_A + [x]_D \cdot V_D}$$

$$\epsilon' = \frac{Q_{D2}}{Q_T} = \left(\frac{1}{1 + K_D \cdot \frac{V_D}{V_A}} \right)^2$$

$$\epsilon' = \left(\frac{1}{1 + 10 \times \frac{100}{200}} \right)^2 = \left(\frac{1}{6} \right)^2$$

$$\Rightarrow \epsilon_{cumulé} = 1 - \epsilon' = \left(1 - \left(\frac{1}{6} \right)^2 \right) = 0,97 = 97\%$$

(10)

$$\textcircled{4} \quad \xi = \frac{1}{1 + \frac{1}{k_D} \cdot \frac{V_a}{V_e}} = \frac{1}{1 + \frac{1 \times 200}{10 \cdot V_e}}$$

$$0,9723 = \frac{1}{1 + \frac{200}{V_e}} \Rightarrow 0,9723 = \frac{V_e}{V_e + 200}$$

$$0,9723 (V_e + 200) = V_e$$

$$0,9723 V_e + 19,44 = V_e$$

$$0,9723 V_e - V_e = -19,44$$

$$V_e (0,9723 - 1) = -19,44$$

$$V_e = \frac{-19,44}{(0,9723 - 1)} = \boxed{702,02 \text{ mP}}$$

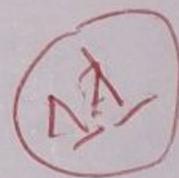
$$\textcircled{5} \quad \xi' = \left(\frac{1}{1 + k_D \cdot \frac{V_a}{V_e}} \right)^n \quad \xi = 99\% \quad V_a = V_e$$

on a $\xi = 99\% \Rightarrow \xi - \xi' = 1$

$$1 - 0,99 = \left(\frac{1}{1 + 10 \times 1} \right)^n$$

$$\log(1 - 0,99) = n \log\left(\frac{1}{11}\right)$$

$$n = \frac{\log(1 - 0,99)}{\log\left(\frac{1}{11}\right)} = \boxed{1,92 \approx 2}$$



Examen

Contrôle Techniques Chimiques pour la Biologie

Durée 60min

I- On considère les acides aminés : alanine valine et leucine. Quelle serait leur migration relative (R_f) lors d'une chromatographie sur couche mince de silice (avec une phase mobile organique).

II- On considère une solution aqueuse (aq) d'un soluté X. Cette solution est mélangée avec le même volume d'un solvant organique (Og).

1- quel serait le comportement de X en présence des deux solvants ? quel est le (l'un des) paramètre caractérisant ce comportement ?

2- Si le coefficient de distribution du soluté $K_d = 10$ et le volume de solvant aqueux $V_{aq} = 200\text{ml}$, quel serait le taux d'extraction de X par 200ml de solvant organique ?

3- Quel serait le taux d'extraction final (total, cumulé) de X après deux extractions successives de la même phase aqueuse (200 ml) par deux portions égales de 100 ml de solvant organique (2x100ml).

4- Si $V_{aq} = 200\text{ ml}$, quel serait le volume de solvant organique nécessaire pour atteindre le taux d'extraction déterminé dans la question II-3, en une seule extraction ?

Que déduisez vous des réponses II-2, II-3 et II-4 ?

5- Quel serait le nombre d'extraction successive nécessaire pour extraire 99% de soluté X à partir de $V_{aq}\text{ ml}$ de solution aqueuse, par des volumes égaux et successifs $V_{og}\text{ ml}$ de solvant organique (avec $V_{aq} = V_{og}$).

20
X
 $\log(x-n) = n \log(n+2)$

$[y] = \phi \cdot V$

A.LOUKTIBI

$\frac{1}{0} + \frac{200}{V_a}$
9727 =

Université Abdelmalek EL SAHAB
Fac. Sciences Tlemcen

Fevrier 2017

Rattrapage
Examen technique Chimie SVI-S3
Durée 1h30

I- On se propose d'analyser les lipides hépatique

1- Quelles sont (citez) les grandes étapes de la stratégie analytique généralement adoptée pour ce faire, depuis le choix du matériel biologique jusqu'à l'obtention des résultats ?

2- a) quels sont les objectifs généraux de l'étape de préparation de l'échantillon à analyser ?

b) Citer 2 à 3 procédés (techniques) souvent utilisés pour la préparation de l'échantillon.

3- Les lipides hépatiques sont extraits par un solvant organique non miscible avec l'eau.

a) Quel serait le taux d'extraction de ces lipides par 100 ml de solvant organique V_o , à partir d'un même volume V_a d'un extrait acellulaire aqueux, sachant que le K_d (coefficient de distribution) moyen de ces lipides est de 5.

b) Quel serait le taux d'extraction cumulé de ces lipides après deux extractions par deux volumes successifs de 50 ml de solvant organique.

Extm

II- on considère les peptides (voir annexes)

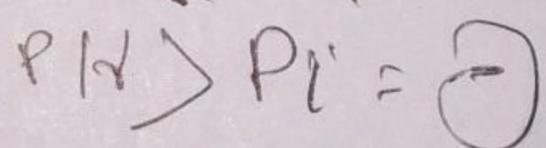
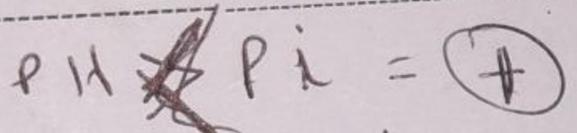
A = Ala-Lys-His

B = Val-Arg-Asp

1- Quel serait le comportement de ces peptides vis-à-vis d'une résine échangeuse d'ions sous forme sulfonate ($R-SO_3^- H^+$) préalablement équilibrée avec un tampon de pH 2 ($pK_{SO_3H} = 1,5$)

2- Quel serait le profil d'éluion (chromatogramme) de ces deux peptides par de un tampon de pH linéairement croissant entre pH 2 et pH 10

pointe
→ isolée
la charge



A.LOUKTIBI

à éluer

Donnez l'ordre des gènes sur le chromosome de F+ en indiquant la position et l'orientation l'origine du transfert de chaque souche Hfr.
5- Expliquez pourquoi une bactérie...

2017

contrôle Technique chimique
Février 2017 (Pathologie)

I - (1) la stratégie analytique :

⇒ obtention de l'échantillon :

une échantillon est une petite quantité d'une matière ou d'une information ou d'une solution

la nature de l'échantillon soit in vivo (organique vivants) soit in vitro (des organes) soit in situ (sur place)

* transport / stockage de l'échantillon

* déshydratation : congélation
lyophilisation

⇒ préparation de l'échantillon :

+ Homogénéisation

* Broyage ⇒ à mortier - à tuteurs - à sond

* méthode chimie / Biochimie

* Détergent ⇒ Détergent ionique

Détergent non ionique

Détergent zwitter ionique

* chootropes ⇒ cassent les interaction faible

* enzymes ⇒ lyse de la paroi et membrane cellulaire

lyse de la matrice extracellulaire

⇒ extraction

- liquide - liquide / solide - liquide / gaz - liquide

⇒ chromatographie

3 - Analyse : - qualitative / quantitative

4 - Evaluation des résultats

5 - rapport de résultats ⇒ décision

(2) - a - les objectifs généraux de l'étape de préparation de l'échantillon à analyser.

⇒ pour faire une analyse d'une molécule x



il ya plusieurs etape par exemple :
 homogénéisation, extraction pour extraire la soluté à partir
 des autres molécule de mélange.
 b. 3. Technique utilisées pour les préparations de l'échantillon
 homogénéisation, Extraction, chromatographie lavage,
 enrichissement, Broyage.

③ a. $V_0 = 100 \text{ ml}$ $V_a = 100 \text{ ml}$ $KD = 5$

• b. taux d'extraction

$$E = \frac{Q_0}{Q_{\text{int}}} = \frac{Q_0}{Q_0 + Q_a} = \frac{[x]_0 \cdot V_0}{[x]_0 \cdot V_0 + [x]_a \cdot V_a}$$

$$E = \frac{[x]_0 \cdot V_0}{[x]_0 \cdot V_0 + \frac{1}{KD} [x]_0 \cdot V_0} = \frac{1}{1 + \frac{1}{KD} \cdot \frac{V_a}{V_0}}$$

$$E = \frac{1}{1 + \frac{1}{5} \cdot \frac{100}{100}} = \frac{1}{1 + \frac{1}{5}} = 0,833 = 83\%$$

b. Taux d'extraction cumulé de ces lipides

$$E'_{\text{cumulé}} + E'_{\text{restant}} = 1$$

$$E'_{\text{cumulé}} = 1 - E'_{\text{restant}}$$

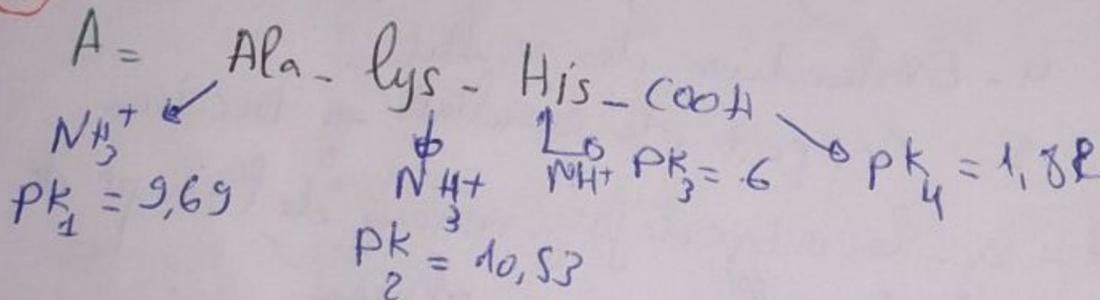
$$E' = \frac{Q_{02}}{Q_{\text{int}}} = \left(\frac{1}{1 + KD \cdot \frac{V_0}{V_a}} \right)^2 = \left(\frac{1}{1 + 5 \cdot \frac{50}{100}} \right)^2 = \left(\frac{2}{7} \right)^2$$

donc

$$E'_{\text{cumulé}} = 1 - \left(\frac{2}{7} \right)^2 = 0,9183 \approx 91\%$$

$$E'_{\text{cumulé}} = 91\%$$

II ①

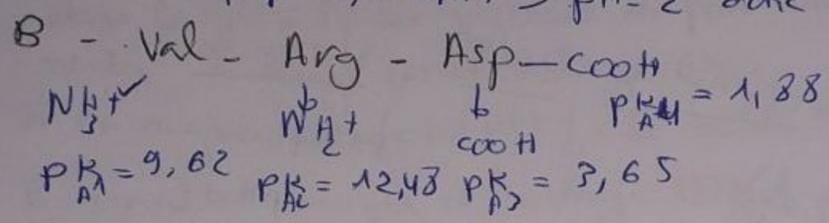


2- Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui inhibe ou tue les microorganismes.
 3- La plus part des microorganismes cellulaires cibles par les antibiotiques.
 d'élimination des dérivés toxiques de l'O₂. Quels sont ces dérivés et quelles sont les substances
 produites par les microorganismes pour détruire ces dérivés ?
 4- Dans quatre souches Hfr de bactéries, qui dérivent
 développée pendant plusieurs mois, un
 dans l'ordre suivant :

	1,82	C	9,69	10,53
NH ₃ ⁺ pK ₁ = 9,69	+1	+1	NH ₃ ⁺ +1	NH ₂ 0
NH ₃ ⁺ pK ₂ = 10,53	+1	+1	NH ₃ ⁺ +1	NH ₂ 0
NH ₂ ⁺ pK ₃ = 6	+1	+1	0	0
COOH pK ₄ = 1,82	0	-1	-1	-1
Exemple	+3	+2	+1	-1

donc pHi(A) = $\frac{9,69 + 10,53}{2} = 10,11$

pHi(A) = 10,11 > pH = 2 donc la charge est positive ⊕



(14)

	1,88	3,65	9,62	12,48
NH ₃ ⁺ pK _{A1} = 9,69	+1	+1	+1	0
NH ₂ ⁺ pK _{A2} = 12,48	+1	+1	+1	+1
COOH pK _{A3} = 3,65	0	0	-1	-1
COOH pK _{A4} = 1,88	0	-1	-1	-1
E	+2	+1	0	-1

donc pHi(B) = $\frac{3,65 + 9,62}{2} = 6,635$

pHi(B) = 6,635 > pH = 2 donc la charge est positive ⊕

→ la résine est chargée négative et les peptides A, B sont chargés positive donc ces deux peptides sont fixés dans la résine.

d'élimination des dérivés toxiques de l'OG. Quels sont ces dérivés et quelles sont les substances produites par les microorganismes pour détruire ces dérivés ?

→ Dans quatre souches Hfr de bactéries, qui dérivent toutes d'une même culture F+ s'étant développée pendant plusieurs mois, un groupe de gènes est étudié. On montre qu'ils sont transférés dans l'ordre suivant :

Souche Hfr	Ordre de transfert
Hfr 1	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Hfr 2	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Hfr 3	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Hfr 4	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

② pour l'éluion de ces deux peptides il faut élever la Valeur de pH entre $pH = 2$ et $pH = 10$

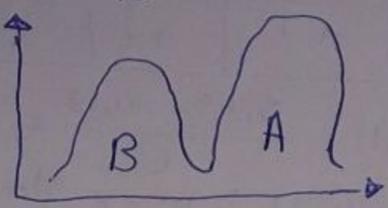
• $pH = 7$

$pI(A) = 10,11 > pH = 7 \Rightarrow$ la charge de A est positive ⊕

→ il reste fixe à résine

$pI(B) = 6,63 < pH = 7 \Rightarrow$ la charge de B est négative ⊖

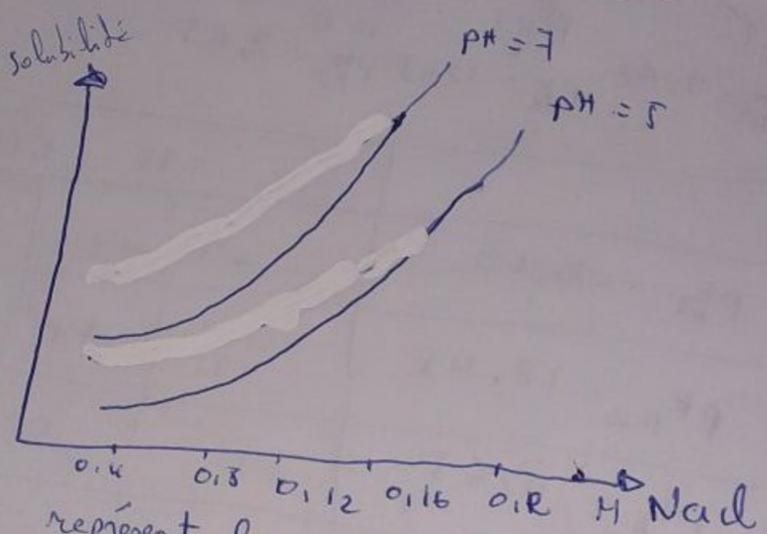
→ éluion de B



2018

janvier 2018 Normale

I -



15

① la graphique représente la variation de solubilité d'une protéine en fonction de pH et de la force ionique ([sel])

- concernant la force ionique :
- augment de Température
- augmentant de solubilité il s'agit de salting in.

les ions de sel favorise la solubilité du protéine
- en augmentant la coque d'hydratation (interaction, protéine, solvant)



[sel]



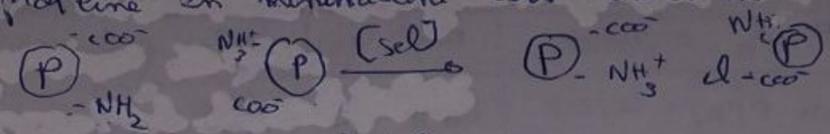
→ augmentant de solubilité

Calculer le temps de génération en supposant que :
 $N_0 = 10\,000$ bactéries
 $N_t = 32\,000\,000$ bactéries
 Le temps écoulé entre N_0 et N_t soit de 300 min
 NB : Pour vos calculs, il suffit de prendre le logarithme des deux termes de l'équation.

2- Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui inhibe ou tue les bactéries.

3- La plus part des microorganismes cellulaires ciblés par les antibiotiques sont ceux qui produisent des dérivés toxiques.

- en interagissant avec les charges de signe opposé
 → le protéine en minimisant leurs attractions



→ augmentant de solubilité

• concernant le pH :

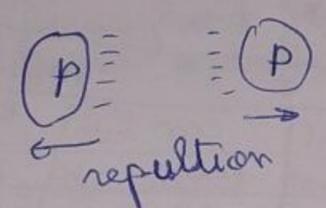
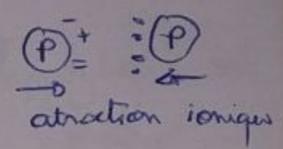
pH = 5 la solubilité est inférieure que celle d'un pH = 7

→ augmentant de pH

→ augmentant de solubilité

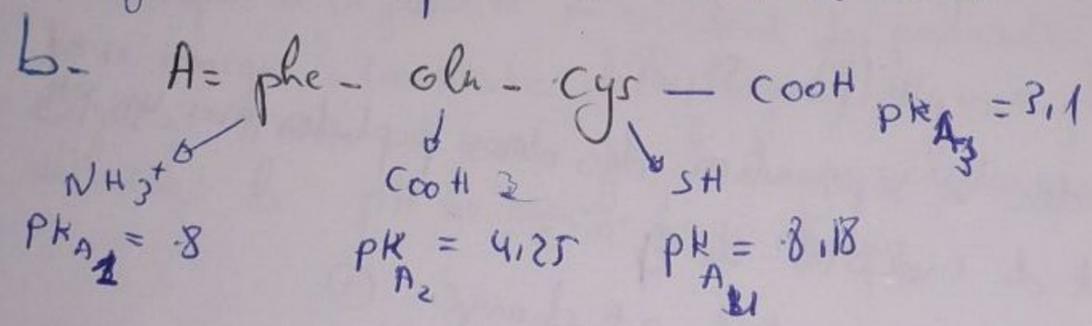
en augmentant le pH, on s'éloigne de pI, qui est d'environ 4,5.
 dans le pH = 5 les molécule de protéine sont électriquement neutre \oplus charge = \ominus charge

en augmentant (pH > pI) le milieu tend vers le caractère basique et les charge \ominus sont nombreuses que les charge \oplus , donc la répulsion et la solubilité augmente aussi



② - a - Si les deux peptide sont chargé négativement, en aurais des force d'attraction entre les molécules du peptide et ceux du résine (fixation du peptide sur le résine)

• Si les deux peptides sont chargé positivement, en aurais des forces de répulsion entre celle ci et celle la (les 2 peptide sont libre)



48

Le temps double entre N_0 et N_t suit de 100 min
 Pour un calcul, il suffit de prendre le logarithme des deux termes de l'équation

2- Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui inhibe ou tue les microorganismes.

3- La plus part des microorganismes cibles par les antibiotiques, d'élimination des dérivés toxiques de l' O_2 . Quels sont ces dérivés et quelles sont les substances produites par les microorganismes pour détruire ces dérivés ?

4- Dans quatre souches Hfr de bactéries, qui dérivent toutes d'une même culture F^+ s'étant développée pendant plusieurs mois, un groupe de gènes est étudié. On montre qu'ils sont transférés dans l'ordre suivant :

Souche Hfr	1	2	3	4
	E	R	I	U
	U	M	B	
	C			

	3,1	4,25	8	8,25
αNH_3^+ $PK_{A1} = 8,15$	NH_3^+ (+)	NH_3^+ (+)	NH_3^+ (+)	NH_2 (0) NH_2 (0)
R COOH $PK_{A2} = 4,25$	COOH (0)	COOH (0)	COO ⁻ (-)	COO ⁻ (-) COO ⁻ (-)
α COOH $PK_{A3} = 3,1$	COOH (0)	COOH (0)	COO ⁻ (-)	COO ⁻ (-) COO ⁻ (-)
R SH $PK_{A4} = 8,18$	SH (0)	SH (0)	SH (0)	S ⁻ A (0) S ⁻ (-)
E	p^{++} (+)	p^0	p^{-1}	p^{2-} p^{3-}

ionisation successives des groupements ionisables en fonction des pK
 $\rightarrow pHi(A) = \frac{PK_{A1} + PK_{A2}}{2} = \frac{3,1 + 4,25}{2} = 3,675$

B = leu - lys - Asp - COOH $PK_1 = 3,1$
 NH_3^+ $PK_3 = 8$ NH_3^+ $PK_4 = 10,53$ $COOH$ $PK_2 = 3,65$

(17)

	3,1	3,65	8	10,53
COOH $PK_1 = 3,1$	0	COO ⁻ (-)	COO ⁻ (-)	COO ⁻ (-)
COOH $PK_2 = 3,65$	0	COOH (0)	COO ⁻ (-)	COO ⁻ (-)
NH_3^+ $PK_3 = 8$	+1	NH_3^+ (+)	NH_3^+ (+)	NH_2 (0)
NH_3^+ $PK_4 = 10,53$	+1	NH_3^+ (+)	NH_3^+ (+)	NH_2 (0)
E	p^{++}	p^+	p^0	p^- p^{2-}

Généralment : $pHi = \frac{PK_2 + PK_3}{2} = \frac{3,65 + 8}{2} = 5,83$
 $pHi(B) = 5,83$

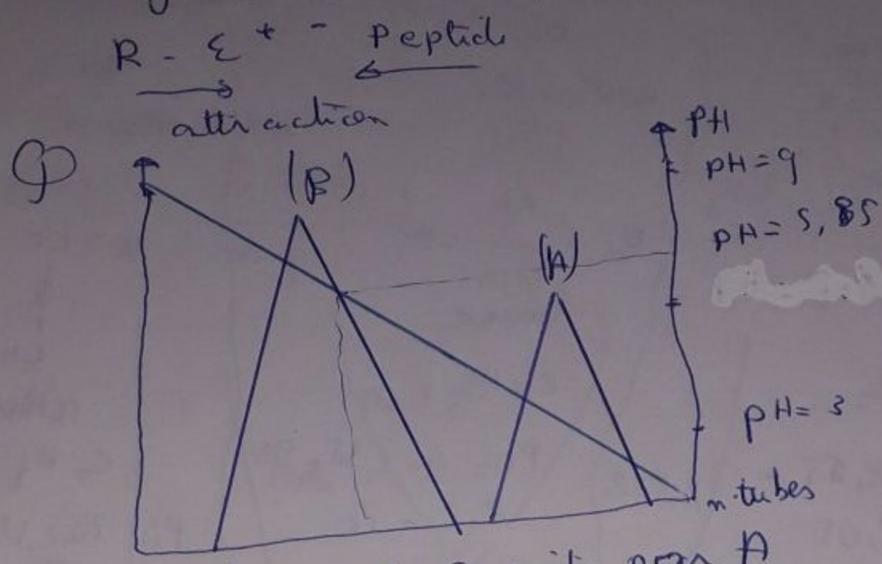
on peut procéder la séparation des deux peptides avec un pH progressivement de croissant de 9 à 3 :

• un $pH < pHi$ le peptide est chargé (+)
 \Rightarrow élution

R - E⁺⁺ peptide
 \leftarrow Replution \rightarrow

microorganismes cellulaires cibles par les antibiotiques.
 produits par les microorganismes pour détruire ces dérivés ?
 + Dans quatre souches Hfr de bactéries, qui...
 développée pendant plusieurs...
 dans l'ordre sui...

- un $pH > pI$ le peptide est chargé \ominus
 \Rightarrow fixation sur la résine

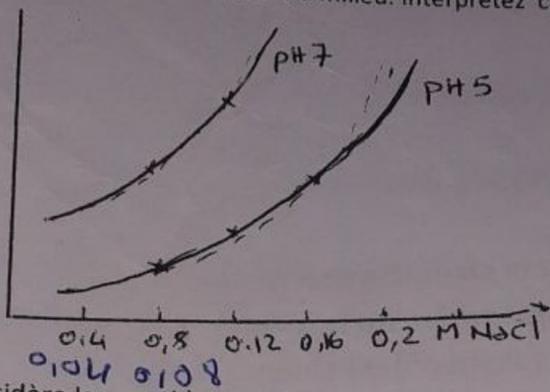


③ les méthodes en cascade sont des méthodes préparatives analytiques sert à la séparation des biomolécules, sont basés sur le même principe des méthodes simples (extraction, purification, fractionnement est...). mais avec un arrangement séquentiel de plusieurs étapes élémentaires de façon que le pouvoir séparateur de l'étape (i) est amplifié par l'étape

$$R_{i+1} =$$

la distribution à contre courant par exemple procède une séparation de deux ou plusieurs soluté dans une série d'extraction liquide-liquide. les différent soluté vont subir des forces d'entraînement et des forces de retardement pour une séparation complète de diverses solutes. les méthode en cascade (chromatographie, dcc), jouent sur les même principe d'interaction intermoléculaire et sont généralement le charge électrique et la polarité en utilisant des paramètre varié (pH, force ionique, constante diélectrique). par exemple : le chromatage échange d'ions est basés sur la charge électrique des molécule on utilisent le pH ou bien la force ionique.

1. La figure ci-après représente les variations de la solubilité d'une protéine en fonction de paramètres physico chimiques du milieu. Interprétez ces résultats ($pI_{\text{protéine}} = 4,5$)



2. On considère les peptides A et B :

A: Phe-Glu-Cys

B: Leu-Lys-Asp

a- A et B sont chargés sur une colonne de résine échangeuse d'anions préalablement équilibrée (active $R-\Sigma^+$) avec un tampon de pH 9. décrire l'interaction éventuelle entre la résine et les deux peptides.

b-Comment pourriez-vous séparer ces deux peptides par chromatographie d'échange d'ions.

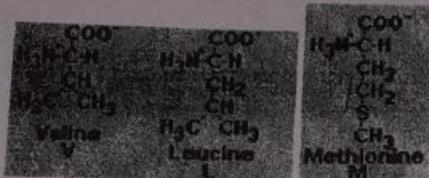
3. La chromatographie comme la distribution à contre courant sont deux techniques analytiques qualifiées de « méthodes en cascade ». Commentez.

Acides aminés	$pK_{\alpha}COOH$	$pK_{\alpha}NH^3$	pK_R	ΔG de transfert**
NH_3^+ Phe	3,1	8		11 100
$COOH$ Glu	3,1	8, NH_3^+ 4,25		2300
SH Cys	3,1	8	8,18	2700
NH_3^+ Leu	3,1	8		10 200
NH_3^+ Lys	3,1	8	10,53	6300
$COOH$ Asp	3,1	8	3,65	2270

- pK approximatif au sein d'une protéine.
- ΔG de transfert de la chaîne latérale depuis un solvant apolaire vers l'eau (Joules/mole)



I-1 on considère les trois acides aminés : Valine, Leucine et Methionine

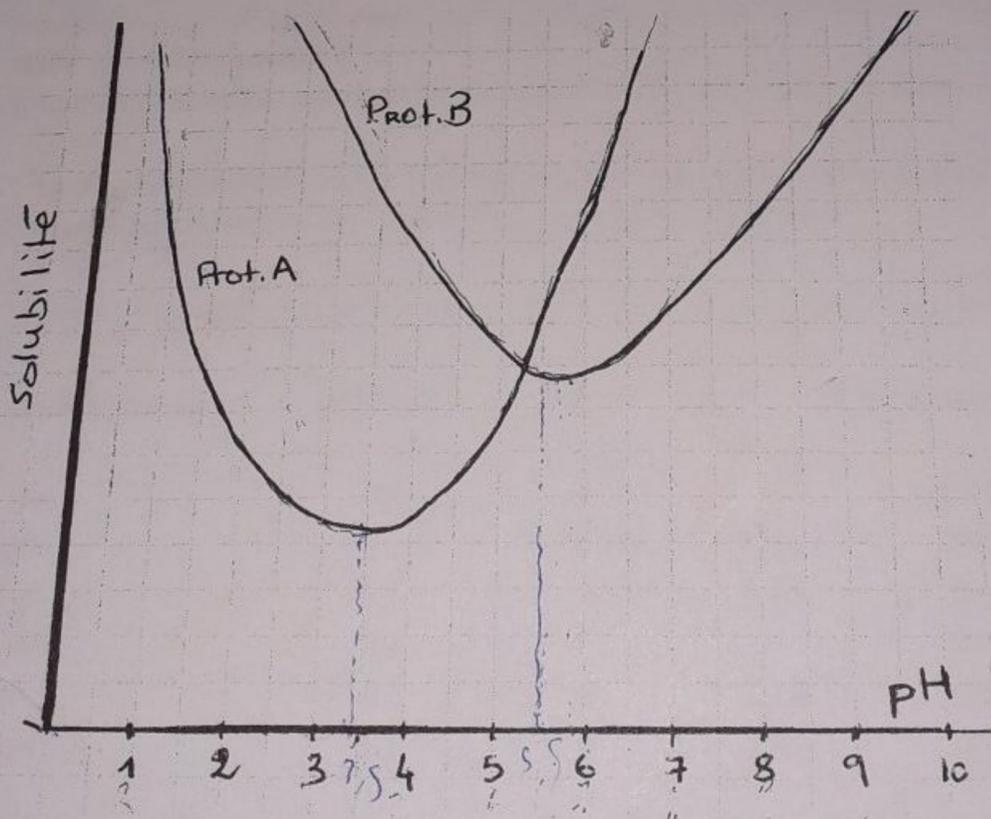


Classer ces molécules par ordre de polarité croissante, argumenter.

2- Deux solutés A et B sont dissouts dans V_a millilitres d'eau puis extraits par V_o millilitres de solvant organique (non miscible).

Si le taux d'extraction de A est 10 fois supérieur à celui de B, établir une relation entre K_a et K_b , coefficients de distributions entre les deux phases, de A et B respectivement.

II-1) Le schéma ci-dessous représente les variations de la solubilité de deux protéine A et B en fonction du pH du milieu.



Commenter le schéma en explicitant les propriétés physico-chimiques mises en jeu.

$pH < pI \rightarrow [P]^{+}$
 $pH > pI \rightarrow [P]^{-}$

A. LOUKTIBI

Département de
Faculté des Sciences
TETOUAN

Pratic

تدريسي

2) Les deux protéines sont chargées sur une colonne de résine échangeuse de cations

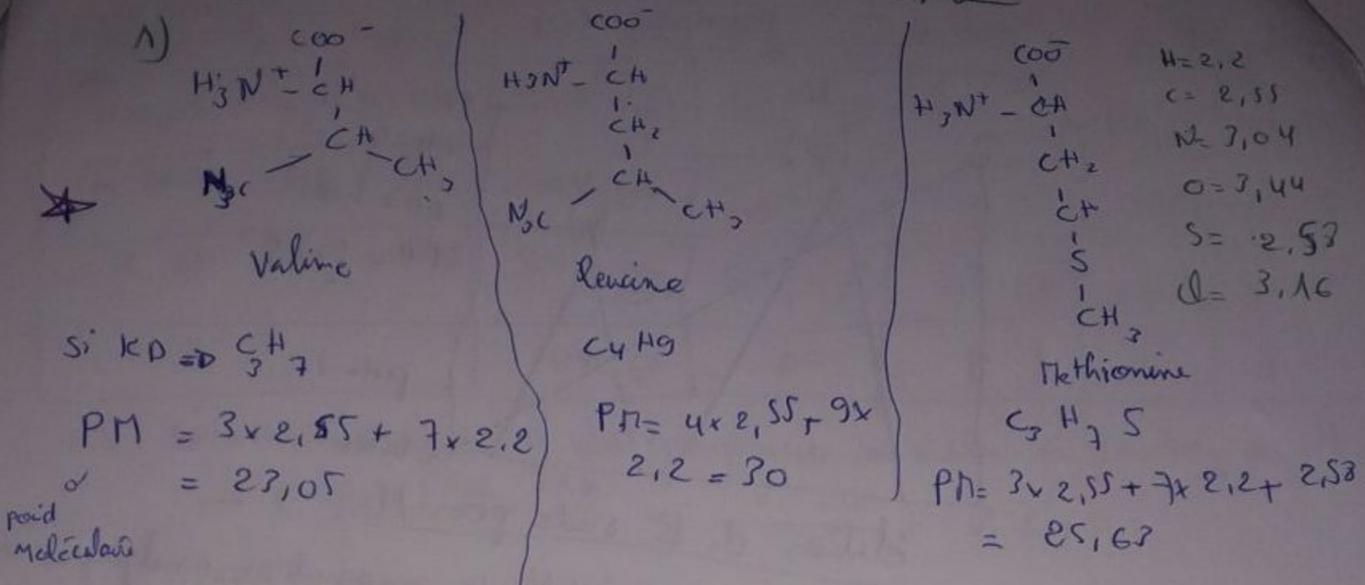
(Résine- $E^- H^+$, $pK = 3$), préalablement équilibrée avec un tampon de pH 4.

- a- Quelle serait le comportement de A et B vis-à-vis de la résine ?
- b- Quel serait le profil chromatographique après élution par un tampon de pH linéairement croissant entre pH 4 et pH 10.

A .LOUKTIBI

pH
pH
pH
+

I 2017 Plans 2017 Rattrapage



Rf (Leucine) > Rf (Méthionine) > Rf (Valine)

- Leu
- Met
- Va

Leucine plus apolaire par rapport Méthionine et Méthionine plus apolaire par rapport Valine

$$K_A = \frac{[CA]_{org}}{[CA]_{aq}}$$

$$\epsilon_A = \frac{Q_{org A}}{Q_{int A}} = \frac{1}{1 + \frac{1}{K_A} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}}}$$

$$\frac{1}{1 + \frac{1}{K_A} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}}} = 10 \cdot \frac{1}{1 + \frac{1}{K_B} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}}}$$

$$K_B = \frac{[CB]_{org}}{[CB]_{aq}}$$

$$\epsilon_B = \frac{Q_{org B}}{Q_{int B}}$$

$$\epsilon_A = \frac{1}{1 + \frac{1}{K_B} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}}}$$

$$1 + \frac{1}{K_B} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}} = 10 \cdot \left(1 + \frac{1}{K_A} \cdot \frac{V_{aq}}{V_{org}} \right)$$

$$1 + \frac{V_{aq}}{K_B \cdot V_{org}} = 10 \times \frac{10 \cdot V_{aq}}{K_A \cdot V_{org}}$$

$$\frac{V_{aq}}{K_B \cdot V_{org}} = \frac{10 \cdot V_{aq}}{K_A \cdot V_{org}} = 10 - 1 = 9$$

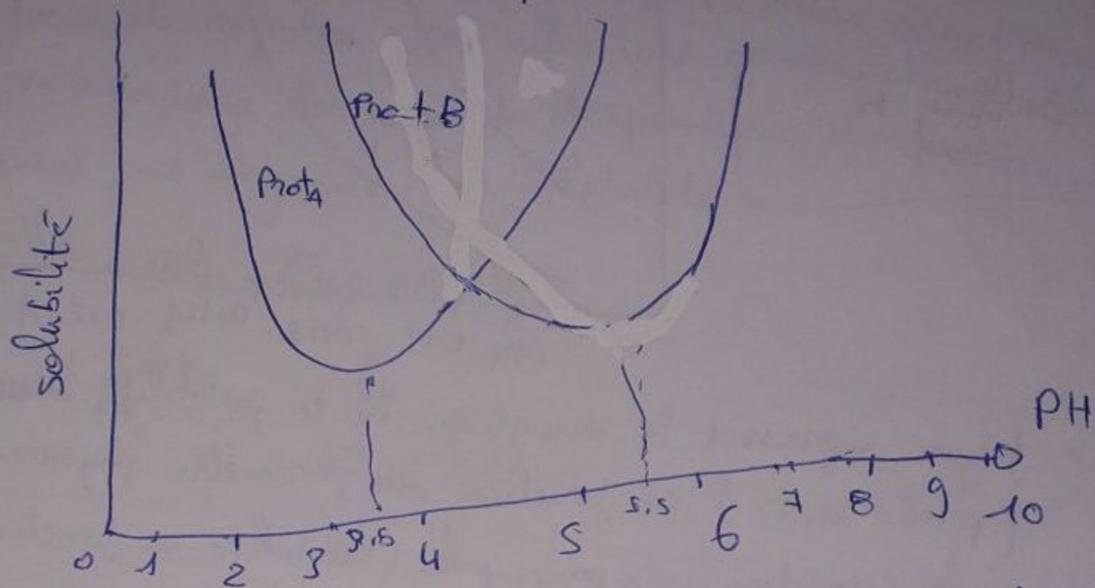
20

$$\frac{V_{ag}}{V_{org}} \left(\frac{1}{K_B} - \frac{10}{K_A} \right) = 9$$

$$\Rightarrow \frac{1}{K_B} - \frac{10}{K_A} = 9 \times \frac{V_{org}}{V_{ag}}$$

$$\Rightarrow \frac{1}{K_B} - \frac{9 \cdot V_{org}}{V_{ag}} = \frac{10}{K_A}$$

II



- La valeur de la solubilité comme cette pHi, Protéine que des protéine de la solution.
- t° constante des électrique, force ionique et solubilité
- T° est augmentant. La solubilité et le PH à condition de ne pas dénaturer la protéine

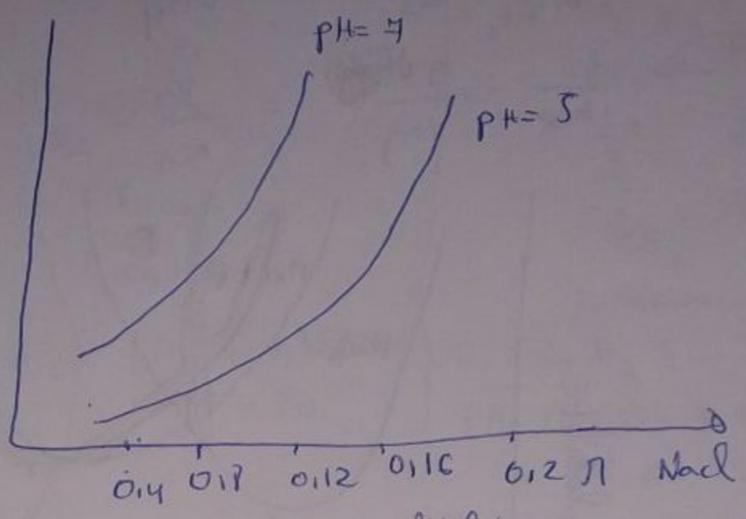
(21)

2018

Exam Technique
chimique 2018 janvier Normale

La pIi: protene
pHi = 4.5

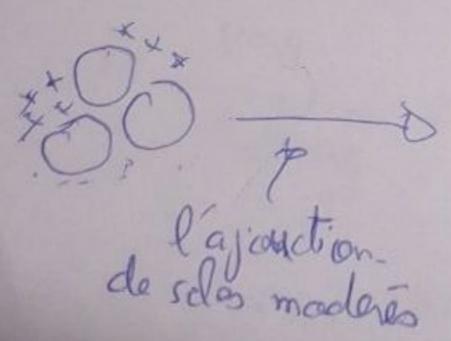
Salting in



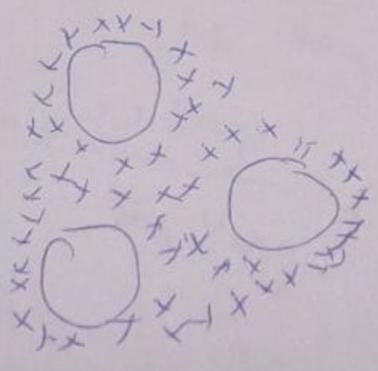
22

La figure represent la variation de la solubilité d'une protene (pHi = 4.5) en fonction des parametre physico-chimique du milieu. dans les coordonnees principales (solubilité en fonction de pH et la force ionique. on constate l'augmentation de la solubilité de la protene avec un augmentation de la force ionique (salting in); cette augmentation de la solubilité des protene apres l'ajout (l'ajonction d'une quantite moderee de sel revient a changement suivant:

- apres l'ajout des ions salins au milieu, le cristales se dissocient selon la relation: $\text{NaCl} \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}} \text{Na}^+ + \text{Cl}^-$
- cette quantite des ions chargees sera solvate par les molecules de solvant (H_2O solvant) et creent des interaction faibles avec les molecules de solvant et par consequent \Rightarrow l'augmentation de la coque d'hydratation des protenes \Rightarrow chose qui augmente la solubilité de ses protenes.



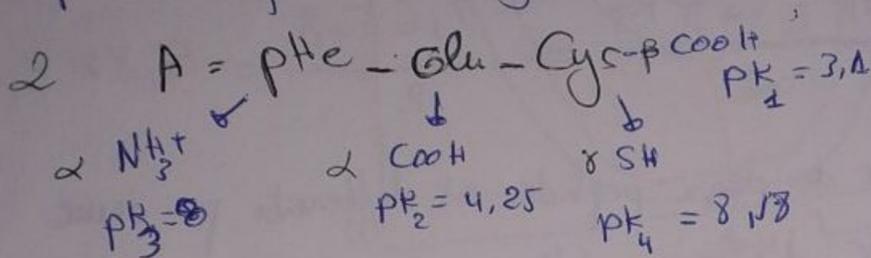
l'ajonction de selles moderes



O protene
 = H_2O
 x les ion Na^+ et Cl^-

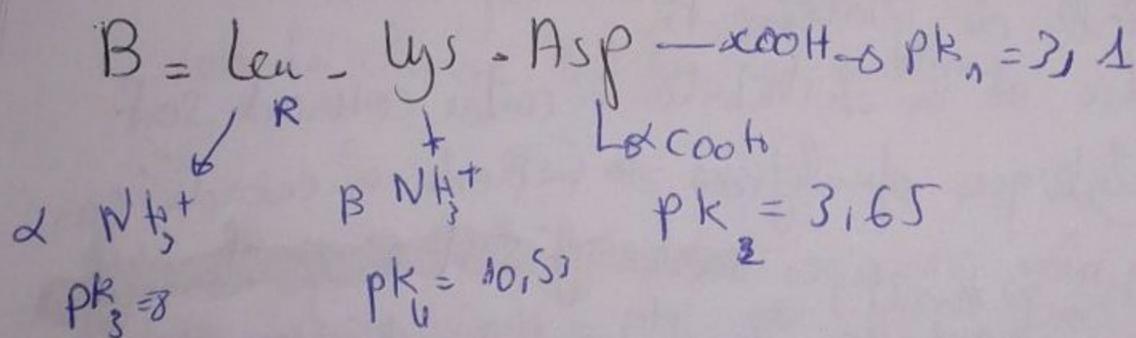
→ tous ces constituants confèrent le phénomène du salting in typique.

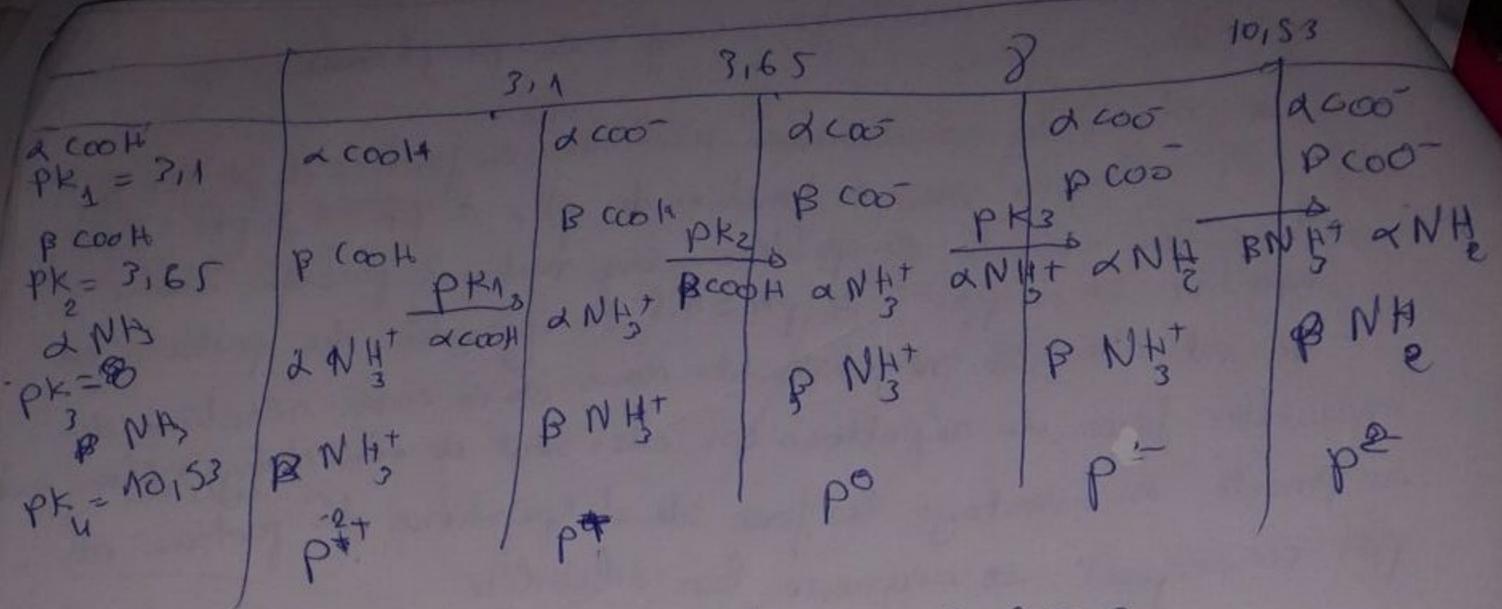
→ dans les coordonnées secondaires en fonction de pH, le profil de salting in varie en fonction du pH, à $pH = 5 \geq pI = 4,15$ donc les molécules de protéines sont neutre à presque chargée négative et à $pH = 7 \geq pI = 4,15$ la majorité des protéines de valent chargées négativement donc on va avoir réaction des nouvelles forces de répulsions car elles sont de même charge. Chose qui augmente en avantage les force de désipations des protéines et par conséquent → augmente leur solubilité



	3,1	4,25	8	8,18
PK ₁ = 3,1	α COOH	α COO ⁻	α COO ⁻	α COO ⁻
PK ₂ = 4,25	β COOH	β COOH	β COO ⁻	β COO ⁻
PK ₃ = 8	α NH ₃ ⁺			
PK ₄ = 8,18	γ SH	γ SH	γ SH	γ S ⁻
	p ⁺	p ⁰	p ⁻	p ²⁻ p ³⁻

$$pH_{i-}(A) = \frac{PK_1 + PK_2}{2} = \frac{3,1 + 4,25}{2} = 3,675$$





$$\text{pHi}(B) = \frac{\text{PK}_2 + \text{PK}_3}{2} = \frac{3,65 + 8}{2} = 5,82$$

Remarque : le pHi de deux peptides est différents par deux unités \Rightarrow possibilité d'élution différentielle \Rightarrow donc à pH = 9 (pH du résine de séparation) on a :

- $\text{pHi}(A) < \text{pH} \Rightarrow$ le peptide A est chargé négativement donc sera selon par la résine
- de même $\text{pHi}(B) < \text{pH} \Rightarrow$ le peptide est chargé négativement alors sera retenu.

\Rightarrow les deux peptide seront retenue

b. Séparation par chromatographie d'échange d'ion :
 en diminuant progressivement le pH du tampon de 9 à presque 5,82 on mesure $7 \leq 5,82 \Rightarrow$ donc on constate que la charge du peptide B devient positive majoritairement donc sera élue et récupéré et puis diminuant le pH à $< 3,67 \Rightarrow$ élution de peptide A \Rightarrow séparation différentielle de protéine B.

3 - la chromatographie et la distribution à contre courant sont deux techniques analytiques qualifiées de méthode en cascade car ils sont basés sur les même principes utilisent les étapes élémentaire successif. Sont en continue (cas de chromatographie) en discontinu cas de distribution à contre courant) et que le pouvoir séparateur de la phase ~~isole~~ isera amphiphie par l'étape $i+1$

Université Abdelmalek Essaadi
Faculté des Sciences
Tétouan

Rotnapage

Février 2018

Contrôle Techniques Chimiques

SVI-S 3 ; Durée 1h

I- On dispose d'un soluté X, dissout dans un volume V_a d'une solution aqueuse.

1) Que se passe-t-il pour X si cette solution est mélangée avec un volume V_o d'un solvant organique.

2) Qu'en déduisez vous si le coefficient de répartition (ou de distribution) de X est égal à :

a -1000 ?

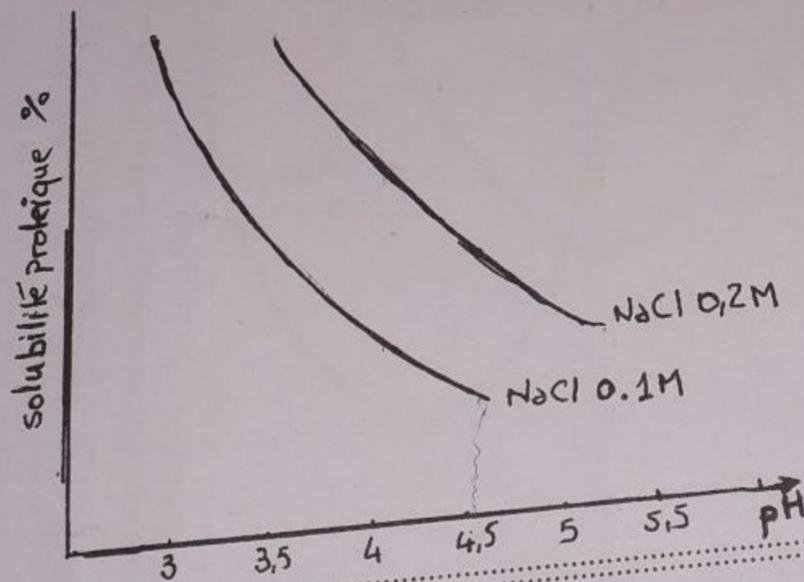
b - 0,001 ?

3) Quel pourcentage de la quantité initiale de X serait extraite par le solvant organique, si le coefficient de distribution pour X est de 10 et $V_a = V_o$.

4) Quel volume V_o de solvant organique serait nécessaire pour extraire 99% de soluté X à partir de V_a ml de solution aqueuse

5) Si le volume V_o de phase organique calculé en (4) est partagé en deux portions (volumes) égales, quel serait le taux cumulé d'extraction de X après deux extractions successives par ces deux portions de V_o .

II- Interprétez le schéma ci-dessous :



A.LOUKTIBI

I) 1- Quels sont les principaux objectifs de l'analyse chimique d'un échantillon biologique.

2- Quelles sont les principales étapes (à définir brièvement) d'une stratégie générale, dont le but est la purification d'un analyte (une molécule) d'intérêt à partir d'un échantillon biologique.

3- Des techniques comme la précipitation, l'extraction par le solvant et l'extraction en phase solide, font parties de l'étape de préparation de l'échantillon pour analyse ultérieure ; Quelles sont les principales similitudes et différences entre ces trois techniques.

II) Considérons les peptides A et B :

A = Ala-Lys-Cys

B = Val-His-Arg

1- Déterminez la charge électrique nette de ces peptides à pH 8.

2- Les deux peptides dans un tampon aqueux de pH 8, sont chargés sur une colonne de chromatographie. Quelle type de résine échangeuse d'ions serait capable de retenir A et B et dans quelles conditions.

3- De quelle façon pourrait-on séparer ces peptides par élution. Résumez l'élution par un profil complet.

4- Quel serait le profil de distribution de ces deux peptides dans un système de GRAIG (distribution à contre-courant) avec une phase mobile organique et phase stationnaire aqueuse.

	ΔG^* , j/mole	pK_1	pK_2	pK_R	pHi
Ala	3070	2,34	9,69		6,01
Lys	6300	2,18	8,95	10,53	9,74
Cys	2700	1,96	10,28	8,0	5,07
Val	7100	2,32	9,62		5,97
His	5900	1,82	9,17	67,59	
Arg	3070	2,17	9,04	12,48	10,76

*Energie libre de transfert du résidu amino-acyl depuis le dioxane vers l'eau.

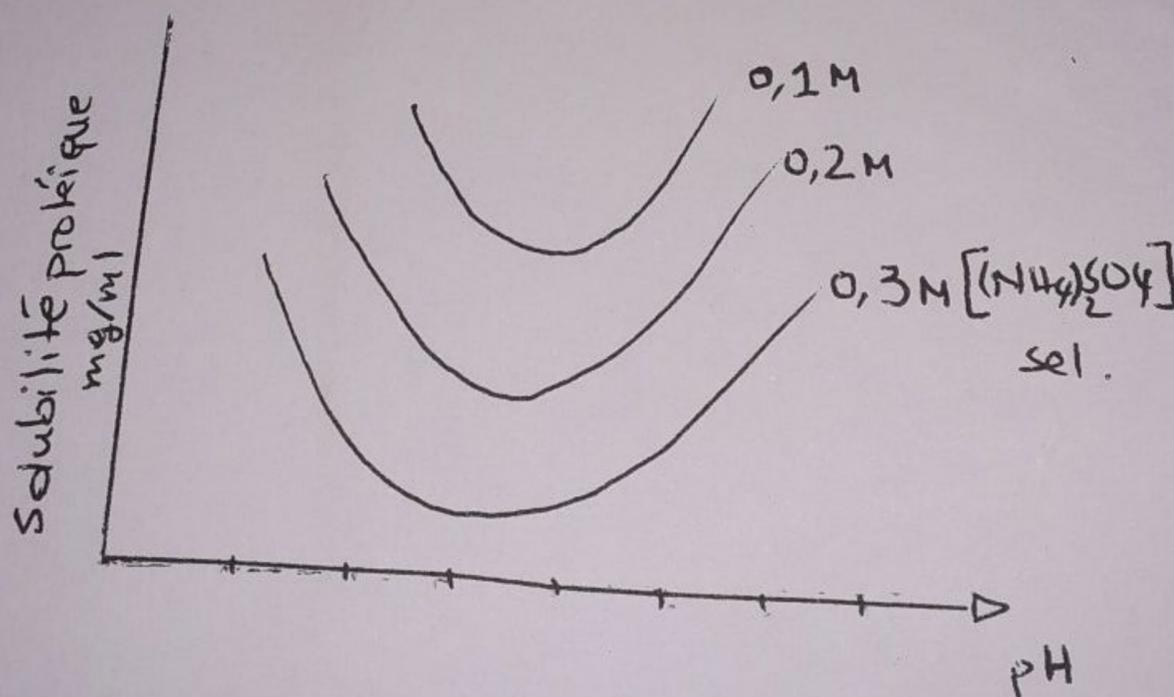
Contrôle Tech.Chim.Biol., SVI-S3. (1h30min)

I - Un soluté X a un coefficient de partage $K_d = \dots = 50$ à 25°C .

Si $V_{\text{aq}} = 1000 \text{ ml}$, quel est le taux d'extraction de X par :

- a. 50ml de phase organique.
- b. 25ml de phase organique, suivie par une séparation des phases puis une deuxième extraction par 25ml de phase organique.
- c. Quel volume de phase organique serait nécessaire pour extraire, en une seule opération, 99% de X .
- d. Quel le nombre d'extractions successives nécessaire pour extraire 99% de X par des volumes égaux $V_{\text{org}} = 25 \text{ ml}$.
- e. Que déduisez-vous de vos réponses aux questions a, b et c, ^{et d} quant aux paramètres déterminant l'efficiéce d'une extraction liquide-liquide.

II - Commenter succinctement la figure ci-après :



Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

