

**DETERMINATION DE LA MASSE MOLAIRES MINIMALE D'UNE PROTEINE P
PAR DOSAGE DE LA TYROSINE (METHODE D'ANSON)**

En milieu alcalin le réactif de Folin Ciocalteu réagit avec la tyrosine en donnant une coloration bleue permettant un dosage colorimétrique.

Réactifs:

- Solution T : solution étalon de tyrosine à 250 mg/L dans HCl 0,2 mol/L
- HCl 0,2 mol/L
- NaOH 0,2 mol/L
- Réactif de Folin Ciocalteu au 1/2: à préparer extemporanément
 - 3 mL de réactif pur
 - 3 mL d'eau

- Hydrolysats d'une protéine P : **solution H à 4,20 g de protéines/L**

1. Préparation d'une solution étalon fille F de tyrosine à 50 mg/L :

A partir de la solution T, préparer 50 mL d'une solution étalon de tyrosine à 50 mg/L, en utilisant la solution d' HCl 0,2 mol/L comme diluant.

2. Etalonnage de la méthode:

2.1. Gamme de solutions étalon:

A partir de la solution étalon fille F réaliser une gamme de solutions étalon de concentration allant de 0 à 50 mg/L, sous un volume final de 5 mL .

2.2. Coloration: Pour chaque solution étalon procéder de la façon suivante:

	volumes
Sol. étalon	1, 00 mL
NaOH 0,2 mol/L	5 mL
Réactif de Folin Ciocalteu au 1/2 (mL)	0,5 mL

Mélanger.

Attendre 5 minutes.

Lire les absorbances à 750 nm contre le témoin .

3. Dosage de la tyrosine dans l'hydrolysats de protéine: (2 essais)

L'hydrolysats H est obtenu par hydrolyse d'une protéine P. Un évaluation de la concentration par mesure l'absorbance à 280 nm montre que la solution contient environ 60 mg/L en tyrosine.

Diluer la solution H afin de permettre son dosage par la méthode d'Anson.

Réaliser deux essais:

	volumes
Hydrolysats H dilué	1, 00 mL
NaOH 0,2 mol/L	5 mL
Réactif de Folin Ciocalteu au 1/2 (mL)	0,5 mL

Traiter comme la gamme d'étalonnage.

4. Résultats:

4.1. Qualité-maintenance- sécurité:

4.1.1. Qualité:

Citer les qualités essentielles requises dans ce protocole.

4.1.2. Maintenance:

Préciser les gestes de maintenance à réaliser durant le TP.

4.1.3. Sécurité:

- Établir la liste des produits dangereux.
- Rechercher les risques et les conseils de sécurité de chaque produit.
- Préciser le mode d'élimination des déchets.

4.2. Résultats expérimentaux:

4.1. Établir un tableau de préparation des solutions étalon de tyrosine.

4.2. Déterminer la dilution à appliquer à l'hydrolysate H.

4.3. Établir un tableau complet de colorimétrie.

4.4. Tracer la courbe d'étalonnage $A = f(c \text{ Tyr})$

4.5. Déterminer la concentration massique en tyrosine dans l'hydrolysate H.

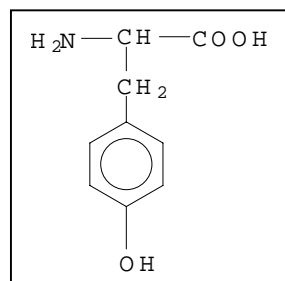
- Vérifier la concordance des résultats: $CV = 5\%$
- Calculer la concentration retenue en mg/L.

4.6. En déduire le pourcentage en masse de tyrosine dans la protéine P.

4.7. Calculer la masse molaire minimum de la protéine P en posant comme hypothèse qu'il y a au moins une mole de tyrosine par mole de protéine.

Donnée:

M tyrosine = 181 g/mol



Matière d'œuvre

Tyrosine
tubes à hémolyse
tubes colorimétrie
parafilm
fioles de 50 mL
cônes bleus
P 1000
cuves colorimétrie
réactif de Ciocalteu
HCl 0,2 mol/L
NaOH 0,2 mol/L
sol étalon T de tyrosine à 250 mg/L dans HCl 0,02 M
solution H (diluer la solution étalon T au 1/4 dans HCl 0,2 mL/L)