

## TP 1 de Biochimie métabolique

**1. Présentation du matériel du laboratoire** (Appareillage, verrerie, réactifs chimiques).

**2. Dosage des composés phénoliques totaux de 2 échantillons de miel**

Voici le protocole expérimental à réaliser :

	Solution d'échantillon	Solution du blanc
Solution de miel foncé (0,1g/ml)	100 µl	-
Solution de miel clair (0,1 g/ml)	100 µl	
Eau distillée	-	100 µl
Solution de Folin-Ciocalteu (50 %)	100 µl	100 µl
Solution de carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 2 %)	2 ml	2 ml
Temps d'incubation (abri de la lumière)	30 min	30 min
Absorbance	750 nm	750 nm
Miel foncé	<b>Abs 1</b>	
Miel clair	<b>Abs 2</b>	

**3. Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux**

La courbe d'étalonnage sert à transformer les absorbances en concentrations. **On prépare une solution mère de concentration donnée avec un standard approprié. Puis, on prépare différentes dilutions de cette solution mère avec des concentrations croissantes de même grandeur.** Les dilutions obtenues sont des solutions filles. Ces dernières sont considérées comme des échantillons et on y applique la même manipulation. Si les absorbances augmentent de la même grandeur ceci témoigne que la courbe d'étalonnage est très bien faite.

0,002 g d'acide gallique dans 10 ml d'eau distillée. Donc, **[Acide gallique] mère = 0,2 mg/ml (SM).**

**[Solution fille] pour chaque dilution (mg/ml) = [Acide gallique] mère \* Dilution**

Préparation des solutions filles :

Dilutions de Solution fille	Préparation de dilution de solution fille
1/5	<b>100 µl</b> de SM + <b>400 µl</b> d'eau distillée
2/5	<b>200 µl</b> de SM + <b>300 µl</b> d'eau distillée
3/5	<b>300 µl</b> de SM + <b>200 µl</b> d'eau distillée
4/5	<b>400 µl</b> de SM + <b>100 µl</b> d'eau distillée
5/5	<b>500 µl</b> de SM

	Solution fille	Solution du blanc
Dilution de la solution fille	100 $\mu$ l	-
Eau distillée	-	100 $\mu$ l
Solution de Folin-Ciocalteu (50 %)	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 2 %)	2 ml	2 ml
Temps d'incubation (abri de la lumière)	30 min	30 min
Absorbance (5 absorbances)	750 nm	750 nm

Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage, réalisée avec l'acide gallique, les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g d'échantillon (mg EAG/100 g).

Dans la plupart des dosages colorométriques, la solution du blanc sert à éliminer l'absorbance des réactifs chimiques utilisés.

Dans le visible, on peut utiliser une cuve en plastique ou en verre sauf pour l'hexane (cuve en verre). Dans l'UV, il faut utilisée une cuve en quartz.

Le balayage spectral a pour but la détermination du maximum d'absorbance d'une substance donnée.

## Questions

- 1. Calculez la concentration de la solution fille?**
- 2. Tracez la courbe d'étalonnage obtenue? Donnez le  $R^2$  et l'équation**
- 3. Donnez la concentration en phénols totaux des miels foncé et clair?**