

## TP 2 de Biochimie métabolique

### 1. 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 (0,5 g/ml)	100 µl	-
Solution de miel clair (0,5 g/ml)		
Eau distillée	-	100 µl
Réactif de Bradford	5 ml	5 ml
Temps d'incubation	2 min	2 min
Absorbance	595 nm	595 nm
Miel foncé	<b>Abs 1</b>	
Miel clair	<b>Abs 2</b>	

Solution de miel à 50 % : 1g de miel + 1 ml d'eau distillée.

**Réactif de Bradford** : bleu de coomassie 250 (50 mg) + Ethanol (25 ml) + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (50 ml) + quantité suffisante pour 500 ml (eau distillée).

### 2. Courbe d'étalonnage des protéines

La BSA (Bovine Serum Albumin) est une protéine standard utilisée dans les courbes d'étalonnage.

10 mg de BSA (Bovine Serum Albumin) dans 10 ml d'eau distillée. Donc, **[BSA] mère = 1 mg/ml (SM)**.

**On réalise une dilution de 1/2 pour SM pour avoir SM<sub>1</sub>. [SM<sub>1</sub>] = 1/2 = 0,5 mg/ml.**

**[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 de SM<sub>1</sub> de + 400 µl d'eau distillée</b>
2/5	<b>200 µl de SM<sub>1</sub> + 300 µl d'eau distillée</b>
3/5	<b>300 µl de SM<sub>1</sub> + 200 µl d'eau distillée</b>
4/5	<b>400 µl de SM<sub>1</sub> + 100 µl d'eau distillée</b>
5/5	<b>500 µl de SM<sub>1</sub></b>

**Les solutions filles sont considérées comme des échantillons. Le même protocole expérimental est utilisé pour le dosage des protéines des différentes dilutions (à ne pas oublier la solution de blanc).**

La teneur du miel en protéines est déterminée en utilisant une courbe d'étalonnage avec la sérum albumine bovine (BSA) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de BSA par 100 g de miel (mg E BSA/100 g).

## Questions

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

Mr OUCHEMOUKH Salim

Mr ZAIDI Hicham