

### **TD3 de Techniques d'Analyse Biologiques**

#### **Exercice 1**

Une entreprise chimique effectue la fabrication d'un produit B et le suivi de fabrication est assuré par analyse chromatographique.

1. L'analyse d'un échantillon prélevé sur la chaîne de production donne les résultats suivants

<b>Composés</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>σ (min)</b>
A	4,2	0,41
B	5,2	0,56
C	6	0,49

Longueur de la colonne 5cm, temps mort : 0,9min

1. Calculer le facteur de rétention pour les composés A et B
  2. Calculer l'efficacité et l'HEPT de la colonne (utiliser les données du composé B)
  3. Calculer la résolution entre A et B
2. Une seconde analyse effectuée dans les mêmes conditions fait apparaître un pic C
1. Les pics B et C sont-ils séparés ?
  2. Quelles modifications pouvez-vous apporter pour améliorer la séparation ?

#### **Exercice 2**

Deux protéines P1 et P2 sont séparées sur une colonne de 20 cm de long

Leurs temps de rétention sont respectivement 10min30s et 8 min 20s

Les largeurs des deux pics 1 et 2 sont de 51s et 76,5s

Sachant qu'une protéine complètement exclue de la phase stationnaire est éluée en 1 min 30s, calculer :

1. Les temps de rétention réduit de P1 et de P2
2. Leurs facteurs de capacité
3. Le facteur de sélectivité  $\alpha$  pour les deux protéines
4. La hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT)
5. La résolution de la colonne, conclure

#### **Exercice 3**

On a réalisé la chromatographie de deux échantillons d'une référence. L'exploitation du chromatogramme a fourni les résultats suivants :

- Front du solvant H= 8,0 cm
- échantillon A : deux taches situées à 3,0 cm et 4,0 cm de la ligne de base
- échantillon B une tache située à 5,0 cm de la ligne de base
- référence le menthol M : R<sub>f</sub> = 0,5

1. faire le schéma du chromatogramme
2. La chromatographie a-t-elle mis en évidence des espèces chimiques pures ?

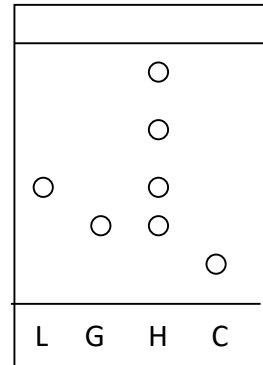
3. Les échantillons A et B renferment-ils du menthol ?

#### Exercice 4

On désire vérifier les constituants d'une huile essentielle (H). On réalise le chromatogramme ci-dessous.

L : linalol    G : géraniol    H : produit synthétisé    C : citral

1. A quoi correspondent les deux lignes horizontales tracées sur le chromatogramme ?
2. Quel est le rôle de l'éluant ?
3. Analyser le chromatogramme de l'huile essentielle ? Que contient-elle ?
4. Calculer le rapport frontal du constituant C.



#### Exercice 5

On détermine les temps de rétention au cours d'une chromatographie sur gel de séphadex des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) ; le débit de la colonne est de 5ml/min.

Protéine	MM (Da)	$t_R$ (min)
Aldolase	145000	10,4
Lactate déshydrogenase	135000	11,4
Phosphatase alcaline	80000	18,4
Ovalbumine	45000	26,2
Lactoglobuline	37100	28,6

1. Portez le log de MM en fonction de  $V_e$
2. Pour la glucokinase,  $t_R=21$  min, déterminer sa masse moléculaire ?

#### Exercice 6

Une nouvelle bactérie produit 2 enzymes d'un potentiel industriel prometteur. Afin de les séparer et de déterminer leurs masses moléculaires, une chromatographie d'exclusion est effectuée à un débit de 0,5 mL/min, un étalonnage de la colonne est réalisé avec les protéines suivantes

Chromatographie d'exclusion [105000-10 <sup>3</sup> ] Da		
Molécules	MM (kDa)	$V_e$ (mL)
$\beta_2$ -macroglobuline	11,8	45,7
Thrombine	37	25,9
$\beta$ -Lactoglobuline	44	23,1
$\alpha_1$ -Antitrypsine	51	20,3
Albumine	66	16
Protéine C- réactive	110	7,2
Enz1	?	8,8
Enz2	?	10

1. Calculer les facteurs de rétention  $K'$  des deux enzymes.
2. Déterminer le facteur de capacité  $\alpha$
3. Déterminer le facteur de résolution R sachant que  $\omega_1=0,5$  min et  $\omega_2=1$  min
4. Déterminer les masses moléculaires des deux enzymes ?