Semestre : SVI-S3 **Module** : Techniques chimiques pour la biologie

Série N°1 : Technique de précipitation

Exercice 1 :

L'une des étapes de purification des protéines est la précipitation fractionnée par addition d'un sel dans la solution protéique. L'addition du sel se traduit par une augmentation du volume de la solution. La grandeur qui tient compte de cette augmentation est le volume spécifique (c'est l'inverse de la densité).

A. Définir la méthode de précipitation fractionnée. Donner un exemple de son application.

B. Calculez la concentration molaire d'une solution saturée de $(NH_4)_2SO_4$ à 0°C.

C. Calculez, à 0°C, la quantité de $NH_4)_2SO_4$ solide à ajouter à 500 mL d'une solution à 40 % de saturation pour l'amener à 60 % de saturation.

Données :

- solubilité de $(NH_4)_2SO_4$ = 706 g / L H_2O à 0°C
- volume spécifique de $(NH_4)_2SO_4$ = volume occupé par 1 g de $(NH_4)_2SO_4$ = 0,565 $mL.g^{-1}$
- masse molaire $(NH_4)_2SO_4$ = 132 $g.mol^{-1}$

Exercice 2 :

Un extrait contenant une enzyme E a été fractionné selon des concentrations croissantes de sulfate d'ammonium en vue de mettre au point une méthode de purification par précipitation.

Fraction	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Volume cm^3	518	527	537	547	558	569	581	593
Quantité de $(NH_4)_2SO_4$ (g)	53	28	28	31	32	32	34	36

1-A l'aide de tableau (voir annexe), retrouver la concentration en sel de chaque étape en fonction de la quantité ajoutée. On part de 500 cm^3de solution.

Exercice 3 :

Déterminer le pHi approximatif d'une solution aqueuse de valine en faisant apparaitre les différentes formes ioniques dans l'écriture des équilibres successifs de déprotonation (pKai=2.28 et pKa2=9.72).

Exercice 4 :

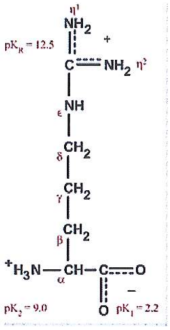
a) Déterminer le pHi approximatif de solutions aqueuses d'acide glutamique et d'histidine en faisant apparaitre les différentes formes ioniques dans Vécriture des équilibres successifs de déprotonation.

b) Que pouvez-vous dire sur le caractère acido-basique de ces acides aminés a pH 7 ?

Exercice 5 :

L'arginine en solution peut se déprotoner suivants des équilibres successifs de constante kj, ka, k3.

a) Connaissant pKi, pK2 et pK3, déterminer le pHi approximatif de l'arginine.



Arginine

	pKa αCOOH	pKa αNH3	pKa R
Glu	2,19	9,67	4,25
His	1,82	9,17	6,0

ANNEXE

Tableau de saturation d'une solution en sulfate d'ammonium a 0 C

[S. A.] initiale	Masse en gramme de Sulfate d'ammonium (SA) pour 1 Litre de solution																
	20	**25**	**30**	**35**	**40**	**45**	**50**	**55**	**60**	**65**	**70**	**75**	**80**	**85**	**90**	**95**	**100**
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697
5	79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662
10	53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627
15	26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592
20	0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557
25		0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522
30			0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488
35				0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453
40					0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418
45						0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383
50							0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348
55								0	30	61	93	127	161	197	235	273	313
60									0	31	62	95	129	164	201	239	279
65										0	31	63	97	132	168	205	244
70											0	31	65	99	134	171	209
75												0	32	66	101	137	174
80													0	33	67	103	139
85														0	34	68	105
90															0	34	70
95																0	35
100																	0