



Epreuve: Phytochimie et valorisation des biomolécules

Exercice 1 (6 points)

Pour quantifier l'acide gallique dans l'extrait méthanolique de la plante *Ranunculus macrophyllus*, nous avons dissout 5 mg de l'extrait dans 25 ml de méthanol. Cette solution a été diluée 10 fois et 10  $\mu$ L de la solution diluée ont été injectés dans un appareil de chromatographie (HPLC-DAD). Le pic de l'acide gallique obtenu à 292 nm avait une surface de 250. En parallèle nous avons établi une gamme d'étalonnage (Figure 1) en utilisant différentes concentrations de l'acide gallique pure.

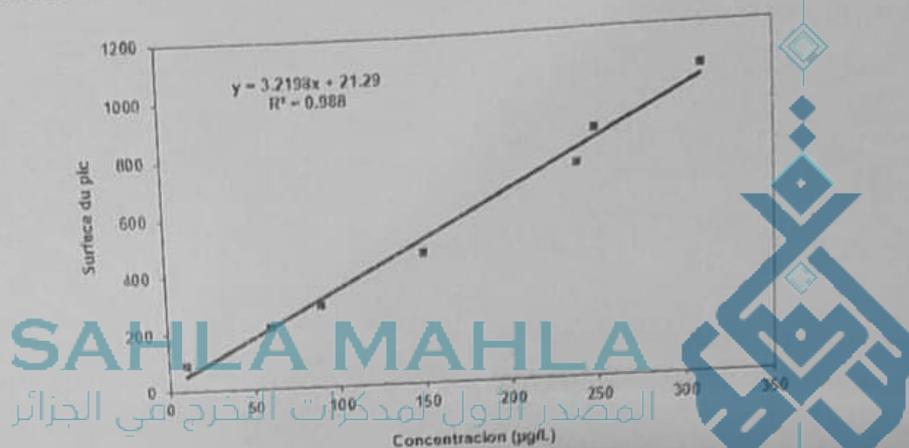


Figure 1 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

1. Calculez la quantité de l'acide gallique en  $\mu$ g/L dans le volume injecté
2. Calculez la quantité de l'acide gallique en mg/g d'extrait
3. A quelle classe d'acide phénolique appartient ce composé ?
4. Comment appelle-t-on les polymères formés par la condensation de ce composé ?
5. Par quelle voie métabolique ce composé est synthétisé ?

Exercice 2 (6 points)

L'extrait acétonique d'une plante médicinale donne un extrait, qui après séchage cause une sensation d'assèchement dans la bouche lorsque on le goûte.

- 1- Comment appelle-t-on ce phénomène ?
- 2- Quels métabolites causent ce phénomène et comment ?
- 3- Donnez les sous-classes majeures de ces composés.
- 4- Donnez les produits de dégradation acides de ces composés.
- 5- Quelle est la méthode d'analyse la plus appropriée pour cet extrait, en donnant son principe ?



Epreuve: Phytochimie et valorisation des biomolécules

Exercice 3 (8 points)

L'eucalyptus est un arbre dont les feuilles contiennent une huile essentielle odorante dont le composé majoritaire est l'eucalyptol. Pour l'extraction on broie quelques feuilles d'eucalyptus, que l'on place dans un erlenmeyer contenant 200 mL d'eau froide, puis on fait bouillir le tout pendant 30 min. On filtre pour éliminer les feuilles, puis on obtient un mélange d'eau et d'huile essentielle d'eucalyptus.

Tableau 1 : Caractéristiques des solvants d'extraction

Solvants	Miscibilité à l'eau	Solubilité de l'eucalyptol	Densité	Dangerosité
Toluène	Non Miscible	Peu soluble	0.87	Inflammable, nocif, irritant, polluant
Cyclohexane	Non Miscible	Très soluble	0.78	Inflammable, polluant
Ethanol	Miscible	Très soluble	0.81	Inflammable, polluant
Dichlorométhane	Non Miscible	Très soluble	1.33	Très toxique, Inflammable, polluant

1. Donnez le nom de la méthode d'extraction utilisée
2. En utilisant le même mélange initial (eau + feuilles), citer une autre méthode que l'on aurait pu utiliser.
3. L'objectif est d'extraire l'eucalyptol de la solution filtrée, à l'aide d'un solvant. Pour cela une quantité de sel (NaCl) est ajoutée à la solution.
  - Quel est l'intérêt d'ajouter du NaCl à la solution ?
4. Pour extraire l'eucalyptol on dispose de 4 solvants dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau 1.
  - Quel solvant d'extraction doit-on choisir ? (Justifiez l'élimination ou la sélection de chaque solvant)
5. On introduit, dans une ampoule à décanter, 5 mL du solvant sélectionné et le filtrat précédent (eau+eucalyptol+NaCl), on agite puis on laisse décanter.
  - Comment- appelle-t-on cette méthode d'extraction ?
  - Faites un schéma légendé de l'ampoule à décanter et de son contenu après décanter, en indiquant et en justifiant l'ordre et le contenu de ces phases, à côté du schéma légendé.
6. L'huile essentiel de l'eucalyptus a une densité de 0.8. Pour réaliser une expérience, le doctorant a besoin de 0.5 g de cette huile. Malheureusement, le doctorant dispose uniquement d'une micropipette de 1 mL.
  - Quel volume va-t-il mesurer pour atteindre la masse demander ?

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider-Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la  
Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière: Biotechnologie  
Spécialité: Biotechnologie et Santé  
§ Biotechnologie et valorisation des plantes



Concours d'accès à la formation  
de troisième cycle (Doctorat  
LMD)  
Date: 22/01/2023  
Durée: 01h30  
Coefficient: 1

**Epreuve: Techniques d'Analyses Biologiques**

**Exercice 1: (6 points)**

- Combien de grammes de NaOH sont nécessaires pour préparer 500 mL d'une solution (noté S0) de concentration 40 mM? Exprimez cette concentration en % (m/v).
- Quel volume de cette solution est nécessaire pour préparer 100 mL d'une solution 0,008 M?
- Quel est le volume maximal d'une solution 0,005 M, que l'on peut obtenir après dilution de toute la solution S0?
- Quel est dans ce cas le volume d'eau nécessaire pour la dilution?

Masse molaire O=16 g/mol, H=1 g/mol et Na=23 g/mol

**Exercice 2: (7 points)**

On souhaite doser les protéines solubles dans le lactosérum, pour cela on prélève un volume de 200  $\mu$ L de la solution de protéines à doser puis on ajoute 800  $\mu$ L d'eau physiologique. On dispose d'une solution standard de BSA à (2 mg/mL). On ajoute 4,9 mL du réactif de Bradford dans les 2 séries de tubes (échantillon et la gamme d'étalon), puis on agite et on laisse le mélange réactionnel reposer pendant 5 min. Les résultats des mesures d'absorbance à 595 nm sont indiqués dans le tableau ci-dessous:

Tube gamme étalon	0	1	2	3	4	5
volume de BSA ( $\mu$ L)	0 $\mu$ L	20 $\mu$ L	40 $\mu$ L	60 $\mu$ L	80 $\mu$ L	100 $\mu$ L
Eau physiologique ( $\mu$ L)	100 $\mu$ L	80 $\mu$ L	60 $\mu$ L	40 $\mu$ L	20 $\mu$ L	0 $\mu$ L
Volume total	100 $\mu$ L					
Réactif de Bradford	4,9 mL	4,9 mL	4,9 mL	4,9 mL	4,9 mL	4,9 mL
Homogénéiser (vortex) les tubes, et laisser le mélange réactionnel reposer 5 min à la température ambiante. Lire les absorbances à 595 nm						
Absorbance à 595 nm ( $A_{595}$ )	0	0.180	0.320	0.545	0.720	0.905
$\mu$ g de BSA						

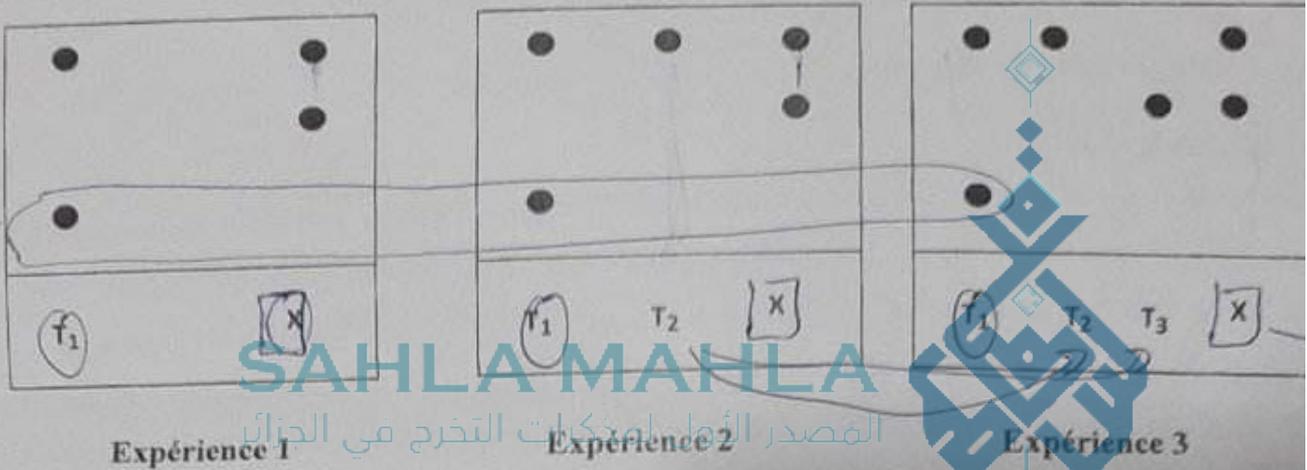
- Compléter le tableau
- Pourquoi l'absorbance a été mesurée par le spectrophotomètre à 595 nm?
- Tracer la droite:  $A_{595} = f(\text{quantité de BSA})$ .
- Déterminez la concentration en protéines dans le lactosérum de départ sachant que l'absorbance de l'échantillon à doser est égale 0,482.



Epreuve : Techniques d'Analyses Biologiques

**Exercice 3 : (7 points)**

Un technicien d'analyse au laboratoire, tente d'analyser une matière première par CCM, en préparant en premier lieu une solution témoin (noté T1) et en second lieu, une solution essai (noté X). Ayant été insatisfait des résultats de la première CCM, il tente deux autres expériences en utilisant deux autres témoins (T<sub>2</sub> et T<sub>3</sub>). Voici, les résultats :



1. Expliquer les résultats de ces 3 expériences de CCM en mentionnant à chaque fois la signification de chaque tâche.
2. Pourquoi le technicien était-il obligé d'utiliser les deux autres témoins T<sub>2</sub> et T<sub>3</sub> ?
3. Que peut-on conclure, concernant la qualité de cette matière première ?
4. Quelle décision faut-il prendre pour le Témoin T<sub>1</sub> ? Pourquoi ?