

DOSAGE DES PROTEINES PAR LA METHODE DU BIURET

2. Matériel et réactifs :

- Spectrophotomètre à 540 nm
- Eau physiologique : solution contenant 9g de NaCl dans 1L d'eau distillée
- Solution standard d'ovalbumine à 10 mg/mL dans de l'eau physiologique
- Solution inconnue d'ovalbumine (nous utiliserons un blanc d'œuf)
- Réactif de biuret : - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 1,5g
- NaOH : 300 mL à 10%
- KI : 1g
- Tartrate double de Na et K : 6g
- H_2O Q.s.p 1L (Q.s.p = Quantité suffisante pour)
- tubes à essai de 15 ml
- Pipettes (1ml, 2ml, 5ml)
- Portoirs pour 10 tubes à essai

3.1. Préparation de la solution inconnue d'ovalbumine

- Peser un blanc d'œuf. Noter sa masse
- Mettre le blanc d'œuf en solution dans 1L d'eau physiologique

3.2. Préparation d'une gamme étalon d'ovalbumine

- A partir de la solution étalon d'ovalbumine à 10 mg/mL, réaliser une gamme de 6 tubes (tubes 1-6) contenant de 2 à 10 mg d'ovalbumine par tube.
- Préparer en même temps les tubes expérimentaux qui contiendront une prise d'essai de solution inconnue d'ovalbumine (tubes 7-8).

tube N°	1	2	3	4	5	6	7	8
Solution standard d'ovalbumine à 10mg/mL (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1		
Solution inconnue d'ovalbumine (ml)							0,4	0,8
Eau physiologique (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0	0,6	0,2
Réactif du Biuret (ml)	4 ml dans chaque tube à essai							
Attendre 10 min à l'obscurité à température ambiante								
Lire les D.O à 540nm								

4. Résultats expérimentaux:

- 4.1. Etablir un tableau complet de colorimétrie: N° de tube, composition des tubes, Absorbance, quantités et concentration en ovalbumine par tube.
- 4.2. Tracer, sur papier millimétré, la courbe d'étalonnage : $A = f(\text{quantité de protéines/tube})$
- 4.3. En déduire la concentration en protéines (en g/L) dans la solution de blanc d'œuf puis en déduire la teneur en protéines pour 100 g de blanc d'œuf.