

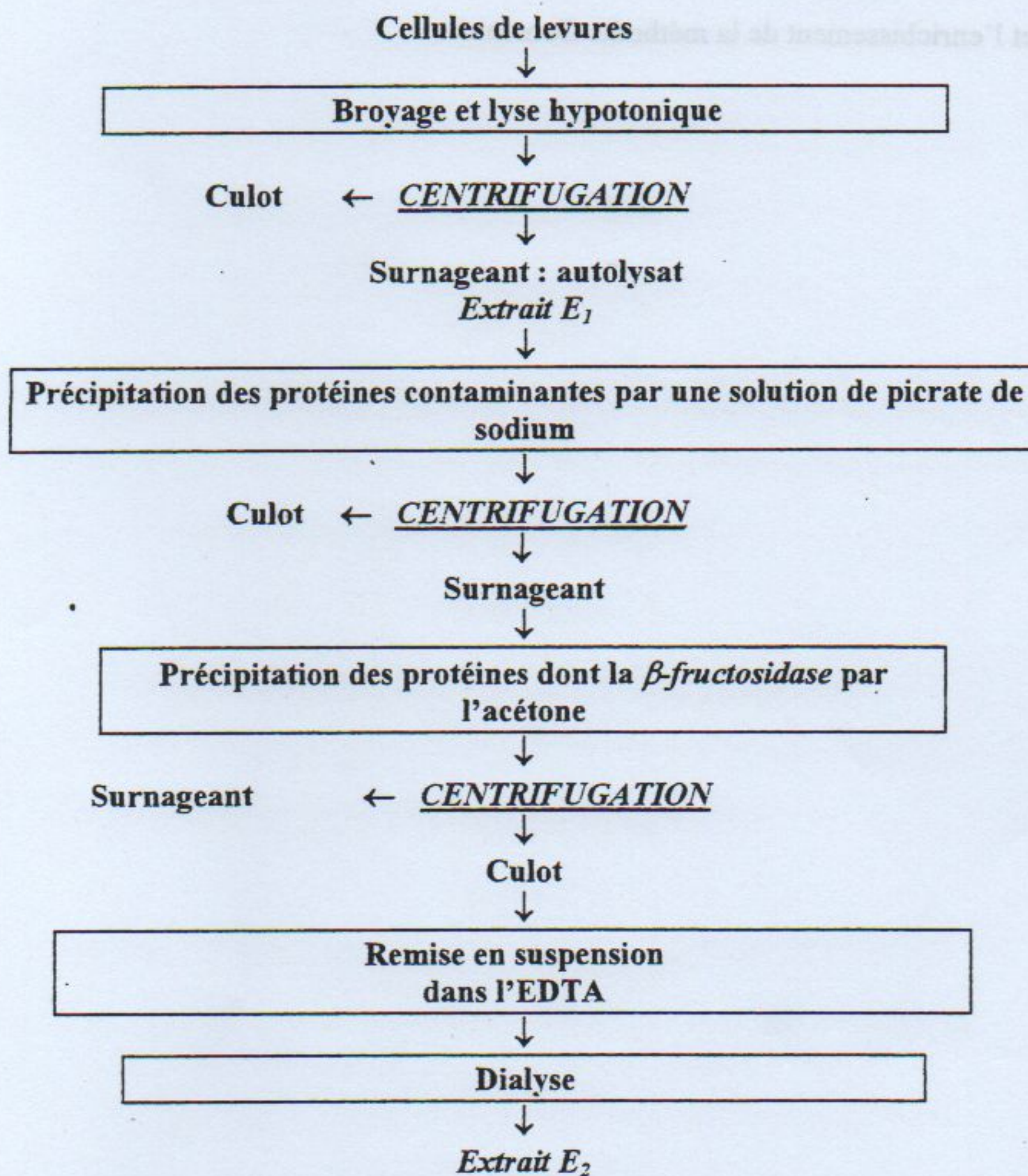
# EXERCICES DE REVISION :Extraction-purification- enrichissement et rendement.

## Exercice 1 Etude de la $\beta$ -fructosidase de levure de boulangerie. Evaluation de la performance de la méthode d'extraction et de purification

L'enzyme est extraite de la levure et purifiée selon le protocole présenté dans le *document 1*.

### Document 1

### Diagramme d'extraction et de purification partielle de la $\beta$ -fructosidase de levure



On réalise sur chaque extrait ( $E_1$  et  $E_2$ ) un dosage de protéines. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Extrait	Volume de l'extrait (mL)	Concentration massique en protéines ( $\text{g.L}^{-1}$ )	Quantité de protéines totales (mg)	Concentration d'activité catalytique ( $\text{UI.mL}^{-1}$ )	Activité spécifique ( $\text{UI.mg}^{-1}$ )	Activité totale (UI)
$E_1$	30,0	1,19				
$E_2$	9,50	0,890				

- Calculer la quantité de protéines totales de chaque extrait enzymatique.
- Déterminer la concentration d'activité catalytique sachant que :
  - l'équation de la droite d'étalonnage du spectrophotomètre pour le dosage du sucre inverti est :  $A = 0,160 \cdot q$  ( $A$  est l'absorbance et  $q$  la quantité de sucre inverti en  $\mu\text{mol}$  par tube) ;



- pour chaque dosage le protocole suivant est utilisé :

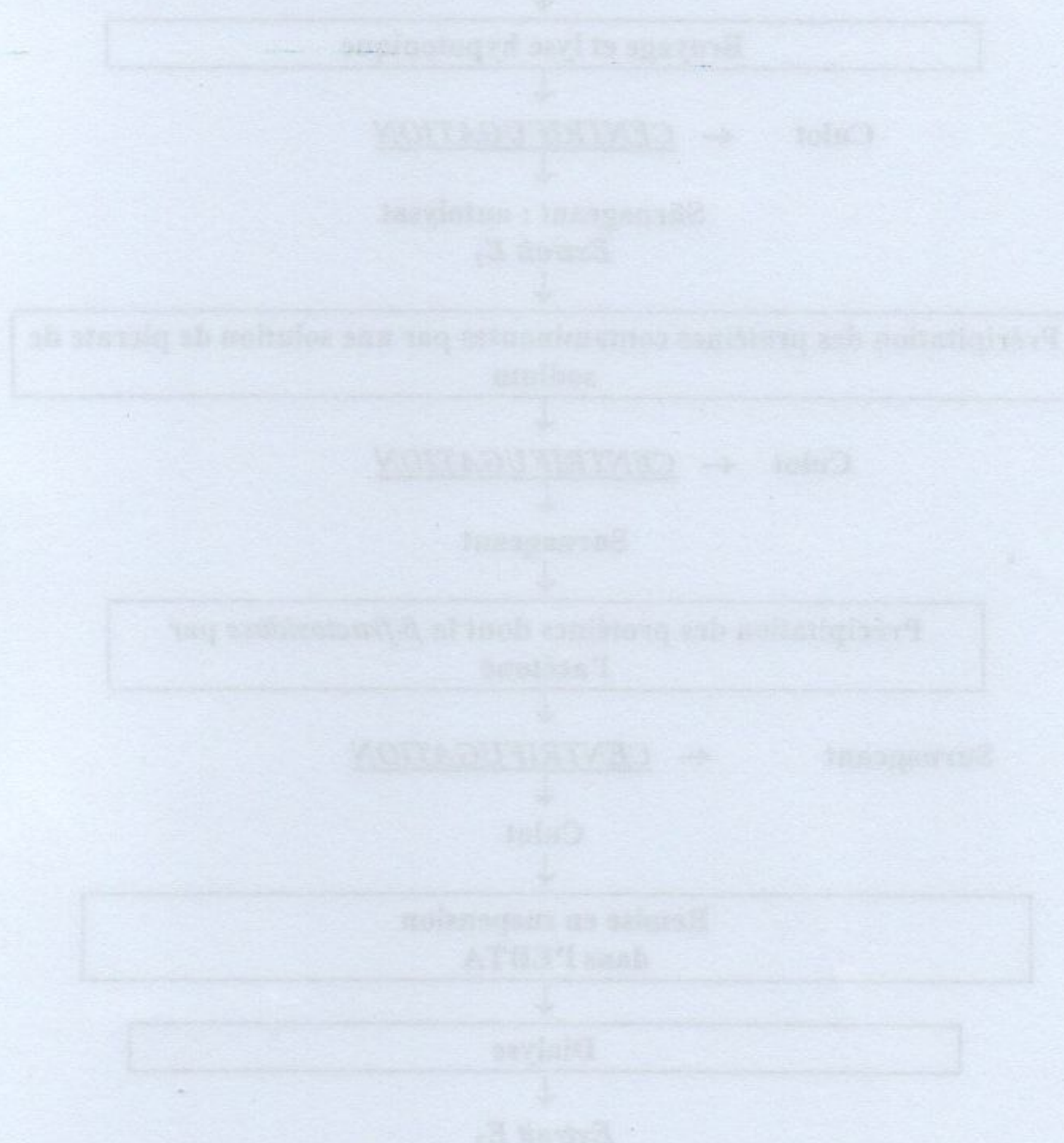
- introduire dans un tube à essai 1 mL d'extrait dilué (E<sub>1</sub> au 1 / 50 et E<sub>2</sub> au 1 / 100) et 1 mL de tampon acétate :
- placer 5 minutes au bain-marie à + 25°C ;
- ajouter 1 mL de saccharose à 0,36 mol.L<sup>-1</sup> et laisser la réaction se dérouler 5 minutes exactement ;
- ajouter 2 mL de réactif au 3,5 DNS ;
- boucher les tubes avec du coton cardé et les porter 5 minutes exactement au bain-marie bouillant à + 100°C ;
- après refroidissement, ajouter 15 mL d'eau distillée et lire les absorbances à 530 nm contre le témoin réactif.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Extrait	Absorbance à $\lambda = 530 \text{ nm.}$
E <sub>1</sub>	0,624
E <sub>2</sub>	0,768

3. Déterminer l'activité spécifique en UI.mg<sup>-1</sup> et l'activité totale en UI de chaque extrait.

4. Calculer le rendement et l'enrichissement de la méthode. Conclure.



Extrait	Volume de l'extrait (ml)	Concentration en protéines (g.L <sup>-1</sup> )	Quantité de protéines totales (mg)	Concentration d'activité catalytique (UI.mL <sup>-1</sup> )	Activité spécifique (UI.mg <sup>-1</sup> )	Activité totale (UI)
E <sub>1</sub>	30,0	1,19				
E <sub>2</sub>	9,30	0,830				

1. Calculer la quantité de protéines totales de chaque extrait enzymatique.

2. Déterminer la concentration d'activité catalytique sachant que :

- l'équation de la droite d'étalonnage du spectrophotomètre pour le dosage du sucre inverti est :  $A = 0,150 \cdot p \cdot (A \text{ est l'absorbance et } p \text{ la quantité de sucre inverti en } \mu\text{mol par litre})$