

Procédure de dosage des protéines par colorimétrie

Les protéines réagissent avec le réactif de Gornall en donnant une coloration avec un maximum d'absorbance à 530nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des protéines.

1. Matériel et produits

Solution d'albumine à 5g/L (pour la courbe étalon)

Réactif de Gornall

Eau distillée

Tubes à essai

Spectrophotomètre et cuves

2. Protocole de dosage

Tracé de la droite étalon :

Préparer les dilutions suivantes dans des tubes à essai numérotés :

| | | | | | | |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Tube N° | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Solution d'albumine en ml | 0 | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1 |
| Eau en ml | 1 | 0,8 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 0 |
| Réactif de Gornall en ml | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| <i>Ainsi, dans chaque tube, on a :</i> | | | | | | |
| <i>Masse de protéines en mg dans le tube</i> | <i>0</i> | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> |

Laisser les tubes 30 minutes à l'obscurité, puis lire l'absorbance à 530 nm en faisant le 0 du spectrophotomètre sur le tube 0

Tracer la courbe étalon : Absorbance = f(masse en mg)

Mesure sur les échantillons

Faire deux essais par échantillon

Pour chaque échantillon, introduire dans un tube :

- 0,5 ml d'échantillon
- 0,5 ml d'eau
- 4 ml de réactif de Gornall

Laisser les tubes 30 minutes à l'obscurité, puis lire l'absorbance à 530 nm (refaire le 0 avec le tube 0 de la courbe étalon si nécessaire)

3. Résultats

| Tube N° | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---------|---|---|---|---|---|---|
| A 530 | | | | | | |

| Echantillon | N°1 : | N°1 : | N°2 : | N°2 : | N°3 : | N°3 : |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Nom de l'échantillon</i> | | | | | | |
| A 530 | | | | | | |
| Masse déduite graphiquement = M | | | | | | |
| Masse de protéines dans 1ml d'échantillon = 2X M | | | | | | |
| Concentration des protéines en g/L | | | | | | |

Rendre le graphique sur papier millimétré