**Université Ibn Khaldoun. Tiaret Mai 2023/2024**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département d’Ecologie, environnement et Biotechnologies.**

**3e année Licence Biotechnologie végétale et Amélioration des plantes**

**Semestre 6**

**Durée d’examen (1 h : 30)**

**Corrigé type de l’Examen d’Analyse instrumentale**

**Compléter les lacunes suivantes par les bonnes réponses :**

1. La filtration est une méthode de séparation des particules en suspension dans un fluide par différence **de pression** et **de taille** à travers une **membrane** (filtres avec un seuil de séparation). Elle peut s’effectuer sous, pression atmosphérique, sous pression réduite, à chaud ou à froid**. (0.5 x 3)**
2. Le colmatage :(boucher ou fermer partiellement un orifice) est provoqué par des particules qui se déposent à **la surface** du filtre notamment par leur pénétration dans les interstices [petits espaces vides entre les parties du filtre] de la matière filtrante. Ce colmatage modifie totalement **la porosité** et **ralentie la filtration(0.5 x 3)**
3. L’adsorption : (fixation) :certains produits peuvent être **retenu**s par le filtre bien que leurs dimensions permettent leur passage à travers les pores du filtre (molécules chargées électriquement ou solides). **(0.25 )**
4. Procédés de la filtration au laboratoire :On distingue différents procédés de filtration :

1) **Filtration par gravité (0.5)**

2) **Filtration sous vide (0.5)**

3) **Filtration sous pression (0.5)**

1. La centrifugation est une technique permettant de séparer les composés d’un mélange en fonction de **leur densité** sous l’effet d’**une force centrifuge.** Le mélange à séparer peut etre composer soit de deux phases liquides, soit de particules solides en suspension dans un fluide. C’est une technique de séparation qui permet de récupérer **un culot (précipité)** et **un surnageant. (0.5 x 4)**
2. Il existe deux principaux types de centrifugation : **(4 pts)**

**a**. **Centrifugation différentielle :** Elle est basée sur des **différences de vitesse de sédimentation** des particules de tailles et de densités variables. Les particules qui présentent la densité la plus élevée se sédimentent plus rapidement. **(0.5 x 2)**

**b. Centrifugation en gradient de densité :** Ce type de centrifugation est utilisé pour accentuer les méthodes de séparation. En effet, un des facteurs qui influence la vitesse de sédimentation est la différence entre **la densité** de la particule et celle du solvant. **(0.5 x 2)**

Il existe deux types de gradients :

**1. Les gradients continus (0.5)**

**2. Les gradients discontinu (0.5)**

Les gradients les plus utilisés ou ajoutés sont :

**A) Le saccharose (sucrose) (0.5)**

**B) Le chlorure de césium (CsCl) (0.5)**

1. La dialyse est **une technique de séparation** par le phénomène **de diffusion**. Elle est utilisée pour séparer et éliminer des petites molécules (contaminant) et des ions d’une solution macromoléculaire par une membrane **diyalisante semi-perméable**. **(0.5 x 3)**
2. L'électrophorèse est une méthode de séparation **de particules chargées électriquement** par migration différentielle sous l'action **d’un champ électrique**. Pour les charges électriques identiques la séparation est en fonction de leur taille. **(0.25 x 2)**
3. Citez les différents types de techniques électrophorétiques : **(1.75 pts : 0.25 x 7)**

**Électrophorèse de zones ou sur support**

**Électrophorèse capillaire**

**IsoElectrofocalisation**

**Électrophorèse sur gel d'agarose**

**Électrophorèse sur gel polyacrylamide dénaturante SDS-PAGE**

**Électrophorèse bidimensionnelle**

**Immunoélectrophorèse**

1. La chromatographie est une méthode **de séparation** des constituants des mélanges variés (les solutés), l'identification et le dosage des MO par entraînement au moyen d’une phase **mobile** (liquide ou gaz) le long d’une phase **stationnaire** (solide ou liquide fixé), grâce à la répartition sélective des solutés entre ces deux phases. **(0.25 x 3)**
2. Les méthodes chromatographiques peuvent être classées selon 3 modalités qui sont **: (1 x 3)**

**a. Classification selon la nature des phases : (1 pts)**

• chromatographie liquide-solide (LSC)

• chromatographie liquide-liquide (LLC)

• chromatographie gaz-solide (GSC ou GC)

• chromatographie gaz-liquide (GLC ou GC)

**b. Classification selon le phénomène chromatographique : (1 pts)**

Ce dernier dépend de la nature (et de la structure) de la phase stationnaire utilisée :

* **la chromatographie d'adsorption** (LSC, GSC) (lorsque la phase stationnaire est un solide); par extension on pourrait y rattacher la **chromatographie d'affinité.**
* **la chromatographie de partage** (LLC, GLC)
* **la chromatographie d'échange d'ions** (IEC),
* **la chromatographie d'exclusion** (SEC) on parle aussi de chromatographie de perméation de gel (GPC).
* Selon le **type de chromatographie**, elle peut servir à identifier (CCM, HPLC, CPG), séparer ou purifier les composés d’une réaction (chromatographie sur colonne, HPLC). Cette technique peut également, grâce à un témoin, permettre de quantifier un produit (CPG, HPLC).

**c. Classifications selon les procédés utilisés : (1 pts)**

- Selon le conditionnement de la phase stationnaire, on distinguera :

• **la chromatographie sur colonne : (adsorption, de partage, d’exclusion, échangeuse d’ions, d’affinité)**

• **la chromatographie de surface** : Chr. sur **papier et** la chromatographie sur **couche mince**.

- Selon les modalités de migration de la phase mobile, on distingue :

 \*La **chromatographie** par **développement** (les constituants de l'échantillon restent sur la phase stationnaire)

\*La **chromatographie d'élution** (les substances sont entraînées hors de la phase stationnaire).

1. **Spectrométrie et spectrophotométrie** sont des techniques d’analyse utilisées à déterminer le taux d’absorbance d’une substance chimique, c’est-à-dire sa capacité d’absorption de la lumière. L’appareil spécial utilisé est **le spectromètre** qui est capable d’évaluer le **spectre d’absorbance**d’une solution. Son principe est demesurer l'intensité de **la lumière** qu’il reçoit lors celle-ci passée à travers un récipient transparent contenant la solution à étudier. La loi de Beer-Lambert précise que l’absorbance (A) dépend de façon proportionnelle à **la concentration** d’une solution. **(0.25 x 5)**
2. Définir les termes suivants : **0.5 pts : (0.25 x 2)**
3. **Conductimétrie :** c’est une technique d’électroanalyse qui mesure les propriétés conductrices d’une solution ionique aussi appelée électrolyte qui est conducteur de l’électricité. Le caractère conducteur de la solution (conductivité) est assuré par la présence d’ions chargés électriquement. L’appareil de mesure se nomme conductimètre.
4. **Microscope électronique** : c’est un appareil d’observation a grande résolution. Le ME utilise des lentilles électrostatiques et magnétiques pour produire l’image. Son rôle est de révéler l’ultrastructure des cellules eucaryotes et observation plus poussée des procaryotes. Il existe plusieurs types comme MEB et MET.