

**EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION****Exercice N° 2 (40 points)****Enoncé**

Les deux questions sont indépendantes.

On veut doser la vitamine E dans les hématies de patients, récupérées après centrifugation d'un sang total.

**Questions****QUESTION N° 1 :**

Pour un patient A, on procède de la façon suivante :

A 0,5 mL de culot de globules rouges ( $GR_1$ ), on ajoute 200  $\mu$ L de solution d'hydroxyde de potassium ; on chauffe à 70°C.

On ajoute 2,5 mL d'eau distillée et 5 mL d'heptane. On agite jusqu'à obtention de l'équilibre. La phase heptanique est récupérée puis évaporée à sec. Le résidu est dissous dans 50  $\mu$ L de méthanol.

On injecte 10  $\mu$ L de cette solution méthanolique dans une colonne de chromatographie.

La surface du pic de vitamine E obtenu est de 1500 unités.

Le rendement d'extraction est de 91,5 %.

Les surfaces des pics obtenues après injection directe de 10  $\mu$ L de deux solutions étalons de vitamine E de concentrations respectives 0,05 et 0,10  $mg \cdot mL^{-1}$  sont 1000 et 2000 unités.

Quelle est la concentration (en  $mg \cdot L^{-1}$ ) en vitamine E dans les hématies de ce patient ?

**QUESTION N° 2 :**

Pour un patient B, un autre protocole de dosage de la vitamine E érythrocytaire en deux temps est proposé sur un nouveau culot de globules rouges ( $GR_2$ ) :

a) Dans un premier temps, à 5 mL d'un culot de  $GR_2$  on ajoute 200  $\mu$ L d'hydroxyde de potassium ; on chauffe à 70°C.

On ajoute 2,5 mL d'eau distillée. On extrait à l'aide de 5 mL d'heptane contenant un étalon interne. La phase heptanique récupérée est évaporée à sec. Le résidu est dissous dans 50  $\mu$ L de méthanol.

On injecte 20  $\mu$ L de cette solution méthanolique. On obtient la valeur de 0,36 pour le rapport de la surface du pic de vitamine E sur la surface du pic de l'étalon interne.

b) Dans un deuxième temps, deux autres échantillons de culot de  $GR_2$  sont préparés de la manière suivante :

- Dans un premier tube, on ajoute à 5 mL de culot de  $GR_2$ , 200  $\mu$ L d'hydroxyde de potassium ; on chauffe à 70°C. On ajoute 2,5 mL d'eau distillée et 100  $\mu$ L de solution de Vitamine E à 0,25  $g \cdot L^{-1}$ .

- Dans un second tube, on ajoute à 5 mL de culot de  $GR_2$ , 200  $\mu$ L d'hydroxyde de potassium ; on chauffe à 70°C. On ajoute 2,5 mL d'eau distillée et 200  $\mu$ L de solution de Vitamine E à 0,25  $g \cdot L^{-1}$ .

30

**EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION****Exercice N° 2 (40 points)**

Ces deux échantillons sont extraits à l'aide de 5 mL d'heptane contenant le même étalon interne. La phase heptanique récupérée est évaporée à sec. Le résidu est dissous dans 50  $\mu\text{L}$  de méthanol.

On injecte 20  $\mu\text{L}$  de chacune des solutions méthanoliques obtenues. Les rapports de la surface du pic de vitamine E sur la surface du pic de l'étalon interne sont respectivement 0,56 et 0,76.

Quelle est la concentration ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) en vitamine E dans les hématies de ce patient ?