

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° (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 μ 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 μ L de méthanol.

On injecte 10 μ 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 μ 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 ?

Proposition de réponse

Une surface de 2000 unités correspond à une quantité injectée de 1 μ g ; une surface de 1000 unités à 0,5 μ g.

On considère la relation linéaire, donc 1500 unités correspond à 0,75 μ g injectés.

Le résidu méthanolique contient : $5 \times 0,75 = 3,75$ μ g de vitamine E.

Le rendement d'extraction étant de 91,5 %, la quantité de vitamine E contenue dans les 0,5 mL de globules rouges est de $3,75/0,915 = 4,1$ μ g.

La concentration dans les globules rouges est 8,2 μ g mL^{-1} , soit 8,2 $mg \cdot L^{-1}$.

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 μ 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 μ L de méthanol.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° (40 points)

On injecte 20 μL 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 μL d'hydroxyde de potassium ; on chauffe à 70°C . On ajoute 2,5 mL d'eau distillée et 100 μL de solution de Vitamine E à $0,25 \text{ g.L}^{-1}$.

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

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 μL de méthanol.

On injecte 20 μL 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 (mg.L^{-1}) en vitamine E dans les hématies de ce patient ?

Proposition de réponse

a) $\frac{S_{\text{vitE}}}{S_{\text{EI}}} = 0,36$ obtenu à partir de 5 mL de GR

b) Les surcharges sont de 25 et 50 μg respectivement

$\frac{S_{\text{vitE}}}{S_{\text{EI}}} = 0,56$ obtenu à partir de 5 mL de GR + surcharge de 25 μg

$\frac{S_{\text{vitE}}}{S_{\text{EI}}} = 0,76$ obtenu à partir de 5 mL de GR + surcharge de 50 μg

La différence de signal de 0,20 correspond à 25 μg

La réponse est linéaire au moins jusqu'à 0,76 donc 0,36 correspond à une quantité de vitamine E :

$$\frac{25 \times 0,36}{0,20} = 45 \mu\text{g}$$

apportés par 5 mL de globules rouges,

soit une concentration en vitamine E du culot d'hématies de $9,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, soit $9,0 \text{ mg.L}^{-1}$.