

CONCOURS ITRF

**BAP A – EXTERNE**

**TECHNICIEN  
BIOLOGISTE**

Epreuves professionnelles

**24 mai 2011**

# Sujet 1

## Dosage des oses réducteurs par la méthode de NELSON

### I. But

Déterminer à l'aide d'une gamme d'étalonnage, la concentration en glucose d'une solution inconnue en utilisant la méthode colorimétrique de Nelson.

### II. Principe

Les sucres réducteurs réduisent, à chaud, certains sels métalliques en solution alcaline. C'est le cas des solutions cuivriques qui permettent la caractérisation (par la liqueur de Fehling) ou le dosage (par la méthode de Nelson) des sucres réducteurs. L'oxyde cuivreux formé, sous l'action à froid d'une solution arsénio-molybdique, forme un complexe coloré. Dans des conditions opératoires convenables (concentrations en sucre non saturantes, température contrôlée, ...) l'absorbance du complexe formé sera proportionnelle à la quantité de sucre réducteur présente dans la prise.

### III. Protocole

#### 1/ Préparation des dilutions dans des tubes à hémolyse (tubes en plastique)

##### 1.1 Préparation d'une gamme de dilution de la solution étalon

A partir d'une solution de glucose 250 mg/L, préparer la gamme de dilution suivante, qsp 1mL:

tubes	Et1	Et 2	Et3	Et4	Et5	Et6	Et7
vol de la solution étalon (mL)							
vol d'eau distillée (qsp 1 mL)							
concentration en glucose (mg/L)	25	50	75	100	150	200	250

Tableau 1

##### 1.2 Préparation des dilutions de la solution inconnue

A partir de la solution de glucose inconnue SI, préparer 3 dilutions :

Solution A : 1/4

Solution B : 1/8

Solution C : 1/16

#### 2/ Dosage colorimétrique

##### 2.1. Préparation des essais

- Prendre 11 tubes à essai.
- Placer dans le premier tube, 200 $\mu$ L d'eau (il s'agira du blanc).
- Placer dans les autres, 200 $\mu$ L des dilutions préalablement préparées
- Ajouter dans les 11 tubes, 200 $\mu$ L de solution cuivrique.
- Ajouter dans les 11 tubes, 200 $\mu$ L de réactif arsénio-molybdique.
- Ajouter dans les 11 tubes, 1,4mL d'eau distillée.
- Lire l'absorbance (ou DO pour densité optique) à 530nm contre le tube zéro.

#### IV. Résultats

Tube	blanc	Et1	Et2	Et3	Et4	Et5	Et6	Et7	A	B	C
Concentration (mg/L)	0	25	50	75	100	150	200	250			
DO	0	0.07	0.19	0.21	0.28	0.42	0.45	0.47	0.5	0.36	0.19

Tableau 2

#### V. Questions

1. compléter le Tableau 1 du §1.1 du protocole
2. A l'aide du Tableau 2, tracer la droite étalon sur une feuille de papier millimétré en reportant les valeurs de DO en fonction de la concentration finale en glucose (en mg/L).
3. Calculer le coefficient directeur de la droite.
4. Déterminer graphiquement les concentrations en glucose dans les tubes A, B et C
5. Déterminez par le calcul la concentration de glucose dans la solution inconnue SI
6. Pourquoi avoir fait plusieurs tubes pour doser la solution inconnue ?
7. Quel est la limite inférieure de quantification du dosage (sensibilité) ?
8. Comment améliorer la fidélité de la méthode ?

## Sujet 2 Dosage

Vous devez réaliser un dosage de 2 échantillons s1 et s2 grâce à un lecteur microplaques (absorbances à 612 nm) et une courbe étalon réalisée en PBS + colorant bleu avec des solutions de protéines (0-50µL) sachant que la solution mère est à 1mg/L en PBS. La courbe est réalisée en triplicates (puits B1 à 12 et C1 à 6). Toutes les données de la mesure en microplaque sont enregistrées automatiquement sur un fichier informatique appelé « IRTF 26.04.11 mesure TP » et transféré sur un CD enregistrable.

s1 et s2 sont déposés en triplicate dans les puits E1 à E3 (s1) et E4 à E6 (s2).

Voici un extrait du plan de la plaque :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A PBS	50µL	50µL	50µL									
bleu	50µL	50µL	50µL									
sample	-	-	-									
B PBS												
bleu												
sample	0µL	5µL	10µL	20µL	30µL	50µL	0µL	5µL	10µL	20µL	30µL	50µL
C PBS												
bleu												
sample	0µL	5µL	10µL	20µL	30µL	50µL						
D												
E PBS												
bleu												
sample	40	40	40	40	40	40						

Remplissez les cellules jaunes

Voici le résultat de lecture de microplaque :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.0	0.0	0.0									
B	0.1	1.2	2.1	3.9	6.3	10.2	0.0	0.9	3.8	4.0	6.1	10.4
C	0.2	1.0	1.9	4.0	5.8	9.8						
D												
E	7.8	7.8	8.4	4.4	4.7	4.4						

Quel(s) commentaire(s) faites-vous sur la courbe étalon. Que déduisez-vous pour s1 et s2 ?

On donne comme renseignements :

Lecteur microplaques : Berthold du labo

Bleu = bleu de Coomassie Sigma b-2832

PBS = PBS 1X Sigma p-3699

s1 et s2 : deux échantillons avec les références « 23-4-11 sol1 » et « 23-4-11 sol2 »

Remplissez votre cahier de laboratoire (copie de 2 pages donnée).

## Réglage du microscope et analyse de coupes

vous avez à votre disposition une coupe colorée et que vous devez observer au microscope. Faites la mise au point en utilisant l'objectif X40.

Signature de l'utilisateur :  
User's signature:

Noms (prénom, nom) :  
Name (first name, last name):

Date :

Date :  
Signature :

Signature de l'utilisateur:  
User's signature:

Témoin (prénom, nom):  
Witness (first name, last name):

Date:

Date:  
Signature: