



Module : Biochimie Structurale

T.P N° 3 : Dosage du glucose par colorimétrie à l'o-toluidine

Principe

En milieu acétique concentré, le glucose est hydraté en 5-hydroxy-méthyl-furfural. Le produit formé se condense en présence de thiourée sur une amine cyclique (l'orthotoluidine) pour donner un produit bleu-vert caractéristique des aldohexoses. $CHO \rightarrow C_1$

Matériels et produits

- Tubes à essai - Pipettes de 1 ml et 10 ml – Colorimètre - Bain-marie – Réactif o-toluidine

1- Etablissement de la gamme d'étalonnage :

- Préparer une solution mère (200 ml) de glucose à 10 mmol/l
- Par dilution de cette solution mère, préparer une gamme étalon contenant 2,4, 6, 8 et 10 mmol/l pour un volume de 10 ml pour chaque concentration.

متموكة
قياسية

2- Colorimétrie

➤ *Gamme étalon*

Dans 06 tubes propres et secs, placer :

- 0.1ml de solution étalon de glucose de chaque concentration
- 5ml de de réactif à l'O-toluidine
- Le blanc sera réalisé en remplaçant la solution de glucose par de l'eau distillée
- Mélanger soigneusement puis placer les tubes 8 minutes au bain- marie bouillant.
- Refroidir sous un courant d'eau froide.

➤ *Essais x*

L'essai (échantillon) sera réalisé dans les mêmes conditions sur 0.1 ml de solution de glucose inconnue/sérum humain)

➤ *Mesure de l'absorbance (par colorimétrie/spectrophotométrie)*

القياس اللوني

قياس لوني

- Mesurer l'absorbance des tubes contre le blanc de la gamme à 630 nm. La coloration est stable environ 30 minutes.

3- Résultats

- Etablir un tableau de colorimétrie complet
- Tracer la courbe d'étalonnage
- Déterminer les valeurs de la solution de glucose inconnue/sérum et discuter les résultats.