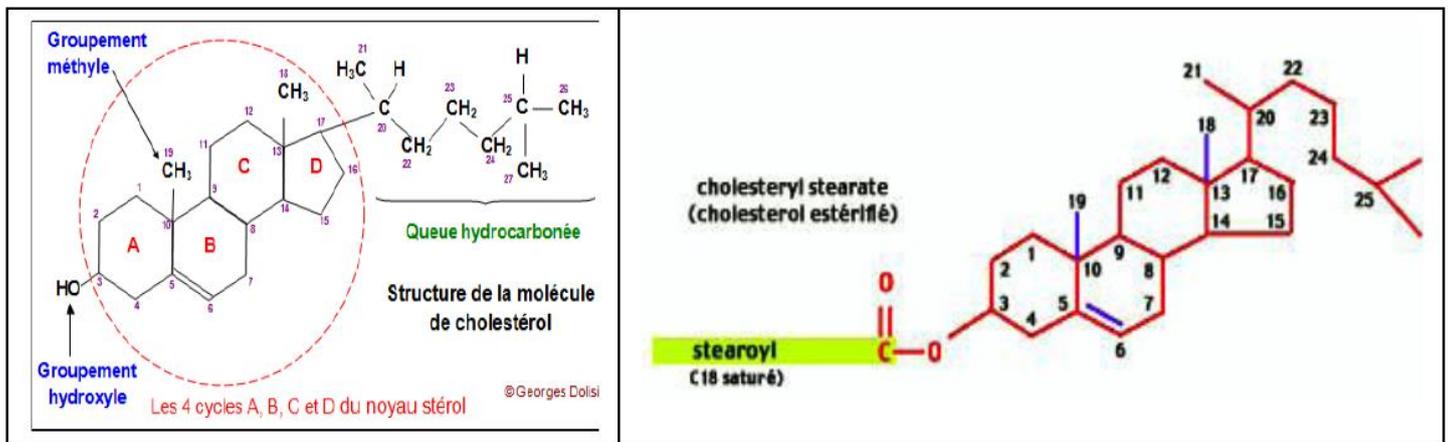




**Dosage de l'activité enzymatique**

**Sujet :**

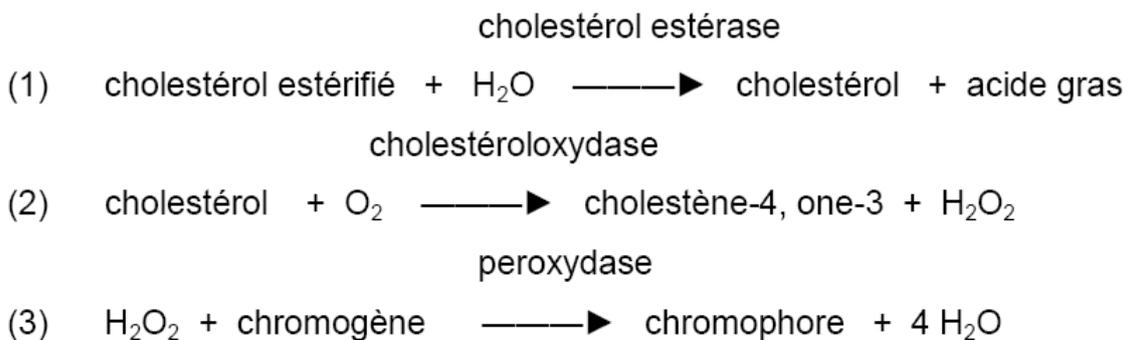
Le cholestérol (**figure 1**) est une graisse apportée pour un quart par l'alimentation et aux trois quart fabriquée par le foie. Lorsque les taux sont normaux, le cholestérol assure la protection de nos artères. Il y a un seul cholestérol mais deux systèmes de transport du cholestérol dans le sang. Les HDL (High Density Lipoproteins), connues sous le nom de "bon cholestérol", récupèrent le cholestérol en excès et le ramènent au foie où il est transformé avant d'être éliminé. Les LDL (Low Density Lipoproteins), transportent le cholestérol du foie vers toutes les cellules. Quand cette belle machine se dérègle, les LDL-cholestérols s'accumulent et peuvent contribuer à la formation des plaques qui peu à peu bouchent les artères.



**Figure 1.** La molécule de cholestérol

**I.** Le cholestérol total comprend le cholestérol libre et le cholestérol estérifié. Le cholestérol est dosé par une méthode enzymatique " en point final ".

Les réactions intervenant sont les suivantes :



L'absorbance du chromophore est mesurée à 505 nm

**1- Comment appelle t'on la réaction (1) et (3) ? Justifier**

2- **Déduire** à partir des équations précédentes les composés contenus dans la solution réactionnelle ou « réactifs » indispensables au déroulement des réactions ?

3- **Donner** les conditions nécessaires pour que la totalité du substrat soit dosée ?

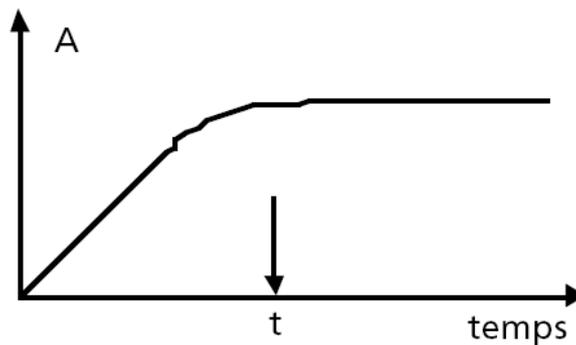
4- **Expliquer** pourquoi la préparation par dissolution des réactifs contenant les enzymes est effectuée en milieu tamponné ?

## II. Etalonnage du spectrophotomètre

1- La concentration de la solution mère en cholestérol est de  $0,517 \text{ mmol.L}^{-1}$ .

Calculer la masse de cholestérol à peser afin de préparer 1000 mL de cette solution mère.

2- Le graphe ci-dessous représente l'allure de la courbe absorbance (A) = f(temps). La flèche indique le temps correspondant à la mesure de l'absorbance.



2. 1. Que peut-on dire de l'absorbance au voisinage de ce temps ?

2. 2. Ce temps doit-il être exactement respecté ? Justifier la réponse.

### 3. Dosage du cholestérol sérique :

Les Étapes réactionnelles sont indiquées sous dessus. Le protocole opératoire et les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous.

	Essai 1	Essai 2	témoin réactif
Sérum ( $\mu\text{L}$ )	20	20	
réactif enzymatique (mL)	2	2	2
$A_{505 \text{ nm}}$	0,204	0,204	0

3-1- À partir d'une formule littérale, **calculer la concentration molaire du cholestérol** dans le milieu réactionnel ?

#### Données :

-  $\epsilon$  du chromophore à 505 nm =  $7,3 \cdot 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

- une mole de chromophore correspond à une mole de cholestérol.

**Masse molaire du cholestérol =  $386 \text{ g.mol}^{-1}$**