

## FICHE PROTOCOLE N° 4

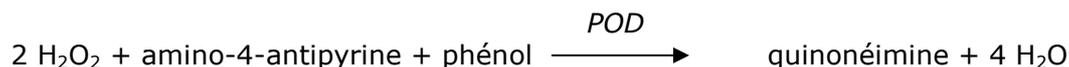
### Dosage du glucose par méthode enzymatique en point final

#### Principe

La glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du  $\beta$ -D-glucose en acide gluconique selon la réaction suivante :



Dans une deuxième réaction indicatrice, le peroxyde d'hydrogène formé réagit ensuite en présence de peroxydase (POD) avec un chromogène pour donner un produit coloré, la quinonéimine qui absorbe à 505 nm.



#### Matériels et réactifs

- **Echantillon « B »**
- Acide chlorhydrique concentré (37% ; d=1,19)
- Solution d'hydroxyde de sodium à 8 mol/L
- Pipettes jaugée et graduée de 5 mL
- Tubes à essai et à hémolyse
- Fiole jaugée 50 mL
- Fractions recueillies à la chromatographie
- Réactif Glucose RTU BioMérieux
- Finpipette
- P1000 + P20 + cônes
- Spectrophotomètre + microcuvettes

#### Protocole opératoire

##### 1. Hydrolyse de l'échantillon « B » initial

Dans un tube à essais, introduire :

- 5 mL de l'échantillon « B »
  - 2 mL d'acide chlorhydrique concentré (37% ; d=1,19)
- Boucher et placer 30 minutes environ au bain thermostaté à 70°C.  
Refroidir sous courant d'eau froide.

Neutraliser par 3 mL d'hydroxyde de sodium concentré à 8 mol/L.

Transvaser quantitativement et ajuster à 50 mL dans une fiole jaugée ; on obtient l'**hydrolysate « H »**.

##### 2. Dosage du glucose

Le dosage du glucose sera réalisé directement dans une série de microcuvettes spectrophotométriques, selon le protocole suivant :

- 10  $\mu$ L de solution glucosée (étalons ou échantillons à doser)
- 1000  $\mu$ L de réactif RTU®.

Incuber 10 minutes à 37°C ou 20 minutes à 20-25°C.

Lire l'absorbance contre un blanc réactif à 505 nm.

Le dosage sera réalisé :

- sur chacune des fractions de la chromatographie,
- sur l'échantillon « B » **dilué au 1/5<sup>ème</sup>**,
- sur l'hydrolysate « H ».