

Sommaire

Introduction

Chapitre 1 : Biochimie et propriété de la vitamine D

1. Les vitamines	5
2. Biochimie de la vitamine D	5
2.1 Métabolisme de la vitamine D	5
2.2 Source naturelle	7
2.3 Rôle physiologique	8
2.4 Fonction biologique	9
2.5 Vitamine D Binding Proteine DBP	10
2.6 Absorption intestinal	11
2.7 Evaluation de la carence en vitamine D	12
3. Chimie de la vitamine D	13
3.1 Nomenclature	13
3.2 Structure	15
3.3 Propriétés chimique	17
3.4 Propriétés spectroscopique d'absorption UV visible de la vitamine D	17
3.4.1 Excitation électronique et groupement fonctionnels	19
3.4.2 Types de transitions	19
3.4.3 Mesure expérimentale de l'absorbance	22
3.4.4 Limite de la loi de Beer Lambert	23

Chapitre 2 : Méthode de dosage de la vitamine D

1. Dosage de la vitamine D par RP-HPLC	25
1.1 Principe de la méthode	26
1.2 Description du système RP-HPLC utilisé	26
1.3 Mise en marche du système RP-HPLC	31
2. Analyse quantitative par chromatographie liquide à haute performance RP-HPLC	32
2.1 Principe	32
2.2 Etalonnage externe	32
2.3 Etalonnage interne	34

2.4 Détermination du degré de pureté de cholécalciférol	35
2.5 Identification du pic de cholécalciférol dans un échantillon de plasma	38
2.6 Préparation de la droite d'étalonnage externe	39
2.6.1 Matériels et réactifs	39
2.6.2 Préparation des solutions primaires	39
2.6.3 Préparation des solutions secondaire	40
2.6.4 Préparation des solutions étalons	41
2.7 Résultats	41
2.8 Discussion	44
2.9 Evaluation de la méthode	45
2.9.1 Linéarité	45
2.9.2 Limite de détection et de quantification	46
2.9.3 La répétabilité	47
2.9.4 La récupération	49
Chapitre 3 : Dosage des échantillons de plasma par RP-HPLC	50
1. Dosage des échantillons de plasma	51
1.1 Nature des échantillons	51
1.2 Traitement des échantillons	51
1.3 Résultats	53
1.4 Discussion	57
1.4.1 Distribution des hauteurs des pics	57
1.4.2 Variation de la température	58
Conclusion	61
Référence bibliographiques	63