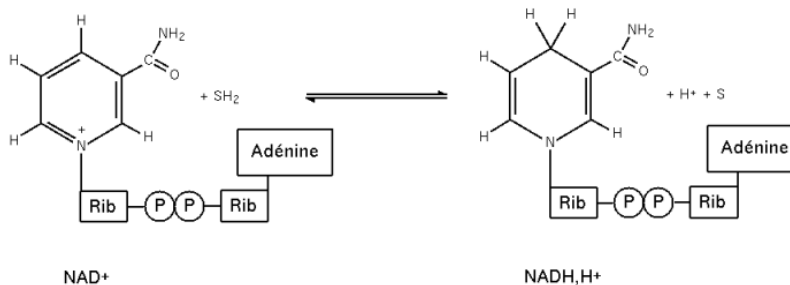


Les dosages spectrophotométriques s'effectuent au voisinage du λ_{\max} de la substance à doser (longueur d'onde maximale). Deux cas de figure dans les dosages réalisés au laboratoire :

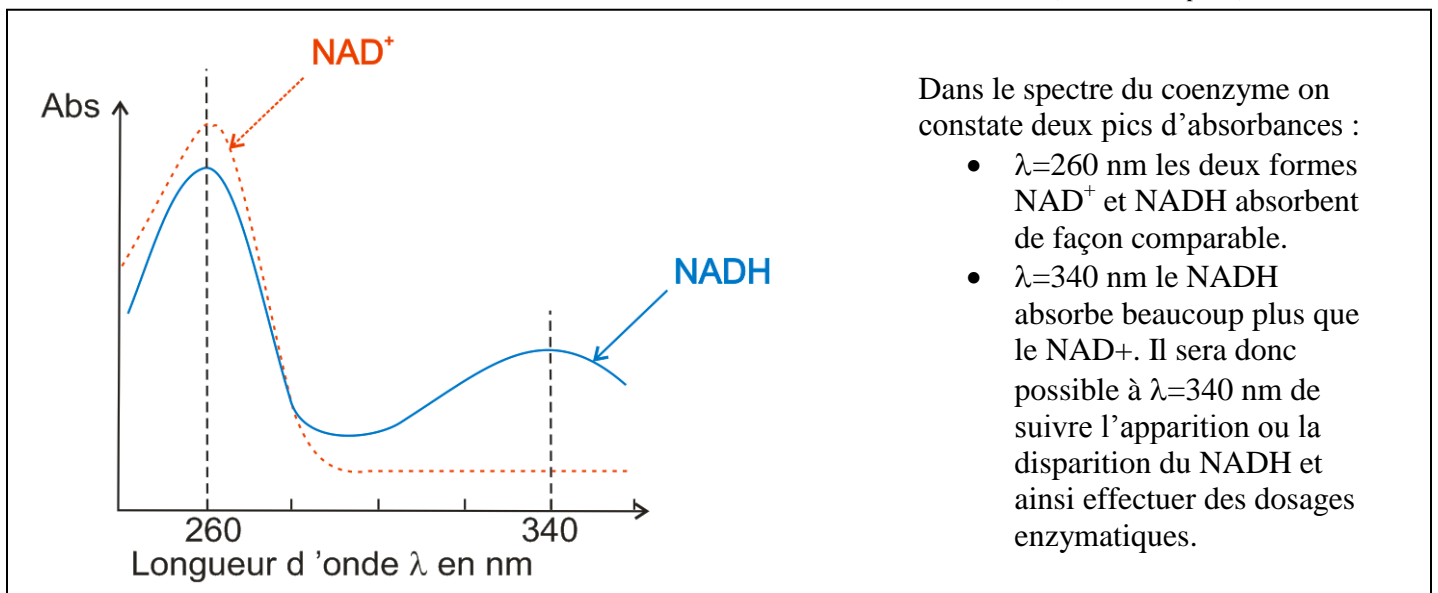
- l'élément à doser est coloré (exemple : hémoglobine, ONP) ou peut être mis en jeu dans une réaction coloré (exemple : dosage des protéines par Biuret, du glucose par la GOD...), la longueur d'onde λ sera dans le domaine du visible (de $\lambda = 400 \text{ nm}$ à $\lambda = 750 \text{ nm}$).
- L'élément à doser est incolore mais a des propriétés spectrales dans l'ultraviolet ou UV, c'est le cas des acides nucléiques, de certains acides aminés, de coenzymes comme le NAD, (UV de $\lambda=400\text{nm}$ à $\lambda=40 \text{ nm}$ mais au laboratoire les appareils ne vont pas en dessous de 200 nm). Le spectrophotomètre est équipé d'une lampe spéciale « UV », les cuves utilisées peuvent être en matière plastique « UV » jusque 340 nm puis en quartz pour des longueurs d'onde inférieures.

Le coenzyme NAD⁺ ou nicotinamide adénine dinucléotide

Ce coenzyme a des propriétés spectrales qui varient selon qu'il est sous sa forme oxydée NAD⁺ ou réduite NADH. Il intervient dans les réactions de déshydrogénation.



(Source : wikipedia)

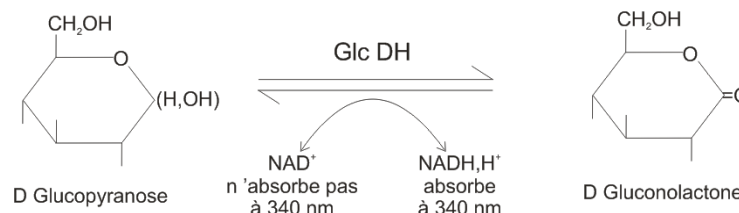


Dans le spectre du coenzyme on constate deux pics d'absorbances :

- $\lambda=260 \text{ nm}$ les deux formes NAD⁺ et NADH absorbent de façon comparable.
- $\lambda=340 \text{ nm}$ le NADH absorbe beaucoup plus que le NAD⁺. Il sera donc possible à $\lambda=340 \text{ nm}$ de suivre l'apparition ou la disparition du NADH et ainsi effectuer des dosages enzymatiques.

Exemple de dosages utilisant la mesure du NADH :

- Dosage de substrat : dosage du glucose par la glucose déshydrogénase (Glc DH)



- Mesure d'activité enzymatique : LDH (lactate déshydrogénase)

