

Travaux Pratiques Génie Biochimique



CUMILA

Dr. AISSOUS Imane

Centre Universitaire
Abdelhafid Boussouf Mila

Institut des sciences de la
nature et de la vie

Département de
Biotechnologie

Email : *aissous.i@centre-
univ-mila.dz*

Année universitaire 2023-
2024

1.0
Mars 2024

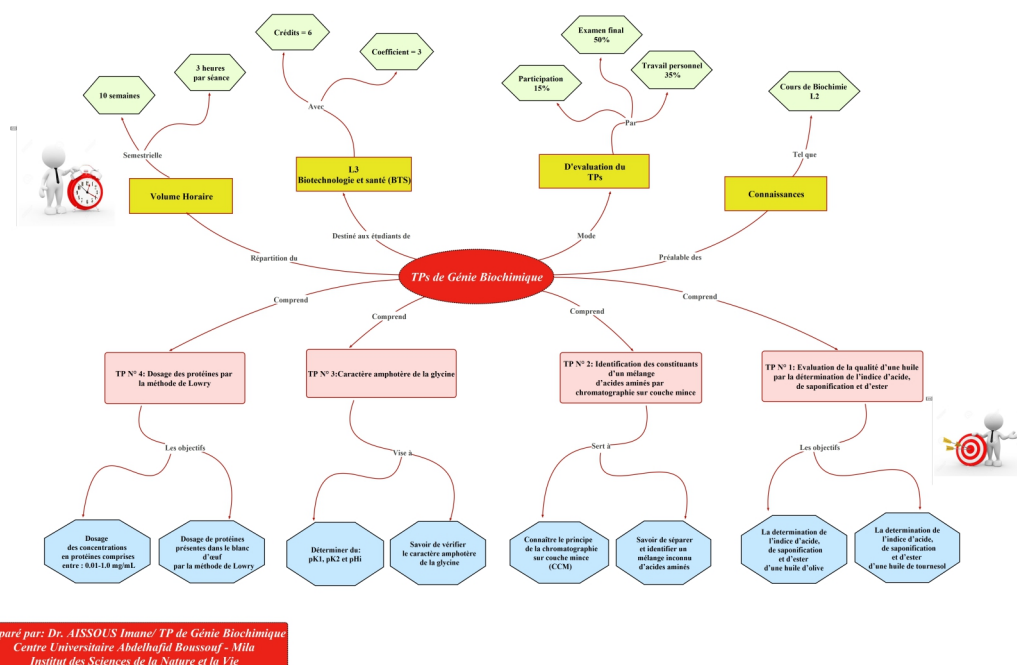
Table des matières

I - Introduction général	3
II - Thème 1 : Évaluation de la qualité des deux huiles par la détermination de l'indice d'acide, de saponification et d'ester	4
1. Objectifs spécifiques	4
2. Introduction	4
3. Matériels utilisés	5
4. Mode opératoire	6
4.1. <i>Indice d'acide</i>	6
4.2. <i>Indice de saponification</i>	7
4.3. <i>Indice d'ester</i>	9

I Introduction général

Le génie biochimique est une discipline dynamique repose sur des **processus biologiques** et des **concepts de génie chimique**, combinant habilement la théorie et la pratique pour créer des **solutions novatrices**. La compréhension de ces mécanismes nécessite le suivi d'enseignements théoriques, pratiques et dirigés afin de cerner de manière significative les molécules biologiques sur le plan structural.

Au cœur les travaux pratiques en génie biochimique se trouve l'exploration de processus biologiques fondamentaux et de **méthodes analytiques** avancées avec la **manipulation de biomolécules** telles que les protéines, les acides aminés et les lipides, à l'utilisation d'instruments sophistiqués tels que les **spectrophotomètres**, les **chromatographes**.



Préparé par: Dr. AISSOUS Imane/ TP de Génie Biochimique
Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf - Mila
Institut des Sciences de la Nature et la Vie

Carte mentale

II Thème 1 : Évaluation de la qualité des deux huiles par la détermination de l'indice d'acide, de saponification et d'ester

1. Objectifs spécifiques

A l'issu de ce chapitre, l'apprenant sera capable de :

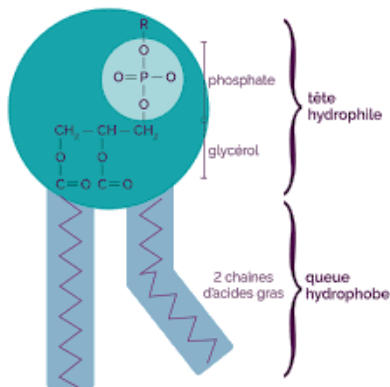
- **Connaître** les principes des indices d'acide, de saponification et d'ester.
- **Appliquer** les méthodes de détermination des indices dans les échantillons d'huile.
- **Interpréter** les valeurs obtenues pour évaluer la qualité des huiles.
- **Comparer** les résultats des analyses des deux types d'huiles.
- **Élaborer** les implications des résultats sur l'utilisation des huiles.

2. Introduction

Les lipides sont des molécules hydrophobes qui entrent dans la constitution des êtres vivants comme éléments de structure ou réserve énergétique, ce sont des **dérivés d'acides gras** résultant condensés **avec des alcools ou des amines**.

Définition

Les lipides sont des molécules bipolaires, caractérisées par **un pôle hydrophile** dû à la présence d'une fonction acide organique (**COOH**), et une grande partie de la molécule est **un pôle hydrophobe** en raison de **la chaîne carbonée**. Les ont en commun d'une propriété d'être hydrophobes (insolubles dans l'eau) à des degrés divers et solubles dans les solvants organiques apolaires (benzène, éther, chloroforme, cétone...).



Les lipides

⊕ Complément

Les lipides se répartissent en lipides simples et lipides complexes :

- **Lipides simples**: composés exclusivement de carbone C, hydrogène H, oxygène O (exemple : glycérides).
- **Lipides complexes**: composés aussi de phosphore P ou d'azote N (exemple : sphingolipides).

A température ambiante, les lipides peuvent être sous forme solide comme les graisses ou bien liquide comme les huiles. Ces dernières peuvent être composées en grande partie par des triglycérides qui sont le produit d'estérification du glycérol par les acides gras.

Au cours du temps et selon le mode de conservation, les huiles subissent **une dégradation** qui se traduit par **la libération des acides gras**.

3. Matériels utilisés

Pour la vérification de la qualité des deux huiles on a besoin de:

- Solution de potasse (KOH) alcoolique 0,1 M.
- Solution HCl 0,1 M.
- Phénolphtaléine 1% dans l'éthanol.
- Acétone pur.
- Huile d'olive, huile de tournesol.
- Burette, béchers, micropipette.
- Bain-marie.



4. Mode opératoire

4.1. Indice d'acide

🔍 Définition

L'indice d'acide d'un corps gras correspond à la masse de KOH en mg nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1g de ce lipide.

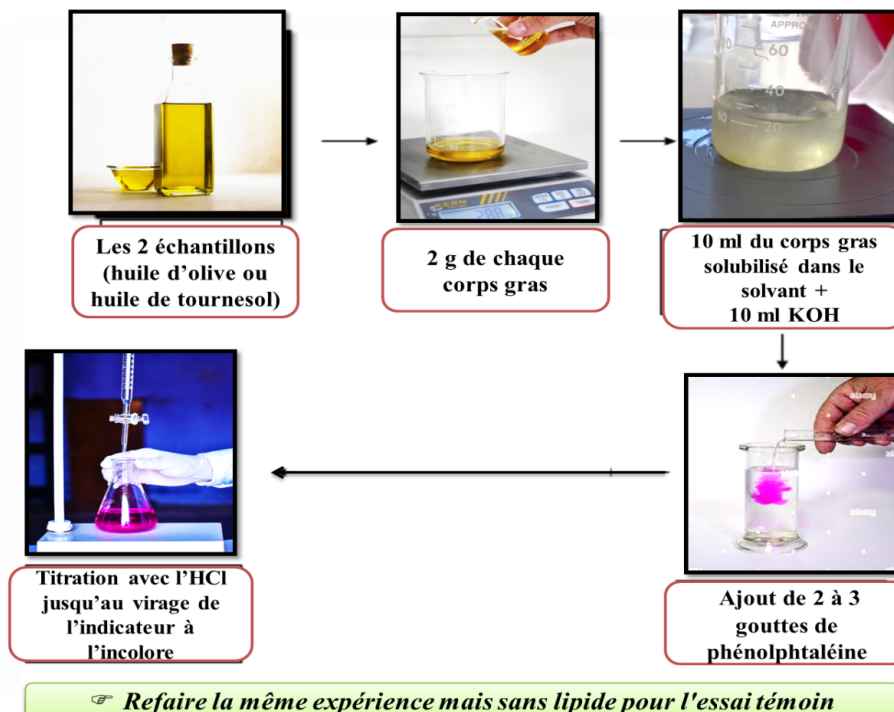
💡 Fondamental

Le principe de la réaction basé sur l'acidité qui résulte uniquement à la présence des carboxyles appartenant à des acides gras dans une matière grasse.

⚙️ Méthode

Pour **la réalisation de l'essai** (les deux échantillons) il faut suivre les étapes suivantes:

- Dans un bécher de 50 ml, introduire 2 g de corps gras (huile d'olive ou huile de tournesol).
- 25 ml d'acétone, agiter jusqu'à solubilisation du corps gras.
- Prélever 10 ml du corps gras solubilisé et le mettre dans un bécher de 100 ml.
- Rajouter 10 ml de potasse alcoolique et 3 gouttes de phénolphtaléine.
- Titrer le mélange (à l'aide d'une burette) avec de l'HCl jusqu'à disparition de la couleur.
- Noter avec précision le volume d'HCl utilisé V_e .

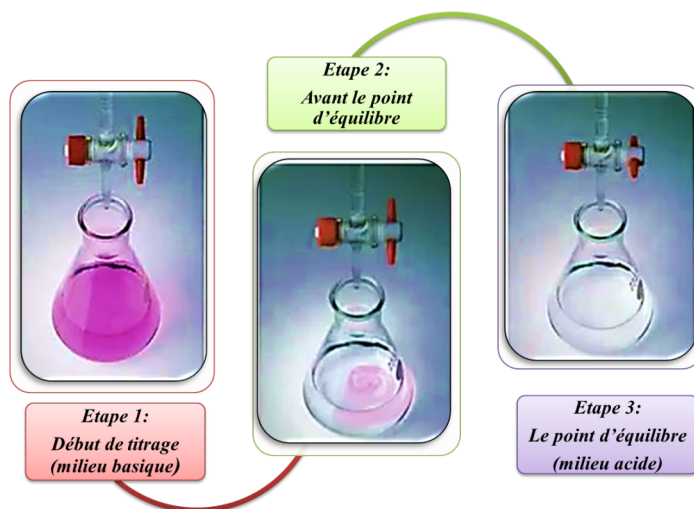


Réalisation de l'essai.

⚙️ Méthode

La réalisation de témoin nécessite de :

- Introduire dans un bécher 10 mL de potasse alcoolique et 10 mL de solvant ainsi que 2 ou 3 gouttes de phénolphtaléine.
- Titrer avec l'acide jusqu'au virage de l'indicateur à l'incolore.
- Noter avec précision le volume d'HCl utilisé V_t .



Titration colorimétrique.

⚠ Attention

La manipulation s'effectue sous la hotte ventilée.

📎 Remarque

Les acides gras avec la potasse forment **des savons**. La **coloration rose** de la phénolphtaléine ne peut être stable ; en effet, au bout de quelques secondes, une hydrolyse partielle de la matière grasse aboutit à **la libération d'acides gras**.

Une huile bien conservée doit respecter les normes exigeant un indice d'acide inférieur ou égale à 4 mg de KOH par gramme de corps gras.

💬 Conseil

Consulter la vidéo sur le site : https://www.youtube.com/watch?v=GNYkq_SAoog

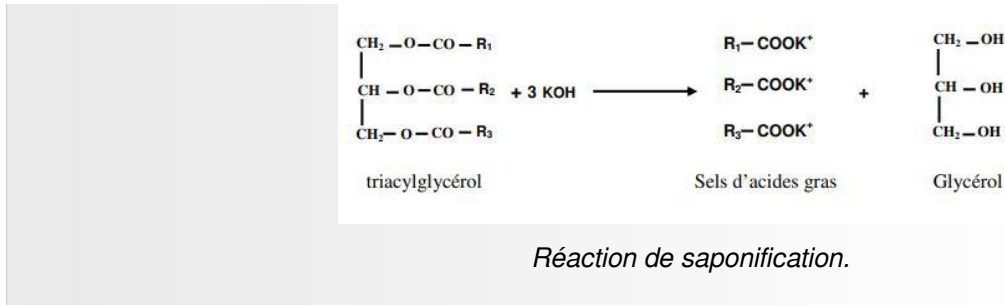
4.2. Indice de saponification

🔍 Définition

L'indice de saponification est la quantité (en milligrammes) de potasse nécessaire pour saponifier 1 g de matière grasse.

💡 Fondamental

Le principe de la réaction consiste à libérer le glycérol et les sels alcalins d'acides gras (acides stéarique, oléique, palmitique) appelés savons par les triacylglycérols en milieu chaud et fortement basique.



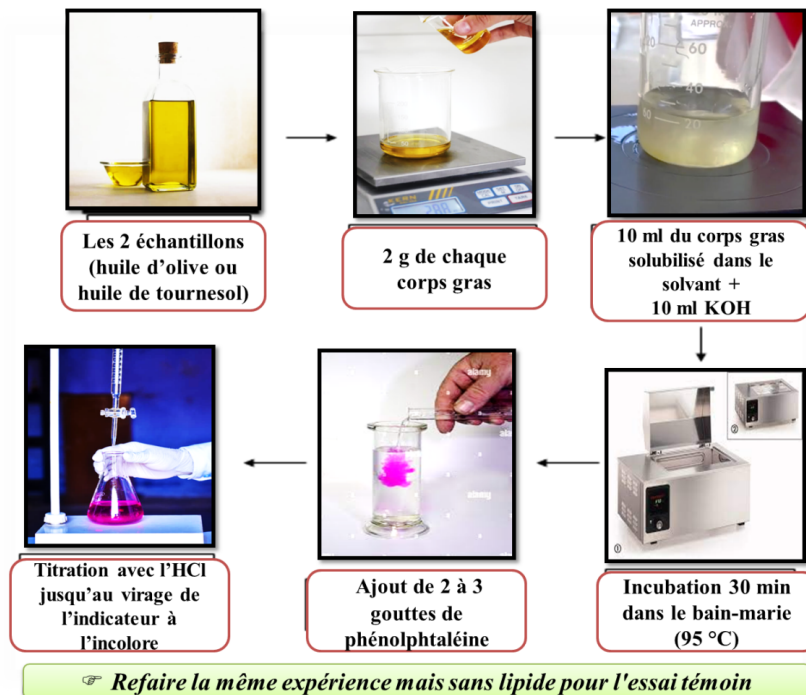
🔔 Rappel

La réaction de saponification se déroule en présence d'un excès de KOH, non entrée en réaction et dosé par une solution acide en présence de phénolphtaléine (dosage en retour). La potasse consommée par l'huile est calculée par référence à un témoin.

⚙️ Méthode

Pour **la réalisation de l'essai et le témoin** il faut de :

- Refaire la même expérience précédente (IA).
- Suivre les mêmes étapes avec les deux échantillons (pour les deux huiles) et le témoin sans lipide, **mais cet indice est déterminé à chaud** (bain-marie, 95 °C).
- Après 30 min d'incubation rajouter 3 gouttes de phénolphtaléine et titrer la solution de potasse.



Réalisation de l'essai pour la détermination l'indice de saponification.

💬 Conseil

Consulter la vidéo sur le site suivant: <https://www.youtube.com/watch?v=PVBIIHQZfj8>

4.3. Indice d'ester

Définition

L'**indice d'ester (IE)** d'un corps correspond à la masse de KOH en mg nécessaire pour saponifier **les acides gras estérifiés** présents dans 1g de ce lipide.

Méthode

Cet indice n'est pas mesuré, il est **calculé** suivant la formule suivante :

$$IE = IS - IA$$

Fondamental

Pour les calculs des deux indices (**IA et IS**) en utilisant la formule suivante :

$$IA \text{ ou } IS = \frac{(V_t - V_e) \times CHCl \times MKOH}{P}$$

P	le poids du corps gras (g)
V _t	le volume d'HCl utilisées pour le titrage de la potasse de la solution témoin (L)
V _e	le volume d'HCl nécessaire pour le dosage (L)
CHCl	la concentration de la solution HCl utilisée (mol/L)
MKOH	la masse molaire de la potasse (g/mol)

Tableau 1.