

CORRIGES DES TRAVAUX DIRIGES DE BIOCHIMIE S3-SV
PARTIE LIPIDES

Exercice N°1:

Une lécithine en solution chloroformique est saponifiée par une solution concentrée de potasse alcoolique à chaud. Après refroidissement, on ajoute de l'eau. Il se forme alors deux phases non miscibles.

Quelle est la répartition des différents composés obtenus dans la phase aqueuse et dans la phase chloroformique?

On acidifie le milieu en ajoutant de l'acide chlorhydrique, on mélange et on laisse reposer. Quelle est la nouvelle répartition des composés. Quelle est l'intérêt de cette expérience?

Solution exercice 1 :

La lécithine est un phospholipide : c'est la phosphatidylcholine

Lécithine + 5 KOH -----> glycérol + 2 Savons + K₃PO₄ + Choline

Dans l'eau on trouve tous les produits de la réaction avant acidification du milieu car ils sont tous polaires et solubles dans l'eau. Donc rien dans le chloroforme.

Après acidification, glycérol et choline ne changent pas et K₃PO₄ devient H₃PO₄ mais reste dans l'eau. Par contre les savons se transforment en acides gras qui sont insolubles dans l'eau et passent dans le chloroforme.

Intérêt : séparation pour identification des acides gras qui estérifient les phospholipides (par exemple par Chromatographie en phase gazeuse après méthylation).

Exercice N°2:

Un mélange lipidique contient une trioléine et la phosphatidylcholine. Pour les séparer, on essaye deux techniques:

- Une chromatographie sur silice avec pour solvant l'éther de pétrole.
- Une électrophorèse à pH=7.

Quelle est celle qui donnera une bonne séparation? Expliquer votre réponse.

Solution exercice 2 :

C'est la Chromatographie car il y a une très grande différence de polarité entre les deux : les phospholipides

sont très polaires et donc seront retenus (adsorbés) par la silice qui est également polaire. Par contre, la trioléine qui est un triglycéride est apolaire donc non retenue.

Théoriquement, l'électrophorèse pourrait les séparer aussi car la trioléine est neutre électriquement alors que la phosphatidylcholine est chargée. Mais la réalisation de l'électrophorèse sera difficile à réaliser en milieu non aqueux.

Exercice N°3:

Un homogénat de tissu hépatique de rat est soumis à une chromatographie sur couche mince de gel de silice en utilisant une phase mobile adéquate (ex: un mélange hexane-éther éthylique-acide acétique) . Parmi les lipides identifiés (à partir des lipides témoins), figurent:

- Acides gras.
- Triglycérides.
- Diglycérides.
- Monoglycérides.
- Cholestérol libre
- Cholestérol estérifié.
- Phospholipides.

On demande de représenter schématiquement le résultat de cette chromatographie.

Solution exercice 3 :

Ces lipides vont migrer selon leur polarité. Les plus polaires seront retenus, retardés, les plus apolaires migreront le plus haut.

C'est presque l'expérience que les étudiants ont fait au TP lipides

Les phospholipides **très polaires** resteront au dépôt et ne migreront pas du tout ($R_f=0$)

Les monoglycérides **polaires** (ont deux OH), migreront peu

Les diglycérides et le cholestérol (ont un seul OH) sont **moyennement polaires** migreront presque au même endroit légèrement au dessus des mono.

Les acides gras **très légèrement polaires** migreront vers le milieu de la plaque au dessus des diglycérides.

Les triglycérides sont **apolaires** migreront presque vers le haut de la plaque

Les esters de cholestérol **très apolaires** migreront avec le front de solvant

Exercice 4:

On voudrait extraire la totalité de la matière grasse contenue dans des graines oléagineuses (riches en huile).

Proposer un protocole expérimental permettant la récupération de la **totalité** des lipides de ces graines.

Comment peut-on séparer les triglycérides des phospholipides présents dans l'extrait?

Solution exercice 4 :

C'est le même protocole qu'en TP. Broyer les graines et extraire les lipides totaux par le mélange de Folch constitué de chloroforme-méthanol (2 :1). Ensuite il faut évaporer les solvants puis ajouter de l'acétone à froid. Les triglycérides sont solubles dans l'acétone par contre les phospholipides précipitent dans l'acétone à froid. Il suffit de filtrer pour récupérer les phospholipides sur le filtre et évaporer l'acétone du filtrat pour récupérer les triglycérides.

Exercice 5 :

Parmi les propriétés suivantes lesquelles sont attribuées aux acides **saturés** ou aux acides **insaturés**:

- Fixent l'iode (**ag insaturés**)
- sont insolubles dans l'eau (**ag saturés et insaturés**)
- Donnent avec la soude un composé amphiphatique (càd pôle hydrophobe et pôle hydrophile) soluble dans l'eau (**les deux car ils donnent du savon**)
- Absorbent la lumière dans l'ultraviolet (**ag insaturés**)
- S'oxydent spontanément au contact de l'oxygène de l'air (**ag insaturés**)

Exercice 6 :

Les indices d'acide et de saponification d'un corps gras ont été déterminés en dosant avec un acide (V_e ml, normalité N_a) l'excès de potasse (normalité N_b) qui n'a pas réagi (dosage en retour) sur une masse m du corps gras. Dans un témoin, la totalité de la potasse utilisée est neutralisée par V_t ml de l'acide.

- Etablir la relation entre l'indice d'acide et les volumes V_t , V_e et la masse m du corps gras
- Etablir la relation entre l'indice de saponification et les volumes V_t , V_e et la masse m du corps gras.

Solution exercice 6 :

C'est la démonstration faite au TP lipide.

Exercice 7 : Relation entre indice de saponification et masse molaire d'un triacylglycérol

Une huile est formée d'un triglycéride homogène saturé dont l'indice de saponification est égal à 535. Quel est le triglycéride présent dans l'huile ? $PM\ KOH = 56$

Solution exercice 7 :

$TG + 3\ KOH \rightarrow$ glycérol + 3 savons

$IS = 3 \times PM\ de\ KOH \times 1000 / PM = 3 \times 56 \times 1000 / PM$

Donc $PM = 3 \times 56000 / 535 = 314,02$

TG est homogène et saturé donc son $PM = PM\ glycerol + 3 \times PM\ ag - 3 \times PM\ de\ H_2O$

On sait que la formule générale d'un ag saturé est : $C_n H_{2n} O_2$

Donc le PM d'un ag saturé = $n \times 12 + 2n + 32$

$PM\ glycérol = 92$

Donc $PM_{ag} = (PM_{tg} - PM_{glycérol} + 3 \times 18) / 3 = 92$

$92 = 14n + 32$ donc $n=4$ l'ag est l'acide butyrique, le triglycéride est la tributyrine.

Exercice 8 : Relation entre indice d'iode et nombre de doubles liaisons d'un acide gras.

Un acide gras éthylénique linéaire possède n carbones. L'indice d'iode (Ii) est connu. Etablir la relation entre Ii et le nombre de doubles liaisons de l'acide gras.

Application: Si n=18 et Ii=270, identifier l'acide gras.

Solution exercice 8 :

La réaction : supposons un acide gras à x doubles liaison



Donc 1 ag à x double liaison consomme x X 254gramme d'iode

L'indice d'iode (Ii)est la quantité d'iode exprimée en gramme consommée par 100 gramme de lipide

Une règle de trois va donner :

$$I_i \times P_{Mag} = 100 \times 254x \quad \text{donc } x = (I_i \times P_{Mag}) / 25400$$

Pour l'application numérique : la formule d'un ag insaturé est Cn H2n-2x O2

Remplacer dans l'équation précédente P_{Mag} par 12n – (2n-x) + 32 avec n=18 pour trouver le nombre x de double liaison.

Exercice 9 : Calcul de la masse molaire d'un triacylglycérol à partir des indices de saponification et d'iode.

L'indice de saponification d'un triglycéride pur est égal à 196 et son indice d'iode à 59. L'analyse chromatographique de ses acides gras constitutifs révèle qu'il s'agit d'acide palmitique et d'acide oléique. Déterminer la masse molaire du triglycéride et sa structure.

$$P_{Mtg} = 3 (56 \times 1000) / IS \quad \text{donc } P_{Mtg} = 857,14$$

Nombre de double liaison :

$$x = (59 \times 857,14) / 25400 = 2$$

Structure du triglyceride:

On sait d'après l'énoncé que le TG est formé d'acide palmitique qui est saturé et d'acide oléique qui est monoinsaturé. Puisque nous avons trouvé que le TG contient deux doubles liaisons donc il est constitué de deux acides oléiques et d'un acide palmitique. Il s'agit donc d'un dioléopalmitine.