

Etude des lipides du beurre



Le beurre est composé à 82 % de matière grasse
Cette matière grasse est un mélange de différents triglycérides, de cholestérol et de vitamines liposolubles (vit A, , vit D, vit E, principalement)
Les triglycérides sont constitués

- **Acides Gras saturés.** environ 60 % à 65 % des matières grasses du beurre. Les acides palmitique, myristique et laurique, trois acides gras à chaîne moyenne représentent environ les deux tiers de la quantité de gras saturés du beurre.
- **Acides Gras insaturés.** Les gras insaturés représentent 35 % à 40 % des matières grasses du beurre. On distingue
 - Les **acides gras monoinsaturés** principalement l'acide oléique C18 :1 ω 9
 - Les **acides gras polyinsaturés** on les retrouve en petite quantité dans le beurre (moins de 4 % des gras totaux).essentiellement l'acide linoléique C18 :2 ω 6



Rq : les acides gras insaturés présentent une configuration « cis » mais on trouve une petite quantité d'acide gras en configuration « trans » (2 % à 5 % des gras totaux).

La composition relative en acide gras du beurre change selon l'alimentation de la vache ainsi une alimentation complétement en tourteaux de colza permettrait d'augmenter le taux d'acide gras poly insaturés –meilleur pour la santé humaine- de faciliter la fabrication du beurre en diminuant le temps de barattage et en améliorant ses qualités organoleptiques

Une mauvaise conservation du beurre entraîne une dégradation du goût et de l'odeur des graisses : c'est le rancissement. Les graisses rances, non seulement ont un goût et une odeur désagréables, mais sont en plus des produits toxiques qui ne doivent pas être consommés. Ce phénomène a deux causes principales :

- il peut provenir d'une libération d'acides gras à courtes chaînes (par hydrolyse de liaisons ester) ; les acides gras à courte chaîne ont une odeur désagréable
- il peut être dû à l'auto-oxydation des acides gras insaturés ou des radicaux acyles (R-CO) correspondants. Les réactions d'auto-oxydation sont des **réactions radicalaires** qui après initiation de la réaction comporte une propagation de réactions en chaîne avec en fin de processus une dégradation des acides gras en divers produits de dégradation : cétones, aldéhydes...

Un producteur de beurre fermier décide de faire effectuer les analyses suivantes sur le beurre qu'il produit :

- une détermination de l'indice d'acide pour vérifier sa méthode de conservation
- Une analyse chromatographique de la matière grasse de son beurre pour juger de l'opportunité d'un éventuel changement d'alimentation de son cheptel

Activité A : Détermination de l'indice d'acide du beurre

Les triglycérides d'un beurre peuvent subir une hydrolyse au cours du temps (rancissement) pour donner des acides gras et du glycérol.

La détermination de l'indice d'acide renseigne sur le degré d'hydrolyse de la matière grasse.

Le principe et le protocole de détermination de l'indice d'acide d'un beurre sont donnés dans le document 1

Travail de réflexion préliminaire

- Q1 :** Ecrire la réaction d'hydrolyse d'un triglycéride.
- Q2 :** Expliquer la différence entre un dosage volumétrique direct et un dosage volumétrique en retour.
- Q3 :** Schématiser le protocole de l'étalonnage de la solution d'acide sulfurique
- Q4 :** Proposer un protocole détaillé pour la réalisation du témoin.
- Q5 :** Préciser les différentes étapes de la détermination de l'indice d'acide en indiquant les équations des réactions correspondantes.

Manipulation

- T1 :** Etalonner la solution l'acide sulfurique selon le protocole donné dans le document 2
- T2 :** Déterminer l'indice d'acide (IA) du beurre distribué selon le protocole du document 1

Exploitation des résultats

❖ Etalonnage de la solution d'acide sulfurique

- Q6 :** Présenter vos résultats sous forme de tableau.
- Q7 :** Grâce au indications données dans le document , établir l'équation de la réaction de dosage (aide : un des produit formé est le CO_2)
- Q8 :** Etablir ensuite les équations aux grandeurs et unités pour calculer la concentration molaire de la solution d'acide sulfurique.
- Q9 :** Calculer cette concentration pour vos deux essais
- Q10 :** Vérifier l'acceptabilité de vos résultats
- Q11 :** Exprimer correctement le résultat final

Données : $S_r = 0,005 \text{ mol.L}^{-1}$
 $U_c = 0,006 \text{ mol.L}^{-1}$

Pour avoir un niveau de confiance d'environ 95 %, le facteur d'élargissement est $k = 2$

❖ Détermination de l'indice d'acide du beurre

- Q12 :** Présenter vos résultats sous forme de tableau
- Q13 :** A l'aide de l'équation aux grandeurs donnée dans le document 1 calculer l'IA pour vos 2 essais
- Q14 :** Vérifier l'acceptabilité de vos résultats
- Q15 :** Exprimer correctement le résultat final de l'indice d'acide
- Q16 :** Conclure.

Données : $S_r = 10 \text{ mg}$
 $U_c = 15 \text{ mg}$

Pour avoir un niveau de confiance d'environ 95 %, le facteur d'élargissement est $k = 2$

Activité B: **Analyse chromatographique des acides gras du beurre**

Les acides gras entrant dans la composition des triglycérides du beurre peuvent après divers traitements être séparés par chromatographie en phase gazeuse.

Le principe de ce type de chromatographie est donné dans le document

Travail de réflexion préliminaire

Après lecture du document

- Q1 :** Rappeler les buts d'une chromatographie
- Q2 :** Donner le principe général de toute chromatographie
- Q3 :** Expliquer la différence entre une analyse qualitative et une analyse quantitative.
- Q4 :** Définir temps de rétention

A l'aide du document

- Q5 :** Ecrire la formule développée de l'acide oléique (C18 :1 ω 9)
- Q6 :** Ecrire la formule développée de l'acide linoléique (C18 :2 ω 6)

Manipulation et résultats

Le protocole utilisé pour la chromatographie en phase gazeuse des acides gras du beurre et l'étalonnage est schématisée dans le document

Le chromatogramme et le tableau présentant la composition relative des acides gras contenus dans le beurre à l'exception de l'acide oléique sont présentés dans le document

Exploitation des résultats

Droite d'étalonnage pour la détermination du % d'acide oléique dans le beurre

Le % d'acide oléique contenu dans le beurre peut être déterminé grâce à un étalonnage réalisé dans les mêmes conditions.

- Q7 :** Calculer le % d'acide oléique dans les 3 solutions étalons
- Q8 :** Déterminer par la méthode des moindres carrés l'équation de la droite d'étalonnage :
Aire du pic (cm²) = f (% d'acide oléique).

Détermination graphique de l'aire correspondant à oléique dans le beurre

- Q9 :** En vous aidant des indications présentées document , déterminer l'aire correspondant au pic de l'acide oléique.

Détermination mathématique de l'aire correspondant à oléique dans le beurre

Une interpolation polynômiale sous tableur nous permet d'obtenir que la fonction p qui représente le pic de l'acide Oléique est définie par $f(x)=6,9187x^4 - 387,44x^3 + 8118,8x^2 - 75448x + 262358$ sur $[13,2 ; 14,6]$.

Q10 : Calculer l'aire sous la courbe de l'acide Oléique

Détermination du %d'acide oléique dans le beurre

Grace à l'équation de la droite d'étalonnage et de vos valeurs d'aire correspondant au pic de l'acide oléique

Q11 : Calculer le % d'acide oléique à partir de la valeur d'aire trouvée par méthode graphique.

Q12 : Calculer le % d'acide oléique à partir de la valeur d'aire trouvée par méthode mathématique.

Q13 : Comparer ces deux valeurs et discuter si nécessaire de leur différence. Compléter le tableau du document

Analyse de l'ensemble des résultats

Q14 : Sachant que les AGS sortent dans l'ordre du nombre de carbone les constituant

- réattribuer à chaque pic le nom de l'acide gras correspondant
- déterminer pour chacun d'eux son temps de rétention
- Récapituler les informations de manière appropriées

Q15 : Calculer le % total en acides gras saturés (AGS), en acides gras mono insaturés (AGMI) et en acides gras polyinsaturés (AGPI)

Q16 : Présenter les résultats de ces calculs dans un tableau

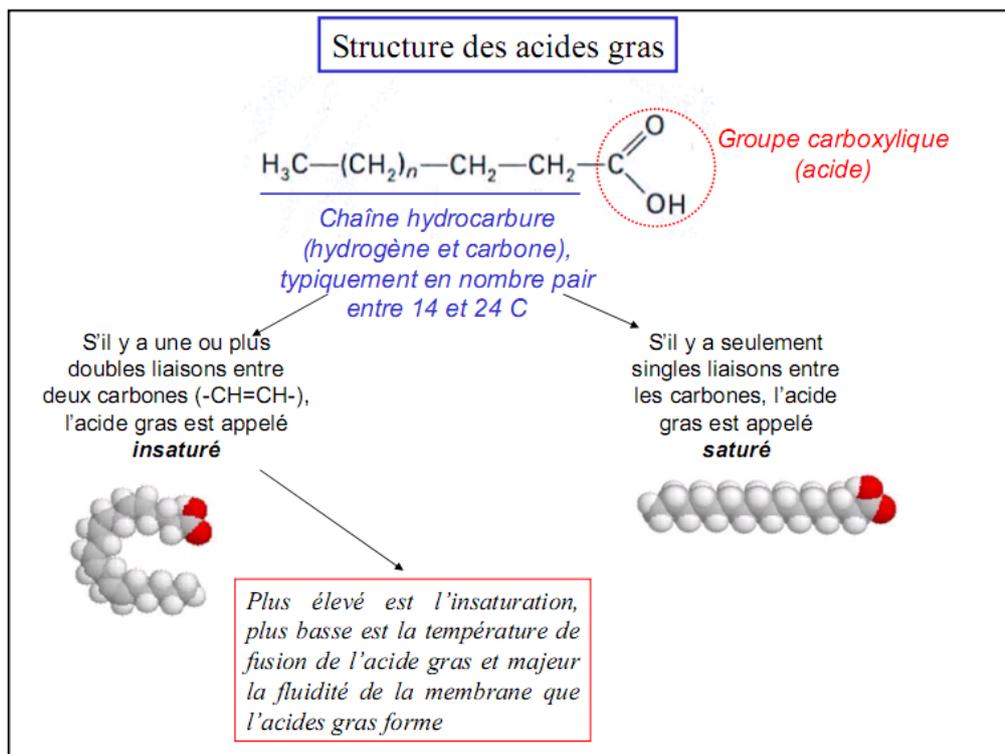
Q17 : Comparer ces % avec ceux obtenus avant et après une alimentation complétement en tourteaux de colza.

Q18 : Conclure

SYNTHESE

Q19 : Rédiger une synthèse argumentée pour répondre aux interrogations du producteur

Document 1 : Rappels sur les lipides



ACIDES GRAS	NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE	FORMULE CHIMIQUE	SOURCE
Saturés			
Acide butyrique	4	C ₃ H ₇ COOH	Beurre
Acide caproïque	6	C ₅ H ₁₁ COOH	Beurre
Acide caprylique	8	C ₇ H ₁₅ COOH	Noix de coco
Acide caprique	10	C ₉ H ₁₉ COOH	Huile de palme
Acide laurique	12	C ₁₁ H ₂₃ COOH	Noix de coco
Acide myristique	14	C ₁₃ H ₂₇ COOH	Huile de muscade
Acide palmitique	16	C ₁₅ H ₃₁ COOH	Graisses
Acide stéarique	18	C ₁₇ H ₃₅ COOH	Graisses
Acide arachidique	20	C ₁₉ H ₃₉ COOH	Huile d'arachide
Monoinsaturés			
Acide palmitoléique	16	C ₁₅ H ₂₉ COOH	Beurre
Acide oléique	18	C ₁₇ H ₃₃ COOH	Huile d'olive
Polyinsaturés			
Acide linoléique	18	C ₁₇ H ₃₁ COOH	Huile de lin
Acide linoléinique	18	C ₁₇ H ₂₉ COOH	Huile de lin
Acide arachidonique	20	C ₁₉ H ₃₁ COOH	Huile d'arachide

Document 2 : Détermination de l'indice d'acide d'un beurre

Définition :

L'indice d'acide correspond à la masse en mg de potasse nécessaire pour neutraliser un gramme de corps gras

Principe :

L'indice d'acide est déterminé par un dosage volumétrique de type acide /base

C'est un dosage en retour.

- On fait réagir les AG (R-COOH) avec de la potasse en excès (KOH).
- Puis on dose l'excès de potasse par un acide fort (ici l'acide sulfurique : H₂SO₄) en présence de phénolphthaléine.

Rq : Le corps gras est mis en solution par un solvant organique neutre.

Protocole

Essais (faire 2 essais)

- Placer une fiole d'Erlenmeyer de 100 mL bouchant émeri sur le plateau de la balance
- Tarer la fiole, puis.
- Peser environ 2 g de beurre (relever la pesée exacte)

Puis ajouter successivement :

- 10mL de solvant éthanol/ isobutanol (boucher, dissoudre le corps gras, sans que le mélange touche le bouchon).
 - 10 mL de potasse alcoolique (agiter pour homogénéiser sans toucher le bouchon)
 - 2 gouttes de phénolphthaléine
-
- Titrer par une solution d'acide sulfurique à environ 0,05 mol.L⁻¹ en agitant constamment jusqu'à décoloration stable 30 secondes.
 - Noter les chutes de burette V_{E1} et V_{E2}

Témoin (faire 1 seul témoin)

- Effectuer les mêmes opérations, mais sans mettre le corps gras.
- Noter la chute de burette V_T

Calcul

Dans ces conditions l'indice d'acide du beurre se calcule grâce à l'équation aux grandeurs suivantes :

$$IA = \frac{2 \times C_{H_2SO_4} \times (V_T - V_E)}{m_{\text{beurre pesé}}} \times M_{KOH}$$

Avec :

IA = indice d'acide en mg

V_T et V_E = volume des chute de brette de l'essai et du témoin en mL

C_{H₂SO₄} = concentration molaire de la solution d'acide sulfurique en n mol.L⁻¹

m = masse de beurre pesée en g

M_{KOH} = masse molaire de KOH = 56 g.mol⁻¹

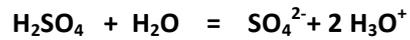
Normes

Indice d'acide du beurre satisfaisant si IA < 2,5 mg de KOH

Document 3 : Etalonnage de la solution d'acide sulfurique par pesée d'hydrogénocarbonate de potassium

Il s'agit d'un dosage volumétrique direct acide /base:

Réactions de dissociation dans l'eau :



La fin de la réaction est visualisée par virage d'un indicateur coloré : l'hélianthine

Protocole :

- Peser exactement une masse voisine de 0,2 g d'hydrogénocarbonate de potassium (KHCO_3)
 $M = 100 \text{ g/mol}$.
- Transvaser quantitativement dans une fiole d'Erlenmeyer avec un volume indifférent d'eau distillée (15-20 mL)
- Ajouter 2-3 gouttes d'hélianthine (jaune en milieu acide et rose en milieu basique)
- Doser par la solution d'acide sulfurique
- Soit $V_{\text{et } 1}$ et $V_{\text{et } 2}$ les chutes de burette

Document 4: Chromatographie en phase gazeuse

Les appareils de chromatographie gazeuse sont appelés **chromatographes**. Ils sont principalement composés:



- d'un **four** (type chaleur tournante) qui permet une programmation de température ajustable de 20 °C (-100 °C pour certains systèmes) à 450 °C et qui est également équipé d'un système de refroidissement rapide;
- d'un **système d'injection**, qui va permettre d'introduire et de rendre volatil l'échantillon à analyser. L'injection peut se faire d'une manière manuelle ou automatique à l'aide d'un échantillonneur;
- d'une **colonne** (*capillaire ou remplie*) qui peut faire plus de 50 mètres, sur laquelle les différentes molécules de l'échantillon injecté vont se séparer suivant leurs affinités avec la phase stationnaire;
- d'un **système de détection**, qui va permettre de mesurer le signal émis par les différentes molécules et de pouvoir les identifier. Pour l'enregistrement du signal émis par le détecteur, des logiciels sur PC remplacent avantageusement les enregistreurs analogiques sur papier;
- d'un **système de détendeur-régulateur** pour les gaz utilisés (hélium, hydrogène, azote et air comprimé). Sur les chromatographes modernes, on trouve des systèmes électroniques pour la régulation des gaz qui sont également purifiés par des cartouches filtrantes.

Principe

La **chromatographie en phase gazeuse (CPG)** est, comme toutes les techniques de chromatographie, une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (par exemple des acides gras). Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie.

Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une *colonne*, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée *phase stationnaire*, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un *gaz porteur* (ou *gaz vecteur*). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps (temps de rétention) qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

Un détecteur mesure les molécules qui sortent et rend un diagramme sous forme de pics. Un pic correspond à une molécule et l'aire du pic est proportionnelle à la quantité de molécule.

Analyse des chromatogrammes

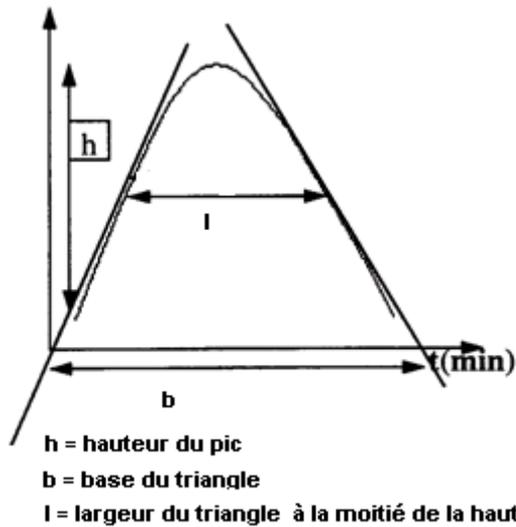
Une bonne séparation se traduira par séparation distincte des pics correspondant à chacun des produits.

Un chromatogramme doit être parfaitement reproductible.



Le temps de rétention (t_R en min) est une caractéristique de chaque soluté dans les conditions opératoires fixées.

L'efficacité d'une colonne qui est mesurée en nombre de plateau théorique = Nombre de molécule sortant de la colonne en fonction du temps



Analyse quantitative

Cette analyse est basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou à la quantité de produit analysé.

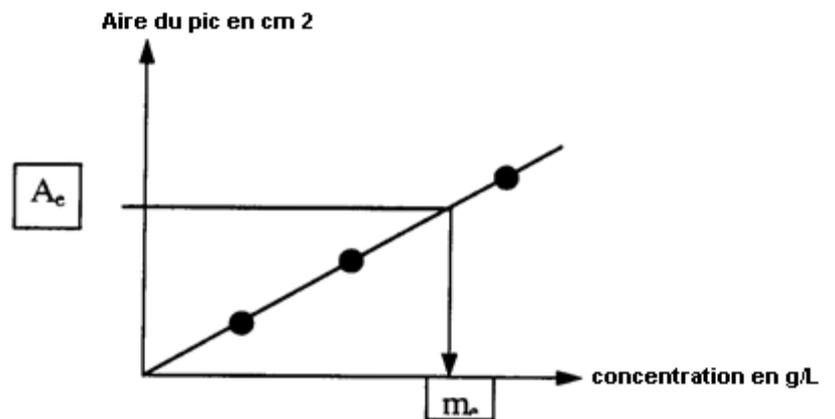
On trace des tangentes au pic : on obtient un triangle.

Le calcul de l'aire se fait alors en multipliant la base du triangle et la hauteur le tout divisé par 2.

Un autre calcul est de multiplier la hauteur du pic par la largeur prise à la moitié de la hauteur du pic.

Méthode de l'étalonnage externe

Il est possible de réaliser une courbe d'étalonnage : Aire = f(masse ou concentration du produit), à partir de solution étalon du produit à doser. Le volume injecté de chaque étalon sera constant et l'injection ultérieure du même volume V de l'échantillon à doser permet, à l'aide de la mesure de l'aire du pic reportée sur la courbe d'étalonnage, de connaître la masse ou la concentration recherchée.



Document 7 : Effet de l'alimentation sur le % relatif des AG dans la matière grasse laitière

Alimentation	% AGS	% AGMI	% AGPI
Sans tourteaux de colza	74,7	22,9	2,4
Avec tourteaux de colza	67,8	27,6	4,6

Source ONILAIT

Document 5 : Schéma simplifié du protocole utilisé pour la chromatographie en phase gazeuse du beurre et l'étalonnage

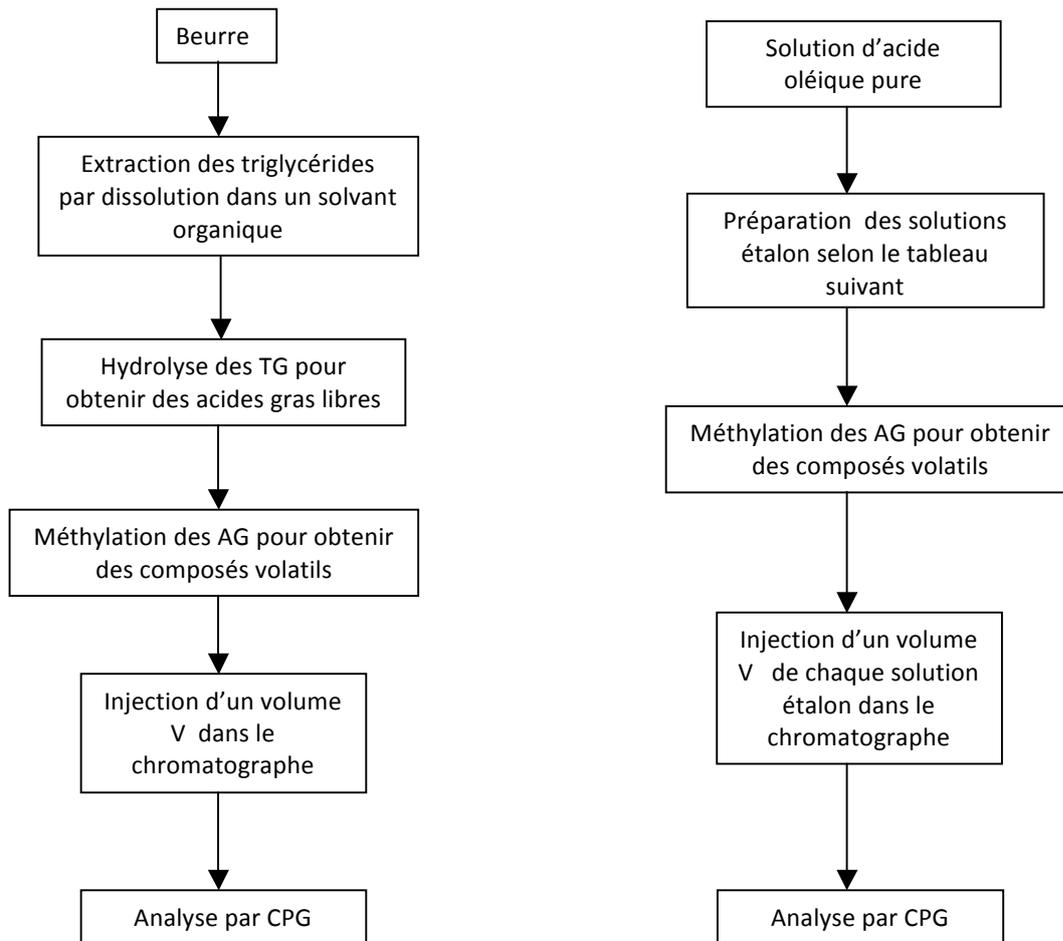


Tableau de préparation des solutions étalon d'acide oléique

Solution étalon	S 1	S 2	S 3
Solution d'acide oléique pure (mL)	0,5	1	1,5
Solvant organique (mL)	4,5	4	3,5

Document 6 : Chromatogramme et tableau de résultat de la séparation des acides gras du beurre par CPG

Acide gras	pourcentage
Acide palmitique	31,95
Acide stéarique	11,3
Acide myristique	15,33
Acide butyrique	4,07
Acide laurique	3,89
Acide caprique	3,42
Acide caproïque	2,48
Acide caprylique	2,24
Acide oléique	21
Acide linoléique	2,02
Autres AG mono insaturés	1,59
Autres AG poly insaturés	0,71

Aire en cm² des solutions étalon d'acide oléique après analyse par CPG

Solution étalon	S 1	S 2	S 3
Aire en cm ²			

