**Laboratoire identification de macromolécules**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

On entend souvent que le lait est un aliment complet. Dans ce travail tu devras identifier les composantes de différents types de lait et de 2 produits issus de la transformation du lait.

On retrouve sur le marché plusieurs sous-produits laitiers. Puisque ces produits sont issus du lait entier récolté à la ferme la première étape est de déterminer les composantes du lait.

Le lait est une substance complexe sa composition varie en fonction de l’espèce animale, de la race, de son alimentation et même de la saison. Complète le tableau ci-dessous pour chacun des constituants du lait frais de vache.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Constituants** | **Description formule semi-développée** | **Quantité****(g/100 g)** |
| Eau |  |  |
| Glucide |  |  |
| Lipide |  |  |
| * Acides gras saturés
 |  |  |
| * Acides gras monoinsaturés
 |  |  |
| * Acides gras polyinsaturés
 |  |  |
| Protéine (3 principales) |  |  |
|  |  |
|  |  |
| Matière azotée non protéique |  |  |
| Minéraux |  |  |
| Vitamines |  |  |
| Enzyme |  |  |
| Gaz dissous |  |  |

Les composantes du lait n’ont pas les mêmes comportements vis-à-vis de l’eau.

Le lait de vache est constitué d’une solution vraie, d’une solution colloïdale, d’une suspension colloïdale et d’une émulsion.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **État physicochimique** | **Constituants** | **Dimension (mm)** |
| Solution vraie | Glucide | 10-9 à 10-10 |
| Minéraux | 10-3 à 10-4 |
| Solution colloïdale | Protéine du sérum | 10-2 à 10-3 |
| Émulsion | Lipide | 0,1 à 20 |
| Suspension colloïdale | Micelle de caséines | 0,03 à 0,3 |

**Définition :**

* **Solution vraie** : mélange de substances soluté — solvant ;
* **Solution colloïdale** : mélange formé d’une phase dispersée non solubilisée, présente sous forme de fines particules solides dans une phase liquide dont les particules ont une forte affinité pour la phase aqueuse ;
* **Suspension colloïdale** : mélange formé d’une phase dispersée non solubilisée, présente sous forme de fines particules solides dans une phase liquide ;
* **Émulsion** : mélange d’une phase dispersée dans un liquide non solubilisé, sous forme de fines gouttelettes dans une phase dispersante liquide.

**Analyse de nutriments**

**But :** Mettre en évidence des nutriments du lait entier, du lait écrémé et du lactosérum

**Matériel**

|  |  |
| --- | --- |
| * Lait entier (120 mL environ)
* Lait écrémé (20 mL environ)
* Lactosérum (20 mL environ)
* Caillé (20 mL environ)
* Solution de glucose
* Huile végétale
* Blanc d’oeuf
* Une feuille de papier brun
* 6 pipettes plastiques 3 mL
* 2 béchers de 500 mL
* 1 tige de verre
* Un cylindre gradué de 10 mL et 100 mL
* Un support à éprouvette
* Éprouvettes
* Pince
 | * Du papier filtre (ou filtre nylon)
* Solution de Benedict (Lugol ou liqueur de Fehling)
* Colorant Soudan III
* Oxalate d’ammonium
* Nitrate d’argent.
* Molybdate d'ammonium
* Acide nitrique concentré (Ruban indicateur de protéines ou NaOH (1 mol/L) et CuSO4 (0,5 %))
* Acide acétique 1 mol/L
* Eau distillée
* Bain-Marie
* Plaque chauffante
* 1 entonnoir
 |

**Protocole**

**Étape 1 : Préparer le lactosérum**

Le lactosérum est le liquide résultant de la coagulation du lait. C’est le résidu liquide obtenu lors de la fabrication du fromage.

1. Verser 100 mL de lait 3,25 % dans un bécher
2. Porter le lait près du point d’ébullition (80 °C).
3. Dès les premiers bouillons, ajouter 5 mL d’acide acétique
4. Éteindre la chaleur.
5. Laisser reposer pendant 10 minutes.
6. Placer un entonnoir sur un cylindre gradué de 100 mL ou un bécher Placer un papier filtre. Dans le filtre.
7. Laisser s’égoutter pendant 15 minutes afin de retirer le lactosérum.
8. Conserver le lactosérum et le caillé pour la partie 2 du laboratoire.
9. Si le caillé est trop dense, ajouter de l’eau distillée au caillé et bien mélanger.

**Étape 2 : Identification des composantes**

Pour valider la présence des nutriments, des échantillons témoins connus seront utilisés. L’eau qui ne contient pas le nutriment, le glucose (sucre) l’huile végétale (lipide) blanc d’œuf (protéine).

**Partie A : Les glucides**

* 1. Préparer un bain d’eau chaude en remplissant à moitié un bécher.
	2. Identifier les éprouvettes
		1. Eau
		2. Glucose
		3. Lait entier
		4. Lait écrémé
		5. Lactosérum
		6. Caillé
	3. Verser 3 mL de chacune des substances dans l’éprouvette correspondante
	4. Ajouter dans chacune des éprouvettes 2 mL de solution de Benedict.
	5. Placer les éprouvettes dans le bain-marie et chauffer doucement pendant 5 à 10 minutes.
	6. Repérer les changements de couleur et noter les observations.

***Note :*** *autre technique d’identification des glucides*

1. *Test de Lugol : ajouter 2 gouttes de Lugol dans chaque éprouvette*
2. *Liqueur de Fehling : ajouter 3 gouttes de Liqueur de Fehling dans chaque éprouvette. Placer les éprouvettes dans le bain-marie et chauffer doucement pendant 5 à 10 minutes.*

**Partie B : Les lipides**

1. Test du papier
	* 1. Sur une feuille de papier brun, dessiner 6 cercles d’environ 4 cm de diamètre
		2. Identifier les cercles de 1 à 6 (**Note**: *le glucose est remplacé par l’huile végétale*)
		3. Eau
		4. Huile végétale
		5. Lait entier
		6. Lait écrémé
		7. Lactosérum
		8. Caillé
		9. À l’aide d’une tige de verre, déposer et frotter chacun des échantillons dans le cercle correspondant. Utiliser le même ordre que pour le test des glucides
		10. Laisser sécher la feuille puis observer la présence de traces translucide sur le papier
		11. Noter vos observations.
	1. Observation microscope
		1. Identifier les lames de 1 à 6
		2. Placer une goutte de chacune des substances sur une lame recouvrir d’une lamelle
		3. Ajouter une goutte de colorant rouge Soudan III.
		4. Observer au microscope et noter vos observations

**Partie C : Les protéines**

 a. Numéroter et identifier les éprouvettes de 1 à 6.

1. Eau
2. Blanc d’oeuf
3. Lait entier
4. Lait écrémé
5. Lactosérum
6. Caillé
7. Verser 3 mL de chacune des substances dans l’éprouvette correspondante
8. Verser prudemment quelques gouttes d’acide nitrique dans chaque tube
9. Observer les changements de couleur et noter vos observations.

 ***Note :*** *autres techniques d’identification des protéines*

1. *Ruban Albustix et sa carte des couleurs. Verser 10 gouttes de chacun des échantillons dans des verres de montres identifiés. Plonger le ruban dans la solution et faire la lecture sur la carte des couleurs.*
2. *NaOH (1 mol/L) et CuSO4 (0,5 %) Verser 5 mL de l’échantillon, ajouter 20 gouttes de NaOH et 5 gouttes de CuSO4*

**Partie D : Les minéraux**

* 1. **Sels de calcium**
		1. Numéroter et identifier les éprouvettes de 1 à 5
		2. Eau
		3. Lait entier
		4. Lait écrémé
		5. Lactosérum
		6. Caillé
1. Verser 3 mL de chacune des substances dans l’éprouvette correspondante
2. Verser prudemment quelques gouttes d’oxalate d’ammonium dans chaque tube
3. Observer la formation d’un précipité blanc. Noter vos observations.
	1. **Chlorure**
		1. Numéroter et identifier les éprouvettes de 1 à 2
4. Eau
5. Lait entier
6. Lait écrémé
7. Lactosérum
8. Caillé
	* 1. Verser 3 mL de chacune des substances dans l’éprouvette correspondante
		2. Verser prudemment quelques gouttes de nitrate d’argent (AgNO3)
		3. Observer la formation d’un précipité blanc. Noter vos observations.
	1. **Phosphate**
		1. Numéroter et identifier les éprouvettes de 1 à 2
9. Eau
10. Lait entier
11. Lait écrémé
12. Lactosérum
13. Caillé
14. Verser 3 mL de chacune des substances dans l’éprouvette correspondante
15. Verser prudemment quelques gouttes de molybdate d'ammonium
16. Observer la formation d’un précipité jaune. Noter vos observations.

**Observation**

Le rapport doit contenir les résultats de chacun des tests sous forme de tableau

**Analyse**

* 1. Lequel ou lesquels des produits analysés contenaient des glucides ?
	2. Identifier le sucre réducteur du lait. Donner sa formule semi-développée.
	3. Lequel ou lesquels des produits analysés contenaient des protéines ?
	4. Lequel ou lesquels des produits analysés contenaient des lipides ?
	5. On trouve plusieurs catégories d’acides gras dans le lait : saturés, insaturés, mono-insaturés, polyinsaturés, cis, ω3, ω6, ω 9…… Faire une recherche et donner un exemple de chacune des catégories. Indiquer lesquels sont les plus abondants dans le lait.
	6. Faire une comparaison entre la composition du lactosérum et celle du lait entier.
	7. Lequel ou lesquels des produits analysés contenaient des minéraux ?
	8. Le lait de vache contient des vitamines A, D, E, K, B2, B3, B12. Faire une recherche pour savoir si elles sont hydrosolubles ou liposolubles. Dans quels autres aliments les trouve-t-on ? Rassembler les résultats de ces recherches dans le tableau ci-dessous
	9. Quelles vitamines ne retrouve-t-on pas dans le lait écrémé ?
	10. Faire une comparaison entre la composition du lactosérum et celle du lait entier.
	11. Faire une comparaison entre la composition du caillé et celle du lait entier.
	12. Sachant que qu’un fromage est fabriqué par le même processus que la production du caillé. Quel type de lait serait le mieux pour obtenir un rendement maximum. Justifie.