**Extraction et mise en évidence**

**de la quantité de glycogène présent dans le foie**

TP mis au point et présenté par Nadine MORANGE et Dominique GANTHEIL : Lycée L. Limosin

**BUT :**

On se propose de déterminer par la méthode colorimétrique de Beer-Lambert, la quantité de glycogène préalablement extraite d' un échantillon de foie le plus frais possible, plus l'abattage de l'animal sera récent, plus le résultat de la manipulation sera probant .

**MATÉRIEL NÉCESSAIRE :**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Matière première | Appareillage | Verrerie | Réactifs | Matériel Exao |
| Foie de veau ou de porc frais | Balance  Broyeur électrique  Trompe à vide  Passoire | Buchner + filtres  Fiole à vide  Bêcher  Éprouvette  Pipette | Eau iodée  Alcool à 95  HCl concentrée  Glycogène | Color 4 (Jeulin)  Cuves colorimétriques  Logiciel Enzymo |

**MANIPULATION :**

La manipulation se déroule en deux temps, il faut en premier lieu extraire le glycogène du foie puis dans un deuxième temps réaliser le dosage de l'échantillon obtenu par rapport à une gamme étalon en utilisant la méthode de Beer-Lambert .

***Extraction du glycogène :***

* Peser et couper en petits morceaux 10 g de foie frais
* Faire bouillir le foie dans 100 ml d'eau distillée pendant 2 minutes
* Égoutter à l'aide d'une passoire puis le broyer avec un mixeur
* Ajouter 50 ml d'eau distillée et faire bouillir 5 minutes
* Filtrer sous vide sur Buchner
* Précipiter le filtrat récupéré avec 5 gouttes d'HCl concentré, (si un précipité important se forme, filtrer à nouveau afin d'éliminer l'excès protéique).
* Traiter le filtrat récupéré par 4 fois son volume d'alcool à 95 puis filtrer sous vide
* Récupérer le filtre, le laisser égoutter puis reprendre celui-ci avec 5 ml d'eau distillée
* Tester la présence de glycogène en prenant 3 gouttes du liquide obtenu et rajouter une goutte d'**eau iodée\***, (on doit obtenir une couleur brun-acajou).

**\*Eau iodée : dissoudre 1 g d'iode dans 2 g d'iodure de potassium puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée**

***Dosage de l'échantillon suivant la méthode de Beer-Lambert :***

* La loi de Beer-Lambert obéit à la relation suivante***DO = E . l . C***

**DO** ou densité optique correspond à une absorbance

**E** (Epsilon) correspond au coefficient d'extinction molaire, (il est constant pour un produit donné)

**l** est l'épaisseur du milieu traversé, (ici, il s'agit d'une cuve carré de 1 cm de coté)

**C** correspond à la concentration  du produit à étudier

**E et l sont tout les deux constants, on peut donc dire que l'absorbance sera proportionnelle à la concentration**

* *Préparation de la gamme étalon*

On prépare 100 ml d'une solution mère de glycogène à 10 g/L à partir de glycogène du commerce (Reférence au catalogue Jeulin : 117036, pureté 85%, conserver au réfrigérateur à 4¡).**Il faut tenir compte de la pureté du produit pour réaliser les solutions.**

On réalise les dilutions suivantes :

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Dilutions | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/32 |
| Concentration de glycogène en mg/ml | 4.250 | 2.125 | 1.063 | 0.266 |

Les cuves se préparent de la manière suivante :

**1 ml de solution de glycogène + 3 ml d'eau distillée + 1 goutte d'eau iodée**

**Le blanc permettant de régler le 100% de transmission se fait avec la solution diluée au 1/32**

**Les mesures se font avec une longueur d'onde de 470 nm (filtre bleu)**

**Avant de réaliser le dosage, vérifier que la coloration de l'échantillon de foie se situe bien dans la gamme**

**RÉSULTATS :**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Concentration de glycogène en mg/ml | 4.250 | 2.125 | 1.063 | 0.266 |
| Absorbances | 0.45 | 0.20 | 0.10 | 0.05 |

La courbe peut être réalisée sur du papier millimétré ou avec le logiciel Excel à partir des mesures expérimentales.

On place ensuite l'échantillon de foie dans le colorimètre, on mesure l'absorbance, on la reporte sur la courbe étalon et on déduit ainsi la concentration en glycogène de nos 10 g de foie du départ.