

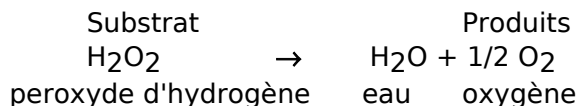
TP 5 : ACTIVITÉ CATALYTIQUE D'UNE PEROXYDASE ET D'UNE SACCHARASE

Les milieux dans lesquels les enzymes ont à exercer leur activité catalytique (cytoplasme, milieu extérieur) peuvent présenter des variations physico-chimiques.

On s'intéresse à une réaction chimique ayant lieu dans le cytoplasme des cellules de tubercules de pommes de terre, la catalase. Et celle étudiée la semaine dernière, la saccharase de la levure :

Destruction du peroxyde d'hydrogène

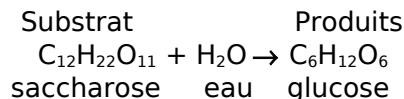
Au cours des diverses réactions chimiques qui se produisent dans les cellules il y a formation de peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée), molécule extrêmement toxique pour la plupart des constituants organiques et que les cellules détruisent très rapidement :



Cette réaction est catalysée par une enzyme appelée peroxydase.

Hydrolyse du saccharose

La levure rejette dans son milieu de vie une enzyme, la saccharase, qui effectue une hydrolyse du saccharose :



On cherche à savoir si les variations physico-chimiques, notamment des variations de pH ou de température, ont une incidence sur l'efficacité des enzymes.

Adopter une démarche scientifique pour répondre au problème posé : hypothèse, conséquence vérifiable, protocole mettant l'hypothèse à l'épreuve des faits, etc...

Production attendue :

Compte rendu présentant de façon structurée les étapes de la résolution du problème posé.

Les résultats obtenus par réalisation des protocoles choisis seront présentés sous la forme de tableaux.

TP 5 : FICHE TECHNIQUE

Matériel mis à disposition :

Matériel par groupe		Sur paillasse du professeur
<u>Verrerie et matériel</u>	<u>Réactifs et solutions</u>	
- 1 portoirs avec 12 tubes à essais	- 1 pissette d'eau distillée	- Pommes de terre
- 1 bécher de 250 ml	- 1 flacon d'HCl à 10%	- Levures dans l'eau (7g/L)
- 1 bain-marie à 35°C	- 1 flacon de NaOH à 10%	- 1 hachoir électrique
- 1 feutre à écrire sur le verre	- 1 flacon d'H ₂ O ₂ à 10 volumes	- 1 centrifugeuse
- 1 pipette de 10 mL avec pipeteur	- 1 flacon de liqueur de Fehling	- 1 dispositif de filtration sous vide
- 1 pipette de 2 mL avec pipeteur		- 1 bain-marie bouillant
- 5 compte-gouttes		- 1 cristalliseur de glace
		- 2 cristalliseurs de 250 mL
		- 2 pipettes de 10 mL avec pipeteurs
		- papier pH

Consignes de manipulation :

- Le filtrat de pomme de terre doit être maintenu au froid avant son utilisation.
- Les tubes réalisés doivent être numérotés et contenir le même volume final. Les volumes des différentes solutions et réactifs utilisés dans la réalisation de ces tubes et des tests doivent être identiques d'un tube à un autre : eau oxygénée ou saccharose → 5 mL ; solution d'HCl ou de NaOH → 2 gouttes ; filtrat de pomme de terre ou centrifugat de levures → 1 mL ;
- Les conditions de température et de pH doivent être réalisées dans la solution contenant le substrat et celle contenant l'enzyme avant de les mettre en contact.
- La lecture des résultats se fera de façon instantanée pour les tubes dédiés à l'activité de la peroxydase et 30 minutes après leur constitution pour les tubes dédiés à l'activité de la saccharase.