

Protocole

liste de matériel

- navet,
- boîte de pétri,
- mortier et pilon,
- balance,
- bécher 150 mL gradué,
- éprouvette (au moins) 100 mL,
- entonnoir,
- papier filtre,
- solution tampon pH 7
- pipette de 10 mL + propipette.
- Matériel ExAO, logiciel AS (atelier scientifique)
- sonde O₂,
- Solutions H₂O₂ : **0,25V, 0,5V, 1V, 4V, 10V, 20V**
- mini seringue,
- eau distillée.

PRINCIPE de l'expérimentation:

On réalise plusieurs expériences de 2 minutes en utilisant le substrat H₂O₂ à différentes concentrations.

Chaque expérience s'effectue en 2 temps :

1. Mesure de la concentration en O₂ du milieu contenant l'enzyme sans substrat durant 30 secondes.
2. Au temps T = 30 s faire l'injection de 0,3 mL de substrat à une certaine concentration et mesurer durant 1 minute 30 s la concentration en O₂ du milieu contenant l'enzyme et son substrat.

EXTRACTION DE LA CATALASE DU NAVET :

- Peser 20g de navet émincé dans la boîte de pétri,
- Broyer dans le mortier à l'aide du pilon en ajoutant progressivement 100 mL du tampon PH 7,
- Filtrer le broyat dans un bécher de 150 mL,
- Après avoir obtenu 50mL de filtrat (liquide issu de la filtration), verser 25 mL dans l'éprouvette et compléter à 100mL avec le tampon pH7,
- Vider le filtrat restant dans la cuvette et rincer le bécher.
- Verser le contenu de l'éprouvette dans le bécher puis coucher l'éprouvette dans la cuvette (**il est important de coucher l'éprouvette pour ne pas risquer de la faire tomber et de la casser pendant la manipulation**).

EXPERIMENTATION : détermination de l'évolution de la vitesse initiale

- Introduire 12 mL de filtrat (extrait enzymatique) dans le bioréacteur et fermer celui-ci,
- Préparer la mini seringue tubulée avec 0,3 mL de substrat (solution de H₂O₂ à 0.25V) **attention sans bulles d'air**,
- Mettre en place la sonde à O₂ dans le couvercle du bioréacteur
- Paramétrer le logiciel en suivant la fiche "réglage du logiciel EXAO" (fiche papier sur la paillasse),
- Lancer l'agitation à vitesse moyenne,

