

Conclusion Ce travail experimental a permis de mettre en evidence l'activite catalytique de la catalase extraite de la pomme de terre. La diminution de la pente au cours du temps peut etre expliquee par : l'epuisement progressif du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> une possible inactivation partielle de l'enzyme l'accumulation de produits Les fluctuations observees apres 120 s (augmentation legere de l'absorbance) suggerent : des erreurs experimentales (bulles, agitation insuffisante) ou une instabilite du systeme 8. La catalase assure sa detoxification rapide selon la reaction : L'etude de cette enzyme permet d'illustrer les principes fondamentaux de la cinetique enzymatique, notamment la notion de vitesse initiale et l'influence de la concentration en substrat.

Fondements theoriques 3.1 Cinetique enzymatique La vitesse d'une reaction enzymatique depend : de la concentration en substrat de la concentration en enzyme des conditions physico-chimiques (pH, temperature) Dans les conditions ou le substrat est en exces, la vitesse initiale (V<sub>0</sub>) est proportionnelle a la concentration enzymatique. = 240 nm) Cuvettes en quartz Centrifugeuse Bain de glace 4.4 Procedure experimentale a) Extraction enzymatique La pomme de terre est lavee, epluchee et homogeneisee dans un tampon phosphate. Elle joue un role fondamental dans les systemes biologiques en protegeant les cellules contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogene (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), un sous-produit du metabolisme oxydatif. Objectifs Extraire la catalase a partir d'un tissu vegetal (pomme de terre) Mettre en evidence son activite enzymatique Determiner la vitesse initiale de reaction Interpreter les resultats selon les lois de la cinetique enzymatique 3.b) Mesure de l'activite enzymatique Le melange reactionnel est prepare comme suit : 2,8 mL de tampon phosphate 0,1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Apres etalonnage (blanc), on ajoute : 0,1 mL d'extrait enzymatique L'absorbance est mesuree toutes les 30 secondes pendant 3 minutes. Perspectives Pour approfondir cette etude, il serait pertinent de : determiner K<sub>m</sub> et V<sub>max</sub> (cinetique de Michaelis-Menten) etudier l'effet du pH et de la temperature purifier l'enzyme pour ameliorer la precision 10. Discussion approfondie La linearite observee au debut de la reaction confirme que la concentration en substrat est suffisamment elevee pour que la vitesse soit independante de celle-ci. Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est une espece reactive de l'oxygene (ROS) pouvant induire des dommages cellulaires (oxydation des lipides, proteines et ADN). L'analyse cinetique montre que la catalase possede une activite elevee, caracterisee par une vitesse initiale mesurable dans les premieres secondes de la reaction. Matériel et methodes 4.1 Matériel biologique Pomme de terre (*Solanum tuberosum*) 4.2 Reactifs Tampon phosphate (pH = 7) Solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4.3 Appareillage Spectrophotometre UV (?Limites et sources d'erreurs Formation de bulles d'oxygene (O<sub>2</sub>) Turbidite de l'extrait enzymatique Mauvaise homogeneisation Variations de temperature Erreurs de pipetage 9. Introduction La catalase est une enzyme ubiquitaire appartenant a la classe des oxydoreductases. 6.2 Analyse de la courbe La courbe est decroissante Phase lineaire initiale -> cinetique fiable Ralentissement apres 60 s -> diminution du substrat 7.3.2 Loi de Beer-Lambert La mesure spectrophotometrique repose sur la relation : ou : A = absorbance ? Ainsi, la diminution de l'absorbance a 240 nm refleete directement la diminution de la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. = coefficient d'extinction molaire l = longueur de la cuve C = concentration ? Le melange est ensuite filtre ou centrifuge afin d'eliminer les debris cellulaires. Cela correspond aux conditions ideales pour mesurer la vitesse initiale. Le surnageant constitue l'extrait enzymatique brut. Cette valeur represente la vitesse initiale de degradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Resultats experimentaux Temps (s) Absorbance (A<sub>240</sub>) 0 0,80 30 0,74 60 0,68 90 0,63 120 0,50 150 0,56 180 0,54

