

Hydrolyse du saccharose : fiche prof

Deux notions sont à dégager :

- Structure du saccharose
- Notion d'enzyme : rôle, nature et propriétés

Mode opératoire :

1. Tube témoin :

Il ne se passe rien (coloration bleue due à la liqueur de Fehling)

Absence de glucides réducteurs

Le saccharose n'est pas un glucide réducteur

C'est le tube de référence, il va servir de comparaison avec les tubes suivants

2. Hydrolyse du saccharose :

2.1.

Précipité rouge brique

Présence de 1 ou plusieurs glucides réducteurs

Le saccharose a été transformé en glucide(s) réducteur(s) par l'invertase : il y a eu hydrolyse

2.2. Identification des produits d'hydrolyse

Par quelle technique peut-on identifier les produits d'hydrolyse?

→ Chromatographie

Méthode d'analyse qui sépare les constituants d'un mélange par entraînement à l'aide d'une phase mobile liquide le long d'une phase stationnaire solide qui porte les solutés à séparer.

La phase mobile migre par capillarité dans le support vers le haut : c'est donc une chromatographie ascendante.

Deux forces principales vont sur les molécules de solutés :

- force de migration due à la solubilité dans l'éluant
- force de rétention due à l'affinité pour la phase fixe

La résultante de ces 2 forces étant variable selon les solutés, ils migreront à des vitesses différentes.

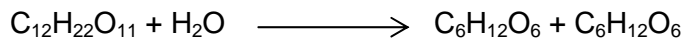
Après révélation, apparaissent des tâches à partir desquelles il faut calculer les Rf

$R_f = \text{distance du point de dépôt au centre de la tâche} / \text{distance du point de dépôt au front du solvant}$

Voir feuille annexe pour les calculs

Quelles sont les différences entre hydrolyse chimique et enzymatique ?

$100^\circ\text{C}, \text{H}_2\text{SO}_4,$
 15 minutes } L'acide est le catalyseur chimique



37°C, invertase,
2 minutes } ici le catalyseur est un extrait de matière vivante :
c'est un catalyseur biochimique = enzyme

On remarque qu'une hydrolyse enzymatique demande moins d'énergie (temps et chaleur), est beaucoup plus rapide et nécessite des conditions opératoires moins extrêmes (moins dangereuses) qu'une hydrolyse chimique : c'est donc un système beaucoup plus efficace. Les enzymes n'affectent que la vitesse de la réaction et jamais son équilibre. Une réaction défavorisée reste défavorisée même en présence d'enzyme.

3. Caractérisation des enzymes

On a vu avec l'hydrolyse de l'amidon, qu'à 100°C les enzymes sont dénaturées.

Quel constituant organique connaissez vous, qui est aussi dénaturé à 100°C ?

→ Les protides

Les enzymes pourraient donc appartenir au protides : vérification par quelques expériences caractéristiques des protides.

3.1. Réactions colorées

→ Réaction du Biuret

Apparition d'une coloration violette

Présence d'une molécule possédant au moins 3 liaisons peptiques.

L'invertase appartient donc aux protides.

→ Réaction xanthoprotéique

Apparition d'une coloration jaune

Présence d'acides aminés aromatiques

L'invertase contient des acides aminés aromatiques.

Quels sont les constituants des protides ?

→ Acides aminés

→ Peptides

→ Protéines

L'invertase n'est pas un acide aminé d'après les expériences, c'est une protéine comme la plupart des enzymes.

3.2. Spécificité des enzymes

Pas de précipité

Absence de glucides réducteurs

Le saccharose n'a pas été hydrolysé par l'amylase

L'amylase ne permet pas l'hydrolyse du saccharose, d'après le TP précédent l'amylase permet l'hydrolyse de l'amidon

Chaque enzyme est spécifique du produit (substrat = substance sur laquelle agit une enzyme) qu'elle hydrolyse.
On appelle ça la spécificité de substrat.

3.3. Quantité d'enzyme nécessaire

Précipité rouge brique

Présence de glucides réducteurs

L'invertase, même présente en très faible quantité, agit en accélérant l'hydrolyse du saccharose.

Une des propriétés des enzymes est d'agir à dose infime (1 g d'invertase permet l'hydrolyse de 200 kg de saccharose)

CONCLUSION

Enzyme :

- Fonctionne à 37°C : compatible avec la vie.
- Chez l'humain, on trouve par exemple des enzymes dans le tractus digestif
- Les enzymes étudiées en TP sont des enzymes qui catalysent des réactions d'hydrolyse : ce sont des hydrolases
Il existe en tout 6 classes d'enzymes qui catalysent toutes des types de réactions différentes.

Propriétés :

- Agit dans une certaine zone de pH : exemple : pepsine pH 2 et amylase pancréatique pH 8.
- Agit dans une zone de température : pour l'invertase : à 0°C : inhibition, à 37°C : fonctionnement maximal et à 100°C : dénaturation (car enzyme protéique).
- Spécificité d'action (en fonction des différentes classes d'enzymes).
- Spécificité de substrat : amylase sur amidon et invertase sur saccharose et pas l'inverse (modèle clé/serrure : stéréo-complémentarité au niveau du site actif (endroit où a lieu l'hydrolyse)).
Parfois pour faciliter le contact entre substrat et enzyme, on a besoin d'une autre molécule (= coenzyme) ou d'un ion. Le coenzyme ne reste pas forcément intact à la fin de la réaction.
- Agit à dose infime
- Reste intact à la fin de la réaction : c'est un catalyseur biologique qui ne fait qu'accélérer la vitesse d'une réaction possible à la base.

Utilisation :

- Lessives : enzymes glutons
- Fromages
- Laboratoires : exemple : bandelettes réactives