



ÉPREUVE A

Épreuve A: Visite des vignobles

La Slovénie est un petit pays à la jonction des Alpes, de la plaine de Pannonie, des Dinarides et de la mer Adriatique. C'est l'un des pays les plus verts au monde et l'un des plus riches en eau en Europe. Avec trois types de climat (méditerranéen, alpin et continental) se croisant sur la faible superficie du pays, la plupart du pays est propice à la culture de différents types de fruits et de légumes. Dans de nombreuses régions de la Slovénie, le climat est parfait pour cultiver du raisin, donnant une production de différents types de vins au travers des régions. Nous accompagnons deux jeunes chercheurs, Nina et Martin, dans leur exploration de l'une des régions viticoles de la Slovénie, le Karst.

C'est lors d'une belle journée ensoleillée de mai que Nina et Martin décident de partir en voyage dans le Karst. Ils se sont promenés à travers des vignobles pittoresques et ont apprécié la vue des jeunes feuilles vert clair poussant sur les vieilles vignes. Après une longue marche, ils se sont arrêtés à l'un des celliers pour une dégustation de vin. Ils ont appris de nombreuses choses à propos des diverses variétés de raisins, des différences d'arômes, de goûts et de couleurs du vin. Ils ont terminé leur voyage excitant en se demandant quelles étaient les causes de ces belles couleurs du monde du vin. Aidez Nina et Martin à détecter et apprendre les composés qui contribuent à cette belle coloration et aux processus qui se cachent derrière.



Expérience 1: Qu'est-ce qui rend les feuilles vertes ?

Introduction

Comme c'est toujours le printemps, aucun raisin ne pousse encore. Pourtant, la vue de jeunes feuilles ressemble à une petite merveille de la nature. La couleur vert clair des feuilles a fasciné Nina et Martin. Quels composés provoquent une si belle couleur ? Ils ont décidé de révéler les secrets derrière ces feuilles vertes. Ébahis par la beauté des paysages, ils ont oublié de prendre quelques échantillons des vignes pour les tester. Ils doivent dès lors utiliser ce qui est disponible dans leur laboratoire pour observer la coloration verte des feuilles.

Dans cette expérience, vous allez extraire les pigments végétaux des feuilles d'épinard avec de l'acétone. Vous allez séparer ces pigments par chromatographie sur couche mince et isoler deux d'entre eux, respectivement le bêta-carotène et la chlorophylle a.

Matériel et équipement

Dans le bac sur la paillasse

- 1 g (0,9–1,1 g) de feuilles d'épinard (pré-pesées dans un bécher de 25 mL)
- 1,5 g de $MgSO_4$, pré-pesé dans un petit flacon
- Un mortier et un pilon
- Du coton, dans un petit flacon
- Béchers, 25 mL, 2 pièces
- Bécher, 10 mL, 1 pièce
- Bécher, 100 mL, 1 pièce
- Acétone (30 mL) dans une bouteille
- Éther de pétrole (30 mL) dans une bouteille
- Éprouvettes graduées (10 mL), 2 pièces
- Pipettes Pasteur en plastique découpées, 3 pièces
- Pipettes Pasteur en plastique intactes (3 mL), 3 pièces (si besoin, vous pouvez en demander d'autres sans pénalité)
- Agitateur/Tigette en verre, 1 pièce
- Chromatographie sur couche mince (CCM, plaque de silice sur une feuille d'aluminium, 5×10 cm)
- Bocal pour la CCM avec un morceau de papier filtre (9×10 cm), 1 pièce
- Plaque de CCM de $2 \times 6,5$ cm, pour s'entraîner
- Capillaire pour déposer la solution, 1 pièce
- Spatule, 1 pièce
- Pince à épiler, 1 pièce
- Papier pour pesée, 2 pièces (si besoin, vous pouvez en demander d'autres sans pénalité)
- Cuve/Cuvettes UV, 2 pièces
- Couvercle vert pour cuve/cuvette UV, 1 pièce
- Couvercle jaune pour cuve/cuvette UV, 1 pièce

Sous la hotte

- Plaque chauffante, préchauffée à 80 °C

Si vous renversez un produit chimique ou si vous cassez une pièce de verrerie et que vous avez besoin d'un remplacement, demandez au superviseur. Le premier remplacement est gratuit. Les remplacements suivants vous coûteront 5 points. Un nouvel échantillon de feuilles d'épinard ou une nouvelle plaque pour la CCM vous coûtera 5 points quoi qu'il arrive.

1.1 Chromatographie sur couche mince des pigments de feuille

Premièrement, préparez l'appareil de filtration. Insérez une petite quantité de coton dans une pipette Pasteur décapitée (Fig. 1.1) et poussez-la avec l'agitateur / la tige en verre jusqu'à atteindre la partie la plus étroite de la pipette. Ne compressez pas trop le coton ! Placez la pipette et son bouchon de coton sur une potence / un statif à l'aide d'une pince et placez un bécher de 10 cm sous la pipette.

Coupez en petits morceaux votre échantillon de feuilles d'épinard (déjà pré-pesés) dans le bécher de 25 mL à l'aide des ciseaux et placez-les dans le mortier. Ajoutez 1,5 g de sulfate de magnésium (pré-pesé dans un petit flacon étiqueté $MgSO_4$) et broyez-les à l'aide du pilon jusqu'à l'obtention d'une masse homogène. Ensuite, ajoutez 6 mL d'acétone avec une pipette Pasteur et broyez de nouveau pendant 1 à 2 minutes.

Transférez immédiatement la solution de pigments du mortier à l'appareil de filtration avec une pipette Pasteur. Prélever l'entièreté de la solution en évitant de prendre trop de solide. Attendez jusqu'à ce que toute la solution soit filtrée et marquez le niveau de solution atteint sur le bécher. Nommez également votre bécher afin d'éviter tout échange avec d'autres équipes. Placez le bécher sur la plaque chauffante, préchauffée à 80 °C, sous la hotte. Attendez jusqu'à ce que le niveau de la solution soit 2 à 3 fois plus faible que le volume initial (approximativement 5 à 10 minutes).

Pendant ce temps, préparez la plaque de CCM. À l'aide d'une règle et d'un crayon, tracez une fine ligne au bas de la plaque, sur le côté le plus petit, à une hauteur d'environ 10-12 mm (ligne de dépôt, figure 1.2i). Afin d'éviter d'endommager la couche de silice, n'appuyez pas trop sur le crayon.

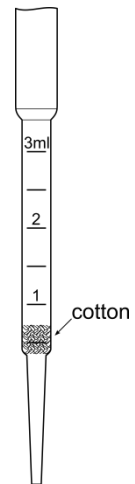


Figure 1.1: Pipette Pasteur avec un bouchon de coton pour filtrer les pigments.

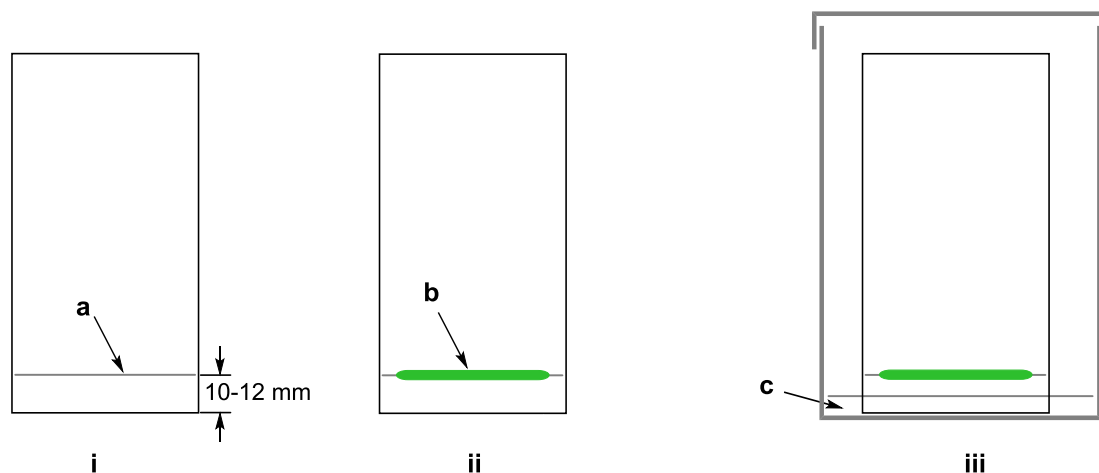


Figure 1.2: (i) Préparation de la plaque de CCM. (ii) Application de la solution de pigments. (iii) Plaque de CCM dans le bocal. Légende : (a) ligne de dépôt; (b) solution de pigments; (c) éluant.

Prélevez un peu de la solution de pigments à l'aide du capillaire de 10 μ L. Déposez délicatement la solution de pigments sur la ligne de dépôt (évittez les 3-5 mm des deux bords) en évitant d'abimer la couche de silice ! Répétez cette étape plusieurs fois afin d'obtenir 3-4 couches de solution sur la ligne de dépôt (Fig. 1.2ii). Laissez sécher la plaque de CCM sur la paillasse pendant quelques minutes.

Pour vous exercer, vous pouvez déposer un peu de la solution sur une ligne de dépôt sur la petite plaque de CCM (2 \times 6,5 cm) d'entraînement.

Placez le morceau de papier filtre (9 \times 10 cm) dans le bocal pour la CCM, la longueur en position horizontale afin de toucher le fond, et appuyez-le pour qu'il colle à la paroi. À l'aide d'une éprouvette graduée, ajoutez l'éluant : 9 mL d'éther de pétrole et 4 mL d'acétone. Fermez le bocal avec le couvercle et agitez doucement pour mélanger les solvants et humidifier le papier filtre. Laissez reposer 1-2 minutes le bocal sur la paillasse.

Ouvrez le bocal et placez-y la plaque de CCM (Fig. 1.2.iii). Si possible, évitez tout contact entre les bords de la plaque et le papier filtre. Fermez le bocal et laissez-le sur la paillasse jusqu'à ce que l'éluant arrive à 1-2 cm du bord supérieur de la plaque. Pendant l'éluion, ne bougez pas le bocal !

Question 1.1.1

Retirez la plaque de CCM avec le chromatogramme du bocal (utilisez la pince à épiler) et **appelez le superviseur pour prendre une photo de votre plaque**, ensemble avec votre code d'équipe. Vous recevrez la photo de votre plaque à la fin de l'épreuve.

❖ **Joindre la photo de la plaque de CCM à la feuille réponse.**

Question 1.1.2

Préparez un appareil de filtration (Fig. 1.1) et placez-le sur une potence / un statif. Placez une cuve / cuvette UV en dessous de la pipette.

Incisez, avec la tranche de la spatule, la couche de silice au niveau des bords supérieurs et inférieurs de la première bande jaune (supérieure) de la plaque de CCM. Grattez ensuite la bande jaune afin de récupérer la silice dans un papier de pesée et pressez doucement la silice dans le papier de pesée pour la broyer. Transférez la silice dans l'appareil de filtration, ajoutez 1,0 mL d'acétone avec une pipette Pasteur et extrayez le pigment dans la cuve / cuvette. Fermez la cuve / cuvette UV avec le couvercle jaune. Préparez un autre appareil de filtration et répétez l'opération complète avec la bande verte la plus intense. Fermez la cuve / cuvette UV avec le couvercle vert.

❖ **Appeler le superviseur pour vous accompagner avec les cuves / cuvettes UV jusqu'au spectrophotomètre et les confier au technicien. Récupérer les spectres marqués avec votre code d'équipe et les joindre à la feuille réponse.**

Dans le cas où cela se passerait mal (par ex. : la plaque de CCM obtenue n'a pas convenablement séparé les bandes de pigments ou vous n'avez pas réussi à les isoler), vous pouvez refaire la manipulation. Vous pouvez demander une nouvelle plaque de CCM au superviseur, cela vous coûtera 5 points.

1.2 Spectres des pigments végétaux

Le vin est produit à partir du jus de raisins, qui contient du glucose et d'autres sucres. Dans le processus de fabrication du vin, les sucres présents dans le jus sont fermentés en éthanol. Les sucres sont produits à partir d'eau et de dioxyde de carbone dans les plantes vertes, comme les vignes, au cours de la photosynthèse. L'énergie requise pour cette réaction endothermique provient du soleil. Les photons des rayons solaires sont absorbés dans les feuilles vertes par les molécules des pigments photosynthétiques, comme les chlorophylles vertes et les caroténoïdes jaunes et orange. Cette énergie est ensuite consommée dans un processus complexe de la synthèse du glucose.

Examinez les spectres des chlorophylles et du bêta-carotène sur la figure 1.3. Gardez à l'esprit qu'une grande absorbance signifie une faible transmittance de l'échantillon.

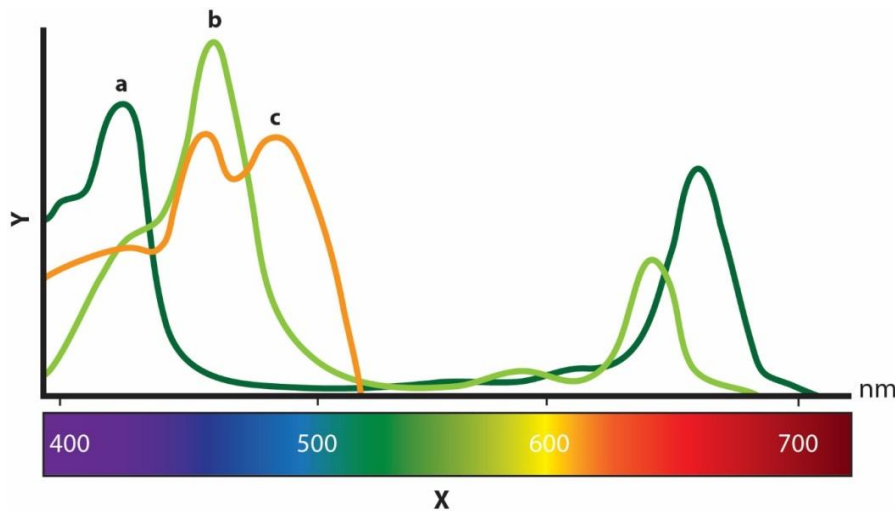


Figure 1.3: Spectres d'absorption des chlorophylles et du bêta-carotène.

L'axe Y représente l'absorbance. (a) Chlorophylle a, (b) Chlorophylle b, (c) Bêta-carotène.

Question 1.2.1

Estimez le ou les intervalle(s) approximatif(s) des longueurs d'onde dans le(s)quel(s) l'absorption de lumière par ces pigments est élevée, c'est-à-dire au-dessus de 20%.

❖ **Écrire les réponses à la question 1.2.1 sur la feuille réponse.**

Question 1.2.2

Quel est l'intervalle de longueurs d'onde (entre 400 et 650 nm) pour lequel l'absorption du mélange de ces pigments est minimale, c'est-à-dire en dessous de 20% ?

❖ **Écrire la réponse à la question 1.2.2 sur la feuille réponse.**

Question 1.2.3

De quelle couleur est le mélange de ces différents pigments ? (une seule réponse correcte)

- A Bleu
- B Vert-jaune
- C Orange-rouge
- D Violet

❖ **Écrire la bonne lettre (A, B, C ou D) à la question 1.2.3 sur la feuille réponse.**

1.3 Analyse du chromatogramme

Question 1.3.1

La silice est une phase stationnaire chromatographique très polaire. Pendant l'éluion, les pigments migrent à travers cette phase stationnaire. Regardez la figure 1.4 représentant un chromatogramme des pigments élués. Sur base de la distance parcourue par chacun sur le chromatogramme, estimez la polarité des pigments.

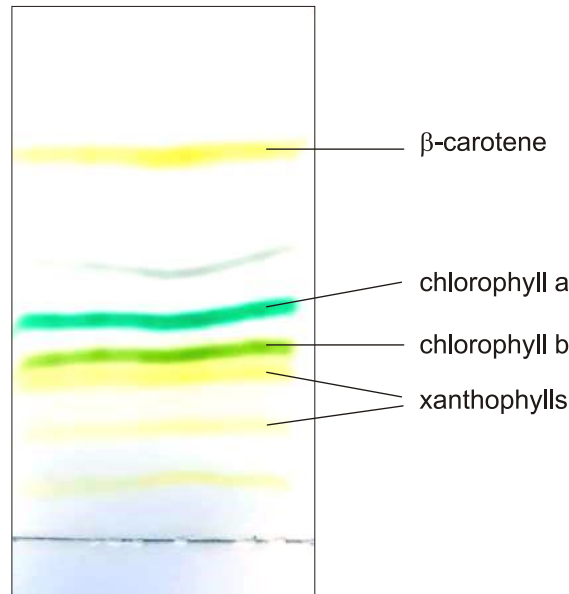


Figure 1.4: Chromatogramme des pigments végétaux.

Classez par ordre croissant les pigments du moins polaire au plus polaire.

- A Chlorophylle a
- B Chlorophylle b
- C Bêta-carotène
- D Xantophylles

❖ Remplir le tableau avec les lettres A à D pour la question 1.3.1 sur la feuille réponse

1.4 Fermentation du glucose

La levure transforme les sucres du jus de raisins en éthanol et en dioxyde de carbone. Dans un cas idéal, il y a uniquement formation d'éthanol et de dioxyde de carbone à partir du glucose, en proportions molaires 1:1.

Question 1.4.1

Équilibrez l'équation décrivant cette transformation.



❖ Écrire les nombres pour équilibrer l'équation de la question 1.4.1 sur la feuille réponse.

Le jus de raisin contient habituellement, en dehors des autres composés, des sucres pour un pourcentage massique de 15-25%. Supposez que vous avez une solution de glucose dont la concentration massique vaut 20,0%. La masse volumique de cette solution vaut $1,080 \text{ g mL}^{-1}$. Considérez que la totalité du glucose de cette solution est transformée en éthanol et en dioxyde de carbone. Vous pouvez trouver certaines données utiles au début de la feuille réponse.

Question 1.4.2

Quelle est la masse de glucose dans 1,00 L de cette solution ?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.2) sur la feuille réponse**

Question 1.4.3

Quelle est la masse d'éthanol formée dans 1,00 L de cette solution ?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.3) sur la feuille réponse**

Question 1.4.4

Le dioxyde de carbone formé est libéré de la solution sous forme gazeuse. Quelle est la masse de dioxyde de carbone formé dans 1,00 L de cette solution ?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.4) sur la feuille réponse**

Question 1.4.5

Quel est le pourcentage en masse d'éthanol dans cette solution ?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.5) sur la feuille réponse**

Question 1.4.6

Quel est le volume de dioxyde de carbone gazeux à $p = 100 \text{ kPa}$ et $T = 20 \text{ °C}$ formé par fermentation de 1000 L de jus de raisins ?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.6) sur la feuille réponse**

Question 1.4.7

Il y a eu plusieurs cas de morts par suffocation quand les personnes sont entrées dans des celliers viticoles non ventilés pendant la fermentation.

Quelle est la masse volumique du dioxyde de carbone gazeux à $p = 100 \text{ kPa}$ et $T = 20 \text{ °C}$?

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat (question 1.4.7) sur la feuille réponse**

Question 1.4.8

Est-ce que la masse volumique du dioxyde de carbone est moins élevée ou plus élevée que celle de l'air ?

- A Moins élevée
- B Plus élevée

❖ **Écrire la lettre correcte (A ou B) à la question 1.4.8 sur la feuille réponse**

Question 1.4.9

Supposez que vous construisez un cellier viticole et que vous avez deux possibilités :

- A Cellier en dessous du niveau du sol (cellier en sous-sol)
- B Cellier au niveau du sol

Laquelle des deux options serait la plus sûre pour les personnes travaillant à l'intérieur, si aucune ventilation artificielle n'est construite dedans ?

❖ **Écrire la lettre correcte (A ou B) à la question 1.4.9 sur la feuille réponse**

Expérience 2 : Sommeliers

Introduction

Inspirés par leur voyage, Nina et Martin sont allés à la rencontre du propriétaire du vignoble qu'ils admiraient. Ils lui proposèrent de l'aider, ce serait l'occasion d'en apprendre davantage sur le procédé de production du vin. Ce viticulteur, Ivan, leur proposa de participer aux vendanges à l'automne, mais comme l'automne était loin, il décida de leur montrer certains de ses vins. Nina et Martin purent comparer des échantillons de trois vins différents provenant de trois régions viticoles différentes. Comme les échantillons n'étaient pas étiquetés, ils n'étaient pas capables de se souvenir des variétés de vin goûtées. Pour cela, ils ont fabriqué un spectrophotomètre pour analyser les vins par leurs couleurs mais ils ont besoin de votre aide pour effectuer les mesures et analyser les résultats.

Matériel et équipement

- Un spectrophotomètre (imprimé en 3D) placé dans une boîte noire intégrant une LED, une photodiode, une lentille et un circuit imprimé
- filtres optiques « longpass » (495 nm, 515 nm, 530 nm, 550 nm, 570 nm, 590 nm, 610 nm, 630 nm, 645 nm, 665 nm) dans une boîte en plastique (dans la boîte noire)
- un multimètre (dans la boîte noire)
- 4 cuves / cuvettes en plastique avec rétrécissement (avec bouchons),
- 4 pipettes Pasteur
- 3 échantillons de vin dans des bouteilles en plastique, étiquetés échantillons A, B et C
- Eau désionisée (ou eau distillée)

2.1 Spectrophotométrie

La lumière blanche est composée de radiations de longueurs d'onde différentes. On peut différencier des liquides de couleurs différentes par la quantité de lumière qu'ils transmettent à différentes longueurs d'onde.

Pour la lumière visible, comprise entre 400 nm et 700 nm, l'eau transmet presque toute la lumière incidente. Les colorants organiques contenus dans les vins rouges (principalement les molécules du groupe des anthocyanes) absorbent la lumière correspondant aux parties bleue et verte du spectre donnant à ces vins leur couleur caractéristique.

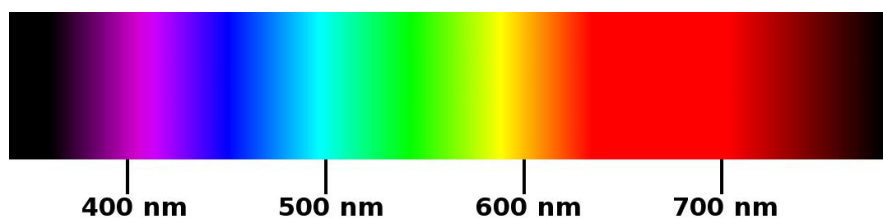


Figure 2.1: Couleurs spectrales à différentes longueurs d'onde.

La quantité de lumière transmise par un liquide est décrite par son spectre de transmission qui précise, pour chaque longueur d'onde, la fraction de la lumière incidente transmise (entre 0 et 1). En chimie analytique, les spectres de transmission sont utilisés pour déterminer la teneur en différentes espèces chimiques, comme vous avez pu le découvrir dans l'Expérience 1.

Différentes méthodes expérimentales peuvent être utilisées pour enregistrer un spectre. La plupart des spectrophotomètres émettent une lumière blanche qui traverse l'échantillon, les différentes radiations colorées contenues dans la lumière transmise sont séparées par un prisme ou un réseau puis détectées par un capteur lumineux. Dans cette expérience, vous allez utiliser une méthode différente.

Les filtres longpass sont conçus pour transmettre presque toute la lumière au-delà d'une certaine longueur d'onde et rien en deçà. Avec de tels filtres, nous pouvons uniquement mesurer l'intensité d'une partie du spectre. L'intensité de la lumière transmise **entre deux longueurs d'onde** est déterminée par la soustraction des intensités mesurées à travers des filtres longpass dont on a choisi les longueurs d'onde. Voir l'annexe A pour des explications sur la méthode de calcul.

Le spectrophotomètre est composé d'une LED, une lentille et une photodiode pour détecter l'intensité lumineuse (voir figure 2.2). L'annexe A donne des indications sur le fonctionnement du spectrophotomètre et précise **comment l'utiliser**.

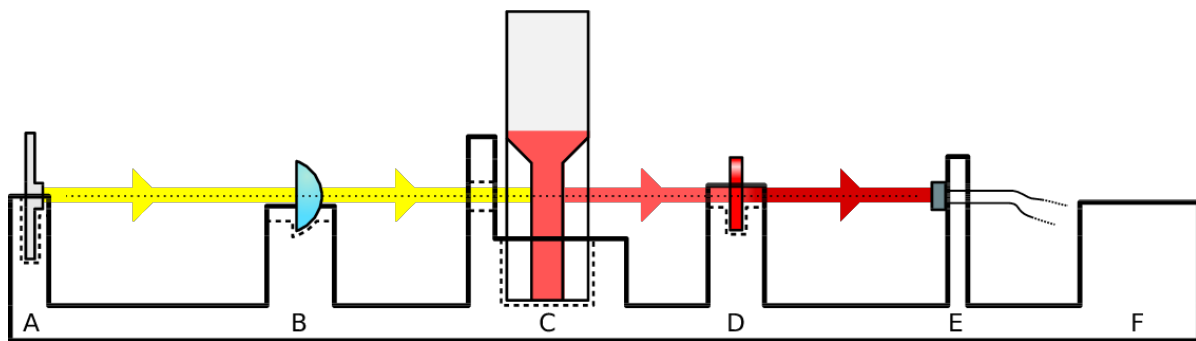


Figure 2.2: Schéma du spectrophotomètre imprimé en 3D avec le trajet suivi par la lumière : (A) lumière émise par la diode (LED); (B) lentille convergente; (C) Emplacement pour la cuve/cuvette; (D) Emplacement pour le filtre longpass; (E) Photodiode; (F) Support batterie et circuit imprimé.

Prenez le multimètre de la boîte. Branchez les câbles rouge et noir du circuit imprimé sur le spectrophotomètre. Allumez le multimètre et choisissez le **calibre 20 V**. Allumez le spectrophotomètre en appuyant sur le bouton rouge (voir Annexe A). Vérifiez qu'une fois la LED alimentée, le voltmètre affiche une tension stable non-nulle. Si ce n'est pas le cas, vérifiez les branchements. En cas de problème, appelez le superviseur. **Laissez le spectrophotomètre allumé pendant 5 minutes avant d'effectuer des mesures de sorte à ce que l'intensité lumineuse de la LED soit stabilisée. Ne pas mettre hors tension le dispositif pendant les mesures parce que son intensité initiale varie légèrement.**

**Le spectrophotomètre est également utilisé dans l'Expérience 3.
Planifiez les mesures à réaliser pour optimiser votre temps.**

Question 2.1.1

Notez le numéro de série indiqué sur le couvercle du spectrophotomètre sur la feuille réponse. Mesurez la tension lorsque la LED est allumée, **sans avoir inséré** la cuve / cuvette et le filtre, avec la boîte fermée. Notez sa valeur sur la feuille réponse.

- ❖ **Noter le numéro de série du spectrophotomètre à la question 2.1.1 de la feuille réponse.**
- ❖ **Noter votre mesure de tension à la question 2.1.1.**

Question 2.1.2

A l'aide de la pipette Pasteur, pour chaque échantillon (**eau désionisée et les 3 vins**), remplissez une cuve / cuvette jusqu'au sommet de la partie étroite et fermez-la avec un bouchon. Utilisez une pipette différente pour chaque échantillon. Des bulles d'air dans la cuve / cuvette dispersent la lumière et faussent les mesures. Si vous voyez des bulles, tapez la cuve / cuvette

(fermée) contre la paillasse pour les faire disparaître.

Pour les équipements d'optique (filtres, lentilles, ...), utilisez les gants fournis ! Si la taille de ces gants pose problème, demandez au superviseur une paire plus grande ou plus petite.

Vérifiez la longueur d'onde notée sur la tranche du filtre (écrit en très petits caractères) pour chaque filtre avant de le placer dans l'emplacement présenté sur la figure 2.2. **Faites attention à remettre correctement chaque filtre après l'avoir utilisé.** Déposez la cuve / cuvette

à rétrécissement dans son emplacement (voir figure 2.2). La lumière traverse ainsi l'échantillon sur une distance plus courte (4 mm). Remarque : ce n'est pas l'utilisation habituelle d'une cuve / cuvette à rétrécissement, nous l'orientons ainsi en raison de la configuration de notre spectrophotomètre.

Mesurez la quantité de lumière transmise à travers chaque échantillon pour chaque filtre. Pour chaque mesure, vous devez placer la cuve / cuvette et le filtre sur les emplacements dédiés puis fermer la boîte afin de réduire la pollution lumineuse due à la lumière ambiante ou les réflexions de la lumière émise par la LED. Evitez de déplacer les éléments optiques et l'échantillon pendant les mesures. Lisez la tension donnée par le multimètre après qu'elle se soit stabilisée. Une fois les chiffres stabilisés, lisez la tension donnée par le multimètre. Notez les tensions en volts dans le tableau 2.1.2 sur la feuille réponse.

- ❖ **Noter vos mesures sur la feuille réponse, tableau 2.1.2.**

Si vous vous trouvez dans l'incapacité d'obtenir des mesures ou si vos mesures ne sont pas fiables, appelez le superviseur pour obtenir un tableau de mesures pré-établi. Cela vous coûtera 17 points. Si vous avez besoin d'un nouvel échantillon, appelez le superviseur. Cela vous coûtera 5 points.

Question 2.1.3a

Pour obtenir le spectre de transmission, vous devez d'abord déterminer les intensités transmises pour chaque intervalle de longueur d'onde. Soustrayez les tensions U (mesurées par le voltmètre) des longueurs d'onde limites de chaque intervalle pour chaque échantillon. Vous devriez soustraire la valeur à la longueur d'onde la plus haute de celle à la longueur

d'onde la plus basse : $U_{495\text{nm}} - U_{515\text{nm}}$. La tension transmise vaut alors cette différence. Notez ces différences entre les valeurs du tableau 2.1.2 dans le tableau 2.1.3.

❖ Remplir les colonnes « différences de tension » (tableau 2.1.3).

Question 2.1.3b

La transmittance entre deux longueurs d'onde est le **rapport** entre l'intensité transmise à travers l'**échantillon** et l'intensité transmise à travers l'**eau**.

$$T_{\lambda_1-\lambda_2} = \frac{U_{\lambda_1} - U_{\lambda_2}}{U_{\lambda_1}^{\text{eau}} - U_{\lambda_2}^{\text{eau}}}$$

La transmittance s'étend de 0 (aucune lumière transmise) à 1 (toute la lumière transmise). Des erreurs expérimentales peuvent amener à des valeurs sortant de cet intervalle.

Divisez les valeurs des colonnes appropriées du tableau 2.13 pour calculer les transmittances pour les trois échantillons de vin. Notez ces transmittances dans le tableau 2.1.3.

❖ Remplir les colonnes “Transmittance” sur la feuille réponse, tableau 2.1.3.

Question 2.1.4

Tracez le graphe de la transmittance en fonction de la longueur d'onde pour les trois échantillons. Les 3 graphiques sont tracés sur la même feuille millimétrée en utilisant différentes couleurs à partir du tableau 2.1.3. Tracez-les sous la forme d'histogrammes (graphes en escaliers) : prenez soin d'associer un intervalle de longueurs d'onde à la transmittance correspondante. N'oubliez pas d'ajouter la légende.

❖ Dessiner le graphique sur la feuille de papier millimétrée, le nommer 2.1.4, y apposer le sticker avec le code d'équipe et l'agrafer à la feuille réponse.

2.2 Analyse

Question 2.2.1

Les courbes (Figure 2.4) représentent les spectres de transmission de 4 vins différents provenant de 4 régions différentes de la Slovénie déterminés par un spectrophotomètre commercial. En les comparant à vos graphiques, associez chaque échantillon à une région. Si vous pensez qu'un échantillon n'est représenté par aucune région viticole, notez ND comme réponse.

❖ Pour chaque échantillon, noter la région d'origine ou ND à la question 2.2.1 sur la feuille réponse.

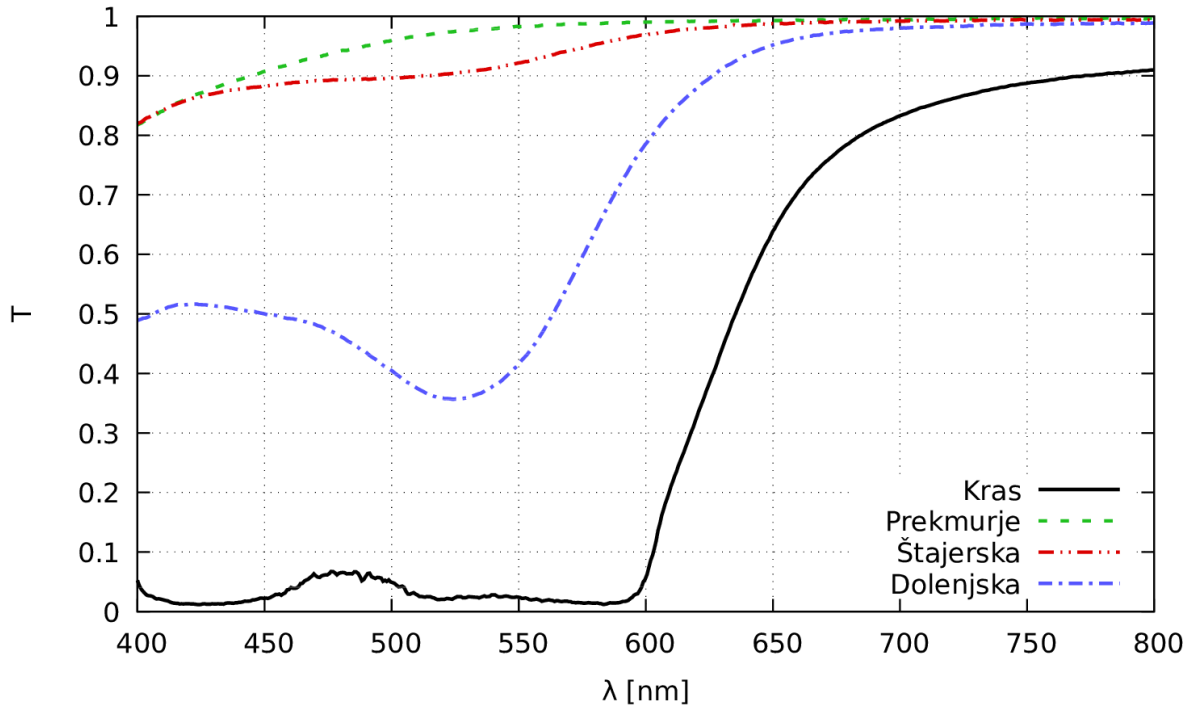


Figure 2.4: Spectres de transmission de 4 vins de 4 régions différentes (Kras, Prekmurje, Štajerska, Dolenjska).

Question 2.2.2

Déterminez quelles modifications dans l'expérience seraient à l'origine des conséquences 1 à 4. Associez à chaque conséquence une ou plusieurs modifications amenant à cette conséquence. Chaque modification peut n'entraîner aucune conséquence ou en entraîner plus d'une.

Changements :

- A Des intervalles plus étroits entre des filtres consécutifs (plus de filtres).
- B Des intervalles plus larges entre des filtres consécutifs (moins de filtres).
- C Plus faible épaisseur de l'échantillon.
- D Largeur de l'échantillon plus importante.
- E LED plus brillante.
- F LED moins brillante.
- G Voltmètre avec davantage de chiffres affichés.
- H Boîte de couleur plus claire.
- I Dilution de l'échantillon avec l'eau.

Conséquences :

1. Erreur relative plus faible sur les mesures de transmittance pour des échantillons à forte absorbance.
2. Erreur relative plus grande sur les mesures de transmittance pour des échantillons à faible absorbance.
3. Grandes erreurs de transmittance pour tous les échantillons.
4. Meilleure résolution spectrale (longueur d'onde) du spectre.

- ❖ **Noter une ou plusieurs lettres (A à D) pour chaque conséquence à la question 2.2.2 sur la feuille réponse.**

Question 2.2.3

La transmittance est plus faible pour un échantillon épais et plus grande pour un échantillon moins épais. Si vous souhaitiez mieux voir l'évolution de la transmittance avec la longueur d'onde, pour quel échantillon utiliseriez-vous une cuve / cuvette avec une épaisseur d'échantillon égale à 10 mm (au lieu des 4 mm utilisés ici) ?

- ❖ **Noter une lettre A, B ou C à la question 2.2.3 sur la feuille réponse.**

2.3 Liquides colorés

Question 2.3.1

Des liquides de différentes couleurs transmettent des radiations de couleurs différentes. Que peut-on s'attendre à observer sur le spectre de transmission d'un liquide bleu semi-transparent (une seule réponse correcte) ?

- A Le bleu aurait la plus faible transmittance, alors que les autres longueurs d'onde auraient une transmittance plus importante.
- B Le bleu aurait la plus forte transmittance, alors que les autres auraient une transmittance plus importante.
- C Cela ne se verrait pas sur le spectre.

- ❖ **Noter les lettres A, B ou C à la question 2.3.1 sur la feuille réponse.**

Question 2.3.2

L'absorbance (notée A) est la mesure de la capacité du liquide à absorber la lumière à certaines longueurs d'onde et est utilisée pour déterminer la concentration d'espèces présentes en solution. Vous allez également utiliser cette méthode dans l'Expérience 3. Quand la dispersion de la lumière dans l'échantillon peut être négligée, absorbance et transmittance sont liées par la relation suivante :

$$A = -\log_{10} T$$

Le tableau 2.1 présente les valeurs de transmittance pour une solution inconnue. Calculez les absorbances correspondantes et notez-les dans le tableau 2.3.2 sur la feuille réponse. Sur vos calculatrices, la fonction logarithme (en base 10) est calculée avec le bouton **log**.

Table 2.1: Transmittance d'une solution inconnue à 15 intervalles de longueurs d'onde.

λ [nm]	T	λ [nm]	T	λ [nm]	T
400-420	0.737	500-520	0.948	600-620	0.142
420-440	0.881	520-540	0.883	620-640	0.056
440-460	0.965	540-560	0.739	640-660	0.243
460-480	0.975	560-580	0.514	660-680	0.723
480-500	0.973	580-600	0.319	680-700	0.943

❖ **Noter vos calculs dans le tableau 2.3.2 sur la feuille réponse.**

Question 2.3.3

A l'aide des valeurs calculées dans le tableau 2.3.2, tracez l'histogramme (graphique en escaliers) pour la solution inconnue sur la feuille de papier millimétré.

❖ **Tracer l'histogramme sur la feuille dédiée, la nommer 2.3.3, l'identifier avec le sticker portant le code équipe et l'agrafer à la feuille réponse.**

Question 2.3.4

De quelle couleur est la solution inconnue avec les valeurs de transmittance du tableau 2.1 (une seule réponse correcte) ? Aidez-vous du graphique d'absorbance de la question 2.3.3 et de la Figure 2.1.

- A Rouge
- B Jaune
- C Bleu
- D Orange
- E Vert

❖ **Ajouter votre réponse à la question 2.3.4 sur la feuille réponse.**

Question 2.3.5

L'absorbance est proportionnelle à l'épaisseur de l'échantillon. Les transmittances du tableau 2.1 ont été mesurées avec une cuve / cuvette où la lumière traverse 4 mm d'échantillon. Quelle serait la valeur de cette absorbance entre 560 nm et 580 nm si on utilisait une épaisseur d'échantillon de 10 mm ? Notez votre raisonnement (avec calculs) et répondez sur la feuille réponse.

❖ **Détailler les calculs et écrire le résultat à la question 2.3.5 sur la feuille réponse.**

Expérience 3: Raisins endommagés

En automne, Nina et Martin retournent au Karst pour rendre visite à leur ami Ivan et l'aider à récolter les raisins dans son vignoble. Le vin d'Ivan est un produit certifié biologique, ils doivent donc cueillir les raisins à la main. Dans le vignoble, ils coupent les grappes et les stockent dans des caisses. Il est important de vérifier soigneusement si les grappes sont en bonne santé. Les travailleurs doivent enlever tous les raisins immatures, pourris ou moisissés afin de produire du vin de grande qualité. Nina et Martin ont remarqué que cette année, beaucoup de raisins récoltés d'une variété particulière sont de couleur brunâtre. Cela leur semble très étrange car cela ne s'était pas produit les années précédentes. Ils ont recueilli des échantillons de raisins pour une analyse plus approfondie.

Après avoir examiné la littérature, ils ont trouvé que les enzymes appelées polyphénol-oxydases (catéchol-oxydase, crésolase) sont responsables de la coloration brune des raisins endommagés. Les polyphénol-oxydases sont des métalloprotéines parce que deux ions de cuivre sont liés dans la molécule (Figure 3.1). Elles catalysent la réaction où les o-diphénols (par exemple le catéchol incolore à légèrement jaune) sont convertis en o-quinones (jaunes). Les o-quinones se polymérisent ensuite en présence d'oxygène pour former la mélanine qui présente une coloration allant du brun au noir (figure 3.2).

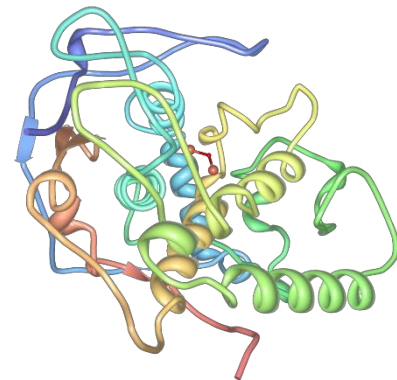


Figure 3.1: structure de la polyphénol-oxydase du grenache (*Vitis vinifera*)

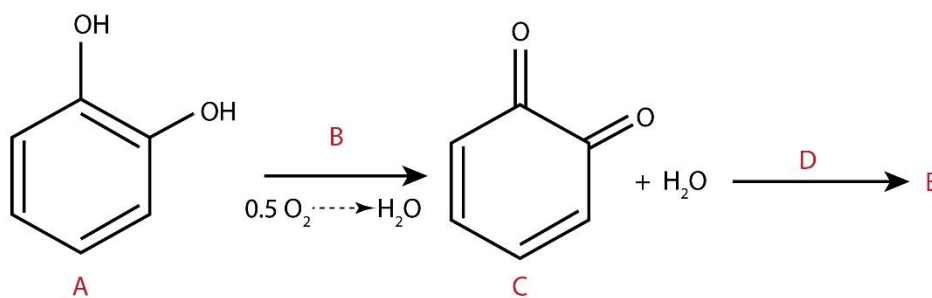


Figure 3.2: Conversion du catéchol en mélanine brun noir ; A – catéchol (incolore); B – catéchol-oxydase; C – o-quinone (jaune); D – polymérisation; E – mélanine (brun-noir).

Les phénols (par exemple le catéchol) sont stockés en petites quantités dans les vacuoles centrales d'une cellule végétale et la catéchol-oxydase est stockée dans le cytoplasme (Figure 3.3). Lorsque le tissu est endommagé, les phénols sont libérés des vacuoles et la catéchol-oxydase les convertit en quinones qui agissent par réaction comme antiseptique naturel. Cela empêche la croissance et le développement des bactéries et des champignons sur les tissus végétaux endommagés. Les quinones se lient également à certains acides aminés nucléophiles, qui inhibent la croissance et le développement de certains insectes herbivores.

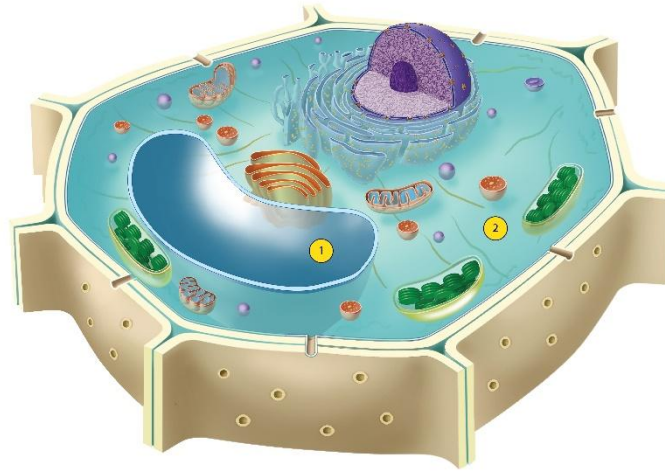


Figure 3.3: Cellule végétale (1 – vacuole centrale; 2 – cytoplasme).

L'oxydation des phénols dans les tissus végétaux est problématique d'un point de vue commercial, car près de la moitié des cultures mondiales de fruits et légumes sont perdues en raison de leur coloration brune. Nina et Martin ont préparé des échantillons pour les analyses et votre travail consiste à comparer l'activité de la polyphénol-oxydase dans différentes conditions de températures et de pH.

Matériels and équipement

- Grains de raisin, 15 pièces
- Eau désionisée (ou distillée)
- Mortier et pilon
- 2 béchers de 250 mL
- 1 bécher de 1000 mL
- 2 morceaux de gaze
- 2 entonnoirs
- 2 papiers filtre
- 13 tubes à essai (si vous en cassez un, il sera remplacé)
- 2 portoirs à tubes
- 4 Pipettes en verre de 5 mL
- Poire d'aspiration (si vous l'abîmez, on vous la remplacera sans pénalité)
- 2 éprouvettes graduées
- 2 agitateurs / tiges en verre
- Gants en nitrile
- Bains Marie (dans le couloir, le superviseur vous y conduira lorsque nécessaire)
- 2 erlenmeyers
- Solution à 1 % de catéchol (erlenmeyer de 50 mL)
- solution tampon à pH 7 (erlenmeyer de 250 mL)
- solutions tampon avec différentes valeurs de pH (6 erlenmeyers de 50 mL)
- 15 cuves / cuvettes UV (sans étranglement) avec couvercle
- Spectrophotomètre dans une boîte noire (à partager avec l'expérience 2)
- Filtre longpass à 515 nm (partagé avec l'expérience 2)
- 10 pipettes Pasteur.
- ciseaux
- Marqueurs indélébiles
- Mouchoirs en papier
- chronomètre

3.1 Préparation des échantillons

Ajoutez 40 ml d'eau désionisée dans un mortier avec 15 grains de raisin et écrasez-les avec le pilon. Le mélange doit être filtré deux fois. Tout d'abord, filtrez le mélange à travers la gaze et à la fin de la filtration, pressez un peu la gaze pour obtenir plus de filtrat. Le filtrat résultant doit ensuite être filtré une deuxième fois à travers le papier filtre dans l'erlenmeyer pour obtenir environ 25 mL du filtrat. Le filtrat contient l'enzyme polyphénol-oxydase. Utilisez le marqueur indélébile pour marquer 6 tubes en verre avec le code de l'équipe et les lettres de A_T à F_T pour tester l'influence de la température sur l'activité de la polyphénol-oxydase. Marquez 7 tubes en verre avec le code de l'équipe et les lettres de A_{pH} à G_{pH} pour tester l'influence du pH sur l'activité de la polyphénol-oxydase (Fig. 3.4).

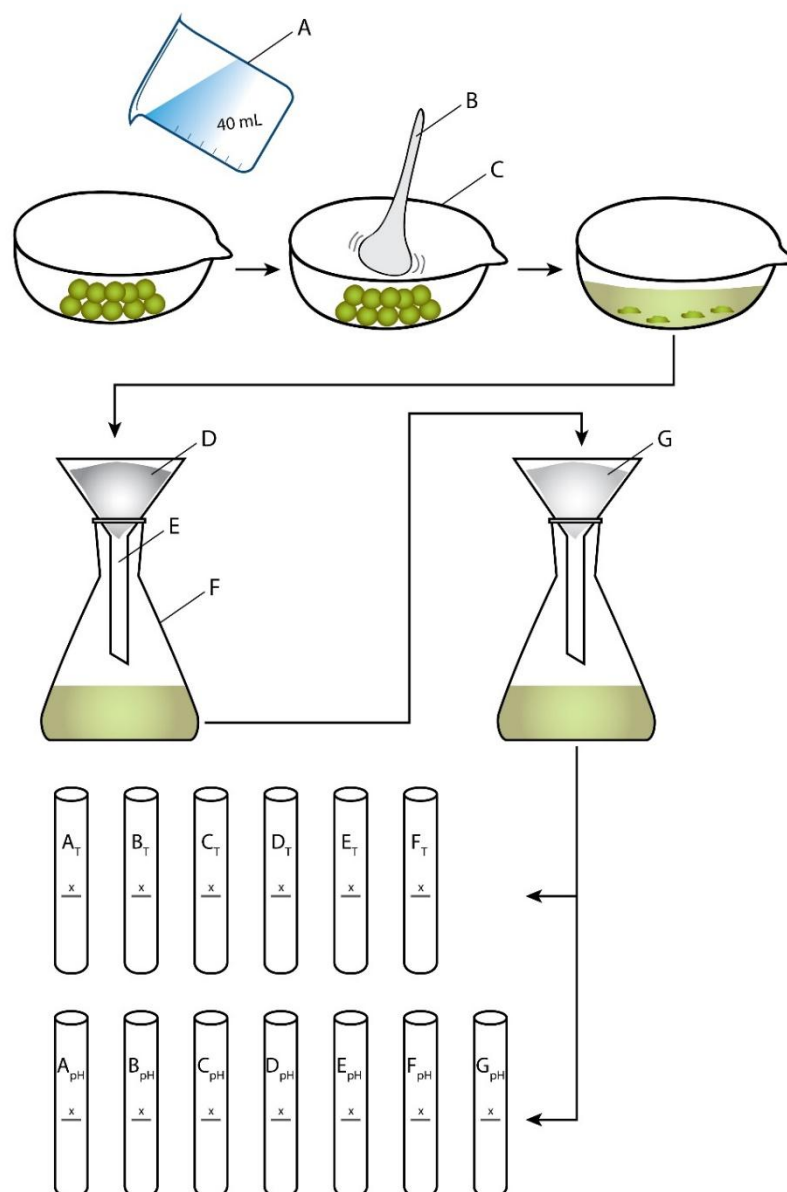


Figure 3.4: Schéma de l'expérience (A – bécher ; B – pilon ; C – mortier; D – gaze; E – entonnoir; F - erlenmeyer; G - papier filtre).

Instructions de sécurité pour la poire d'aspiration:

- Le pipetage à la bouche est interdit !
- Insérez avec précaution le bout de la pipette dans le bas de la poire afin de ne pas la briser.
- Ne laissez pas du liquide s'écouler dans le corps de la poire

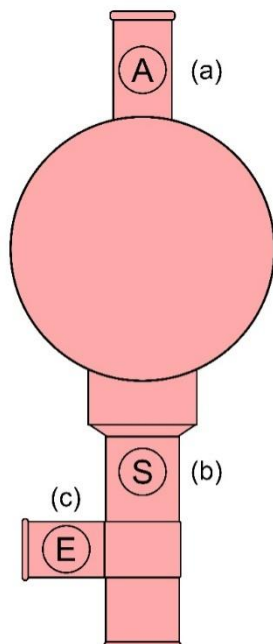


Figure 3.5: Poire d'aspiration: (a) valve à Air (expulse l'air de la poire), (b) Soupape d'aspiration (aspire la solution dans la pipette), (c) Écoulement (vide la pipette).

Influence du pH sur l'activité de la polyphénol-oxydase

A l'aide la pipette, ajoutez dans cet ordre dans chacun des sept tubes à essai :

- 1 mL de la solution de catéchol 1 % (substrat),
- 9 mL de tampon de pH approprié (voir Tableau 3.1 ci-après),
- 1 mL d'extrait de raisin (enzyme).

Influence de la température sur l'activité de la polyphénol-oxydase

A l'aide la pipette, ajoutez dans cet ordre dans chacun des six tubes à essai :

- 1 mL de la solution de catéchol 1 % (substrat),
- 9 mL de tampon pH 7,
- 1 mL d'extrait de raisin (enzyme).

Pour obtenir des résultats précis, rincez la pipette avec l'eau désionisée avant le prélèvement de chaque substance !

Tableau 3.1. Influence de la température et pH sur l'activité de la polyphénol-oxydase.

	échantillon	A	B	C	D	E	F	G
1.	Température (°C)	0	10	20	30	50	70	/
2.	pH	2	4	5	6	7	8	10

Cette étape prend beaucoup de temps!

Lorsque vous aurez préparé tous les tubes pour l'étude de l'effet de la température et du pH sur l'action de l'enzyme, appelez le superviseur immédiatement !

Le superviseur vérifiera **tous les tubes à essai** et les noms sur les tubes et **signera votre feuille** réponse.

- ❖ **Laisser incuber pendant 70 minutes les tubes à essai pour tester l'effet du pH sur l'action de l'enzyme** (régler l'alarme sur le chronomètre - voir l'annexe C pour les instructions)

Apportez les tubes pour l'expérience concernant l'effet de la température sur l'activité enzymatique au bain marie accompagné par le superviseur.

Le superviseur vous aidera à placer chaque tube dans les conditions de température adéquates. Les tubes pour le test à 0 °C seront placés dans un bain de glace, ceux pour le test à 20 °C resteront dans un portoir à température ambiante et les autres (10 °C, 30 °C, 50 °C et 70 °C) seront placés dans les bains marie aux températures adéquates (Tableau 3.1).

- ❖ **Laisser incuber pendant 70 minutes les tubes à essai pour tester l'effet de la température sur l'action de l'enzyme. Ensuite, appeler le superviseur pour vous accompagner jusqu'aux bains marie pour récupérer les échantillons. Signer la feuille réponse pour confirmer que vous avez reçu les échantillons.**

3.2 Mesure de l'activité de la phénol-oxydase par spectrophotométrie

Après l'incubation (70 minutes), mesurez les intensités de chaque échantillon et de l'eau désionisée dès que possible avec le spectrophotomètre.

Tous les échantillons doivent être incubés pendant **70 minutes**. Pendant l'incubation, le technicien remue plusieurs fois les tubes à essai pour accélérer la formation de mélanine. A la fin de l'incubation, mesurez les tensions (voltmètre) de chaque échantillon et de l'eau distillée. Utilisez ces données pour calculer la transmission et l'absorption de l'eau désionisée et des échantillons de mélanges réactionnels. Dans les tubes à essai où l'activité de l'enzyme est plus grande, la formation de mélanine est plus élevée. La valeur calculée de l'absorption est donc proportionnelle à l'activité de la polyphénol-oxydase.

Les instructions pour l'utilisation du spectrophotomètre sont données à l'annexe A. Pour l'étude de l'activité de la polyphénol-oxydase, **un filtre avec une marque de 515 nm est requis.**

Utilisez une nouvelle cuve / cuvette avec couvercle pour mesurer la transmission (T) de chaque échantillon. Assurez-vous de ne pas toucher les cuves / cuvettes sur les côtés à travers lesquels passe le faisceau de lumière. Orientez les cuves / cuvettes de sorte que le côté transparent fasse face au faisceau lumineux. La face transparente est repérée par un triangle sur le haut de la cuve / cuvette.

Notez que les cuves / cuvettes pour cette expérience sont différentes de celles de l'expérience 2.

L'intensité transmise pour les longueurs d'onde inférieures à 515 nm est égale à la différence d'intensité mesurée sans le filtre et l'intensité mesurée avec le filtre:

$$U_{\text{échantillon ou eau}} = U_{\text{sans le filtre}} - U_{515\text{nm}} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

La transmittance est le rapport de l'intensité transmise de l'échantillon et de l'eau désionisée. Par conséquent, lors du calcul de la transmittance, vous devez mesurer pour chaque échantillon les tensions avec le filtre (U_{515}) et sans le filtre ($U_{\text{échantillon}}$). Ensuite, vous devez diviser la différence de l'échantillon avec la différence mesurée de l'eau désionisée (U_{eau}). Voir l'équation ci-dessous:

$$T = \frac{U_{\text{échantillon}}}{U_{\text{eau}}} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Question 3.2.1a

Indiquez les tensions mesurées de l'eau désionisée et de chacun des échantillons avec filtre et sans filtre dans le tableau 3.2.1 de la feuille réponse.

- ❖ **Renseigner les valeurs dans les colonnes appropriées du tableau 3.2.1 sur la feuille réponse.**

Question 3.2.1b

Calculez les différences d'intensité de vos mesures dans le tableau 3.2.1 de la feuille réponse.

- ❖ **Compléter le tableau 3.2.1 sur la feuille réponse.**

Question 3.2.2a

Calculez les transmittances à partir des valeurs du tableau 3.2.1 de la feuille de réponse.

- ❖ **Compléter le tableau 3.2.2. avec les transmittances calculées.**

Question 3.2.2b

Utilisez les transmittances du tableau 3.2.2 pour calculer l'absorbance (A) en utilisant la formule suivante:

$$A = -\log_{10} T$$

- ❖ **Compléter le tableau 3.2.2 sur la feuille réponse.**

Dans le cas où quelque chose n'irait pas.

Si vous cassez le tube à essai avec l'échantillon et que vous n'avez pas le temps de préparer et d'en incuber un autre, vous pouvez appeler le superviseur et obtenir une valeur de mesure pré-préparée. Pour chaque tube à essai brisé, vous obtenez 0 point pour la ligne au tableau 3.1.1 ou 3.1.2 et au tableau 3.2.1 ($U_{\text{sans filtre}}$ et U_{515}). Les autres calculs peuvent être effectués sans pénalité.

Si vous n'êtes pas en mesure de calculer l'absorbance, vous pouvez appeler le superviseur et demander un tableau avec les mesures finales. Cela vous coûtera tous les points pour le tableau 3.2.2.

Question 3.2.3

Tracez un graphique montrant l'activité de la polyphénol-oxydase (exprimée par l'absorbance, calculée dans le tableau 3.2.2 dans la feuille réponse) en fonction de la température sur le papier millimétré. Tracez la courbe en reliant les points pour vous aider à mieux étudier la forme du graphique.

- ❖ **Tracer un graphique sur le papier millimétré, identifier cette feuille "3.2.3", placer un autocollant avec le code de l'équipe dans le coin supérieur droit du papier millimétré et l'attacher à la feuille réponse.**

Question 3.2.4

Tracez un graphique montrant l'activité de la polyphénol-oxydase (exprimée par l'absorbance) en fonction du pH sur le papier millimétré. Tracez la courbe en reliant les points pour vous aider à mieux étudier la forme du graphique.

- ❖ **Tracer un graphique sur le papier millimétré, identifier cette feuille "3.2.4", placer un autocollant avec le code de l'équipe dans le coin supérieur droit du papier millimétré et l'attacher à la feuille réponse.**

3.3 Analyse

Nina et Martin ont récemment testé d'autres enzymes dans d'autres études. Vous pouvez maintenant utiliser les connaissances et les résultats que vous avez acquis au cours de l'expérience pratique précédente pour résoudre ces tâches.

Question 3.3.1

Laquelle des plages de température décrit le mieux l'activité la plus élevée de la polyphénol-oxydase (une seule réponse correcte) ?

- A 0 °C – 70 °C.
- B 40 °C – 70 °C.
- C 20 °C – 30 °C.
- D 0 °C – 20 °C.
- E 50 °C – 70 °C.

- ❖ **Ecrire la lettre correcte (A, B, C, D ou E) sur la feuille réponse : question 3.3.1.**

Question 3.3.2

Quel énoncé justifie correctement l'activité optimale de la polyphénol-oxydase (une seule réponse correcte) ?

- A La réaction est linéairement liée (fonction affine) à la solubilité des gaz dans les liquides. À des températures élevées (par rapport à la température ambiante), les gaz sont plus solubles dans les liquides. Quand il fait plus chaud, l'oxygène est plus soluble dans le cytoplasme de la cellule, c'est pourquoi la vitesse de réaction est plus élevée, ce qui entraîne une formation de mélanine plus élevée.
- B La réaction est linéairement liée (fonction affine) à la solubilité des gaz dans les liquides. À basse température (par rapport à la température ambiante), les gaz sont plus solubles dans les liquides. Quand il fait plus froid, l'oxygène est plus soluble dans le cytoplasme de la cellule, c'est pourquoi la vitesse de réaction est plus élevée, ce qui entraîne une formation de mélanine plus élevée.
- C La réaction est liée linéairement (fonction affine) à la solubilité des gaz dans les liquides. À basse température (par rapport à la température ambiante), les gaz sont plus solubles dans les liquides. Quand il fait plus froid, l'oxygène est plus soluble dans le cytoplasme de la cellule, c'est pourquoi la vitesse de réaction est plus faible, ce qui entraîne une formation plus faible de la mélanine.
- D La température n'affecte pas l'activité de la polyphénol-oxydase.

❖ **Renseigner la lettre correcte (A, B, C ou D) sur la feuille réponse: question 3.3.2.**

Question 3.3.3

Laquelle des plages de pH décrit le mieux l'activité la plus élevée de la polyphénol-oxydase (une seule réponse correcte) ?

- A pH 0-3
- B pH 0-10
- C pH 0-5
- D pH 4-8
- E pH 6-9
- F pH 7-10

❖ **Renseigner la lettre correcte sur la feuille réponse: question 3.3.3.**

Question 3.3.4

Avez-vous déjà laissé des tranches de pommes sur la table et après 10 minutes, les pommes sont devenues brunâtres ? Dans ce cas, il s'agit également d'une réaction où le catéchol est transformé en o-quinones par la polyphénol-oxydase. Les o-quinones polymérisent ensuite en mélanine qui a une coloration brune à noire. Une réaction similaire peut également se produire avec des fruits endommagés (pommes) dans des entrepôts ou à la maison. Laquelle des méthodes décrites de stockage ou de traitement du fruit prévient ou ralentit l'action des polyphénol-oxydases et empêche ainsi le brunissement (plusieurs réponses correctes) ?

- A Nous conservons les tranches de pomme et autres fruits au réfrigérateur, car l'activité de l'enzyme polyphénol-oxydase diminue à basse température.
- B Nous ventilons constamment l'entrepôt où sont stockés les fruits pour garantir une oxygénation suffisante. Avec suffisamment d'oxygène, nous pouvons arrêter l'activité des polyphénol-oxydases.
- C Les fruits sont stockés dans des entrepôts sous atmosphère d'azote ou atmosphère contenant du dioxyde de carbone. De cette manière, l'apport d'oxygène est arrêté et l'activité de la polyphénol-oxydase est diminuée.
- D Nous badigeonnons du jus de citron sur les tranches de pomme ou d'autres fruits.
- E Nous badigeonnons de l'eau sur les tranches de pomme ou d'autres fruits.
- F Nous séchons des tranches de pommes ou d'autres fruits avec un sèche-cheveux pour éviter qu'ils ne brunissent. De cette façon, nous augmentons la température et augmentons l'apport en oxygène.
- G Les tranches de pommes séchées sont traitées avec des sulfites qui agissent comme des antioxydants pour garder les fruits croustillants et les empêcher de brunir.

❖ **Renseigner la ou les lettre(s) correcte(s) sur la feuille réponse: question 3.3.4.**

Question 3.3.5

Un type particulier d'enzyme a été isolé à partir de bactéries vivant dans une zone alcaline modérée à une température d'environ 70 °C ou plus. Trouvez quelles courbes dans les graphiques montrent leur plage d'action selon la température et le pH (Figure 3.7 à la fin de ce document, graphique (a)) (une seule réponse correcte).

- A Courbes 1 et 5
- B Courbes 2 et 4
- C Courbes 2 et 5
- D Courbes 3 et 4
- E Courbes 3 et 5

❖ **Renseigner la lettre correcte sur la feuille réponse: question 3.3.5.**

Question 3.3.6

Quelles plages de température et de pH pourraient représenter la gamme d'enzymes qui sont isolées de l'estomac humain (Figure 3.7 à la fin de ce document, graphique (b)) (une seule réponse correcte)?

- A Courbes 1 et 4
- B Courbes 1 et 5
- C Courbes 2 et 4
- D Courbes 2 et 5
- E Courbes 3 et 4

❖ **Renseigner la lettre correcte sur la feuille réponse: question 3.3.6.**

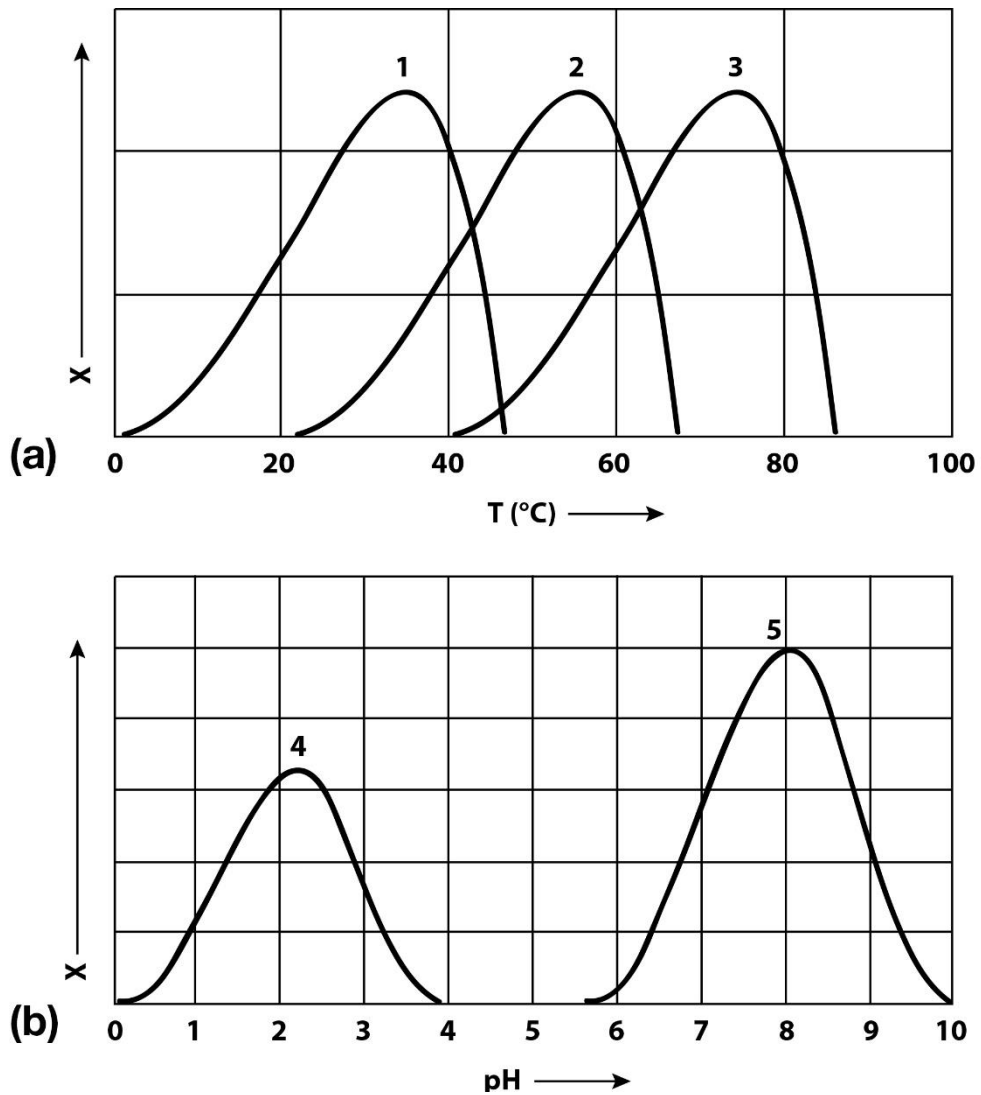


Figure 3.7: Activité de différents types d'enzymes dans différentes conditions de température (graph (a)) et différents pH (graph (b)) (X – activité enzymatique).

Annexe A: Mesure de la transmittance

Introduction

La transmittance est définie comme le rapport entre l'intensité de la lumière transmise et celle de la lumière incidente. Nous allons mesurer l'intensité de la lumière transmise avec un spectrophotomètre simple, représenté sur la Figure 1.

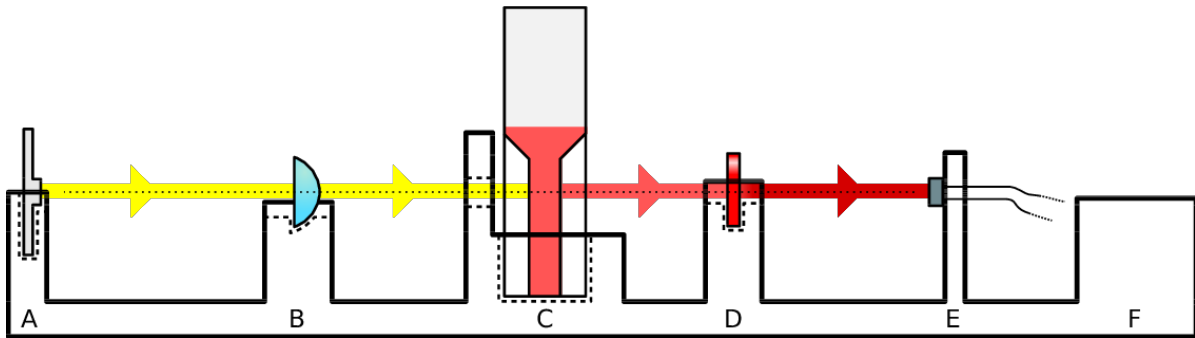


Figure 1: Schéma du support du spectrophotomètre imprimé en 3D avec trajet de lumière renseigné:
(A) diode électroluminescente (LED); (B) lentille convexe; (C) Emplacement pour la cuve;
(D) Emplacement pour le filtre longpass; (E) Photodiode; (F) support de batterie et carte de circuit imprimé.

L'ensemble du spectrophotomètre est contrôlé par un petit circuit alimenté par une batterie de 9 volts. En tant que source de lumière, nous utilisons une LED blanche (A). La lumière de la LED est focalisée par une lentille (B) dans un faisceau de lumière parallèle. Ce faisceau traverse la cuve avec l'échantillon (C) et un filtre qui peut être changé ou retiré (D). Les filtres ne transmettent qu'une partie du spectre et nous aident à sélectionner l'intensité des longueurs d'onde (couleurs) que nous mesurons. La quantité de lumière (l'intensité) est mesurée par la photodiode (E). La conductivité électrique de la photodiode est proportionnelle à l'intensité de la lumière incidente. Nous allons mesurer l'intensité de la lumière en utilisant le voltmètre pour mesurer la tension sur la résistance, câblée en série à la photodiode (le circuit F est également expliqué dans la Figure 2).

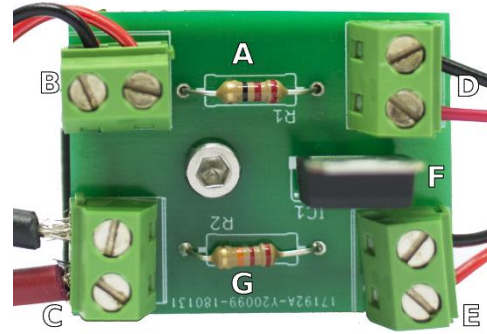
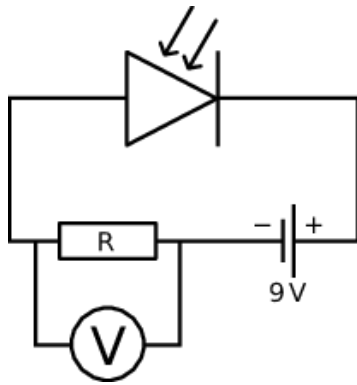


Figure 2: *Gauche*: Schéma du circuit électronique de mesure de l'intensité lumineuse. La photodiode (en haut) est connectée à la batterie via une résistance (en bas). Le multimètre mesure la tension sur la résistance.

Droite: Une photo du circuit. A: résistance pour régler la tension de la LED; B: Fils pour alimenter la LED; C: Fils pour mesurer la tension (conduisant au multimètre); D: Fils connectés à la batterie; E: Fils connectés à la photodiode (capteur de lumière); F: puce de régulateur de courant pour la LED; G: résistance pour mesurer la tension (voir schéma de gauche).



Figure 3: Multimètre pour mesurer la tension sur une résistance, montrant la tension 8,78 V. Le mode de mesure pour les tensions jusqu'à 20 V est sélectionné.

Utilisation des filtres:

Le spectrophotomètre seul mesure l'intensité de toute la lumière qui arrive sur le capteur (photodiode). Afin de mesurer les intensités des différentes parties du spectre visible, nous utiliserons des filtres pour sélectionner les longueurs d'onde qui atteignent le capteur. Les filtres longpass bloquent toute la lumière en dessous d'une longueur d'onde choisie et transmettent toute la lumière au-dessus. Pour mesurer l'intensité lumineuse sur un intervalle entre deux longueurs d'onde, nous allons soustraire les intensités mesurées pour les filtres correspondant aux limites inférieure et supérieure de l'intervalle (voir la Figure 4 pour un croquis expliquant le calcul). En utilisant de nombreux filtres, nous pouvons estimer la composition spectrale de la lumière.

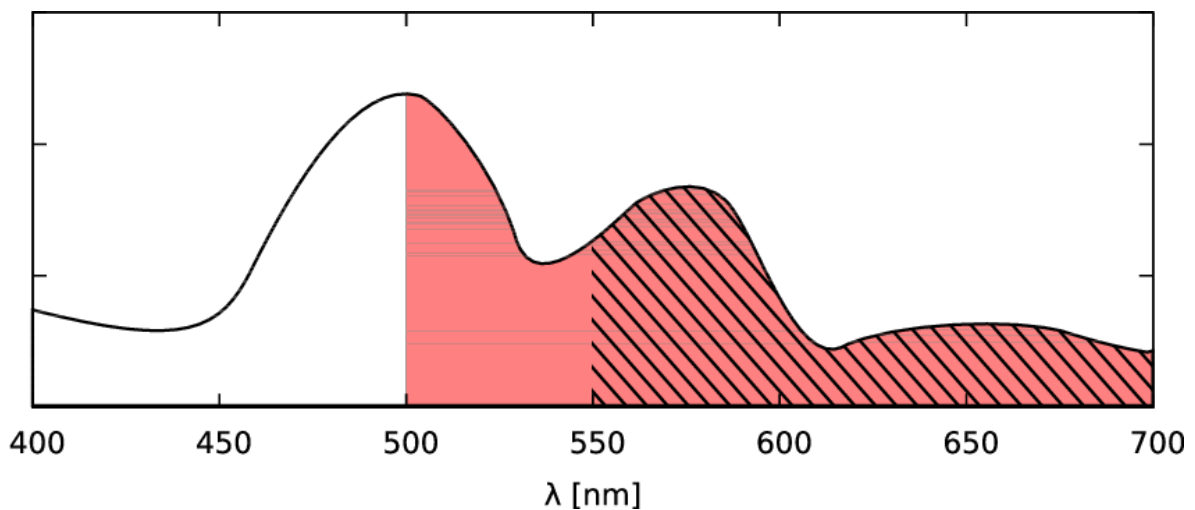


Figure 4: Esquisse d'un graphique montrant l'intensité de la lumière (en unités arbitraires) à différentes longueurs d'onde. Exemple: l'intensité de la lumière entre 500 nm et 550 nm est la différence des intensités de toute la lumière au-dessus de 500 nm (colorée en rouge) et toute la lumière au-dessus de 550 nm (hachurée). Les filtres longpass sont utilisés pour transmettre la lumière au-dessus d'une longueur d'onde choisie et bloquer le reste.

Prise des mesures:

Prenez la boîte en plastique avec des filtres et le multimètre de la boîte noire.

Pour mesurer la tension, utilisez le multimètre en mode tension (le cadran tourné dans le sens des aiguilles d'une montre à partir de l'état éteint - voir la Figure 3). Connectez les câbles rouge et noir au multimètre (rouge à rouge, noir à noir). Le multimètre a différentes pages de mesure avec des précisions différentes.

Allumez le spectrophotomètre avec l'interrupteur rouge sur le fil qui relie la batterie à la carte de circuit imprimé. Laissez la LED allumée pendant au moins 5 minutes avant les mesures, afin que sa luminosité se stabilise. N'éteignez pas le spectrophotomètre pendant la mesure, car l'intensité de la LED varie légèrement.

Réglez la plage de mesure sur 20 V (voir Figure 3). Si vous remarquez une chute de tension inférieure à 2 V, vous pouvez passer à une plage de 2 000 mV (= 2 V) afin d'obtenir une précision décimale. Dans ce cas, revenez à 20 V avant de retirer le filtre ou la cuve, afin de ne pas dépasser la plage. Si l'écran affiche des tirets à la place des chiffres, réglez-le sur une plage de 20 V et maintenez le bouton rouge HOLD enfoncé pendant 5 secondes pour le réinitialiser.

Pour chaque mesure, placez une cuve remplie avec un échantillon dans l'emplacement de la cuve et placez un filtre dans la fente du filtre. Pour les expériences avec des cuves avec un rétrécissement (expérience 2), **orientez-les comme indiqué sur la Figure 1, de sorte que le faisceau lumineux traverse la plus petite épaisseur d'échantillon**. Pour les expériences où vous utilisez les cuves sans rétrécissement (expérience 3), orientez-les de sorte que le côté transparent soit face à la source lumineuse.

Utilisez les gants fournis pour manipuler le filtre, car les empreintes digitales et les rayures endommagent les propriétés optiques du filtre. Si les fils de l'interrupteur sont proches du faisceau lumineux, déplacez l'interrupteur pour éviter de fausser la mesure. Le spectrophotomètre est enfermé dans une boîte noire qui protège le capteur de la lumière extérieure. **Fermez le couvercle et attendez quelques instants** que la tension cesse de changer, avant de prendre des mesures.

Après avoir terminé toutes vos mesures, éteignez le spectrophotomètre en appuyant sur le bouton rouge.

Débranchez le multimètre et réglez-le sur le bouton sur OFF.

Placez les filtres dans les bons manchons (faites correspondre les numéros sur les manchons aux numéros sur le bord du filtre).

Annexe C: utilisation du chronomètre

Le chronomètre Basetech WT-034 dispose de 3 modes de fonctionnement. La figure 1 montre le chronomètre avec 3 boutons: SPLIT / RESET, MODE, START / STOP. Utilisez le bouton du milieu (MODE) pour basculer entre les modes:

- Clock (heure)
- Stopwatch (chronomètre)
- Alarm (alarme)



Figure 1: chronomètre Basetech WT-034 . En haut trois boutons (de gauche à droite): SPLIT/RESET, MODE et START/STOP.

Mode chronomètre:

Pour utiliser la fonction chronomètre:

Appuyez sur MODE jusqu'à ce que le mode chronomètre soit activé.

Si le temps est écoulé, utilisez le bouton START / STOP pour l'arrêter.

Si le temps n'est pas 00:00:00, appuyez sur SPLIT / RESET pour le réinitialiser

Utilisez START / STOP pour démarrer le chronométrage.

Lorsque le temps est écoulé, vous pouvez appuyer sur SPLIT / RESET **une fois** pour figer la durée affichée afin de l'écrire, et **encore une fois** pour revenir à la valeur initiale.

Ce chronomètre ne mémorise pas plusieurs valeurs de temps! Appuyer sur SPLIT / RESET n'arrête pas le chronométrage mais gèle simplement l'affichage.

Mode alarme:

Pour utiliser la fonction d'alarme:

Appuyez sur MODE jusqu'à ce que le mode alarme soit activé. L'indicateur d'heure d'alarme et la barre d'affichage du jour commencent à clignoter.

Appuyez sur le bouton START / STOP pour régler les heures. Vous pouvez le maintenir pour un réglage plus rapide.

Appuyez sur le bouton SPLIT / RESET. L'indicateur des minutes commence à clignoter.

Appuyez sur le bouton START / STOP pour régler les minutes. Vous pouvez le maintenir appuyer pour un réglage plus rapide.

Appuyez sur MODE pour confirmer le réglage de l'alarme.

Revenez au mode horloge en appuyant sur le bouton MODE.

En mode d'affichage de l'heure normale, appuyez sur le bouton SPLIT / RESET et maintenez-le enfoncé pour afficher l'heure de l'alarme. Dans le même temps, appuyez brièvement sur le bouton START / STOP pour activer ou désactiver la fonction d'alarme.

La fonction d'alarme est activée lorsque le symbole d'alarme apparaît dans le coin supérieur droit de l'écran.