

# Expérimentation

## CONTEXTE

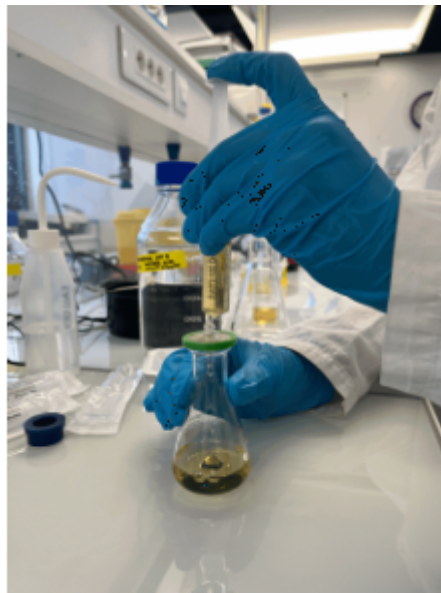
Dans le cadre du TIPE 2025 : Transition, transformation, conversion notre projet consiste en l'extraction d'enzymes de compost, puis de l'utilisation de celles-ci afin de catalyser une hydrolyse du PET.

## OBJECTIFS

- Extraction des enzymes
- Hydrolyse chimique
- Hydrolyse biologique
- Analyse (réaction lumineuse, spectroscopie IR, électrophorèse)

### I - Extraction des enzymes (semaine du 31/03 - semaine du 07/04)

On cherche à extraire et concentrer les enzymes issues du compost.

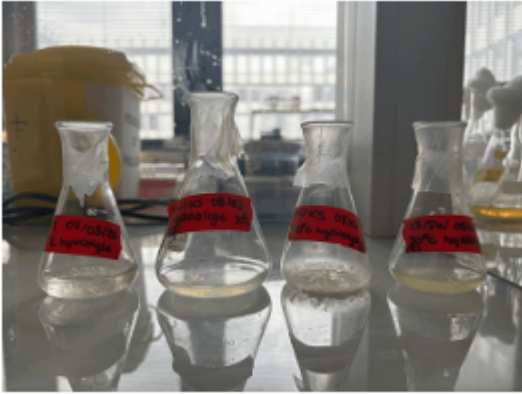


## Matériel :

- Compost
- Tampon phosphate (pH 7/pH 8, 20 mM)
- Colonnes d'extraction SEPHADEX G-25
- Sel d'ammonium
- Machines utilisées :
- Centrifugeuse SIRENA

### II - Hydrolyse biologique (semaine du 07/04 - semaine du 12/05)

On cherche à dégrader le plastique solide d'une bouteille par hydrolyse biologique, à partir des enzymes précédemment extraites.



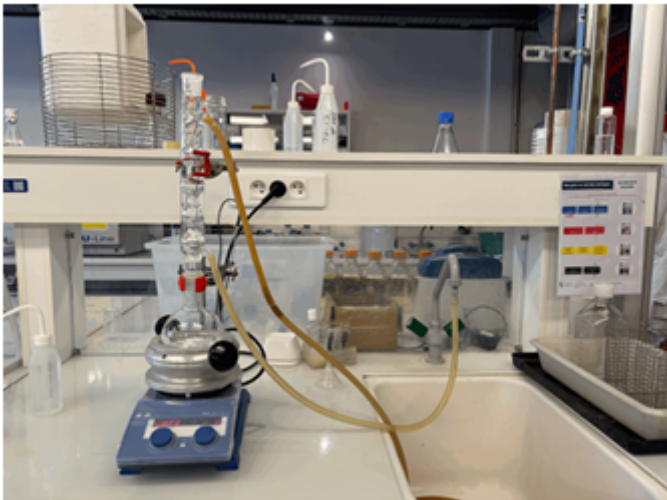
### **Matériel :**

PET

- Extraits d'enzymes
- Tampon phosphate pH 7
- Erlenmeyer
- Machines utilisées :
- Incubateur (différentes températures : 30°C/40°C)

### **III - Hydrolyse chimique (semaine du 12/05)**

L'hydrolyse chimique du PET a permis de comparer les produits obtenus avec ceux des hydrolyses biologiques.



### **Matériel :**

- PE
- Soude
- Polyéthylène glycol 4000
- Acide sulfurique (96%)
- Réfrigérant à eau

- Chauffe ballon
- Ballon
- Cristalliseur
- Thermomètre
- Filtre à café
- Entonnoir

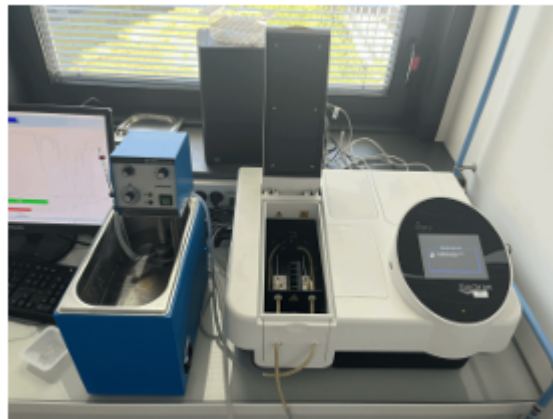
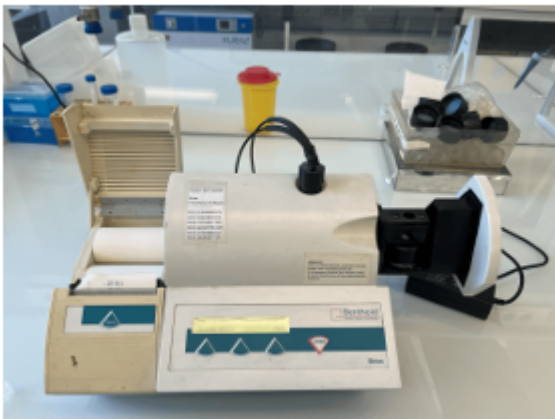
#### **IV - Analyse (semaine du 12/05 - semaine du 21/05)**

La spectroscopie IR a permis d'analyser la présence d'acide téréphtalique dans nos produits. La réaction avec le peroxyde d'hydrogène a permis de former un produit luminescent détectable au luminomètre (à partir de l'acide téréphtalique contenu dans notre produit). L'électrophorèse était censée identifier la présence d'enzymes, en fonction de leur taille (poids moléculaire). La mise en place du gel n'a pas abouti.

#### Spectroscopie IR :

Analyse des produits des hydrolyses

#### Réaction luminescente :



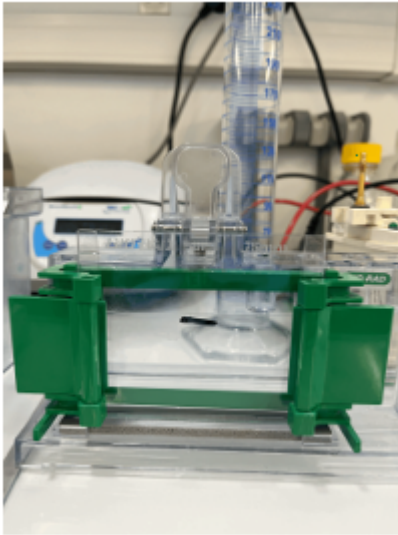
#### **Matériel :**

- Peroxyde d'hydrogène (35%)
- Extraits des expériences

#### **Machines utilisées :**

- Spectrophotomètre BIOCHROM LIBRA thermostaté à 90°C
- Luminomètre SIRIUS FB1

#### Electrophorèse :



Matériel :

Tampon de migration 10x : Tris HCl 25mM Glycine 200mM SDS 0,1% (p/v)

**Gel de séparation 12% (10mL) :**

- Eau distillée (2,2mL)
- Tampon Tris HCl 1,5M pH=8,8 (2,6mL)
- SDS 10% (100microL)
- APS 10% (100microL)
- TEMED (10microL)

**Gel de concentration 5% (10mL)**

- Eau distillée (5,86mL)
- Tampon Tris HCl 0,5M pH=6,8 (2,6mL)
- SDS 10% (100microL)
- APS 10% (100microL)
- TEMED (10microL)

- Cuve d'électrophorèse

---

Revision #1

Created 11 June 2025 07:39:55 by Fiot Gwenael

Updated 11 June 2025 08:08:33 by Fiot Gwenael