

A. Mise en évidence par ExaO de la nécessité d'un métabolite le glucose.

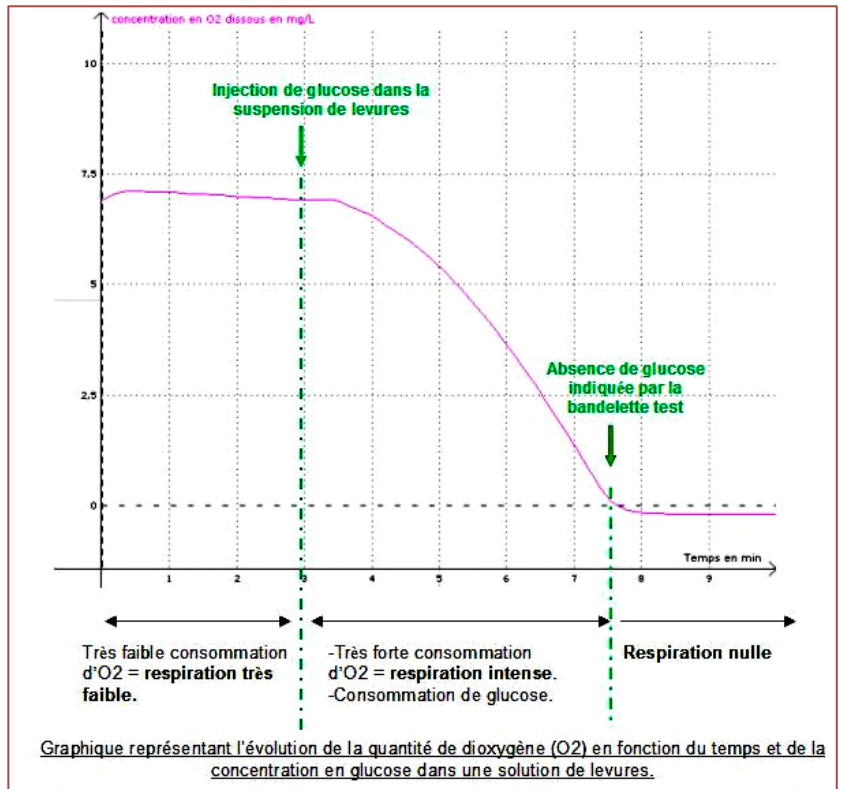
La suspension de levures a été affamée, dans un milieu aérobie constitué d'eau aérée au bulleur et sans métabolite, durant 24 heures.

Le milieu est donc riche en dioxygène mais ne contient aucune trace de nutriment.

Durant les 3 premières minutes de l'expérience, les levures ne consomment pas de dioxygène. A la 3^e minute, on injecte une solution glucosée, immédiatement on observe une consommation de dioxygène, les levures respirent : elle consomme le glucose et le dioxygène pour obtenir de l'énergie et se multiplier.

Après quelques minutes le glucose a été consommé et la respiration s'arrête.

Cette expérience montre la nécessité d'un métabolite, le glucose pour obtenir de l'énergie avec utilisation de dioxygène.



B. Devenir du glucose en aérobiose et anaérobiose

1. Consommation de glucose et croissance d'une population de levures

En l'absence de glucose (tubes 2 et 4), l'effectif des levures est inchangé entre le début et la fin de la période d'incubation, alors qu'en présence de glucose (tubes 3 et 5), les levures se multiplient, tout en consommant le glucose fourni. De plus, cette consommation et la multiplication des levures sont plus rapides en milieu aérobie (tube 5) qu'en milieu anaérobie (tube 3). La disponibilité de glucose est donc une condition suffisante à la multiplication des levures (du moins sur une période de 1 h, à plus long terme, d'autres molécules organiques leur sont peut-être nécessaires).

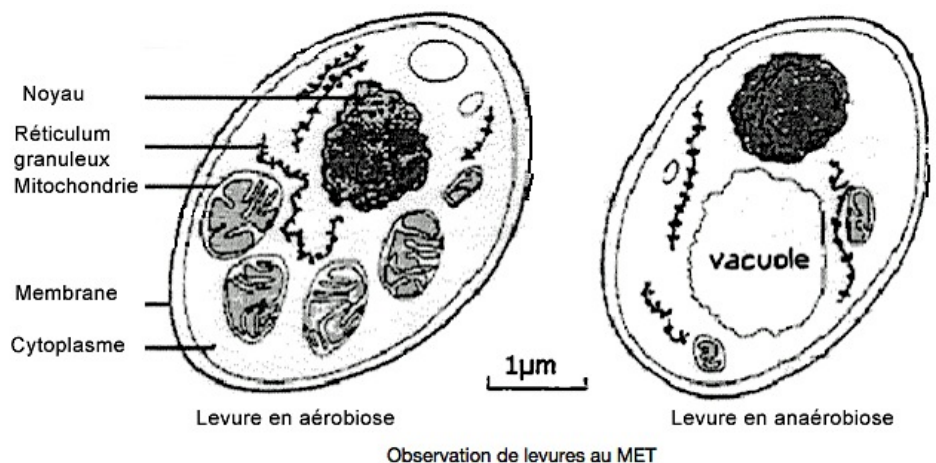
L'oxygénation n'est pas indispensable mais permet une multiplication plus rapide des levures.

2. Observation de suspensions de levures en milieux anaérobiose et aérobie

En milieu anaérobie on observe des cellules relativement isolées.

En milieu aérobie, on observe une plus forte concentration de cellules, beaucoup d'entre elles sont collées les unes aux autres, suite à une multiplication mitotique.

En présence de dioxygène, les levures semblent avoir plus d'énergie disponible alors que le milieu glucosé est identique. Leur cytoplasme est très riche en mitochondries



3. Résultats

En milieu aérobie, l'abondance des levures et la présence de nombreux bourgeonnements montrent que la multiplication est active dans ces conditions : milieu bien aéré et nourriture abondante. Les levures respirent normalement c'est-à-dire prélèvent de l'oxygène et rejettent du dioxyde de carbone. En dosant la concentration de la solution on met en évidence une diminution importante de la quantité de glucose (glucotest).

En milieu anaérobie, alors que la plupart des êtres vivants meurent par asphyxie, les levures ne meurent pas. Elles sont par contre moins abondantes et présentent peu de bourgeonnements. Dans le flacon on observe un dégagement gazeux de dioxyde de carbone (mais moins important que lors de la respiration) et on remarque après plusieurs jours une odeur dégagée par le liquide, elle révèle la présence d'éthanol (le réactif de l'éthanol est le dichromate orangé qui se transforme en chromate vert).

En dosant la concentration de la solution on met en évidence une diminution de la quantité de glucose (mais moins important que lors de la respiration). Pour les Levures, commence une vie sans air (anaérobie) : la fermentation alcoolique.

4. Expérience inspirée des expériences effectuées par Pasteur

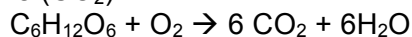
En milieu aérobie, on observe un fort dégagement de dioxyde de carbone et on peut mesurer que la concentration en glucose diminue.

En milieu anaérobie, on observe aussi une diminution de la concentration de glucose mais dans une moindre mesure. Le dégagement de dioxyde de carbone est beaucoup plus faible, par contre on met en évidence la présence d'alcool dans la suspension de levures.

Ci-dessous, résultats d'une expérience quantitative (les levures sont élevées dans des solutions contenant 100g de glucose).

	Milieu anaérobie	Milieu aérobie
Masse de glucose consommée (g)	45	15
Masse de levures formée (g)	0.45	3.75
Présence d'éthanol	OUI	NON

En conditions aérobies, l'oxydation d'une molécule de glucose ($C_6H_{12}O_6$) s'accompagne du dégagement de 6 molécules de dioxyde de carbone (CO_2).



Tous les atomes de carbone du glucose se retrouvent donc incorporés dans une molécule minérale : le glucose a été totalement dégradé au sens où ses produits de dégradation ne sont pas des molécules organiques.

Inversement, en conditions anaérobies, seuls 2 des 6 atomes de carbone du glucose sont perdus sous forme de CO_2 . Les 4 autres atomes de carbone sont intégrés à des molécules organiques (comme l'alcool dans notre expérimentation).



C. Mise en évidence de la première étape de dégradation du glucose par la cellule

Quarante années de recherches en biochimie ont permis d'élucider la glycolyse, voie cytoplasmique d'oxydation incomplète du glucose (doc. 2). La glycolyse est complexe (9 étapes catalysées par différentes enzymes) mais son bilan est simple : une molécule de glucose est dégradée en deux molécules d'acide pyruvique, et cette dégradation s'accompagne de la production de deux molécules d'ATP et de deux composés réduits $R'H_2$.

Les résultats de l'expérience présentée peuvent être interprétés à la lumière de ce bilan. La glycolyse nécessite des enzymes cytoplasmiques, présentes dans l'extrait de navet. Cet extrait provoque une décoloration du bleu de méthylène (ce qui témoigne de sa réduction, par le composé $R'H_2$ issu de la glycolyse). La décoloration est lente si l'on ne fournit pas de glucose (car l'extrait de navet doit contenir une petite quantité de glucose ou d'autres molécules pouvant subir la glycolyse), et plus rapide si du glucose est fourni (la glycolyse est alors plus active, et davantage de $R'H_2$ est produit). On constate que, si les extraits de navet ont été ébouillantés, aucune décoloration de bleu de méthylène ne se produit pas. En effet, les enzymes intervenant dans la glycolyse sont alors inactivées.

L'étude des molécules, avec un logiciel de chimie, montre que :

- la molécule de glucose a pour formule $C_6H_{12}O_6$,
- la molécule d'acide pyruvique a pour formule $CH_3COCOOH$.

Il s'agit donc de deux molécules organiques (comprenant des liaisons C-H). Les 6 atomes initialement présents dans chaque molécule de glucose se retrouvent incorporés à l'acide pyruvique (2 fois 3 atomes de carbone). La glycolyse ne produit donc pas de CO_2 .

Dans le glucose, le carbone a en moyenne un nombre d'oxydation nul (voir TP.4). Dans l'acide pyruvique, le nombre d'oxydation des atomes de carbone est en moyenne de +2/3 (état oxydé). La glycolyse correspond donc à une oxydation du carbone initialement présent dans le glucose.

Pour conclure

Toutes les cellules eucaryotes puisent l'énergie nécessaire à leur métabolisme dans l'oxydation de molécules organiques telles que le glucose.

En anaérobiose, c'est-à-dire en l'absence de dioxygène, certaines cellules oxydent le glucose de façon incomplète : on parle de fermentation. En aérobie, c'est-à-dire en présence de dioxygène, la plupart des cellules oxydent totalement le glucose en dioxyde de carbone : c'est la respiration cellulaire.

Fermentation et respiration débutent par une voie réactionnelle cytoplasmique commune: la glycolyse. La glycolyse correspond à une oxydation partielle du glucose en acide pyruvique, couplée à la synthèse de deux molécules d'ATP et de composés réduits notés $R'H_2$.

