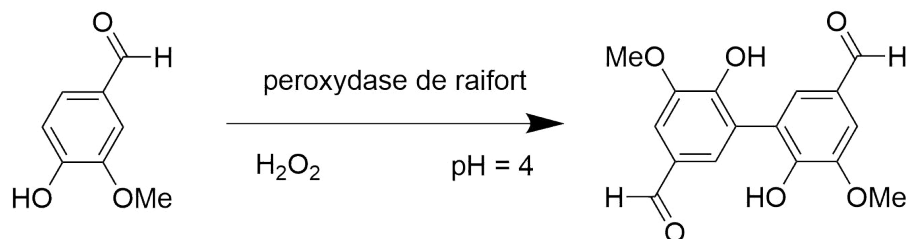


## COUPLAGE ENZYMATIQUE

Référence : Gruber p370



## 1 Protocole

## 1.1 Produit

Composé	M (g/mol)	n (mmol)	Eq.	Toxicité
Vanilline	152,14	3,3	1	Irrite les yeux
solution d'acide éthanoïque 0,01 mol/L	60,05	/	/	Inflammable, corrosif
peroxydase de raifort type I	/	/	/	/
peroxyde d'hydrogène 3%	34,01	3,3	1	corrosif, nocif

— Acétate d'éthyle

— propan-2-ol

## 1.2 Manipulation

- Dans un ballon tricol de 100 mL, dissoudre 500 mg de vanilline dans 50 mL d'eau distillée. Chauffer à 40 °C pendant quelques minutes.
- Une fois la vanilline dissoute, laisser revenir à température ambiante et ajouter 1,1 mL d'acide éthanoïque à 0,01 mol/L via une ampoule de coulée isobare afin que le pH de la solution soit d'environ 4. Vérifier au papier pH
- Ajouter 8 mg de peroxydase de Raifort et 3,8 mL de peroxyde d'hydrogène. Un précipité blanc-crème apparaît
- Continuer à agiter pendant 15 minutes puis essorer sur fritté. Laver 2 fois le solide obtenu avec de l'eau distillé froide.
- Sécher le produit à l'étuve et mesurer la masse de solide obtenu
- Réaliser une CCM. Eluant : acétate d'éthyle.
- On peut purifier la divanilline obtenu par recristallisation dans le propan-2-ol

Caractérisation : IR, RMN

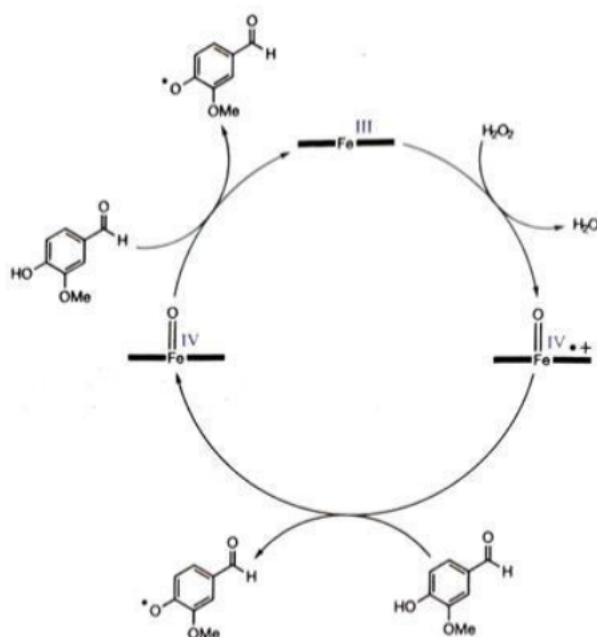
## 2 Exploitation

### 2.1 Généralité

Enzyme du radis. Le site actif est un hème : une porphyrine coordonnée à un atome de fer. La divanilline est utilisée dans l'industrie agro-alimentaire pour donner un aspect crémeux aux yaourts.

On peut parler de chimie verte car on a une bonne économie d'atome, des réactifs peu toxiques et un solvant vert. En revanche, il ne faut pas perdre de vue que les procédés ayant permis d'obtenir l'enzyme, extraction ou synthèse, ne sont pas forcément verts.

### 2.2 Mécanisme



L'enzyme est activée par le peroxyde d'hydrogène pour donner 2 radicaux vanilline. On a ensuite un couplage radicalaire qui casse puis reforme l'aromaticité de la molécule.

