

**Objectif :**

On veut montrer que lors de la digestion, les **macromolécules glucidiques** (= des **polymères**) des aliments sont transformées en molécules plus simples (= des **monomères**) grâce à certaines enzymes digestives.

→ *Elaboration d'une stratégie de résolution en commun.*

**Matériel à votre disposition :**

- Portoir et 5 tubes à numéroter, plaque(s) de titration, pipette plastique
- Pipette de 20 mL et propipette
- Empois d'amidon à 0,1 %, eau distillée, **amylase** (**enzyme** catalysant l'**hydrolyse** de l'amidon)
- Liqueur de Fehling, lugol (= eau iodée). En présence d'amidon, le lugol devient bleu-nuit à violet foncé.
- Bec électrique, pince en bois
- Glace, bain marie à 37°C, bain marie à 95°C thermomètre, marqueur, chronomètre
- Logiciel Rastop
- Documents complémentaires (structure du glycogène, hydrolyse spontanée de l'amidon).

**Documents :**

Pour visualiser les macromolécules d'amylose (constituant de l'**amidon**), de **glycogène** et de **cellulose** sous Rastop :

- **Ouvrir** le logiciel RasTop, et **sélectionner** les fichiers en suivant le chemin SVT → Molec3D puis :

Dossier	Fichier (molécule)
Mat_organ	Amylose.pdb (fragment d'amylose) Cellulose.pdb (fragment de cellulose)
Molécules du vivant	Glycogene_ok.pdb (fragment de glycogène) Glucose.pdb (glucose)

**Chemin d'accès des différentes molécules.**

- **Passer** les molécules en « boules et bâtonnets ».
- **Réaliser** des copies d'écran rognées des quatre molécules (opter pour un fond blanc).
- **Comparer** la structure des trois polymères présentés à celle du **glucose**.

Les **polysaccharides** sont des macromolécules constituées de nombreux sucres simples reliés entre eux. Les principaux polysaccharides alimentaires sont l'**amidon** et la **cellulose**. L'amidon est une forme de réserve énergétique dans les cellules végétales. Il est donc présent dans l'alimentation humaine. Son hydrolyse au cours de la digestion libère des sucres plus simples. La cellulose est l'un des composants des parois des cellules végétales. Chez l'Homme, elle n'est pas (ou très peu) hydrolysée lors de la digestion, et ne fournit donc pas de nutriments. Mais elle est utile au bon fonctionnement du tube digestif en constituant ce que l'on appelle les fibres. Quelques aliments contiennent un autre polysaccharide, le **glycogène**, chimiquement très proche de l'amidon.

**Quelques informations complémentaires.** © Spécialité SVT Belin 2012

**Protocole :** action de l'amylase sur l'amidon.

1. **Préparer** une série de cinq tubes numérotés de 0 à 4.
2. **Remplir** les cinq tubes avec 15 mL d'empois d'amidon à 0,1 %. **Placer** immédiatement le tube 3 dans la glace.
3. **Vérifier** l'absence de sucres réducteurs avec un test à la liqueur de Fehling à chaud dans le tube 0. *Le glucose est un exemple de sucre réducteur, c'est-à-dire qu'il possède une fonction réductrice.* Dans ce cas, il effectue une réduction des ions  $\text{Cu}^{2+}$  de la liqueur de Fehling à chaud, ce qui permet la formation d'un précipité rouge brique de  $\text{Cu}_2\text{O}$ . *Ici on vérifie l'absence de glucose dans l'empois d'amidon en début de manipulation.*
4. **Verser** 1 mL d'eau distillée dans le tube 1 et 1 mL de solution d'amylase dans les tubes 2 à 4 (**dès que l'enzyme est présente dans le tube, le temps démarre**). Attention, l'amylase du tube 3 doit être froide. **Homogénéiser** à chaque fois.
5. **Placer** les tubes 1 et 2 dans un bain marie à 37°C, le tube 3 dans de la glace et le tube 4 à 95°C.
6. Toutes les 3 min, après homogénéisation, **prélever** une goutte de solution dans chaque tube et la **déposer** dans un puits d'une plaque de titration.
7. **Tester** la présence d'amidon avec une goutte d'eau iodée.

**Tableau récapitulatif des 5 tubes :**

	Tube 0	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
<b>Contenu</b>	15 mL d'empois d'amidon				
	Test Fehling			Dans glace	
<b>Contenu</b>		1 mL eau $\Delta$	1 mL amylase	1 mL amylase <b>froide</b>	1 mL amylase
<b>Démarrage tps !</b>	Homogénéisation				
		BM 37°C	BM 37°C	Froid	BM 95°C
	Prélèvement toutes les 3 min				
<b>Lecture résultats</b>	Dépôt dans puits, ajout d'une goutte de lugol et lecture immédiate				

8. Une fois l'hydrolyse terminée, **diviser** le contenu restant du tube 2 en deux fractions.
9. Dans la première fraction **ajouter** de l'empois d'amidon, **placer** à 37°C et **faire** un test à l'eau iodée immédiatement puis au bout de 10 min. Avec la deuxième fraction, **pratiquer** un test à la liqueur de Fehling à chaud à 0 min et 10 min.

**Autre expérience (non réalisée) :**

1. On remplit quatre tubes à essais avec 10 mL d'empois d'amidon à 0,1 % et on les place à 37°C.
2. Après 30 min, on ajoute dans un tube quelques gouttes d'eau iodée pour tester la présence d'amidon.
3. Dans un autre tube, on ajoute quelques gouttes de liqueur de Fehling et on fait chauffer afin de tester la présence de glucose.
4. Une semaine plus tard, on pratique ces mêmes tests sur les deux autres tubes.

	30 min	1 semaine
Test à l'eau iodée (lugol)	Bleu nuit	Bleu un peu plus clair
Test à la liqueur de Fehling	Bleu clair	Rouge brique

**Résultats de l'expérience.**

**Communication des résultats :**

- Copie d'écran rognée et légendée sur page Word. Etude de la structure des **polysaccharides**.
- Plaques de titration avec résultats exploitables et repérés par un marquage cohérent.
- Elaboration d'un tableau de présentation des résultats des manipulations.
- Analyse pertinente et rigoureuse des résultats.
- Comparatif avec l'expérience complémentaire.
- Réponse à la problématique