

TP n° 1 : La catalyse enzymatique

- Objectif de connaissance :
 - On cherche à montrer quel est le rôle des enzymes dans la digestion des glucides complexes et quelle est l'influence de la température sur l'activité enzymatique.
- Objectifs méthodologiques :
 - Concevoir un protocole et énoncer une conséquence vérifiable.
 - Réaliser une manipulation d'après un protocole.
 - Communiquer dans un langage scientifiquement approprié.
 - Adopter une démarche explicative.
- Travail à réaliser :

Mise en situation et recherche à mener

Les féculents de notre alimentation contiennent des glucides complexes : au cours de la digestion, ils sont progressivement transformés chimiquement grâce à des enzymes en glucides simples.

On cherche à tester si l'hydrolyse de l'amidon peut-être catalysée en présence d'amylase et l'influence de la température sur l'activité enzymatique.

Ressources**Document 1 : Tests chimiques simples de mise en évidence de substances chimiques**

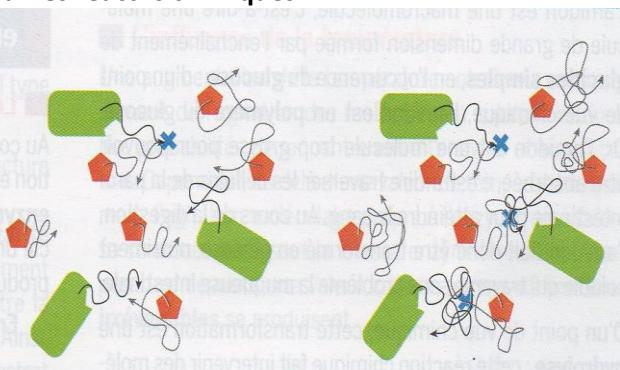
➤ Test de l'amidon grâce à l'eau iodée :
L'eau iodée permet de mettre en évidence l'amidon. En présence d'amidon, l'eau iodée de coloration légèrement brunâtre prend une coloration bleu foncée.

➤ Test des glucides simples grâce à la liqueur de Fehling :

La liqueur de Fehling est un liquide bleu qui par chauffage en présence de glucides simples donne un précipité rouge brique.

Document 2 : Effet de la température sur les réactifs chimiques

- La température détermine l'agitation des molécules dans un milieu. Pour qu'une réaction enzymatique se produise, il faut qu'il y ait une rencontre entre le substrat et l'enzyme. La probabilité d'une rencontre est d'autant plus grande que les déplacements des molécules sont rapides. D'autre part, la collision entre enzyme et substrat libère une énergie mécanique nécessaire pour débuter la réaction chimique.
- Au-delà d'une certaine température, les acides aminés constituant une protéine forment de nouvelles associations, y compris avec les autres protéines du milieu. Dans ce cas, les protéines, auparavant solubles, forment des complexes insolubles. Ces déformations de la structure sont irréversibles.



Modélisation de la trajectoire de molécules d'enzymes (en vert) et de substrats (en rouge) à deux températures différentes, pendant une même durée. Les croix correspondent à des collisions avec formation d'un complexe enzyme-substrat.

Matériels disponibles :

- Solution d'amidon
- Solution d'amylase
- Eau iodée.
- Liqueur de Fehling.
- Matériel courant de laboratoire : verrerie ...

Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème

Proposer une démarche d'investigation permettant de tester :

- si l'amylase transforme l'amidon en glucides simples.
- L'influence de la température sur cette transformation.

Indiquer les résultats attendus selon, que l'amylase est capable ou non de transformer l'amidon en glucides simples.

Etape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole fourni afin de tester si l'hydrolyse de l'amidon peut-être catalysée en présence d'amylase et l'influence de la température sur l'activité enzymatique.

Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Présenter, sous la forme de votre choix, les résultats obtenus.

Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats expérimentaux et conclure au sujet de l'action de l'amylase sur l'amidon et de l'influence de la température sur cette réaction.

Poste 1 : Influence d'une température élevée sur la catalyse enzymatique

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériels disponibles :

- Solution d'amidon
- Solution d'amylase
- Eau distillée
- Eau iodée
- Liqueur de Fehling
- Tubes à essais
- Pipettes
- Plaques à concavités
- Chronomètre
- Bain marie
- Marqueur

Protocole expérimental :

- **Préparer** 4 tubes en réalisant les mélanges suivant :
 Tubes 1 et 2 : 5 ml d'amidon + 2 ml d'amylase
 2 tubes témoin : 5 ml d'amidon + 2 ml d'eau distillée.
- **Vérifier** l'absence de sucres réducteurs (sucres simples) sur une petite fraction du tube 1 et d'un tube témoin.
- **Placer** le tube 1 et un tube témoin dans un bain marie à 37°C, puis placer le tube 2 et un tube témoin dans un bain marie à 100°C.
- Toutes les 2 minutes (ne pas oublier $t= 0$ min), après homogénéisation, **prélever** une goutte de solution dans chaque tube et la déposer dans un puits de la plaque à concavité.
- **Tester** à chaque fois la présence d'amidon avec une goutte d'eau iodée.
- Une fois l'hydrolyse terminée (environ 15 minutes), **diviser** le contenu du tube 2 en deux fractions.
- **Placer** la première fraction dans un bain marie à 37°C pendant 15 minutes, au bout de 15 minutes **tester** la présence d'amidon et de sucres réducteurs.
- **Tester** la présence de sucres réducteurs dans la deuxième fraction du tube 2 ainsi que dans les tubes 1 et les tubes témoins.

Test à la liqueur de Fehling (présence ou absence de sucres réducteurs) :

Mélange	Chauffage	Résultat
1 mL de liqueur de Fehling + 1 mL de solution à tester	Bain-marie à 100°C pendant 3 minutes	En présence d'un glucide réducteur (glucose ou fructose), il se forme un précipité rouge brique .

Poste 2 : Influence du froid sur la catalyse enzymatique

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériels disponibles :

- Solution d'amidon
- Solution d'amylase
- Eau distillée
- Eau iodée
- Liqueur de Fehling
- Tubes à essais
- Pipettes
- Plaques à concavités
- Chronomètre
- Bain marie
- Glace
- Marqueur

Protocole expérimental :

- **Préparer** 4 tubes en réalisant les mélanges suivant :
 Tubes 1 et 3 : 5 ml d'amidon + 2 ml d'amylase
 2 tubes témoins : 5 ml d'amidon + 2 ml d'eau distillée.
- **Vérifier** l'absence de sucres réducteurs (sucres simples) sur une petite fraction du tube 1 et du tube témoin.
- **Placer** le tube 1 et le tube témoin dans un bain marie à 37°C, le tube 3 et tube témoin dans la glace.
- Toutes les 2 minutes (ne pas oublier $t= 0$ min), après homogénéisation, **prélever** une goutte de solution dans chaque tube et la déposer dans un puits de la plaque à concavité.
- **Tester** à chaque fois la présence d'amidon avec une goutte d'eau iodée.
- Une fois l'hydrolyse terminée (environ 15 minutes), **diviser** le contenu du tube 3 en deux fractions.
- **Placer** la première fraction dans un bain marie à 37°C pendant 15 minutes, au bout de 15 minutes **tester** la présence d'amidon et de sucres réducteurs.
- **Tester** la présence de sucres réducteurs dans la deuxième fraction du tube 3 ainsi que dans le tube 1 et les tubes témoins.

Test à la liqueur de Fehling (présence ou absence de sucres réducteurs) :

Mélange	Chauffage	Résultat
1 mL de liqueur de Fehling + 1 mL de solution à tester	Bain-marie à 100°C pendant 3 minutes	En présence d'un glucide réducteur (glucose ou fructose), il se forme un précipité rouge brique .