

TP 2 : De l'amidon au maltose, une simplification moléculaire

Mise en situation et recherche à mener

Notre organisme satisfait ses besoins en glucose en particulier grâce à son alimentation riche en amidon. Cette molécule est essentiellement apportée par les féculents, tels que les céréales, les pommes de terre ou différents représentants de la famille des légumineuses. Or les molécules d'amidon ont une taille rendant impossible leur absorption au niveau de l'intestin et donc leur arrivée dans le sang.

On cherche à montrer, *in vitro*, que la digestion enzymatique des molécules d'amidon se réalise dans les conditions correspondant à celles qui règnent dans le corps humain.

RessourcesDocument 1 : la digestion de l'amidon par l'amylase pancréatique

L'**amylase pancréatique** est une enzyme sécrétée par le pancréas qui provoque la rupture de certaines liaisons chimiques entre les molécules de glucose.

Cette enzyme agit en particulier sur l'amidon.

Document 2 : l'activité enzymatique

Les **enzymes** sont des molécules protéiques complexes dont l'activité dépend des conditions du milieu : température, acidité. Elles servent de **catalyseurs** car elles rendent possibles ou accélèrent grandement les réactions chimiques vitales.

(D'après <http://www.cnrs.fr>)

Document 3 : Tableau des réactifs de certains glucides

Le tableau ci-dessous indique pour différentes molécules et différents réactifs utilisés, les résultats obtenus.

Par exemple, l'utilisation du réactif « eau iodée » permet de révéler la présence d'amidon par une coloration violet-noir. En revanche, l'eau iodée ne permet pas de révéler la présence de maltose (dans ce cas, la coloration reste jaune).

Molécules Réactifs	Amidon	Glycogène	Maltose
Eau iodée	+ violet noir	+ Brun rouge	- jaune
Liquueur de Fehling (à chaud : 70°C)	- bleu	- bleu	+ Précipité rouge brique

+ test positif

- test négatif

Etape A1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation-problème

Proposer une démarche d'investigation permettant de montrer, *in vitro*, que la digestion enzymatique des molécules d'amidon se réalise dans les conditions correspondant à celles qui règnent dans le corps humain.

Rédiger votre proposition sur votre copie

Etape A2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Utiliser le matériel fourni pour mettre en évidence les conditions de la simplification moléculaire de l'amidon.

Matériel à utiliser :

- 12 tubes à essais
- 3 pipettes avec petit bécher (pour rinçage des pipettes) ; eau distillée
- 1 plateau de coloration = plaques à cupules + feutres pour marquage
- bain-marie 37°
- bain-marie 70°
- bac à glace
- eau iodée (réactif spécifique de l'amidon)
- liqueur de Fehling (réactif spécifique des sucres réducteurs, comme le maltose)
- solution d'amylase (+ pipette 5 mL) à température ambiante
- solution d'amylase (+ pipette 5 mL) à température froide
- solution d'empois d'amidon (+ pipette 10 mL) à température ambiante
- solution d'empois d'amidon (+ pipette 10 mL) à température froide

Tests à réaliser toutes les 15 minutes

Test 1 : présence d'amidon : bien mélanger le contenu du tube, puis prélever 1 goutte de la solution à tester et la déposer dans un des puits de la plaque. Rajouter de l'eau iodée. Une coloration violet-noir indique la présence d'amidon.

Test 2 : présence de sucres réducteurs (ex : glucose, maltose) : bien mélanger le contenu du tube, puis prélever environ 2 mL de la solution à tester et la verser dans un tube à essai ; rajouter 1 mL de liqueur de Fehling (le contenu d'un prélèvement). Faire chauffer ce tube en le déposant dans le bain-marie à 70°C. Un précipité rouge-brique indique la présence de sucres réducteurs, comme le maltose.

Réalisation du protocole :

1. Préparer 3 tubes à essai :

- tube 1 : 10 mL de solution d'amidon tempérée + 3 mL d'eau distillée
- tube 2 : 10 mL de solution d'amidon tempérée + 3 mL d'amylase tempérée
- tube 3 : 10 mL de solution d'amidon froide + 3 mL d'amylase froide

Penser à repérer vos tubes

2. Placer les tubes 1 et 2 au bain-marie à 37°C et le tube 3 dans le bac à glace.

3. Pour chacun des 3 tubes, réaliser les deux tests suivants : test 1 : présence d'amidon - test 2 : présence de sucres réducteurs

Ces deux tests doivent être réalisés toutes les 15 minutes, donc à t=0, t=15 min et t=30 min.

Attention de bien mélanger le contenu des tubes avant les prélèvements et de rincer vos pipettes entre les prélèvements!!!

Etape B - Communiquer et exploiter les résultats pour répondre au problème (durée : environ 20 minutes)

- Sous la forme la plus pertinente, présenter les résultats pour mettre en valeur les informations utiles à la résolution du problème.
- Exploiter les résultats obtenus afin de répondre au problème posé.

Correction

A1. Proposer une démarche d'investigation permettant de montrer, *in vitro*, que la digestion enzymatique des molécules d'amidon se réalise dans les conditions correspondant à celles qui règnent dans le corps humain.

a. *Nous cherchons à montrer que la digestion enzymatique se réalise dans des conditions correspondant à celles de l'organisme. Dans le cadre de cette activité, nous nous limiterons aux seules conditions de température et nous chercherons donc à vérifier que la digestion enzymatique se réalise préférentiellement à 37°C, température normale du corps humain.*

b. *Pour cela, nous allons comparer les résultats d'une digestion enzymatique de l'amidon par l'amylase dans deux conditions de température différentes : à 37°C et à faible température. Nous vérifierons également que l'amidon ne s'hydrolyse pas spontanément en préparant une solution dépourvue d'enzyme.*

Pour vérifier l'hydrolyse de l'amidon, nous testerons :

- la présence d'amidon avec un test à la liqueur de Fehling

- la formation des sucres reducteurs (issus de l'hydrolyse de l'amidon) avec un test à la liqueur de Fehling

c. *Si la digestion enzymatique se réalise uniquement (ou préférentiellement) dans les conditions de l'organisme, nous devrions observer une diminution de la teneur en amidon et une augmentation de la production de sucres reducteurs uniquement (ou préférentiellement) dans la solution « amidon + amylase » placée à 37°C. Dans les deux autres solutions « amidon + amylase » à température froide et « amidon seul » à 37°C, la teneur en amidon devrait rester constante et aucun sucre réducteur ne devrait être produit.*

B1 Tableau de présentation des résultats expérimentaux

Tubes	Contenu des tubes	Conditions	Résultats des tests à l'eau iodée et à la liqueur de Fehling (LF)					
			T0		T + 15 minutes		T +30 minutes	
			Test eau iodée	Test LF	Test eau iodée	Test LF	Test eau iodée	Test LF
1	Amidon + eau distillée	37°C	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs
2	Amidon + amylase	37°C	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs	Faible présence d'amidon	sucres réducteurs	Pas d'amidon	sucres réducteurs
3	Amidon + amylase	froides	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs	présence d'amidon	pas de sucres réducteurs

B2 : Exploitation

Nous n'observons la présence de sucres réducteurs et la disparition d'amidon que dans le tube 2, placé à 37°C. Dans les deux autres tubes, la quantité d'amidon est constante au cours des 30 minutes de réaction et il n'y a pas de production de sucres réducteurs.

Nous savons que l'action de l'amylase se caractérise par une hydrolyse de l'amidon, donc une « disparition » de cette molécule et la production de sucres réducteurs.

Nous en déduisons donc que l'amylase n'a été active que dans le tube 2, donc uniquement à 37°C. Cela confirme bien que l'amylase agit très préférentiellement dans les conditions de l'organisme.

Matériel labo

Matériel par poste

- 12 tubes à essais
- 3 pipettes + petit bécher pour rinçage
- 1 plateau de coloration = plaques à cupules
- bain-marie 37° + thermomètre (à partager entre 2 ou 3 postes)
- bac à glace
- bain-marie 80° + thermomètre (à partager entre 2 ou 3 postes)
- chronomètre
- eau iodée (réactif spécifique de l'amidon)
- liqueur de Fehling (réactif spécifique des sucres réducteurs, comme le maltose)
- eau distillée
- feutre (pour tube)

Matériel bureau

- solution d'amylase, avec pipette 5 mL à température ambiante
- solution d'amylase, avec pipette 5 mL au froid !!!
- solutions de maltose, avec pipette 5 mL
- solution d'empois d'amidon tempérée (+ pipette 10 mL) : mettre deux béchers de 500 mL avec 1 pipette par bécher
- solution d'empois d'amidon froide (+ pipette 10 mL)