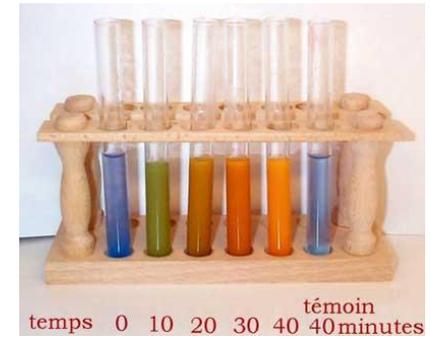


THEME 2 - Glycémie et diabète

TP1 - La digestion des glucides complexes par les enzymes

L'**amidon** est un polysaccharide (molécule glucidique complexe) de réserve typique des cellules végétales. Il est présent en grande quantité dans le tubercule de pomme de terre, dans la banane et la plupart des céréales. Il représente un apport conséquent de glucides pour l'organisme mais seuls les glucides simples peuvent passer à travers l'épithélium intestinal. Des enzymes comme l'**amylase** sont donc nécessaires pour transformer l'amidon en sucres simples (glucose) qui sont ensuite absorbés par l'intestin. Cette enzyme est présente dans la salive (pH 6,5 à 7,5) et dans l'estomac (pH 1,5 à 5)



Problème posé : Comment les enzymes permettent-elles la digestion des glucides complexes ?

Vous devrez démontrer que l'amylase hydrolyse l'amidon pour le dégrader en glucose et que cette réaction a lieu sous certaines conditions.

Matériel et données :

- Solutions purifiées d'enzymes digestives : amylase (présente dans la salive et les sucs pancréatiques), bac à glace (**pour conserver et inactiver l'enzyme**)
- Solution de glucides alimentaires : amidon (empois 0,2%)
- Réactifs : eau iodée (coloration bleue en présence d'amidon), Liqueur de Fehling (précipité rouge brique en présence de glucides simples).
- Bain marie à 35 et à 65°C, tubes à essai, bec électrique ou bain marie (+ pinces en bois, plaque en liège), HCl 1M, HCl 1mM (M = mol/L)

Propositions d'activités

Capacités / Critères de réussite

➤ **ETAPE 1 : Proposer une démarche pour répondre au problème posé**

☎ Appelez le professeur pour vérification

Analyser, extraire des informations

➤ **ETAPE 2 : Mettre en œuvre le(s) protocole(s) proposé(s)**

☎ Appelez le professeur pour vérification

Proposer une démarche de résolution

➤ **ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée.**

- Analyser les résultats obtenus et utilisez les documents fournis
- Présenter les résultats sous une forme qui vous semble la plus adaptée
- Comparer les vitesses d'une réaction catalysée par une enzyme et catalysée par un catalyseur chimique

Mettre en œuvre un protocole
Utiliser un microscope optique

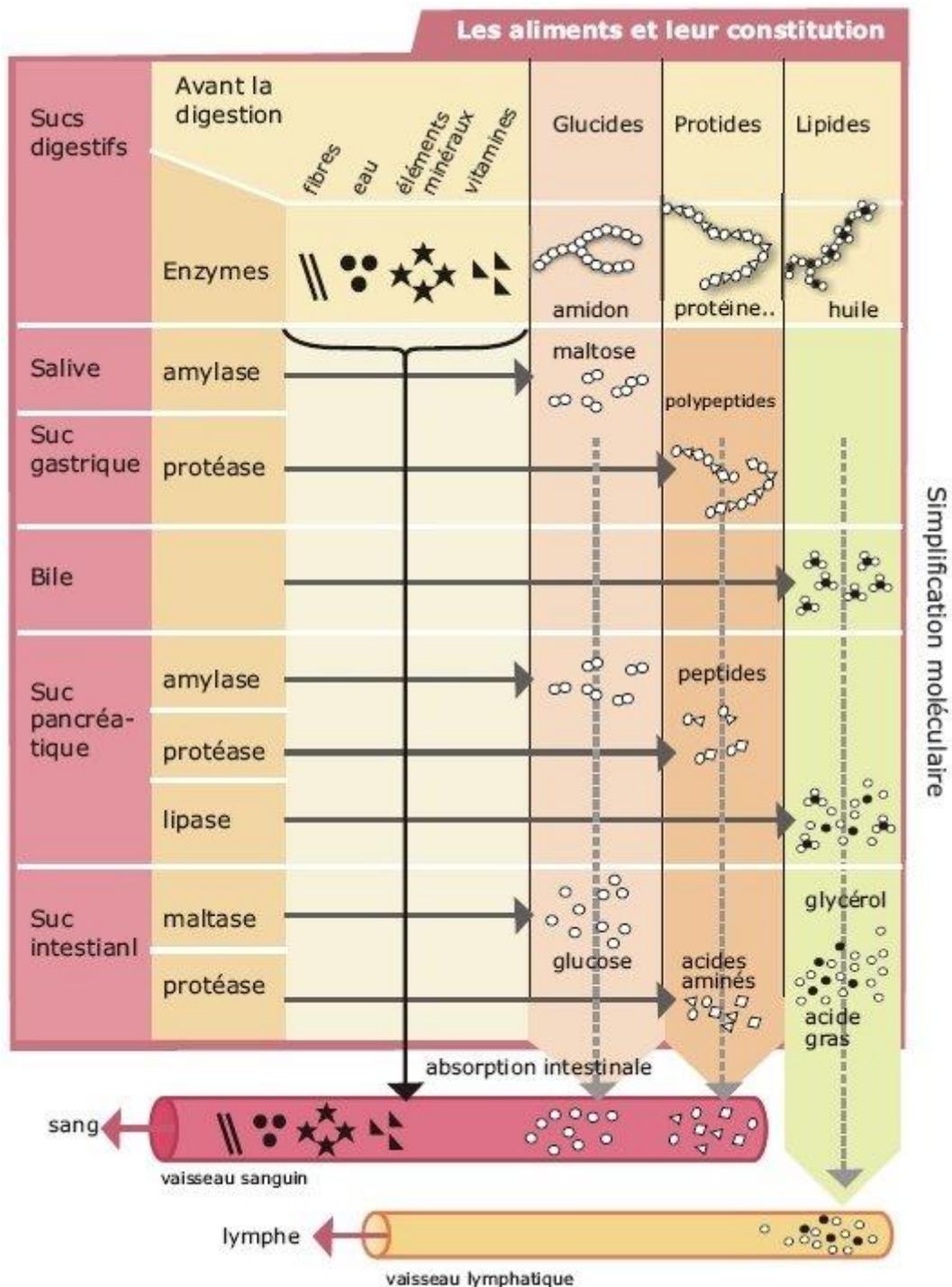
➤ **ETAPE 4 : Répondre au problème initial et identifier le rôle des enzymes dans la digestion des glucides**

Analyser, extraire des informations

➤ **En fin de séance, rangez le matériel et nettoyez la pailasse**

Communiquer à l'aide de mode de représentation

Document A : Les transformations des aliments au cours de la digestion



Document B : Une comparaison entre hydrolyse acide et hydrolyse enzymatique de l'amidon

L'amidon est polymère de réserve végétal composé de nombreuses unités de glucoses reliés entre elles (un peu comme le glycogène). Il est présent dans de nombreux aliments tels que la pomme de terre, les pâtes (sucres lents / féculents). Expérimentalement, on peut montrer que cette molécule est dégradée (libération de glucose) par des molécules acides (Acide chlorhydrique par exemple). L'acide chlorhydrique est donc un **catalyseur chimique**. L'enzyme est appelée **catalyseur biologique** et elle agit également à faible concentration, ce qui n'est pas le cas de l'acide chlorhydrique.

Réaction	catalyseur	T° de réaction	Temps nécessaire pour l'hydrolyse	Concentration du catalyseur
Hydrolyse de l'amidon	HCl	100°C	40mn	forte
	amylase	37°C	qqmn	faible

Document C : L'effet du pH sur l'action de l'amylase salivaire

Le pH mesure la concentration des ions H^+ dans un milieu, selon la définition $pH = -\log [H^+]$. Plus la solution est riche en H^+ , plus le pH est faible. Une solution d'HCl 1M présente un pH de 0 alors qu'une solution d'HCl 0,1M présente un pH de 1 (échelle logarithmique).

L'action de l'amylase a été testée pour différents pH puis on a révélé la présence d'amidon grâce à l'eau iodée (lugol).



Résultats à t = 5mn

pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 6 pH 7

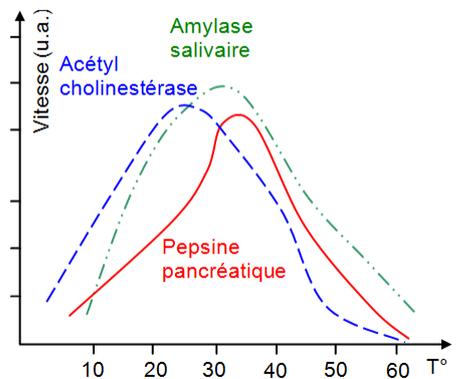
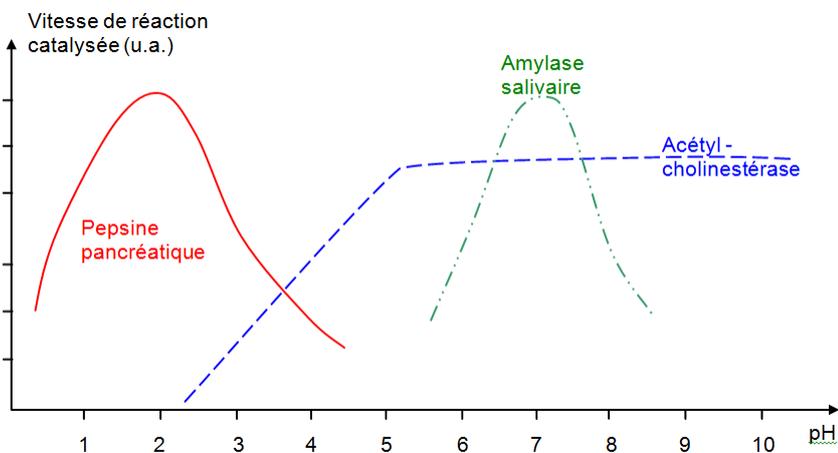
JE MANIPULE

- ▶ Remplir 6 tubes à essais avec 4,5 mL de tampon citrate-phosphate de pH respectivement 2-3-4-5-6-7.
- ▶ Dans chaque tube, ajouter 1 mL d'empois d'amidon à 5 g.L^{-1} et 3 gouttes d'eau iodée peu concentrée.
- ▶ Bien mélanger et placer au bain-marie à 35°C .
- ▶ Au temps t_0 , distribuer dans chaque tube 0,5 mL de solution d'amylase à 3 g.L^{-1} et mélanger. Suivre l'évolution de la coloration (visuellement ou par colorimétrie).
- ▶ Comparer les résultats obtenus pour les différents pH.

2 L'effet du pH sur l'activité de l'amylase salivaire. L'amylase salivaire est sécrétée dans la cavité buccale, où il règne un pH entre 6,5 et 7,5. Elle est ensuite entraînée dans l'estomac où le pH est acide (1,5 à 5). On cherche à explorer l'effet du pH sur son activité.

Document D : L'effet du pH et de la température sur l'action de diverses enzymes

Les enzymes sont des **protéines** qui présentent des conditions spécifiques d'action. La plupart des enzymes fonctionnent pour une température et un pH donnés (**température optimale** et **pH optimal**). Néanmoins, d'autres enzymes peuvent supporter des conditions de pH ou de température variable. Généralement, ces conditions optimales sont celles du milieu naturel de l'enzyme. La plupart des enzymes ont donc des conditions optimales autour de 35°C et pH 7. De plus, les températures et pH extrêmes ont tendance à dégrader les enzymes (structure protéique).



PROTOCOLE ACTION DE LA TEMPERATURE

- Préparez 3 tubes contenant chacun 0.5 ml d'amylase.
- Préparez 3 tubes à essai contenant chacun 5 ml d'amidon
- Placez 2 tubes (1 avec amidon et 1 avec amylase) dans la glace.
- Placez 2 tubes (1 avec amidon et 1 avec amylase) au bain marie à 37°C.
- Placez 2 tubes (1 avec amidon et 1 avec amylase) au bain marie à 65°C.
- Attendre quelques minutes pour que chaque tube s'équilibre en température.
- Au temps t=0, verser la solution d'amylase dans le tube contenant l'amidon à la même température. Agiter pour mélanger.
- **ATTENTION : Prélever immédiatement quelques gouttes de chaque mélange et faire un test à l'eau iodée dans la plaque alvéolée.**
- Toutes les 3 mn (pendant 12 mn au total), prélever quelques gouttes de chaque mélange (ATTENTION à ne pas inverser les pipettes) et faire un test à l'eau iodée dans la plaque alvéolée.

PROTOCOLE ACTION DU pH

- Préparez 3 tubes contenant chacun 0.5 ml d'amylase.
- Préparez 3 tubes à essai (A1, A2 et A3) contenant chacun 5 ml d'amidon **et ajoutez**
 - o Tube A1 : 0,5 mL d'HCl 1M soit 1 mol/L (solution finale à pH1)
 - o Tube A2 : 0,5 mL d'HCl 1 mM 1 mMol/L (solution finale à pH4)
 - o Tube A3 : 0,5 mL d'eau (solution finale à pH7)
- Placez les 6 tubes au bain marie à 37°C.
- Attendre quelques minutes pour que chaque tube s'équilibre en température.
- Au temps t=0, verser chaque solution d'amylase dans les tubes A1, A2 et A3. Agiter pour mélanger.
- **ATTENTION : Prélever immédiatement quelques gouttes de chaque mélange et faire un test à l'eau iodée dans la plaque alvéolée.**
- Toutes les 3 mn (pendant 12 mn au total), prélever quelques gouttes de chaque mélange (ATTENTION à ne pas inverser les pipettes) et faire un test à l'eau iodée dans la plaque alvéolée.