Manipulation TP1 enzymologie – Sciences et Laboratoire

Questions : quel(s) sont leurs rôles, et quelles sont leurs propriétés ?

Matériel : Empois d'amidon, un ballon, un chauffe ballon, acide chlorhydrique, 6 tubes à essai, liqueur de fehling, eau iodée, bec bunsen, eau distillée, bain marie, pipette, pepsine, solution d'albumine, soude, bandelettes réactives à l'albumine, maxilase, papier pH.

I – Mise en évidence de la catalyse enzymatique

1 – L'amidon

L'amidon, glucide exclusivement synthétisé par les végétaux, est un polymère de plusieurs milliers de molécules de glucose. Une telle macromolécule ne peut être absorbée par l'organisme sans hydrolyse préalable :

$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \rightarrow nC_6H_{12}O_6$

Cette réaction ne peut se faire en un temps raisonnable sans catalyseur.

2 – Hydrolyse de l'amidon cuit par l'acide chlorhydrique.

- Remplir au 2/3 le ballon d'empois d'amidon à 1%. Y rajouter 10 ml d'acide chlorhydrique N/2.
- Porter le mélange à ébullition pendant 1h30.
- Toutes les 10 minutes, effectuer deux prélèvements, l'un de 2ml dans un tube à essai pour le test à la liqueur de Fehling ; l'autre sur la plaque de coloration pour le test à l'eau iodée. (ne faire chauffer la liqueur de Fehling car la solution est déjà chaude)
- Noter les résultats.

3 – Hydrolyse de l'amidon cuit par la maxylase

- Dans deux tubes à essai, verser 15 ml d'empois d'amidon. Dans l'un, rajouter 0.5 ml d'eau distillée, dans l'autre, 0.5 ml de maxylase (enzyme salivaire).
- Agiter et placer immédiatement à 37°C.
- Toutes les deux minutes, faire un prélèvement sur lequel vous réaliserez le test à la liqueur de fehling et un deuxième sur lequel vous réaliserez le test à l'eau iodée.
  - Noter les résultats.

4 – Interprétations

- Que cherche-t-on à montrer quand on réalise le test à l'eau iodée à t=0 ? Le test à l'eau iodée toutes les 10 minutes ?
- Mêmes questions pour la liqueur de Fehling.
- Quand peut-on savoir que l'hydrolyse est terminée ?
- Expliquer les résultats expérimentaux des deux expériences.
- Réaliser une comparaison des deux hydrolyses à présenter sous forme de tableau.
- Donner une définition d'une enzyme.

II – Influence du pH sur l'activité enzymatique

La pepsine est une enzyme produite par l'estomac. Elle agit donc en milieu acide, à pH =2. Elle catalyse l'hydrolyse des protéines. Cette hydrolyse nécessite 15 minutes à 37°C.

- Préparer 4 tubes à essai contenant 10 ml de solution d'albumine à 40g par litre.
- Dans les 3 premiers tubes, numérotés, ajouter 1 ml de solution de pepsine.
- Dans le tube 2, rajouter quelques gouttes d'acide de façon à obtenir un pH = 2.
- Idem dans le tube 3, avec de la soude pour obtenir un pH = 10.
- Dans le tube 4, ajouter 1ml d'eau et quelques gouttes d'acide (pH=2).
- Vérifier la présence d'albumine au bout de 15 minutes par des bandelettes réactives.
- Noter les résultats. Les interpréter.