

## I. Principe de l'expérience

**Expérience :** Il s'agit de tester, au cours du temps, la teneur en amidon d'une solution d'empois d'amidon dans diverses conditions expérimentales :

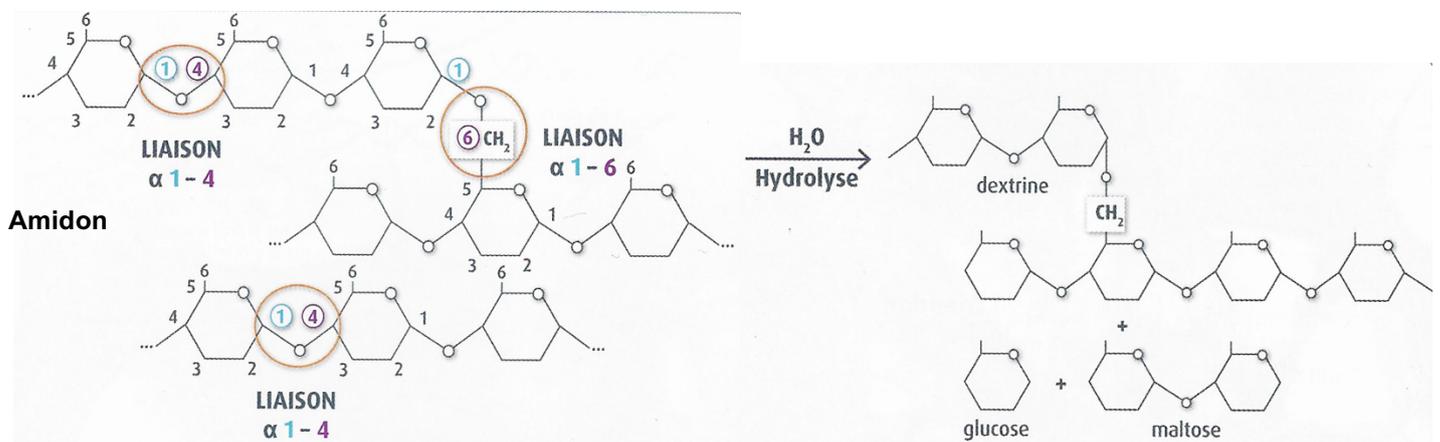
- en présence d'eau (tube témoin)
- en présence d'amylase native à 37°C ou à 4°C
- en présence d'amylase bouillie puis refroidie.

On cherchera aussi à tester l'action de l'amylase sur un autre glucide : la cellulose.

### INFORMATIONS :

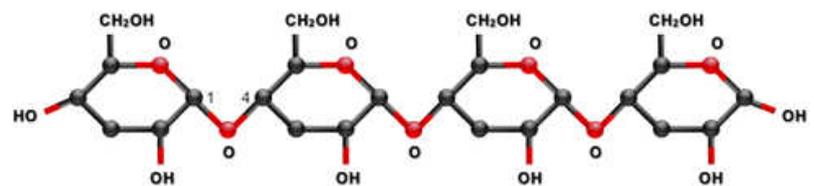
L'**amylase** est une enzyme : c'est une molécule qui appartient à la catégorie des protéines.

L'**amidon** est une macromolécule de la catégorie des glucides. C'est un assemblage de nombreuses molécules de glucose, toutes identiques.

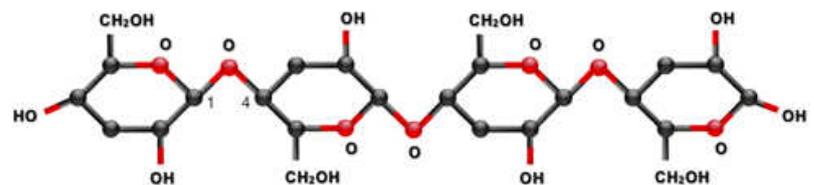


La **cellulose** est un glucide. C'est un polymère de glucoses tout comme l'amidon mais les liaisons sont différentes entre les glucoses : il possède des liaisons  $\beta$  1-4 en plus des liaisons  $\alpha$  1-4

### Comparaison de la structure moléculaire de l'amidon et de la cellulose



AMIDON : liaisons alpha 1-4



CELLULOSE : liaisons beta 1-4

## II. Les réactifs colorés

Le **test au Lugol** permet de mettre en évidence la présence d'amidon. En effet, en absence d'amidon le Lugol reste coloré en jaune-orangé et se colore en bleu en présence d'amidon.

Méthode : déposer une goutte de Lugol dans le fond d'un puit de la plaque de titration et y ajouter 3 gouttes d'eau distillée pour diluer. Puis déposer par dessus une goutte de solution à tester.

Le **test à la liqueur de Fehling** permet de détecter la présence de sucres réducteurs (maltose ou glucose). En effet, la solution reste bleue en leur absence et devient un précipité rouge-brique en leur présence.

Méthode : prélever quelques gouttes de la solution à tester dans un tube à essai, ajouter 3-4 gouttes de liqueur de Fehling (la couleur bleu doit être clairement visible) puis chauffer au bec électrique pour vérifier si un précipité rouge brique apparaît.

## III. Protocole expérimental

Au préalable :

- 1) Branchez le bain-marie et réglez-le sur 37°C
- 2) Préparez un bécher rempli à moitié de glace pilée
- 3) Dans un tube à essai noté AB, préparez 1mL d'amylase bouillie-refroidie : en la faisant bouillir au bec électrique puis refroidir quelques instants dans la glace

Préparez vos 5 tubes en commençant par mettre les substrats : amidon ou cellulose (numérotez vos tubes) Ajoutez ensuite l'enzyme dans les tubes (ou l'eau pour le tube témoin) et laissez la pipette dans chaque tube respectif (ne pas faire d'échanges !)

Placez les tubes au bain-marie ou dans la glace.

Lancez le chronomètre

Tube 1	5 mL d'empois d'amidon	1 mL d'eau distillée	Bain marie à 37°C
Tube 2	5 mL d'empois d'amidon	1 mL d'amylase	Bain marie à 37°C
Tube 3	5 mL d'empois d'amidon	1mL d'amylase bouillie et refroidie (AB)	Bain marie à 37°C
Tube 4	5 mL de cellulose	1 mL d'amylase	Bain marie à 37°C
Tube 5	5 mL d'empois d'amidon	1 mL d'amylase	Dans un bécher avec de la glace pilée à 4°C

Aux temps 0 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min, 30 min, 35 min, 40 min : faites un test au Lugol pour chaque tube (annotez vos puits à chaque étape).

A la fin de l'expérience (voir avec votre professeur) : réalisez un test à la liqueur de Fehling pour chaque tube (annotez vos tubes).

### S'il vous reste du temps pour prolonger la manipulation :

A T = 45 min (environ), ajoutez de nouveau de l'empois d'amidon dans le tube 2, replacez-le dans le bain-marie et suivez à nouveau l'évolution de la coloration par le test au Lugol en réalisant un prélèvement toutes les 5 minutes.

## VI. BILAN

- 1) Présentez les résultats de vos expériences sous forme d'un **tableau** titré et bien annoté (numéro des tubes, test Lugol, test liqueur de Fehling).
- 2) Interprétez vos résultats.
- 3) Concluez en expliquant le mode d'action de l'amylase.