

# TP2 Amylase et spécificité enzymatique

Enzyme, substrat, réactifs, eau iodée, liqueur de Fehling, amylase,  
glucose, amidon, glycogène, maltose, saccharose



## Mise en situation et recherche à mener

Le glycogène et l'amidon sont deux glucides complexes, polymères de glucoses, qui ont des structures différentes. Une enzyme est une protéine qui catalyse de manière spécifique une réaction biochimique.

L'amylase est une enzyme digestive présente dans la salive connue pour hydrolyser l'amidon.

**On cherche à déterminer si l'amylase hydrolyse spécifiquement l'amidon ou si elle peut aussi hydrolyser le glycogène.**

## Ressources

### Structure de l'Amidon et du glycogène

**L'amidon et le glycogène** sont tous deux des assemblages de très nombreuses molécules de glucose. Leur structure spatiale est cependant très différente. Les molécules de glucoses de l'amidon sont essentiellement assemblées de manière linéaire, alors que dans le glycogène elles forment des chaînes très ramifiées.

### Digestion

**La digestion de l'amidon et du glycogène** donne des sucres réducteurs, essentiellement du maltose.

### Tableau des réactifs de certains glucides

Molécules	Amidon	Glycogène	Maltose
<b>Réactifs</b>			
<b>Eau iodée</b>	+ Bleu noir	+ Brun rouge	- Jaune
<b>Liqueur de Fehling (à chaud)</b>	- bleu	- bleu	+ Précipité rouge brique

+ positif  
- négatif

## Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

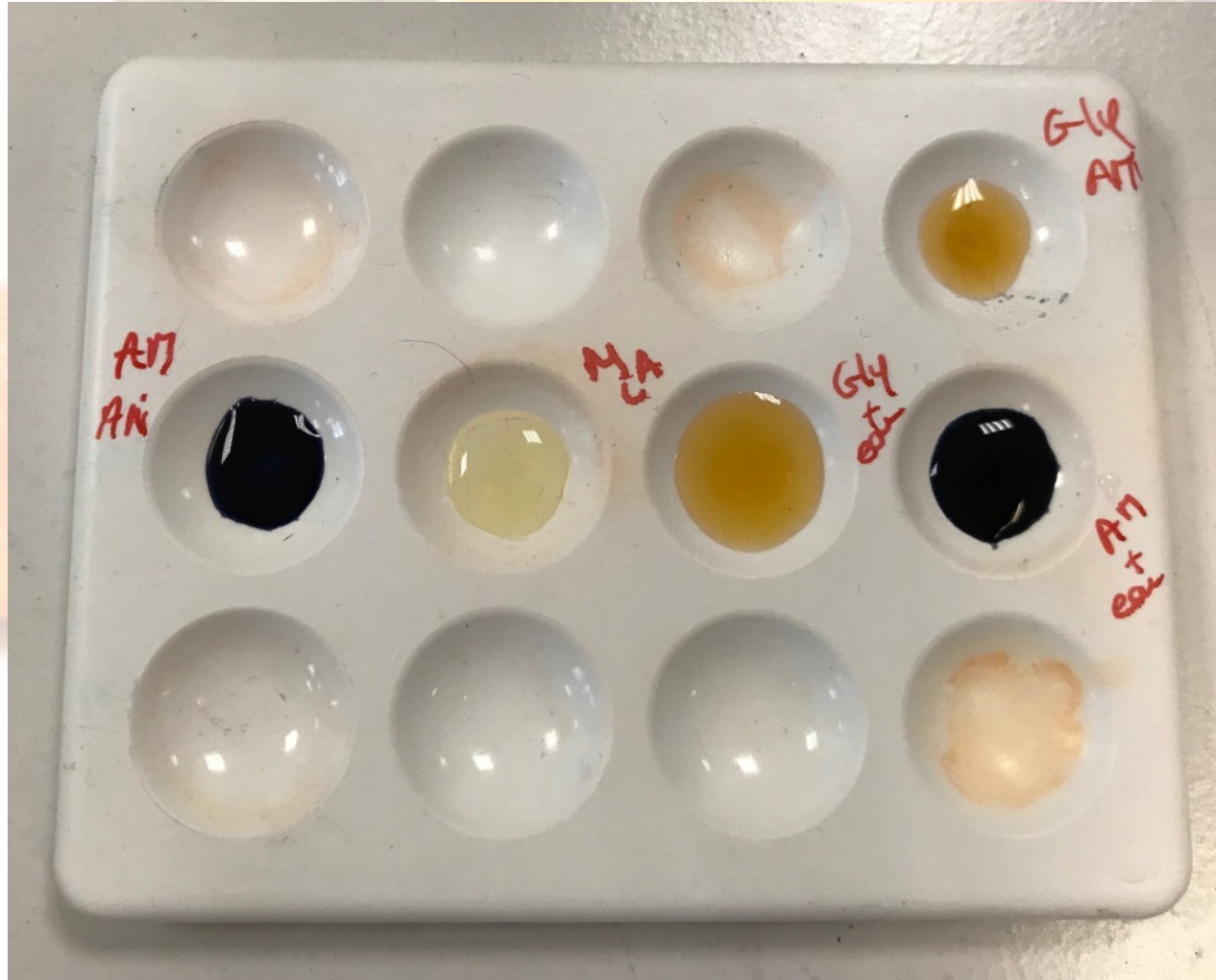
**Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant de déterminer si l'amylase hydrolyse spécifiquement l'amidon ou si elle peut aussi hydrolyser le glycogène, en réalisant des digestions in vitro.**

**Appeler l'examineur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.**

## Tableau des réactifs de certains glucides simples et polyholosides

glucides réactifs	Aucune (Témoin -)	amidon	glycogène	maltose
Eau iodée	Jaune (-)	<u>Bleu noir (+)</u>	<u>Brun rouge (+)</u>	Jaune (-)
Liqueur de Fehling (à chaud)	Bleu (-)	Bleu (-)	Bleu (-)	<u>Précipité rouge brique (+)</u>

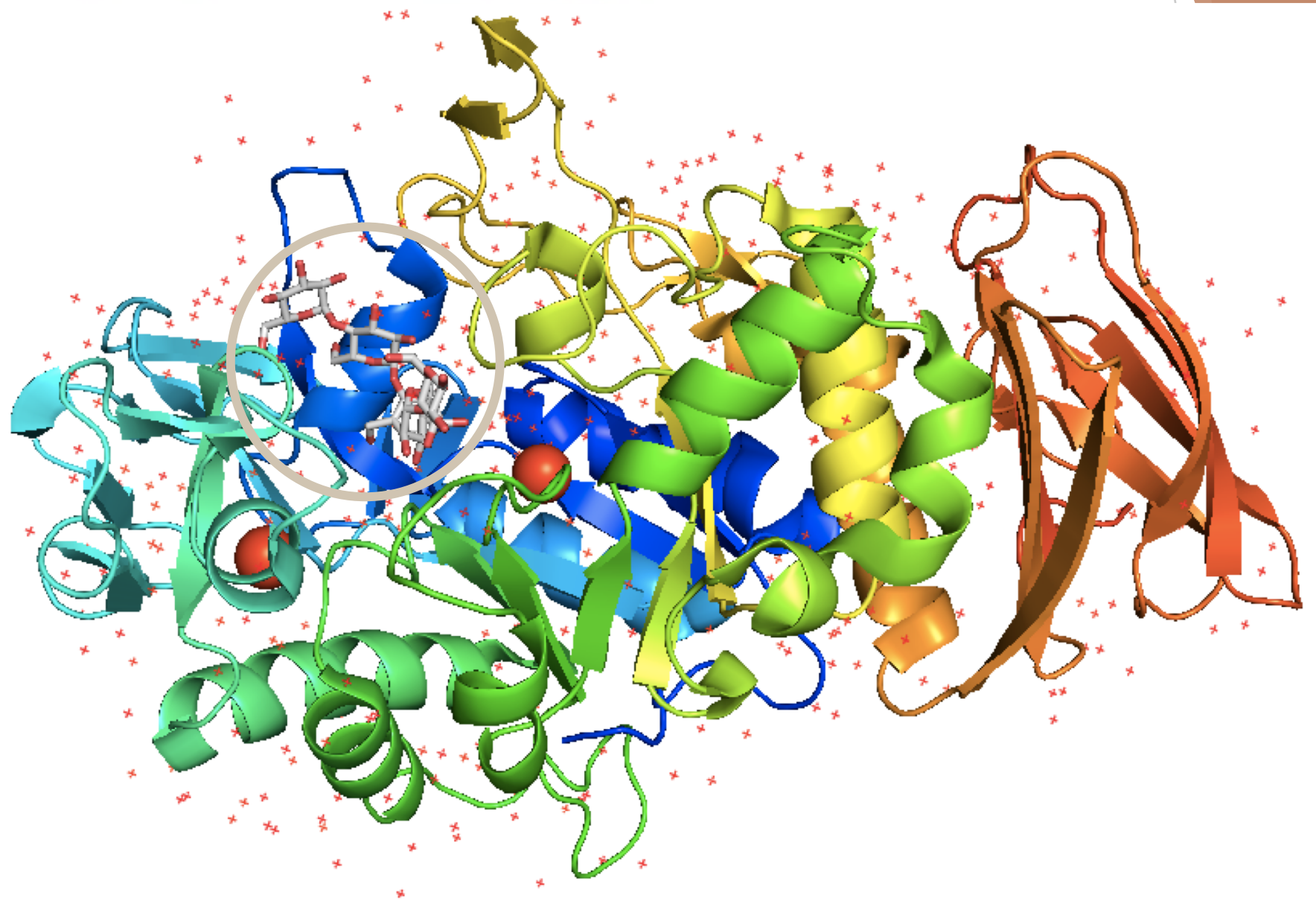
# Résultats des tests à l'eau iodée pour les différents tubes



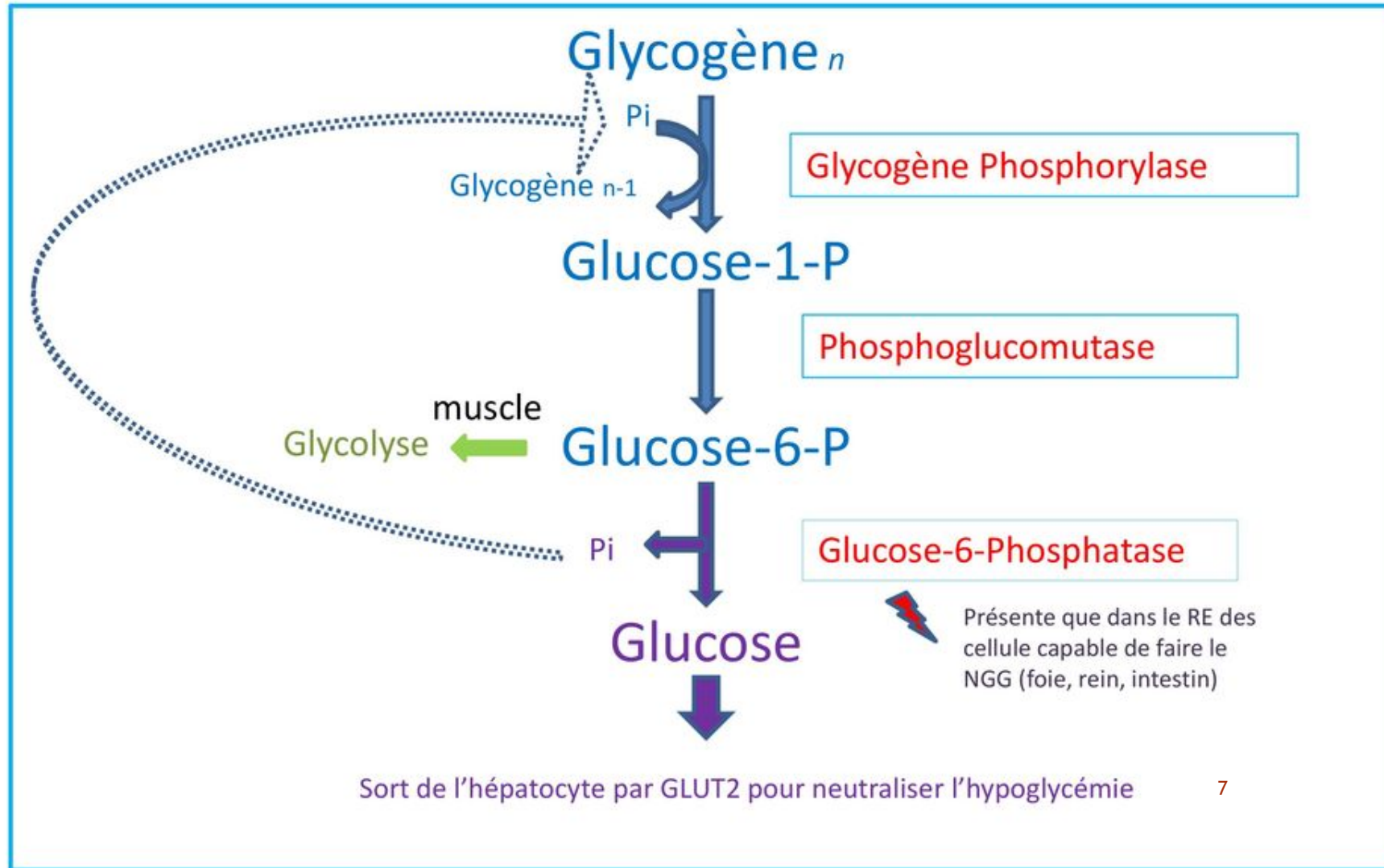
## QUELQUES TESTS CHIMIQUES D'IDENTIFICATION DE MOLECULES

On cherche ...	Test	Mise en œuvre et résultats
AMIDON GLYCOGENE	<u>Lugol ou eau iodée</u> : L'eau iodée met en évidence la présence de polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Placez quelques gouttes en contact avec la substance à testé (solide ou liquide).</li> <li>➤ Coloration bleu foncé : amidon.</li> <li>➤ Coloration brune : glycogène.</li> <li>➤ Pas de coloration (jaune) : négatif.</li> </ul>
SUCRES REDUCTEURS (GLUCOSE, FRUCTOSE, ...)	<u>Liqueur de Felhing</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mettre la substance à tester en solution dans un tube à essai avec de l'eau distillée.</li> <li>➤ Ajouter quelques gouttes de liqueur de Fehling (couleur bleue).</li> <li>➤ Faire chauffer au bec bunsen ou mieux mettre au bain-marie à 100°C quelques minutes.</li> <li>➤ La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de sucres réducteurs.</li> </ul>
CELLULOSE	<u>Test lugol + acide sulfurique</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Placer l'échantillon 10 min dans du Lugol dilué (1/10).</li> <li>➤ Monter entre lame et lamelle dans une goutte d'acide sulfurique.</li> <li>➤ La cellulose imprégnée de Lugol gonfle et se colore en bleu vif en présence de l'acide sulfurique.</li> <li>➤ La coloration est belle seulement quelques instants avant que la cellulose ne se désorganise.</li> </ul>
PROTEINES	<u>Réaction du biuret</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Dans un tube à essai, ajouter à 3 à 4 mL de la solution à tester 1 mL de soude.</li> <li>➤ Ajouter goutte à goutte du sulfate de cuivre.</li> <li>➤ Il apparaît une coloration allant du rouge (molécule longue) au bleu (molécule courte) en présence de protéines.</li> </ul>
LIPIDES	<u>Coloration au rouge soudan III</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mettre la substance à tester en solution dans un tube à essai avec de l'eau distillée ou dans un verre de montre.</li> <li>➤ Ajouter quelques gouttes de rouge Soudan III.</li> <li>➤ Monter éventuellement entre lame et lamelle pour une observation au microscope.</li> </ul>
	<u>Test du papier</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Frotter la substance à tester sur un morceau de papier puis laisser sécher.</li> <li>➤ La présence de lipides est indiquée par une auréole transparente.</li> </ul>

# L'Amylase et son substrat: l'amidon, polymère de glucose



# La Glycogénolyse



# La glycogène phosphorylase et son substrat

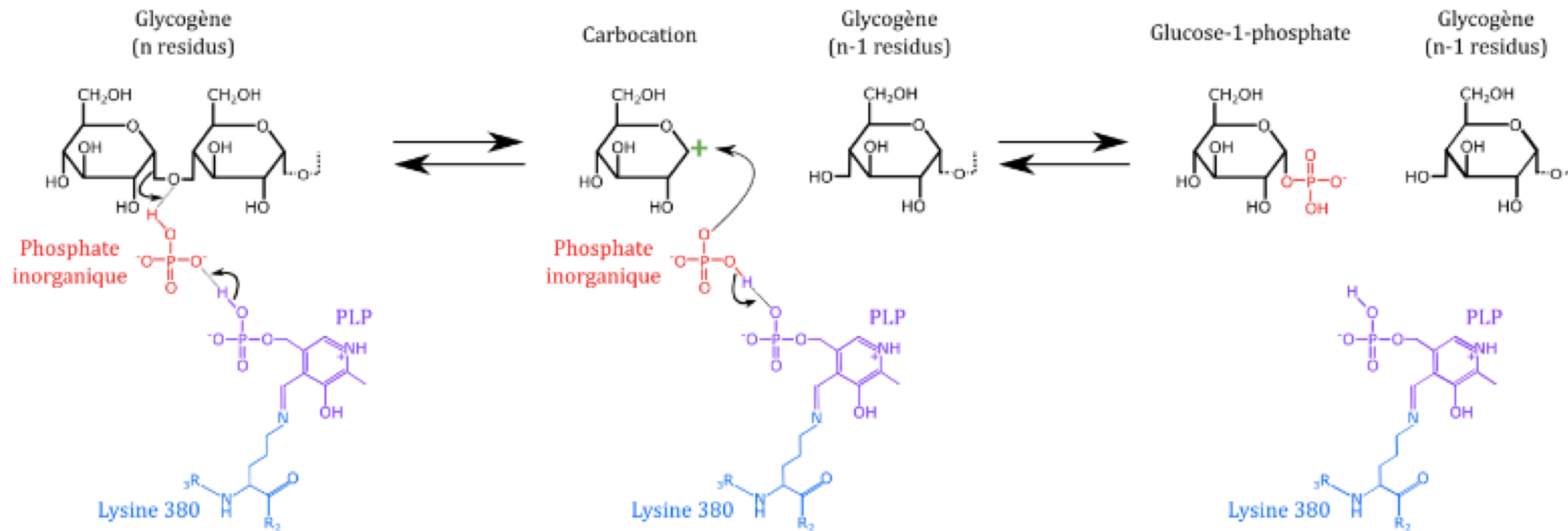
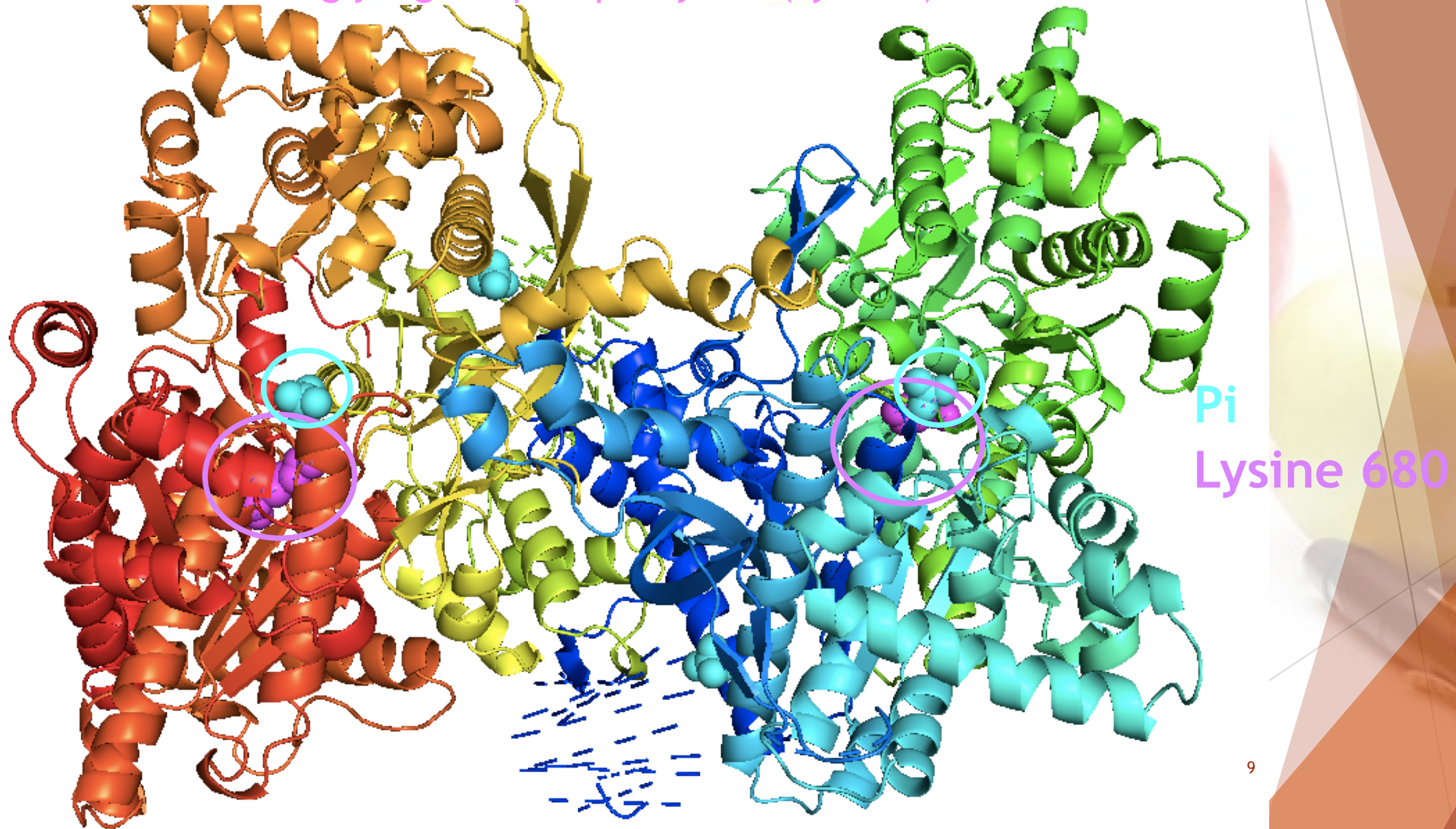


Figure II-3 : Le PLP comme cofacteur de la réaction de phosphorylyse

Le PLP est lié à la lysine 380 du site actif formant une base de Schiff. Il joue le rôle de donneur de proton lors de la catalyse enzymatique. Les échanges de protons entre le PLP, le glycogène et le phosphate inorganique conduit à la libération d'un carbocation issu de la molécule de glycogène. Le phosphate inorganique réalise ensuite une attaque nucléophile sur le carbocation conduisant à la formation d'un glucose-1-phosphate.



La glycogène phosphorylase et ses substrats: glycogène et Pi  
Site actif de la glycogène phosphorylase (Lys 680)



# Traces écrites

## II- Les enzymes, des biocatalyseurs.

TP2 Amylase spécificité de substrat amidon vs glycogène

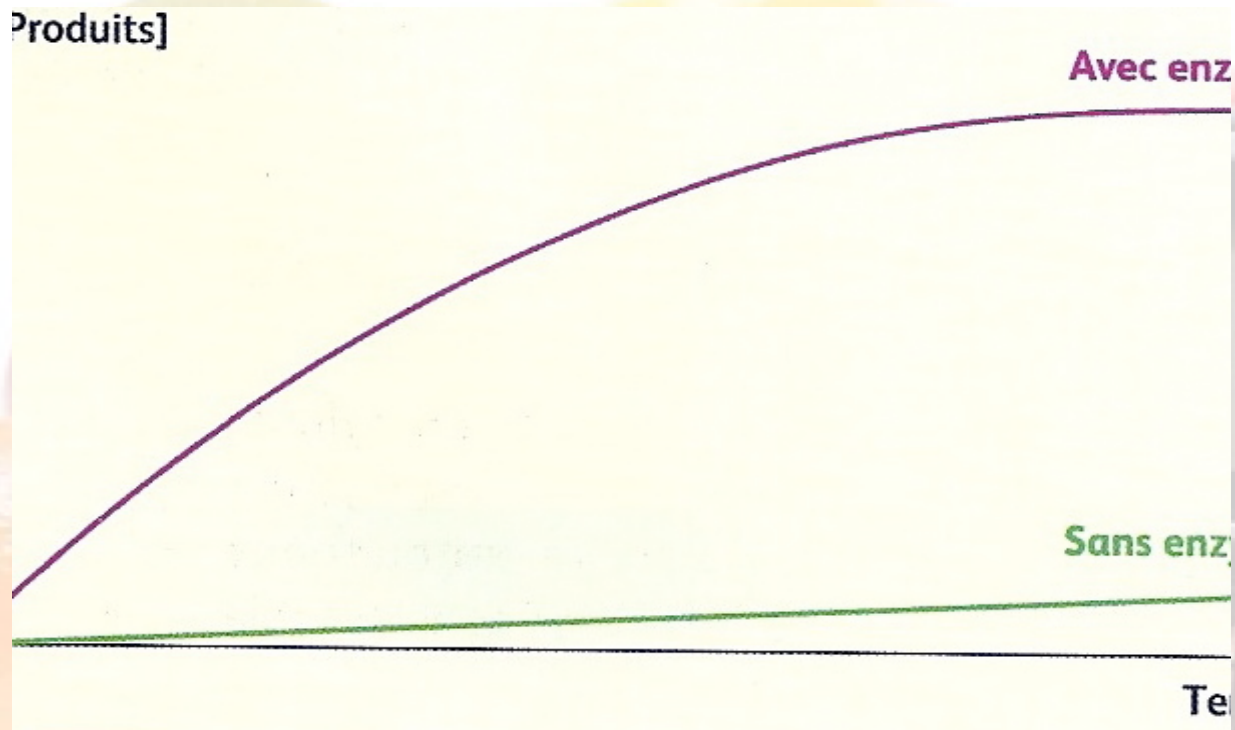
TP 3 Optimum pH et T°C de la pepsine

L'hydrolyse de l'amidon (composés glucidiques) peut se produire assez rapidement en milieu acide (pH = 1) et à une température de 100° C. À une température de 37° C et à un pH = 7 (conditions de notre corps), la réaction est beaucoup trop lente pour être compatible avec les contraintes de la vie. L'amylase produite par les sucs digestifs (salive, suc pancréatique), est une protéine, appelée enzyme, qui permet d'accélérer la réaction et de la rendre possible dans les conditions biologiques.

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques c'est-à-dire des protéines qui :

- augmentent la vitesse d'une réaction, ces sont des catalyseurs ;
- permettent, à faible concentration, la réalisation d'une réaction aux conditions biologiques ;
- restent intactes en fin de réaction

Attention : un catalyseur ne peut rendre possible une réaction qui ne se produirait pas spontanément sans leur intervention.



Te Manuel Nathan SVT spécialité, 2012.

Dans une réaction catalysée par une enzyme, les réactifs sur lesquels l'enzyme agit sont qualifiés de substrats et deviennent à l'issue de la réaction les produits.

Les enzymes nécessitent des conditions particulières pour fonctionner : les optima de fonctionnement correspondant aux conditions rencontrées dans les organes de notre corps où elles interviennent.

