**TP n°1 : L'activité de l'amylase (Digestion de l’amidon)**

**Introduction**

L’amidon est une macromolécule, polymère de glucose, utilisée comme molécule de réserve chez les végétaux. Les **amylases** catalysent **l'hydrolyse de l'amidon.** Ces enzymes sont également présentes dans les sucs digestifs des consommateurs  
animaux; par exemple, chez l'homme, dans la salive, le suc pancréatique et le suc intestinal. L’amylase est un complexe enzymatique (α-amylase, β-amylase,  
phosphorylase) qui catalyse la dégradation de l’amidon. La coloration au lugol (eau iodée) est caractéristique des polymères du glucose : coloration bleu-nuit en présence d’amidon, coloration jaune en son absence.

**Matériel**

* 02 Comprimés dragéifiés de Maxilase contenant une enzyme : l’α-amylase.
* 4 g d’amidon soluble.
* 2.5 g de chlorure de calcium.
* Entonnoir, papier filtre
* Tampon pH 7
* 5 Portoir
* 100 tubes à essais
* Bain-marie à 37 °C
* Balance
* Verre de montre
* Erlen meyer de 500 ml
* 2 becher de 50ml
* Becher de 25ml
* fiole jaugée de 200 ml
* fiole jaugée de 100 ml
* Spatule
* 6 Pipette de 5ml
* 6 pipettes de 1 ml
* Lugol
* Pipeton
* plateau de coloration
* 300 ml d’eau distillée

**Protocole**

1. Chauffer dans un erlen-meyer de 500 ml, 150 ml d’eau distillée (éviter l’ébullition). Peser 4 g d’amidon soluble, délayer dans 10 ml d’eau distillée froide ; verser cette suspension en 4 ou 5 fois dans l’eau distillée presque bouillante (à chaque fois, agiter jusqu’à obtention d’une solution limpide). Porter à ébullition 3 ou 4 minutes ; refroidir sous l’eau du robinet puis transvaser dans une fiole jaugée de 200 ml et compléter avec de l’eau.

2. préparer 500 ml d’une solution de chlorure de calcium **à 5‰** (5g par litre) dans l’eau distillée.

3.Rincer sous l’eau deux comprimé de Maxilase afin d’éliminer la pellicule colorée qui l’entoure et qui contient des sucres.

4.Écraser les deux comprimés dans 10 mL d’eau distillée, filtrer le mélange, ajouter au filtrat 2 mL de chlorure de calcium à **5‰** et constitue ainsi la préparation enzymatique (tube 0).

5.Préparer 8 tubes numérotés de 1 à 8, comme indiqué dans le tableau ci-dessous afinde tester l’action de l’amylase et l’influence du milieu sur son action.- Attention ! Mettre la solution d’amylase dans chaque tube au dernier moment,  
quand les tubes sont dans les bains-marie (après environ 2min).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tube n° | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Empois d’amidon (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 ml eau distillée |
| Tampon pH 7 (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Amylase (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 ml sol amylase diluée 3 fois | 1 ml sol amylase bouillie | 1 |

Agiter les tubes ; les placer au bain-marie à 37°C.

6.Toutes les 3 minutes, prélever 1ml dans l’un des tubes 1 à 5 du milieu réactionnel ; déposer le prélèvement dans un tube à essais contenant 0,1 ml de lugol (on a au préalable préparé 5 tubes avec du lugol). Agiter et définir la coloration du tube.

7.Après 15 minutes, prélever 1ml du milieu réactionnel des tubes 6 à 8 ; déposer le prélèvement dans un tube à essais contenant 0,1 ml de lugol (on a au préalable préparé 3 tubes avec du lugol). Agiter et définir la coloration du tube. **Conclure**.

**Remarque**   
En présence d’amidon, l’eau iodée se colore en bleu foncé.

**Dr.Boukezoula F**