

Synthèse et hydrolyse de l'amidon

Matériel :

Pour l'hydrolyse :

- 3 tubes à essai
- 1 marqueur
- 1 plateau de coloration
- 3 pipettes de 1 mL et 1 propipette
- 3 pipettes plastiques
- Parafilm
- 1 bain marie à 37°C
- Chronomètre
- 1 flacon compte-goutte d'eau iodée C/2
- H₂O D
- Empois d'amidon à 10g/L
- Amylase (ici en sirop soit 2 mL dans 100 mL d'H₂O D)
- Amylosynthétase

Pour la synthèse :

- 3 tubes à essai
- 1 marqueur
- 1 plateau de coloration
- 3 pipettes de 1 mL et 1 propipette
- 3 pipettes plastiques
- Parafilm
- 1 bain marie à 37°C
- Chronomètre
- 1 flacon compte-goutte d'eau iodée C/2
- H₂O D
- Glucose-1-phosphate 10g/L
- Amylase (ici en sirop soit 2 mL dans 100 mL d'H₂O D)
- Amylosynthétase

Avant le TP :

- Préparation de l'amylosynthétase : conservation ½ journée
Éplucher et couper 50 g de pomme de terre en petits morceaux
Broyer (au mixer ou dans un mortier) dans 30 mL d'eau distillée
Filtrer ou le plus rapide Centrifuger (5 min à 5000 tours/min)
Le filtrat contient l'enzyme
On peut réaliser un test à l'eau iodée pour vérifier l'absence d'amidon sinon réaliser une seconde filtration ou centrifugation.

Protocole :

Réaliser les tests dans les conditions expérimentales suivantes :

- Attention mélanger chaque tube après avoir recouvert d'un parafilm.
- Prélever quelques gouttes pour réaliser le test de mise en évidence à t= 0 min avant de les placer dans le bain marie.
- Après qu'un tube soit prêt, placer le tout de suite dans le bain marie et déclencher le chrono.
- Réaliser le test de mise en évidence à t= 5 min.

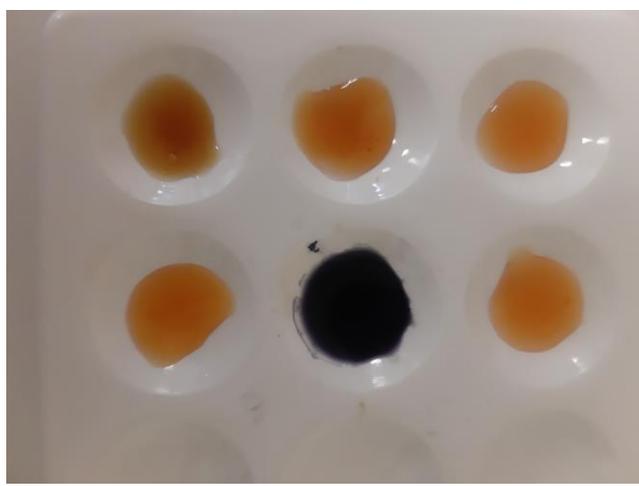
Expérimentations	Tubes	Nature du substrat	Volume de substrat	Volume d'enzyme : amylase	Volume d'enzyme Amylosynthétase	Volume d'eau	Temps de réaction	Température
Mise en évidence de l'action des enzymes dans l'utilisation des réserves d'amidon (Hydrolyse)	1	Amidon	1mL	1mL	0mL	0mL	5 min au bain-marie	37°C
	2	Amidon	1mL	0mL	1mL	0mL		
	3	Amidon	1mL	0mL	0mL	1mL		
Mise en évidence de l'action des enzymes dans la mise en réserve du glucose sous forme d'amidon (Synthèse)	4	Glucose 1- P	1mL	1mL	0ml	0mL	5 min au Bain-marie	37°C
	5	Glucose 1- P	1mL	0mL	1mL	0mL		
	6	Glucose 1-P	1mL	0mL	0mL	1mL		

- Pour réaliser le test de mise en évidence :
Prélever quelques gouttes du tube, mettre dans une cupule du plateau de coloration.
Ajouter 2 à 3 gouttes d'eau iodée.

Photo :



Résultats :

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6
t : 0 min						
t : 5 min						

Trucs et astuces :

- Préparer le glucose-1-phosphate le jour du TP, il ne se conserve pas
- L'amylase et l'empois d'amidon se conservent 2 semaines au réfrigérateur.
- Voir la fiche technique de préparation empois d'amidon.
- Les pipettes plastiques sont rallongées pour aller au fond du tube avec un embout coupé d'une autre pipette plastique.
- Le contenu du plateau de coloration sera collecté dans un bidon ion iodé.