AT L'Alpha-amylase une protéine essentielle à la digestion

Aggripine aime arroser sa salade avec du jus de citron.

A l'aide d'un ensemble de tests essais ou témoins répondre à la question suivante

Son alpha amylase est-elle toujours active sur l'amidon contenue dans salade ?

Consigne : Lire le document 1 et Répondre aux questions

Q1 Compléter le tableau 1 en retrouvant le rôle de chaque solution :

a) Solution de référence qui contient l'enzyme (alpha amylase)
b) Liquide biologique contenant l'enzyme
c) Solution acide pour étudier l'effet du pH sur l'activité enzymatique
d) Solution contenant le substrat de l'enzyme (alpha-amylase)
e) Solution permettant de vérifier l'efficacité du réactif mettant en évidence le glucose
f) Solution permettant de vérifier l'efficacité du réactif mettant en évidence l'amidon
g) Réactif permettant de mettre en évidence la présence de glucose dans la solution
h) Réactif permettant de mettre en évidence la présence d'amidon dans la solution

Tableau 1 :

Solution	Rôle (lettre)
Solution d'amidon à 1 $g.L^{-1}$	(Deux rôles !!)
Solution de glucose à 1$g.L^{-1}$	
Salive	
Citron (pH acide)	
Maxilase 3000 U_1 (solution d'alpha amylase commerciale)	
Réactif glucose RTU de chez Biomérieux	
Eau iodée.	

Q2- Indiquer le rôle de chaque manipulation si on réalise les mélanges décrits dans le tableau 2 :

a) Manipulation pour vérifier si la salive contient de l'alpha-amylase et si elle est active à 37°C
b) Manipulation pour vérifier que le maxilase contient de l'alpha-amylase active à 37°C
c) Manipulation pour vérifier que l'alpha-amylase n'agit pas sur le glucose
d) Manipulation pour vérifier si l'alpha-amylase agit à pH acide et à 37°C

Tableau 2 :

	Rôle (lettre)
Maxilase+ amidon	
Maxilase+ glucose	
Maxilase+ jus de citron + amidon	
Salive+ amidon	

Q3- Pourquoi est-il nécessaire de faire une réaction de révélation pour mettre en évidence l'activité enzymatique de l'alpha-amylase ?

Q4- Indiquer le rôle détaillé de chacune des manipulations de révélation suivantes

-témoin d'efficacité (=témoin positif)

- témoin de spécificité (témoin négatif)

	Rôle
Eau iodée + glucose	
Eau iodée + amidon	
Eau iodée +eau	
Réactif RTU + amidon	
Réactif RTU + glucose	
Réactif RTU + eau	

Imaginons que vous réalisez la manipulation !!

Q5- Faire le diagramme de réalisation du tube 1 avec les deux révélations.

Q6- Réfléchir à la préparation de la manipulation

- **Quel volume de solution prendrez-vous à la paillasse ?**

Solution	Volume à prendre à la paillasse
Solution d'amidon à 1 $g.L^{-1}$	
Solution de glucose à 1$g.L^{-1}$	
Salive	
Citron (pH acide)	
Maxilase 3000 U_1 (solution d'alpha amylase commerciale)	
Réactif glucose RTU de chez Biomérieux	
Eau iodée	

- **Quelle pipette utiliserez-vous ? et quel affichage ?**

Données :

Pipette automatique 1000 permet de prélever de 200-1000 µL, affichage 1000 pour 1 ml

Pipette automatique 200 permet de prélever de 200 à 20 µL, affichage 200 pour 200 µL

- **Prélèvement 1 : 300** µL
- **Prélèvement 2 : 150** µL
- **Prélèvement 3 : 50** µL

Q7- Quelles précautions prendriez-vous par rapport à la sécurité ?

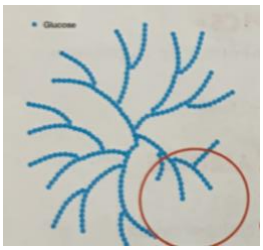
- **Eau iodée** **?**

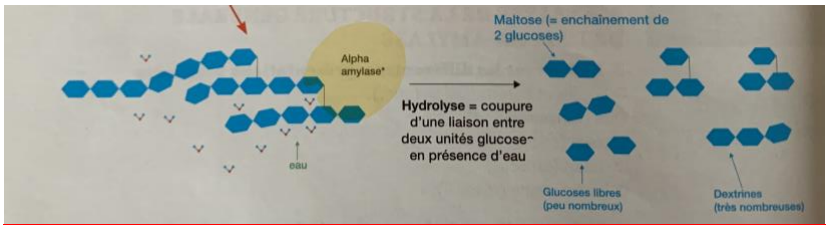
- **Salive ?**

Q7- Analyser les résultats proposés dans le tableau

Document 1 : Données

Principe : Schéma de la digestion de l'amidon (glucide complexe) par l'alpha-amylase salivaire
Cette enzyme accélère la réaction d'hydrolyse de l'amidon (appelée aussi digestion de l'amidon).
Comparée à une unité glucose, sa taille est en réalité beaucoup plus grande que sur le schéma





Matériel :

Tube à hémolyse jetable
Pipettes automatiques et cônes
Étuve à 37°C

Solutions à disposition :

Solution d'amidon à 1 $g.L^{-1}$ (incolore)
Solution de glucose à 1$g.L^{-1}$ (incolore)
Salive (incolore)
Citron (pH acide) (peu colorée en jaune)
Maxilase 3000 U_1 (solution d'alpha amylase commerciale) (incolore)
Réactif de révélation du glucose : réactif glucose RTU de chez biomérieux (rose pâle)
Réactif de révélation de l'amidon : eau iodée. (Marron)

Protocole générale de réalisation des tests

Mise en évidence de l'activité alpha amylase en tubes à hémolyse jetable

Introduire 300 µL de substrat,
Ajouter 50 µL de solution d'amylase, de salive ou d'eau distillée
Incuber 15 minutes à 37°C

Révélation du résultat de la réaction

Principe :

- L'eau iodée (Lugol) colore l'amidon en bleu nuit. En absence d'amidon, on obtient une coloration marronn.

- Le « réactif glucose » donne une coloration rose plus ou moins intense en fonction de la concentration en glucose. En absence de glucose, on obtient une coloration rose pale.

Protocole pour mettre en évidence le glucose et l'amidon

1 goutte de réactif dans 150 µL de solution à tester.

N° tube	1		2		3		4		5		6		7	
Rôle du tube														
Solution de substrat Volume (µL)	Amidon 300		Amidon 300		Amidon 300		Amidon 300		Glucose 300					
Solution à tester Volume (µL)	Salive 50		Eau distillée 50		Amylase 50		Amylase 50 + 1 gtte de citron		Amylase 50 + 1 gtte de citron					
Traitement des tubes	Homogénéiser et fermer le tube 15 minutes à 37°C (Étuve ou bain thermostaté)										Amidon	Eau distillée	Glucose	Eau distillée
Volumes à transposer	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150
Réactif de révélation	1 gte Eau iodée	1 gte de réactif glucose	1 gte eau iodée	1 gte de réactif glucose	1 gte eau iodée	1 gte de réactif glucose	1 gte eau iodée	1 gte de réactif glucose	1 gte eau iodée	1 gte De réactif glucose	1 gte eau iodée	1 gte eau iodée	1 gte De réactif glucose	1 gte de réactif glucose
Résultat	Bleu nuit	Rose foncé	Bleu nuit	Rose pâle	Bleu nuit	Rose foncé	Bleu nuit	Rose foncé	Marron	Rose foncé	Bleu nuit	Marron	Rose foncé	Rose pâle

Tableau bilan des manipulations et des résultats pour l'étude de l'action de l'alpha-amylase sur l'amidon en présence de jus de citron