

TP2 : Condition d'action des enzymes Protocole détaillé (aide majeure) :

Matériel :

Empois d'amidon + Solution d'amylase + liqueur de Fehling + Lugol (= eau iodée)

Portoir avec 6 tubes à essai, pince en bois, pipette et propipette, pipetons.

Plaques de titration + feutres ou gommettes de couleur.

Gants + lunettes.

Bain-marie à 37°C, Bain-marie à 80°C, Bac à glaçons + thermomètres.

Protocole détaillé :

- 1) **Préparer** 3 tubes à essais avec chacun 5 mL d'empois d'amidon (tubes 1, 2 et 3), et 3 tubes à essais avec chacun 1 mL d'amylase (4, 5 et 6).
- 2) Les marquer et leur **faire prendre la bonne température** pendant 10 minutes :
tubes 1 et 4 : 37°C
tubes 2 et 5 : environ 0°C
tubes 3 et 6 : environ 80°C
- 3) Pendant ce temps, **préparer** la plaque de titration pour pouvoir tester, dans chaque tube, la présence d'amidon à t=0, puis toutes les 3 minutes pendant 12 minutes : mettre 2 gouttes d'eau iodée dans chaque puits. Marquer éventuellement les puits avec le feutre.
- 4) Verser l'amylase du tube 4 dans l'amidon du tube 1 (37°C), mélanger, **faire immédiatement le premier prélèvement** pour tester la présence d'amidon, puis remettre le tube à 37°C.
- 5) Verser l'amylase du tube 5 dans l'amidon du tube 2 (environ 0°C), mélanger, **faire immédiatement le premier prélèvement** pour tester la présence d'amidon, puis remettre le tube à 0°C.
- 6) Verser l'amylase du tube 6 dans l'amidon du tube 3 (environ 80°C), mélanger, **faire immédiatement le premier prélèvement** pour tester la présence d'amidon, puis remettre le tube à 80°C.
- 7) **Tester** la présence d'amidon dans chaque tube toutes les 3 minutes pendant 12 minutes.
- 8) A la fin de l'expérience, dans le cas où l'amidon a été hydrolysé dans un tube, **tester**, sur ce tube uniquement, l'apparition de sucres réducteurs : ajouter 2 mL de liqueur de Fehling dans le tube et le mettre à 80°C.