mise en évidence de quelques propriétés des enzymes

publié le 15.02.01 |par elisabeth lamoure, michèle montmailler

étude des propriétés des enzymes. comparaison catalyse chimique / catalyse enzymatique. notion de spécificité des enzymes.

1. introduction

ce tp propose l'étude des enzymes en tant que catalyseur, par comparaison avec une catalyse chimique. ceci est réalisé en guidant les élèves pas à pas. dans un deuxième temps, les élèves étudient la spécificité de substrat (mais pas celle de réaction), en mobilisant les savoir-faire qu'ils viennent d'acquérir pour imaginer un protocole expérimental :

enzyme	substrat
alpha-amylase	amidon
pepsine	ovalbumine

2. objectifs

2.1. objectifs cognitifs

à chaque instant, des milliers de réactions chimiques distinctes se produisent dans une cellule. hors de l'organisme, ces réactions se produisent dans des conditions très différentes. on cherche à comprendre comment ces réactions chimiques sont possibles dans les conditions de la vie. au cours de ces réactions biochimiques, de nombreux substrats sont sans cesse transformés en produits. on cherche à savoir si une même enzyme peut transformer plusieurs substrats différents.

2.2. objectifs méthodologiques

- réaliser des manipulations d'après un protocole expérimental.
- imaginer une expérience.
- adopter une démarche explicative.

3. les enzymes, des biocatalyseurs

3.1. rappels

- l’amidon est une macromolécule, polymère de glucose, utilisée comme molécule de réserve chez les végétaux. il permet, après hydrolyse, l’approvisionnement des cellules en glucose. cette hydrolyse est progressive et libère des molécules de plus en plus courtes pour aboutir à du maltose et un peu de glucose.
- la coloration au lugol (eau iodée) est caractéristique des polymères du glucose : coloration bleu-nuit en présence d’amidon, coloration jaune en son absence.
- la réaction à la liqueur de fehling permet la mise en évidence de certains petits glucides solubles qualifiés de sucres réducteurs (maltose et glucose par exemple) par la formation d’un précipité rouge brique à chaud.

3.2. hydrolyse de l’amidon à l’aide d’un catalyseur chimique.

3.2.1. matériel

- 125 ml d’empois d’amidon à 0,2 % portés à ébullition dans un erlenmeyer en présence de 5 ml d’acide chlorhydrique n/2 pendant respectivement 0, 5, 10, 15 et 20 min.
- 25 ml d’empois d’amidon placés à 35 °c en présence de 1 ml d’acide chlorhydrique n/2 pendant 15 min
- chronomètre ou montre
- tubes à essais
- plaques de titration
- eau iodée
- liqueur de fehling

3.2.2. activités et conditions des activités

1. prélever dans un tube à essais 2 ml de la solution de chaque erlenmeyer correspondant aux différentes températures d’ébullition.
2. déposer une goutte de chaque prélèvement dans le puits d’une plaque de titration et ajouter une goutte de lugol après refroidissement.
3. sur le reste du prélèvement réaliser un test à la liqueur de fehling après neutralisation (addition d’une goutte de naoh si nécessaire).
4. faire un test (lugol, liqueur de fehling) sur la solution d’amidon placée à 35 °c.
5. consigner les résultats obtenus dans un tableau approprié.

3.3. hydrolyse enzymatique de l’amidon : action de l’amylase

3.3.1. matériel

- comprimés dragéifiés de maxilase contenant une enzyme : l’α-amylase.
- solution de chlorure de calcium
- entonnoir, papier filtre
- solution d’empois d’amidon à 0,2 %

- portoir et tubes à essais
- bain-marie à 37 °c
- eau iodée
- liqueur de fehling

3.3.2. activités et conditions des activités

1. rincer sous l'eau un comprimé de maxilase afin d'éliminer la pellicule colorée qui l'entoure et qui contient des sucres.
2. écraser le comprimé dans 5 ml d'eau distillée, filtrer le mélange, ajouter au filtrat 1 ml de chlorure de calcium (tube 0).
3. placer 5 ml de solution d'amidon dans 2 tubes à essai (tubes 1 et 2) et 5 ml d'eau dans le troisième (tube 3).
4. dans les tubes 1 et 3, ajouter 1 ml de la solution d'amylase du tube 0. dans le tube 2 ajouter 1 ml d'eau distillée.
5. placer les 3 tubes au bain-marie pendant 15 min.
6. réaliser un test au lugol et un test à la liqueur de fehling sur le contenu de chaque tube en fin d'expérience.
7. consigner les résultats obtenus dans un tableau.

3.3.3. exploitation des résultats

1. justifiez que l'acide chlorhydrique est un catalyseur.
2. rappelez le rôle des tubes 2 et 3 dans le protocole b.
3. pouvez-vous expliquer le terme de biocatalyseur utilisé pour qualifier l'alpha-amylase ?
4. comparez l'efficacité des deux types de catalyseurs (acide chlorhydrique et alpha-amylase).

4. les enzymes, des catalyseurs spécifiques

4.1. rappels

- l'ovalbumine est une protéine contenue dans le blanc d'œuf.
- la pepsine est une enzyme digestive capable de dégrader les protéines à 37 °c et dans des conditions acides :

ovalbumine + pepsine → les protéines responsables de l'aspect trouble de la solution sont hydrolysées et le trouble disparaît.

4.2. matériel

- solution d'empois d'amidon à 0,2 %
- solution d'alpha-amylase (voir ci-dessus)
- solution d'ovalbumine coagulée (1 blanc d'œuf pour 500 ml d'eau)
- solution de pepsine à 0,1g/100ml

- solution d’hcl n/10
- portoir et tubes à essai
- bain-marie à 37 °c
- eau iodée
- liqueur de fehling

4.3. activités et conditions des activités

1. imaginer un protocole expérimental pour montrer que l’alpha-amylase et la pepsine sont doublement spécifiques. pour cela compléter le tableau ci-dessous afin de préciser le contenu des 4 tubes à utiliser.
2. réaliser les expériences imaginées.

tube n°	ovalbumine	pepsine	hcl n/10	empois d'amidon	alpha-amylase	test final
1						
2						
3						
4						

4.4.

4.5. exploitation des résultats

1. expliquer les résultats obtenus.
2. justifier le terme de spécificité utilisé pour qualifier le fonctionnement des enzymes.

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

elisabeth lamoure

professeur au centre scolaire charité-saint-paul à roanne.

michèle montmailler

professeur au centre scolaire charité-saint-paul à roanne.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

VOIR MENTIONS LÉGALES