

Activité - Protéines enzymatiques et réaction chimique (3/3)

Mettre en œuvre le protocole afin de déterminer le rôle de l' α -amylase dans la réaction d'hydrolyse de l'amidon.

PROTOCOLE :

!!! Bien lire l'intégralité du protocole et bien s'organiser avant de démarrer les manipulations !!!

La quantité d'amidon va être testée par l'intensité de coloration du test à l'eau iodée.

Matériel :

- Solution d'amidon à 1%
- Solution d'enzyme (α -amylase)
- Solution d'enzyme (α -amylase) rendue inactive (bouillie)
- Solution de lugol (= eau iodée)
- Pipettes et micropipettes
- 3 cuves de 4,5 mL
- Porte cuves pour placer trois cuves dans un bain-marie
- Bain-marie
- "Plateau photo" : 2 lampes, un fond blanc et un support pour appareil photographique

1- Préparer le plateau photo :

- Placer le carton blanc sur la cuve à bonne hauteur et l'éclairer de part et d'autre en faisant en sorte que la lumière soit répartie de manière homogène sans qu'il y ait trop d'ombres.
- Positionner l'appareil photo de sorte que tout le carton blanc soit dans le champ de vision de l'objectif.

⚠ Le dispositif va permettre de photographier des couleurs qui doivent potentiellement varier. Il est donc capital que la luminosité du dispositif reste la plus identique possible durant toute la manipulation ! Penser à minimiser l'éclairage de la lumière du soleil et à ne pas déplacer l'appareil photo.

2- **Placer** les 3 cuves dans le support caoutchouc puis **verser** dans chaque cuve à disposition le milieu d'expérimentation comme indiqué dans le tableau ci-dessous :

⚠ Attention : dès que vous versez l' α -amylase le t = 0 débute !

Cuve 1	Cuve 2	Cuve 3
25 μ L d'eau iodée	25 μ L d'eau iodée	25 μ L d'eau iodée
2 mL d'amidon	2 mL d'amidon	2 mL d'eau
2 mL d'amylase rendue inactive	2 mL d'amylase	2 mL d'amylase

3- **Agiter** brièvement chaque tube afin de mélanger les constituants.

4- **Prendre** une photographie des 3 cuves à l'instant t = 0

5- **Placer** les cuves dans un bain-marie à 37°C (température corporelle)

6- **Sortir** les cuves du bain-marie toutes les deux minutes et **prendre** une photographie des cuves.

Abaisser le caoutchouc au bas des cuves pour avoir un maximum de lumière sur les cuves. Vous remonterez celui-ci avant de replacer les cuves dans le bain-marie.

7- **Effectuer** l'étape 6 pendant 35 minutes (toutes les deux minutes pendant 20 minutes puis toutes les 5 minutes)

8- **Déterminer** la colorimétrie puis la luminance* du milieu contenu dans chaque cuve

Pour cela utiliser Mesurim sur PC, le logiciel ON color Measure sur Android ou le logiciel Pixel Picker sur iPhone. La luminance sera déterminée à l'aide de la couleur avec le site <https://planetcalc.com/7779/>

* La **luminance** est une grandeur correspondant à la sensation visuelle de luminosité d'une surface. Une surface très lumineuse présente une forte luminance, tandis qu'une surface parfaitement noire aurait une luminance nulle.

9- **Compléter** le tableau collaboratif en indiquant vos valeurs de luminance.

10- **Construire** le graphe de la luminance en fonction du temps pour les 3 cuves.

- Pour cela :
- attendre que l'ensemble du groupe ait complété le tableau,
 - choisir les valeurs utilisées pour la construction graphique et justifier votre choix.