

## Activité - L'hydrolyse enzymatique - Fiche protocole

Mettre en œuvre les protocoles afin de déterminer le rôle de l'amylase dans la digestion des glucides.

### 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
- Solution de lugol (eau iodée)
- Pipette et micropipette
- 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
- Fiches techniques sur l'ENT (mesure de colorimétrie, construction graphique ...)

#### 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 :

Cuve 1	Cuve 2	Cuve 3
25 µL d'eau iodée	25 µL d'eau iodée	25 µL 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

**⚠ Attention !!** : dès que vous verserez l'amylase le  $t = 0$  débute, vous devez déclencher le chronomètre.

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 remontrerez celui-ci avant de replacer les cuves dans le bain-marie.*

7- **Effectuer** l'étape 6 pendant 20 minutes ( $t_{2min}$ ,  $t_{4min}$ ,  $t_{6min}$ ...).

8- **Déterminer** la colorimétrie puis la luminance\* du milieu contenu dans chaque cuve à chaque temps.

*Pour la colorimétrie utiliser Mesurim sur PC, ON color Measure ou Color Grab sur Android, Pixel Picker sur iPhone. La luminance sera déterminée ensuite à l'aide des couleurs 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 a une luminance nulle.

9- **Compléter** le tableau collaboratif (lien sur l'ENT) en indiquant vos valeurs de luminance.

10- **Construire** le graphe de la luminance en fonction du temps pour les 3 cuves en justifiant les valeurs choisies pour la construction de ce graphique.