Photométrie

Quantifier l'hydrolyse de l'amidon au photomètre

Le photomètre décrit dans la fiche verte TE 33, permet de faire aisément en TP des mesures quantitatives de l'hydrolyse de l'amidon.

Intérêt de cette réaction

• Aspect technique :

Le mélange [empois d'amidon + eau iodée] a une couleur bleue, c'est-à-dire qu'il absorbe bien le rouge. Ceci est intéressant, puisque c'est la couleur des diodes lumineuses utilisées pour le photomètre artisanal de la fiche TE 33.

Aspect pédagogique :

L'hydrolyse de l'amidon fait partie des « grandes classiques » de la biochimie (3°, 1ère S). On peut la relier à la digestion, à la structure des glucides, à la catalyse enzymatique, à la sensibilité des protéines vis-à-vis du pH et de la température...

RÉALISATION

Quelle hydrolyse?

- On peut étudier **l'amylase des graines en germination** : mettre 1 ml d'extrait végétal (graines germées, broyées et filtrées ou centrifugées) dans 5 ml de solution d'amidon à étudier; agiter pour bien mélanger.
- On peut comparer les résultats à **l'amylase de la salive humaine** : ajouter, à 1 ml de salive, 2 ml d'eau, et faire agir 1 ml du liquide ainsi obtenu sur 5 ml de solution d'amidon à étudier.
- On étudiera la décoloration d'un empois d'amidon coloré par l'eau iodée. Pour que les différents groupes puissent obtenir des résultats comparables, il faut utiliser les mêmes empois, colorés par la même quantité d'eau iodée.

Méthode

- ullet Mesurer la résistance à l'ohm-mètre en fonction du temps (toutes les 20 secondes) et tracer le graphe R=f(t).
 - Calculer alors la vitesse initiale
- groupe 1 et 2 : effet du pH. Prendre des milieux tampons de pH 5, pH 6, pH 7 et pH 8 et en ajouter 4 ml à 5 ml à la solution d'amidon.
- groupe 3 et 4 : action de divers ions (10 gouttes de NaCl à 1 %, ou 10 gouttes de CuSO₄ à 1 %, ou 10 gouttes de FeCl₃ à 1 %).
- pour tous les groupes : **dénaturation par la chaleur.** Comparer l'effet de 1 min et de 5 min d'ébullition à la vitesse normale de réaction.



Quelles unités employer?

La concentration de l'amidon n'est pas connue avec précision, non plus que la concentration de l'amylase dans la salive ou l'extrait végétal. Par conséquent, le plus simple est d'envisager une unité arbitraire : l'unité de résistance électrique (ohm : Ω). On calculera ainsi la vitesse de réaction en ohms par minute, ce qui traduira simplement la diminution de la coloration au cours du temps.

INTÉRÊT PÉDAGOGIQUE

Il n'y a pas de difficultés techniques, mais à l'expérience, il apparaît que les élèves ont du mal à imaginer des TP de biologie comportant des mesures quantitatives. Alors qu'en TP de chimie ils font des dosages précis (quantité d'acide pour neutraliser une solution basique, par exemple), en sciences naturelles, ils ont l'habitude de descriptions qualitatives : présence/absence, beaucoup/un peu/pas du tout. Le résultat est qu'il faut souvent faire recommencer les mesures :

 parce qu'ils n'ont pas mesuré la quantité d'amidon versé dans le tube, ou bien la quantité de solution d'amylase...

— parce qu'ils ont mélangé les réactifs, et ont papoté quelque temps avant de commencer l'enregistrement des mesures...

- parce qu'ils n'ont pas regardé l'étiquette indiquant le pH de la solution tampon...

Cette expérience permet donc de révéler (et peut-être de développer...) les qualités de rigueur de manipulation et d'observation.