

## Synthèse enzymatique de l'amidon

*Dans le tubercule de pomme de terre il y a synthèse d'amidon. On y a isolé des systèmes enzymatiques, dont des phosphorylases. Ces enzymes sont capables de réaliser in vitro, à la température ambiante, la synthèse d'amidon à partir de glucose-1-phosphate.*

*La manipulation proposée ici est réalisable en 1<sup>re</sup> S dans le cadre suivant : " Le devenir des nutriments ", assimilation, le renouvellement biologique, la mise en réserve.*

### MATÉRIEL

#### Préparation de la solution enzymatique

(filtrat de pomme de terre)

- tubercule de pomme de terre sortant du réfrigérateur ;
- béccher placé dans de la glace ;
- eau distillée fraîche ;
- couteau froid ;
- entonnoir refroidi + papier filtre ;
- mixeur (ou mortier + pilon) refroidi préalablement ;
- solution de Lugol.

#### Par poste de travail :

- solution de Lugol au dixième ;
- solution de glucose à 1% ;
- solution de glucose-1-phosphate à 1% ;
- filtrat de pomme de terre dans glace ;
- eau distillée ;
- chronomètre ;
- empois d'amidon ;
- 5 pipettes ou compte-gouttes ;
- plateau de coloration ;
- portoir + 5 tubes à essais ;
- bain-marie.

- glucose-1-phosphate : Sigma (réf. G 7000), 5g : 85F HT. Attention ! Gare aux moisissures ! Conserver le produit au congélateur dès réception et entre chaque utilisation.

- plaques à réaction Jeulin (réf. 703 188 B) 74 F TTC.

### RÉALISATION

#### Préparation du filtrat de pomme de terre (au dernier moment)

- Peler la pomme de terre refroidie, la couper en cubes, broyer au mixeur avec un minimum d'eau distillée ( exemple : 50 ml d'eau pour 70 g de pomme de terre).
- Filtrer sur entonnoir et papier filtre dans le béccher placé dans la glace. (On peut accélérer cette étape en utilisant un entonnoir de Buchner + papier filtre + trompe à eau refroidie au préalable).
- Vérifier sur un prélèvement, à l'aide de la solution de Lugol, l'absence d'amidon.

#### Réalisation de l'expérience

- Préparer 4 tubes à essais numérotés.
- Introduire dans les tubes :
  - n°1 : 1 ml de solution glucose à 1% ;
  - n°2 : 1 ml de solution glucose-1-phosphate à 1% ;
  - n°3 : 1 ml d'eau distillée ;
  - n°4 : 1ml de solution glucose-1-phosphate à 1% ;
  - n°5 : 1ml d'empois d'amidon.

(Ces tubes peuvent être mis dans un bain-marie à 30-40°C éventuellement).

- Ajouter :
  - dans les tubes n° 4 et 5 : 1 ml d' eau distillée ;
  - dans les tubes n° 1-2 et 3 : 1 ml de filtrat de tubercule de pomme de terre fraîchement préparé et conservé au froid.
  - Déclencher le chronomètre aussitôt.
- Dans chaque tube prélever une goutte puis la déposer dans un puits du plateau de coloration toutes les 1 à 3 minutes pendant 5 à 10 minutes. (La réaction dans le tube 2 peut aller extrêmement vite en fonction de la température, de l'état physiologique du tubercule).
- Mettre une goutte de solution de Lugol dans chaque puits.

## Résultats

- coloration bleu-violet immédiate avec le tube n°5
- apparition de cette coloration au bout de quelques minutes (4 à 8 avec le tube n°2)
- pas de coloration avec les tubes n°1-3 et 4

## Interprétation

Il y a eu synthèse d'amidon en présence de filtrat de pomme de terre dans des conditions physiologiques. C'est une synthèse enzymatique qui permet de condenser et de stocker un métabolite énergétique. Celle-ci ne se réalise qu'à partir d'un substrat spécifique qui est le glucose-1-phosphate. Dans les conditions naturelles cette réaction se fait dans les organes de réserves des végétaux : tubercules, graines, caryopses... Une réaction analogue existe pour la synthèse du glycogène dans le foie et les muscles chez les animaux.

## Compléments

- 1- On peut compléter l'expérience par des tests au réactif de Fehling. On obtient un précipité rouge brique dans le tube n°1 uniquement. Le glucose-1-phosphate n'est pas réducteur.
- 2- On peut faire un cinquième tube témoin : 0,5 ml de solution glucose à 1% + 0,5 ml de solution de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à 2,85% + 1ml de filtrat. Il n'y a alors pas de synthèse d'amidon.

## Informations

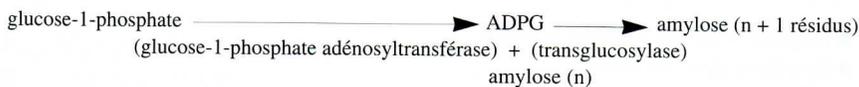
L'amidon contient 2 types de polymères du glucose :

- L' $\alpha$ -amylose : longues chaînes non ramifiées d'unités D-glucose unies par des liaisons  $\alpha$  1-4. PM: de 1 000 à 500 000 ;
- L'amylopectine : PM élevé, chaînes extrêmement ramifiées présentant des liaisons  $\alpha$  1-4 entre résidus successifs de glucose et des liaisons  $\alpha$  1-6 aux points de ramification.

Il est possible que la phosphorylase catalyse dans notre expérience la réaction (réversible) :



car nous avons un excès de glucose-1-phosphate et pas de glycolyse qui le consomme. Mais on pense actuellement que cette enzyme, dans les conditions naturelles, intervient beaucoup plus dans la dégradation des polyosides que dans leur synthèse. La synthèse d'amylose se ferait plutôt par l'intermédiaire de transporteurs d'oses comme l'ADPG (= adénosine diphosphoglucose)



Cependant il est certain qu'elle n'intervient pas dans la synthèse des liaisons  $\alpha$  1-6. Une enzyme branchante, la glycosyl 4-6 transférase (appelée enzyme Q chez la pomme de terre), en serait responsable.