

Kit digestion in vitro

Réf. C/DIV1.

A RECEPTION DU COLIS :

- ☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- ☑ **⚠ Stocker** l'ensemble du kit à **température ambiante** ⚠. Les produits se conservent jusqu'à **2 mois**.
- ☑ **Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité.**

COMPOSITION

- 0,4g d'amylase (C2) à conserver au congélateur (au maximum 6 mois)
- 0,4g d'amidon (C3) à conserver au réfrigérateur
- 24g de Pancréatine (C1) à conserver au congélateur (au maximum 6 mois)
- pastilles de soude
- 50ml de lugol (C4)
- 2 pipettes de 5ml
- 2 poires stériles calibrées
- 31 tube de 50ml.

OBJECTIFS COGNITIFS

Ce TP permet de montrer la nécessité des enzymes au cours des processus de digestion ainsi que l'effet de variations de pH et de température.

PREPARATION

Deux manipulations sont proposées, la première peut être effectuée en 20 minutes, c'est la digestion de l'amidon par l'amylase. La seconde expérience sera effectuée durant la même séance de TP mais le résultat ne sera visible que 72-96 heures plus tard et dans la limite d'une semaine, c'est la digestion du blanc d'œuf (albumine) par la pancréatine.

RECONSTITUTION DES SOLUTIONS :

- Ajouter 100ml d'eau déminéralisée au contenu du sachet d'Amylase (C2)
- Ajouter 150ml d'eau déminéralisée au contenu du sachet d'Amidon (C3)
- Ajouter 1L d'eau déminéralisée au contenu du sachet de pancréatine (C1).

PREPARATION DES TUBES :

- Verser 2,5ml d'Amidon dans trois tubes à essai à l'aide de la pipette de 5ml, ceci pour 15 binômes.
- Verser 30ml de la solution de pancréatine dans 2 tubes de 50ml à bouchon rouge, ceci pour 15 binômes.

MANIPULATION

PREMIERE PARTIE : DIGESTION DE L'AMIDON

- Verser quelques ml de la solution d'Amidon dans un tube à essai, ajouter quelques gouttes de lugol (tube C4) afin de montrer aux élèves la réaction colorée témoin de la présence d'un polyside
- Chaque binôme dispose de 3 tubes à essai contenant 2,5ml de la solution d'Amidon. Le premier tube sera un témoin négatif, ajouter à ce tube 2,5ml d'eau déminéralisée, incuber à 37°C.
- Dans 2 autres tubes, ajouter 2,5ml de la solution d'Amylase.
- Cette manipulation a pour but de montrer d'une part la nécessité de la présence de l'enzyme lors de la digestion de l'amidon et d'autre part l'effet d'un changement important de pH sur l'activité d'une enzyme. Pour ce faire, dans un tube de 50ml à bouchon rouge, ajouter 2 pastilles de soude à 25ml d'eau déminéralisée, agiter jusqu'à dissolution complète des 2 pastilles, à l'aide d'une poire calibrée, verser 0,5ml (2 graduations) de cette solution basique dans un des deux tubes Amidon-Amylase préparés précédemment.
- Incuber ces 2 tubes à 37°C.
- La solution basique va provoquer une élévation de pH importante qui va bloquer la réaction d'hydrolyse.
- Au bout de 30 minutes, ajouter quelques gouttes de lugol dans chacun des tubes incubés. Seul le tube contenant Amidon, Amylase, sans solution basique doit afficher un résultat positif c'est-à-dire une couleur jaune, témoin de la dégradation de l'Amidon en maltose.

NB : Le lugol est également sensible aux modifications de pH. Ne soyez pas surpris de devoir ajouter plus de lugol dans le tube contenant la solution basique pour obtenir la réaction colorée.

SECONDE MANIPULATION : DIGESTION DE L'ALBUMINE PAR LA PANCREATINE.



- Ajouter 0,5ml de la solution basique dans tous les tubes de 50ml contenant la solution de pancréatine, en effet cet enzyme présente son activité optimale vers un pH de 8,5.
- Ajouter un cube de blanc d'œuf cuit (1cm de côté) dans chaque tube de 50ml contenant la pancréatine. Chaque binôme dispose de 2 tubes, l'un sera incubé à 37°C, l'autre sera placé au réfrigérateur.
- Résultat au bout de 3 à 4 jours : dégradation du blanc d'œuf à 37°C.

NB : La température du réfrigérateur permet de ralentir l'action de l'enzyme et non de la stopper, au bout d'une semaine la dégradation de l'albumine sera largement entamée. Ne tardez pas à faire constater le résultat de cette manipulation à vos élèves.

FICHE SECURITE (guide non exhaustif)

L'amidon et le lugol ne requièrent pas de précautions d'utilisation particulières. Nous vous recommandons tout de même de manipuler ces produits avec des gants pour éviter tout contact direct avec la peau.

Ne pas ingérer. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer abondamment.

Produit	Pictogramme et risques normalisés	Actions à mener en cas de			
		contact avec la peau	inhalation	projection dans les yeux	ingestion
Soude	<p>Corrosif</p> 	Laver immédiatement la peau avec une grande quantité d'eau savonneuse pendant au moins 15 minutes. Laver les vêtements contaminés avant de les utiliser.	Faire respirer de l'air frais	Rincer immédiatement les yeux à grande eau pendant au moins 15 minutes en séparant les paupières et contacter un ophtalmologiste.	rincer immédiatement la bouche avec de l'eau et contacter un médecin.
Pancréatine	 <p>Irritant</p>	Laver immédiatement la peau avec une grande quantité d'eau savonneuse pendant au moins 15 minutes. Laver les vêtements contaminés avant de les utiliser.	Faire respirer de l'air frais	Rincer immédiatement les yeux à grande eau pendant au moins 15 minutes en séparant les paupières et contacter un ophtalmologiste.	rincer immédiatement la bouche avec de l'eau et contacter un médecin.

FICHE CONSERVATION

L'amidon et le glucose se conservent à **+4 °C** pendant plusieurs mois.

La soude en pastille se conserve à **température ambiante** pendant plusieurs mois.

La pancréatine se conserve à **-20°C** pendant plusieurs mois.

FICHE TRI ET RECUPERATION

La liqueur de Fehling doit être récupérée dans des bacs de récupération des produits corrosifs, prévus à cet effet.

Les autres produits liquides peuvent être jetés à l'évier avec de grandes quantités d'eau.