

29: Enzymes digestives

Les enzymes digestives sont des protéines produites par les organes du tube digestif pour réduire les aliments en fines particules (nutriments), afin que ceux-ci puissent traverser la barrière intestinale et passer dans notre sang. Les enzymes digestives sont d'une grande spécificité. Elles ne digèrent qu'un seul type d'aliment dans des conditions bien particulières.

Leurs découvertes datent du XIX^{ème} siècle : en 1836 Theodor Schwann étudiait les propriétés du suc gastrique sur la digestion des protides, alors qu'en 1848, Claude Bernard mettait en évidence le rôle des sécrétions pancréatiques sur la dégradation des lipides. Mais ce n'est qu'au XX^{ème} siècle que ces enzymes furent isolées.

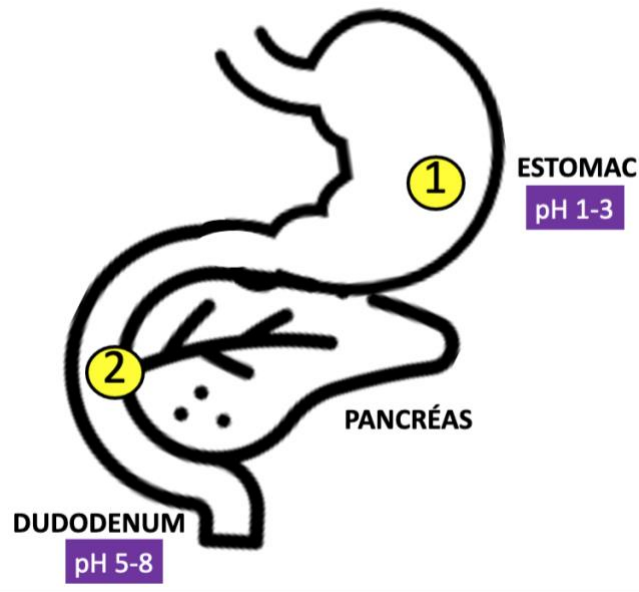
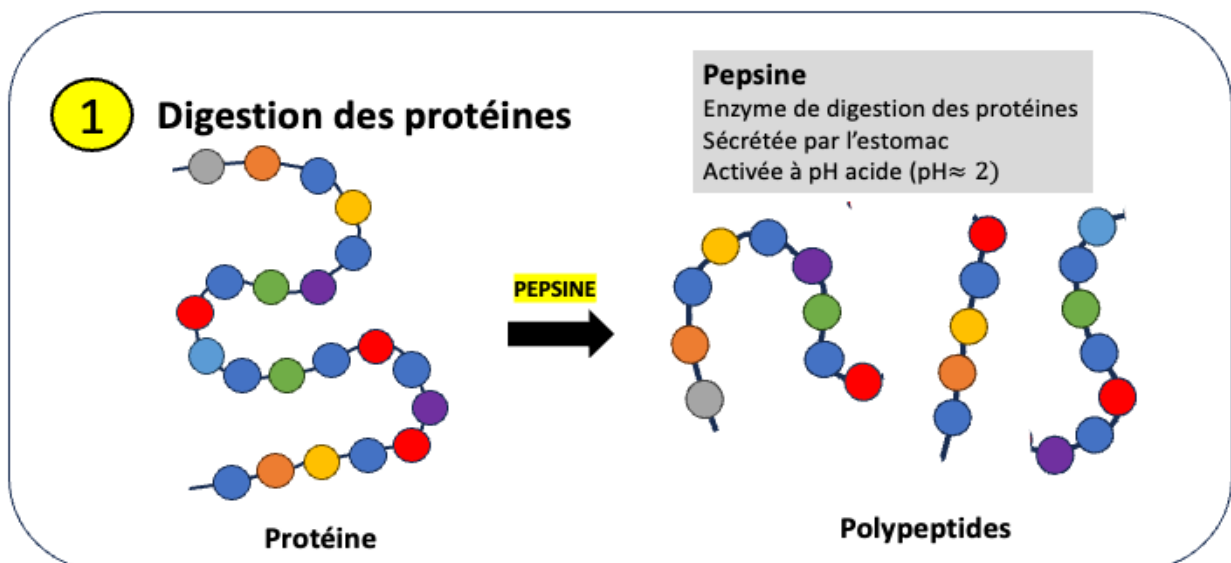


Schéma d'une partie de l'appareil digestif humain

Les protéines sont des chaînes d'acides aminés. Une des enzymes impliquées dans leur digestion est la pepsine. Cette dernière est produite et stockée sous forme de pepsinogène inactive par les cellules principales de la muqueuse gastrique et excrétée directement dans l'estomac lors de la digestion. Elle est activée à pH acide dans l'estomac grâce à l'acide chlorhydrique produit par les cellules pariétales de la muqueuse gastrique. A l'issue de cette digestion, les protéines sont coupées en chaînes polypeptidiques plus courtes.



- Ajouter un blanc d'œuf et mélanger vigoureusement de manière à obtenir une solution la plus homogène possible. *La présence de petites particules de blanc d'œuf n'affecte en rien la suite de l'expérience.*
- Compléter avec 250 ml d'eau distillée.

La solution est prête et peut être conservée plusieurs jours à 4°C.

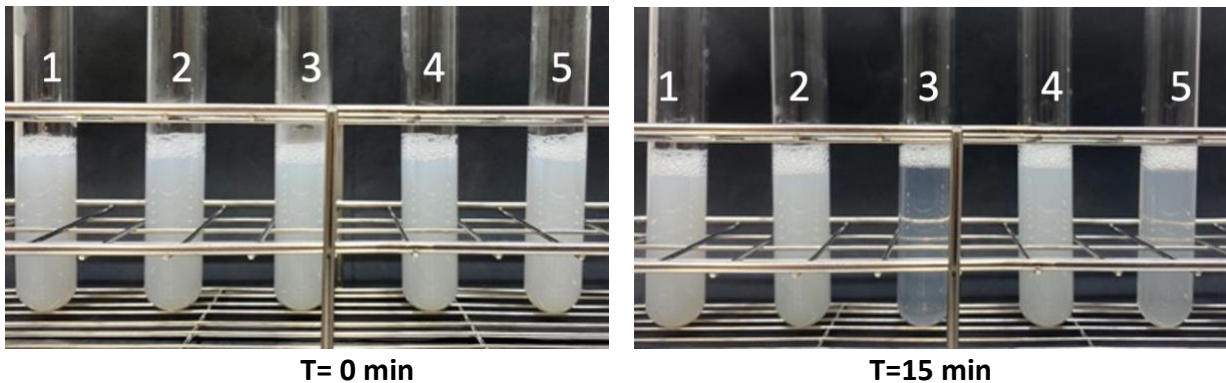
2) Digestion de l'ovalbumine par la pepsine

- Sortir la solution de blanc d'œuf du frigo afin qu'elle revienne à température ambiante.
- Préparer 5 tubes en verre et ajouter 9 ml de solution de blanc d'œuf dans chaque tube.
- Garder les tubes 1 à 4 à température ambiante et placer le tube n°5 dans la glace.
- Ajouter les réactifs en suivant les indications du tableau ci-dessous :

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
H ₂ O	1000 µl	500µL		500 µl	
HCl 1 M			500 µl	500 µl	500 ul
Pepsine 5mg/ml		500 µl	500 µl		500 ul

- Incuber les tubes 15 minutes à température ambiante.

Résultats



Après 15min de digestion, observer l'aspect des tubes et discuter des résultats.

B) Mise en évidence de l'activité de la lipase pancréatique

EXPERIENCE

Nous allons utiliser le lait comme source de triglycérides. Lors de leur digestion par la lipase, ils seront décomposés en glycérol et acides gras. Ces derniers vont acidifier la solution et donc faire baisser le pH.

Ainsi, plus la lipase est active plus le pH va diminuer.

L'activité de la lipase peut donc être suivie en mesurant l'évolution du pH de la solution grâce à un indicateur coloré, le rouge Crésol. A pH alcalin, l'indicateur est violet, il devient jaune à pH acide.

Dans le corps humain, la lipase pancréatique fonctionne en association avec une coenzyme – la colipase- qui permet de neutraliser l'acidification du milieu par les acides gras et les sels biliaires afin de garder un pH optimal à l'activité de la lipase. Dans notre expérience, nous utilisons la lipase seule car les conditions in vitro sont suffisantes à son activité.

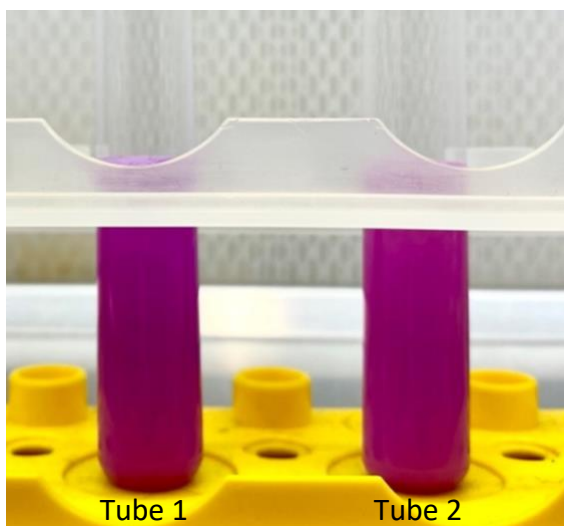
PROTOCOLE

- Préparer 2 tubes en verre et ajouter les réactifs en suivant les indications du tableau ci-dessous :

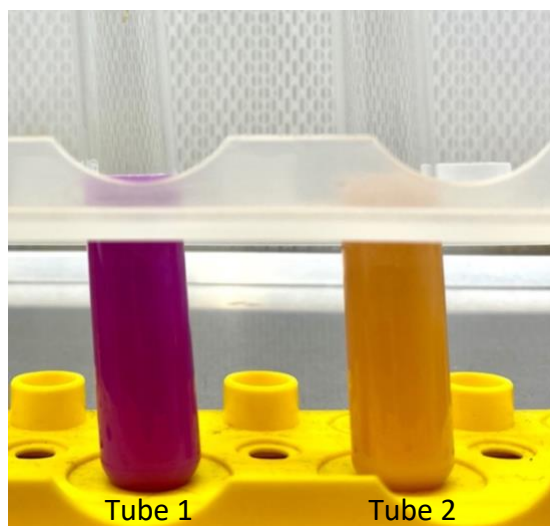
	Tube 1	Tube 2
Lait pH 9.5	2.5 ml	2.5 ml
H2O	7.5 ml	7 ml
Lipase 15 mg/ml		500 µl
Rouge crésol 0,1%	500 µl	500 µl

- Laisser incuber une vingtaine de minutes à température ambiante puis observer les résultats.
(Les tubes peuvent être mis à 37°C une dizaine de minutes pour une digestion plus rapide.)

Résultats



T= 0 min



T= 20 min

Après 20min de digestion, observer l'aspect des tubes et discuter des résultats.

Cette expérience a été mise au point avec Irène Lelièvre, stagiaire chez BiOutils et en collaboration avec Mme Prisca Canola, enseignante au Collège Saint-Louis.

Matériel fourni

- Tubes en verre
- Portoirs pour tube en verre
- Micropipettes P1000
- Pointes bleues
- Pipettes 10 ml
- Bouteilles d'eau
- Solution HCl 1 M
- Pepsine 5 mg/ml
- Lipase 15 mg/ml
- Lait pH 9.5
- Indicateur pH rouge crésol 0,1%
- Boite de tubes eppendorf