



AMILASI E DIASTASI: DUE ENZIMI DIGESTIVI A CONFRONTO

Esercitazioni realizzate nel corrente anno scolastico presso il 91.mo Circolo Didattico di Napoli, la Scuola Media "T. Minniti" di Napoli e la Scuola Media "G. Verdi" di Qualiano (NA) dalle docenti Raffaella De Joanna e Sofia Sica.

Raffaella De Joanna

Vicepresidente ANISN - Sezione Campania.

PREMESSA:

La digestione consiste nella scomposizione delle molecole organiche complesse in altre più piccole; tali reazioni, spontanee, sono molto lente e le sostanze sarebbero utilizzate dall'organismo in tempi lunghi, ma le trasformazioni vengono accelerate da molecole molto specifiche, gli enzimi; viene consentito, così, un metabolismo più veloce e il trasporto quasi immediato dei metaboliti alle cellule.

Un enzima è una proteina: il meccanismo di azione consiste nella formazione di legami tra la molecola dell'enzima, che presenta sulla superficie esterna gruppi chimici con una particolare disposizione tridimensionale, e le molecole dei composti (substrato), che hanno, a loro volta, gruppi funzionali disposti nello spazio in maniera da poter reagire con i gruppi chimici dell'enzima, formando il complesso enzima-substrato. Successivamente il complesso si scinde liberando i prodotti di reazione e l'enzima che resta inalterato e può essere riutilizzato; una sola molecola di enzima può far reagire, l'una dopo l'altra, milioni di molecole di reagenti, in un solo minuto.

Nel nostro caso gli enzimi sono l'amilasi (contenuta nella pancreaticina) e la diastasi (prodotta dai semi in germinazione), il reagente è l'amido, costituito da molecole di glucopiranosio legate con legame a-glicosidico.

OBIETTIVO:

Far comprendere il processo chimico capace di trasformare le molecole dell'amido insolubile in sostanze solubili e cioè in zuccheri meno complessi per essere assimilati.

MATERIALE:

Portaprovette – provette – becker da 400 ml – spatola – spruzzetta con acqua distillata – amido – termometro 0° - 100°C – matita vetrografica – semi di lenticchia, fagiolo, grano – pancreaticina – contagocce – reattivo di Benedict – soluzione iodo-iodurata di Lugol – (o in sostituzione tintura di iodio) – sorgente di calore – treppiede – retina di metallo – pinza di legno – capsula di Petri – mortaio con pestello – dischi di carta da filtro.

I esperimento: durata 40 – 50 minuti – azione dell'amilasi.

Si preparano, al momento, le soluzioni di amido al 5% (salda d'amido) e di pancreaticina all'1%.

Esecuzione - in due provette A e B contrassegnate con la matita vetrografica si versano:

in A - 5 ml di salda d'amido e alcune gocce della soluzione di Lugol fino ad ottenere una colorazione blu (il Lugol è il reattivo per il riconoscimento dell'amido, nota 1);

in B - 5 ml di salda d'amido – poche gocce di Lugol – 5 ml di soluzione di pancreaticina e si agita.

Le provette, insieme con il termometro, si collocano nel becker contenente acqua di fonte a temperatura tra 35°-45°C, riscaldata in precedenza e che deve conservare sempre questa temperatura (è la ottimale), da controllare con il termometro.

Dopo alcuni minuti la colorazione blu scompare nella provetta B per la trasformazione, ad opera dell'enzima amilasi contenuto nella pancreaticina, dell'amido in maltosio.

Si può mettere in evidenza la presenza del maltosio aggiungendo alcune gocce del liquido di Benedict, (il reattivo di Benedict serve per il rico-

noscimento degli zuccheri riducenti, nota 2), si agita e si porta la provetta alla fiamma tenendola con l'apposita pinza di legno; dopo pochi minuti, nel liquido, si noterà una colorazione rosso mattone per la formazione di ossido di rame I da ossido di rame II in presenza del maltosio che è uno zucchero riducente.

Come prova di confronto si può effettuare la reazione con il Benedict su una soluzione di amido che non abbia subito l'azione dell'amilasi: non si ha la colorazione rosso mattone.

Il esperimento: durata 40 – 45 minuti - azione della diastasi, nota 3; il tempo da valutare, però, è di 2 – 3 giorni perché bisogna considerare il periodo per la germinazione dei semi dei vegetali. Nei semi è contenuta una notevole quantità di amido secondario quale materiale di riserva; per la crescita dell'embrione è necessario che detto amido venga solubilizzato ad opera dell'enzima diastasi, che viene sintetizzato all'inizio della germinazione.

Con l'esperimento si mette in evidenza l'azione dell'enzima.

Esecuzione – qualche giorno prima, in una capsula Petri, sul cui fondo si sono posti due, tre dischi di carta da filtro imbevuti di acqua, si mettono i semi a germinare (semi di fagiolo, lenticchie, grano o altro). A germinazione piuttosto avanzata, si ricoprono i semi con acqua di fonte facendoli macerare per alcune ore. Per accelerare il processo si prelevano i cotiledoni, si pestano in un mortaio, del materiale ottenuto si fa l'estratto acquoso che contiene l'enzima.

Il procedimento è lo stesso descritto nel I esperimento, solo che nella provetta B si sostituisce la soluzione di pancreaticina con l'estratto che contiene l'enzima diastasi e si agita; le provette vengono poste nel becker sotto acqua corrente per circa mezz'ora perché l'azione della diastasi si esplica alla temperatura di 13 – 14 ° C. Si osserverà la scomparsa della colorazione blu dalla provetta B: l'amido si è trasformato in maltosio ad opera della diastasi. Si procede nell'esperimento con la reazione degli zuccheri riducenti e con la prova di confronto.

CONCLUSIONE:

I due enzimi, uno di origine animale, l'altro di origine vegetale, hanno un'alta specificità di substrato, cioè legano un substrato e uno solo, nel nostro caso, l'amido; ogni composto organico di interesse biologico ha un enzima che lo riconosce e lo lega.

Si deve anche tenere presente la specificità di reazione: ogni enzima è specializzato a catalizzare un determinato tipo di reazione chimica; nelle nostre cellule vi sono migliaia di composti che vengono trasformati mediante diversi tipi di reazioni chimiche, per le quali, quindi, vi sono migliaia di enzimi diversi.

Note:

1) Reattivo di Lugol: sciogliere 2 g di ioduro di potassio in 300 ml di acqua distillata; a soluzione avvenuta aggiungere un g di iodio; è l'amilosio, uno dei componenti dell'amido, che assume la caratteristica colorazione blu con lo iodio;

2) Reattivo di Benedict: sciogliere 173 g di citrato di sodio e 100 g di carbonato di sodio in 600 ml di acqua e diluire a 850 ml; sciogliere 17,3 g di solfato di rame pentaidrato in acqua e diluire a 150 ml; mescolare le due soluzioni sotto continua agitazione;

3) l'amilasi che idrolizza l'amido in zucchero fu isolata dall'orzo germogliato da Payeu e Persoz che le diedero il nome di diastasi (1832). Il termine diastasi fu introdotto con Kirschhoff (1814) e Mitscherlich (1827) e si riferisce all'enzima di origine vegetale.

BIBLIOGRAFIA:

De Leo T. - Babolato E., 1961 - *Esercitazioni di Fisiologia Generale* - Reazioni generali dei glucidi, pagg.5-16 - Casa editrice V. Idelson, Napoli.

Rippa M., 1987 - *Fondamenti di Chimica* - Gli enzimi, pagg.282-285 - I. Bovolenta Editore, Ferrara.

Cavallone Peretti R. - Venutti P., 1990 - *Biologia* - Gli enzimi pagg. 37-39 - Lattes Editore, Torino.

Quaderni del Seminario didattico - Facoltà di Scienze - Università di Napoli - Gruppo di Biologia - Anno Accademico 1971-'72 -pagg. 32-34 e 50-53.

Rizzoli Larousse - *Enciclopedia Universale* - Vol. V - pag. 249.