

Méthode n° 6**Déterminer la vitesse initiale à l'aide de la méthode des tangentes****Fiche protocole et labo****Influence du pH sur la vitesse initiale d'une réaction enzymatique****► Protocole**

L'enzyme utilisée est la GOD. Afin de préparer des solutions de substrat tamponnées à différents pH :

1. préparer 8 solutions tampons phosphate-citrate en mélangeant les deux composants selon les proportions indiquées ci-dessous :

pH	Na₂HPO₄ à 0,5 M	Acide citrique à 0,5 M	pH	Na₂HPO₄ à 0,5 M	Acide citrique à 0,5 M
2,2	1,6 mL	39,20 mL	5,6	46,40 mL	16,80 mL
3	16,44 mL	31,78 mL	6	50,52 mL	14,74 mL
4	30,84 mL	24,58 mL	7	65,88 mL	7,06 mL
5	41,20 mL	19,40 mL	8	77,80 mL	1,10 mL

2. mettre l'équivalent de 1,8 g de glucose pour 100 mL de solution dans chacune des 8 solutions. On obtient des solutions tamponnées de glucose à 0,1 M.

► **Activités possibles**

- Mesurer à l'aide d'un dispositif ExAO muni d'une sonde oxymétrique l'évolution de la teneur en dioxygène dans chaque solution tampon (5 mL) en l'absence puis en présence de GOD (0,5 mL).
- Déterminer la vitesse initiale V_i pour chaque réaction grâce à la méthode des tangentes.
- Indiquer dans un tableau les valeurs de V_i déterminées en fonction de celles du pH.
- Représenter graphiquement $V_i = f(\text{pH})$ pour déterminer l'influence du pH sur l'activité enzymatique.
- Identifier graphiquement le pH optimal (ou la gamme optimale) pour la GOD et la comparer à des valeurs de références issues de la littérature scientifique.