

**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	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> à 0,5 M	Acide citrique à 0,5 M	pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> à 0,5 M	Acide citrique à 0,5 M
<b>2,2</b>	1,6 mL	39,20 mL	<b>5,6</b>	46,40 mL	16,80 mL
<b>3</b>	16,44 mL	31,78 mL	<b>6</b>	50,52 mL	14,74 mL
<b>4</b>	30,84 mL	24,58 mL	<b>7</b>	65,88 mL	7,06 mL
<b>5</b>	41,20 mL	19,40 mL	<b>8</b>	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.