

Thème 5 – Chapitre 3 – Activité 1

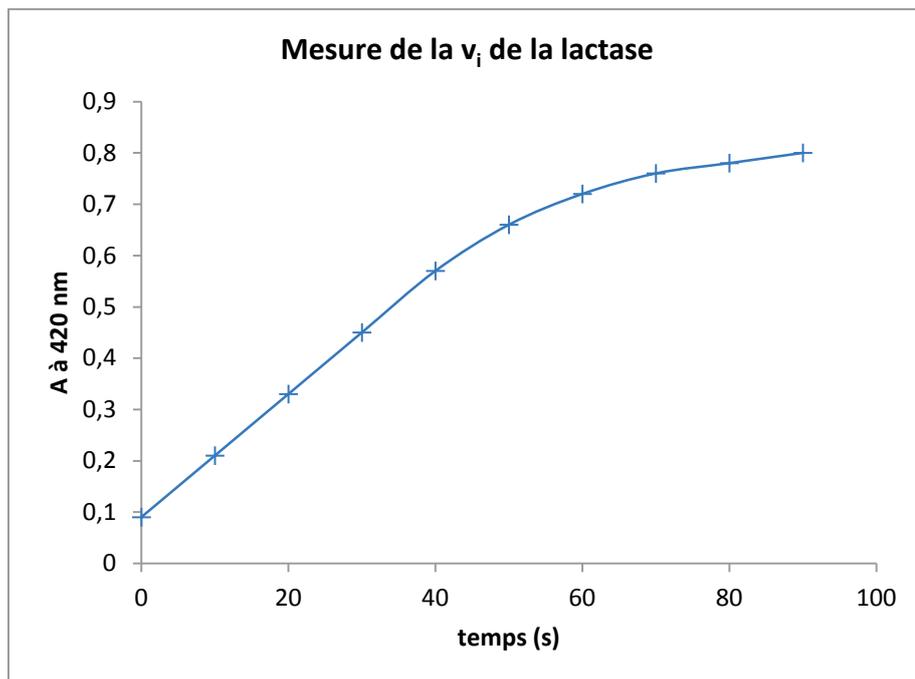
CONTRÔLE QUALITÉ D'UN COMPRIMÉ DE LACTASE

Éléments de réponse

QUESTIONS

1. D'après les spectres d'absorption, à 420 nm seul l'ONP absorbe. Une coloration due à la formation de l'ONP apparaîtra au cours de la réaction. Cette coloration sera proportionnelle à la quantité d'ONP formée pendant la réaction.
2. Non, ce préchauffage permet simplement d'amener les différents produits à la température de réaction.
3. La température influence la vitesse des réactions enzymatiques. La température doit donc être constante au cours de l'expérimentation, le spectrophotomètre doit donc être thermostaté.
4. Le pH influence la vitesse des réactions enzymatiques. Il faut donc que le milieu soit tamponné pour que le pH ne varie pas.

5.



6.

Pour calculer la pente, on choisit deux points dans la partie linéaire :

$$V_i = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} = 0,012 \text{ uA} \cdot \text{s}^{-1} \text{ donc } V_i = 0,012 \times 60 = 0,72 \text{ uA} \cdot \text{min}^{-1}$$

7.

Le milieu réactionnel est constitué de :

- 500 μL d'ONPG à 15 mmol.L^{-1}
- 450 μL de tampon
- 50 μL de solution enzymatique

$$\left. \begin{array}{l} - 500 \mu\text{L d'ONPG à } 15 \text{ mmol.L}^{-1} \\ - 450 \mu\text{L de tampon} \\ - 50 \mu\text{L de solution enzymatique} \end{array} \right\} V_{\text{milieu réactionnel}} = 1 \text{ mL}$$

$$C_{\text{ONPG}} = \frac{C_{\text{ONPG i}} \times V_i}{V_f} = \frac{15 \times 0,5}{1} = 7,5 \text{ mmol.L}^{-1}$$

La concentration en ONPG est bien supérieure à 10 fois le K_M .

8.

Si $[\text{ONPG}] > 10 K_M$ alors le K_M est négligeable devant $[\text{ONPG}]$ donc :

$$V_i = \frac{V_{\text{max}} \cdot [\text{S}]}{K_M + [\text{S}]} \approx \frac{V_{\text{max}} \cdot [\text{S}]}{[\text{S}]} \approx V_{\text{max}}$$

La vitesse initiale mesurée est donc égale à la V_{max} . L'activité mesurée est alors directement proportionnelle à la quantité d'enzyme présente dans la préparation.

9.

La courbe permet d'avoir une correspondance entre le nombre de mole d'ONP et l'absorbance mesurée.

D'après la question 6, l'absorbance varie de 0,72 unité en 1 min, ce qui correspond à $1,9 \mu\text{mol}$ d'ONP formé en lisant directement sur le graphique. $z = 1,9 \mu\text{mol.min}^{-1}$

9.

$$b = \frac{z}{V_{\text{enzyme}}} = \frac{1,9}{0,05} = 38 \mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mL}^{-1}$$

10.

1 comprimé a été dissout dans 100 mL de tampon phosphate ; l'activité totale d'un comprimé se trouve donc dans 100 mL de solution enzymatique : $38 \times 100 = 3800 \mu\text{mol.min}^{-1}$

11.

1 unité correspond à la quantité d'enzyme qui permet de transformer $1 \mu\text{mol}$ d'ONP par minute donc le comprimé de lactase contiendrait 3800 U.

12.

Pourquoi cette différence avec l'activité annoncée ?

- comprimé non conforme ;
- incertitude de la méthode de dosage ;
- perte d'enzyme lors de l'extraction ;
- dénaturation partielle de l'enzyme.