

Activité 2 : Etude de l'influence de la concentration en substrat, de la concentration en enzyme et des conditions physico-chimiques sur la vitesse initiale d'une réaction enzymatique à l'aide du logiciel Diastase 2.

Objectifs :

- ✓ Déterminer une vitesse initiale.
- ✓ Interpréter des variations de vitesse initiale selon la concentration en substrat.
- ✓ Analyser l'effet de variations des conditions physico-chimiques sur l'activité enzymatique en relation avec la structure de l'enzyme.

Réaction étudiée :

La lactase est une enzyme digestive qui permet la dégradation du diose lactose en 2 oses simples, le glucose et le galactose. Cette enzyme est indispensable à la digestion du lactose contenu dans le lait. Certaines personnes ont un déficit de production en lactase, elles sont alors dites « intolérantes au lactose ». Des compléments alimentaires contenant l'enzyme lactase peuvent être proposés aux patients pour réduire les symptômes en cas de consommation de produits laitiers.



L'activité de l'enzyme Lactase va être simulée à l'aide du logiciel Diastase.

INSTRUCTIONS

- 1/ Se connecter sur le site Diastase 2.
- 2/ Choisir les réglages de pH, de température et de concentrations indiquées pour chaque expérience.
- 3/ Réaliser les expériences et compléter la feuille de résultats jointe.

Présentation du logiciel Diastase

Adresse du site : <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/diastase2/>

❖ Présentation de l'interface du logiciel :

The screenshot shows the 'Diastase 2' software interface. It includes a control panel for temperature (20°C) and pH (7), a table of enzymes and substrates, and a graph window. Callouts provide the following information:

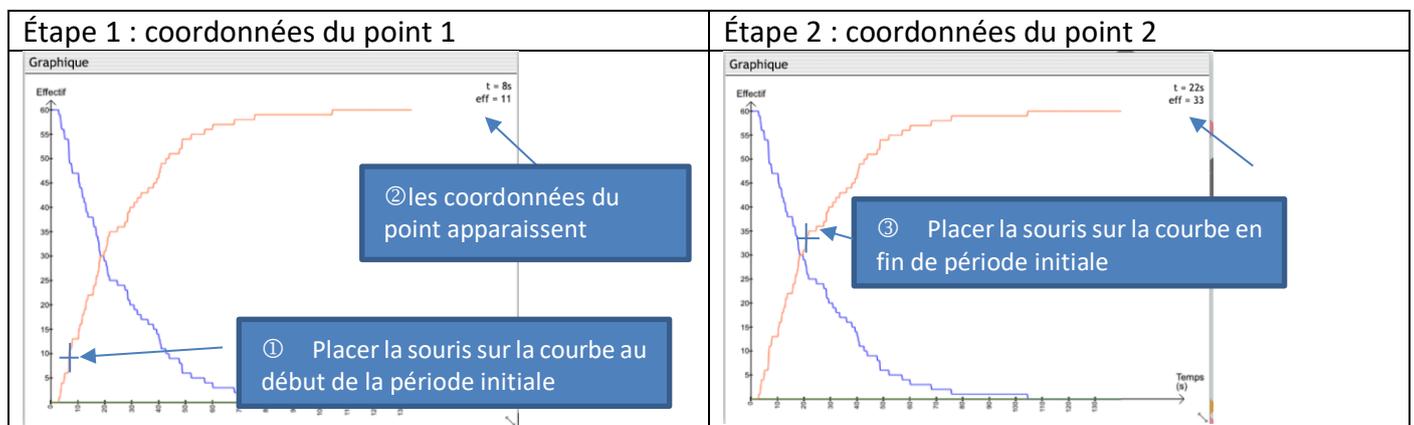
- réglage de la température**: Points to the temperature slider.
- réglage du pH**: Points to the pH slider.
- choix de l'enzyme et de la quantité d'enzyme**: Points to the enzyme selection table.
- choix du substrat et de la quantité de substrat**: Points to the substrate selection table.
- Cliquer sur le chiffre pour choisir la quantité**: Points to the numerical input fields in the enzyme/substrate table.
- Graphe de suivi de l'apparition des produits et de disparition du substrat**: Points to the empty graph window.
- Permet de déterminer la vitesse initiale en choisissant deux points en période initiale**: A note explaining the graph's utility.

❖ Consignes pour l'utilisation du logiciel :

- On vous demande de faire la simulation d'activité de la lactase pour différents paramètres de pH, de température, de concentration de substrats et d'enzymes.
- Attention entre chaque simulation, quand vous cliquez sur recommencer, la température se remet par défaut à 20°C et le pH à 7.
- Pour chaque condition « testée », il faut déterminer graphiquement la vitesse initiale.
- L'« expérience » peut-être arrêtée quand la réaction est en phase de ralentissement.

❖ Comment déterminer une vitesse initiale sur Diastase ?

La vitesse initiale se détermine lors de la phase initiale de la réaction que l'on appelle également phase stationnaire d'activité maximale. Cette phase correspond à la **phase linéaire en début de réaction**.



$$v_i = \frac{Effectif_{point\ 2} - Effectif_{point\ 1}}{temps_{point\ 2} - temps_{point\ 1}} = \frac{33 - 11}{22 - 8} = 1,57\ produit \cdot s^{-1}$$



Point de vigilance : Il ne faut pas choisir des points positionnés sur les plateaux que le tracé peut parfois présenter.

Expériences - feuille de résultats

❖ Expérience témoin 37°C pH 7. Lactase (20) Lactose (60)

Condition 1 : lactase (20) + lactose (60) T = 37°C pH 7

- Insérer une capture d'écran du graphique obtenu.
- Identifier les différentes phases de la réaction enzymatique.
- Détailler le calcul de la v_i .

CAPTURE D'ÉCRAN DU GRAPHIQUE

Valeur de v_i :

❖ Influence de la variation de la concentration en substrat (lactose) dans le milieu réactionnel

Conditions à tester				v_i
Condition 2 :	lactase (20) + lactose (40)	T = 37°C	pH 7	
Condition 1 TÉMOIN :	lactase (20) + lactose (60)	T = 37°C	pH 7	
Condition 3 :	lactase (20) + lactose (80)	T = 37°C	pH 7	

Q1. Conclure sur l'effet de la concentration en substrat sur la vitesse initiale.

❖ Influence de la variation de la concentration en enzyme (lactase) dans le milieu réactionnel

Conditions à tester				v_i
Condition 1 TÉMOIN :	lactase (20) + lactose (60)	T = 37°C	pH 7	
Condition 4 :	lactase (30) + lactose (60)	T = 37°C	pH 7	
Condition 5 :	lactase (50) + lactose (60)	T = 37°C	pH 7	

Q2. Conclure sur l'effet de la concentration en enzyme sur la vitesse initiale.

❖ Influence de la température

Conditions à tester				v_i
Condition 6 :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 20^{\circ}\text{C}$	pH 7	
Condition 1 TÉMOIN :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 37^{\circ}\text{C}$	pH 7	
Condition 7 :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 60^{\circ}\text{C}$	pH 7	

Q3. Analyser l'effet de la température sur la vitesse de la réaction enzymatique.

❖ Influence du pH

Conditions à tester				v_i
Condition 8 :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 37^{\circ}\text{C}$	pH 5	
Condition 9 :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 37^{\circ}\text{C}$	pH 6	
Condition 1 TÉMOIN :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 37^{\circ}\text{C}$	pH 7	
Condition 10 :	lactase (20) + lactose (60)	$T = 37^{\circ}\text{C}$	pH 8	

Q4. Commenter l'effet du pH sur l'activité enzymatique.

Q5. Déterminer le pH optimal.