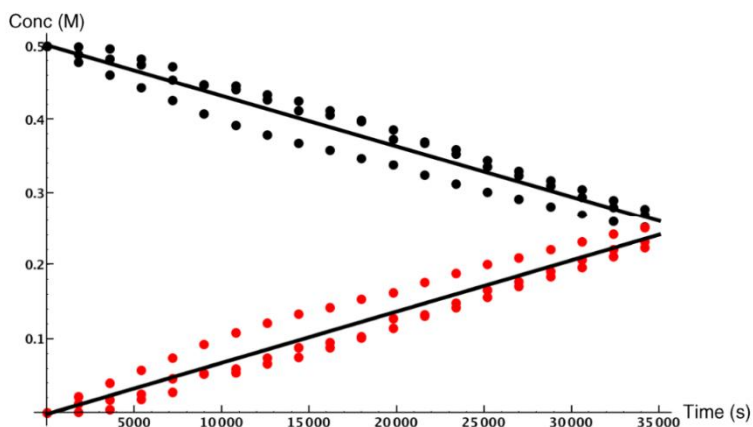
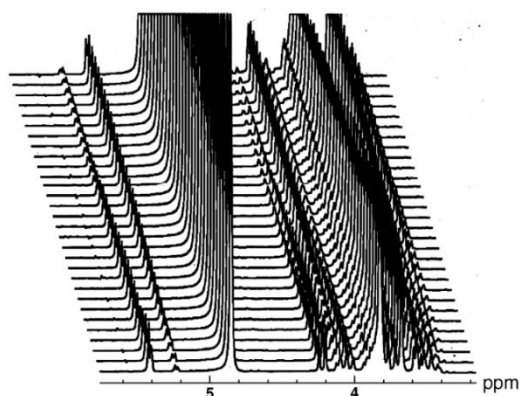


Document 3 : Expériences

Expérience n°1 :

On considère une solution contenant initialement une concentration en quantité de matière en saccharose égale à $[S]_0 = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ et en invertase égale à $[Invertase]_0 = 2 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

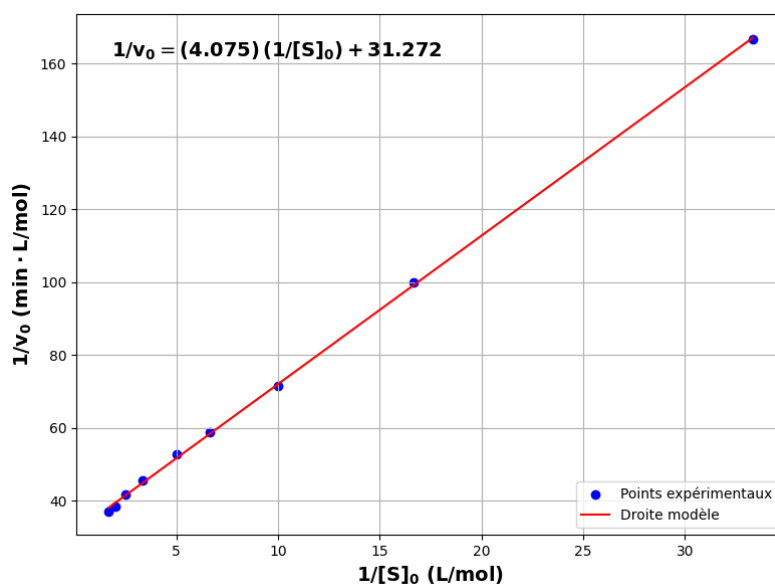
Des spectres RMN de la solution sont régulièrement pris au cours de la transformation (à gauche). Leur analyse permet de déterminer l'évolution de la concentration en saccharose (en noir) et du glucose (en rouge) en fonction du temps. On précise que $M = \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sur ce graphique.



Expérience n°2 :

L'exploitation des données de l'expérience 1, réalisée pour différentes concentrations initiales en saccharose, nous permet d'obtenir le tableau suivant, où v_0 est la vitesse initiale de la réaction

$[S]_0$ (mol/L)	$[Invertase]_0$ ($\mu\text{mol/L}$)	v_0 (mol/L/min)
0,03	0,02	0,006
0,06	0,02	0,01
0,1	0,02	0,014
0,15	0,02	0,017
0,2	0,02	0,019
0,3	0,02	0,022
0,4	0,02	0,024
0,5	0,02	0,026
0,6	0,02	0,027



Document 4 : Données de spectroscopie RMN 1H :

Atomes d'hydrogène	C-CH-O	O-CH-O
$\delta(\text{ppm})$	3,3 - 4,2	4,8 - 5,5

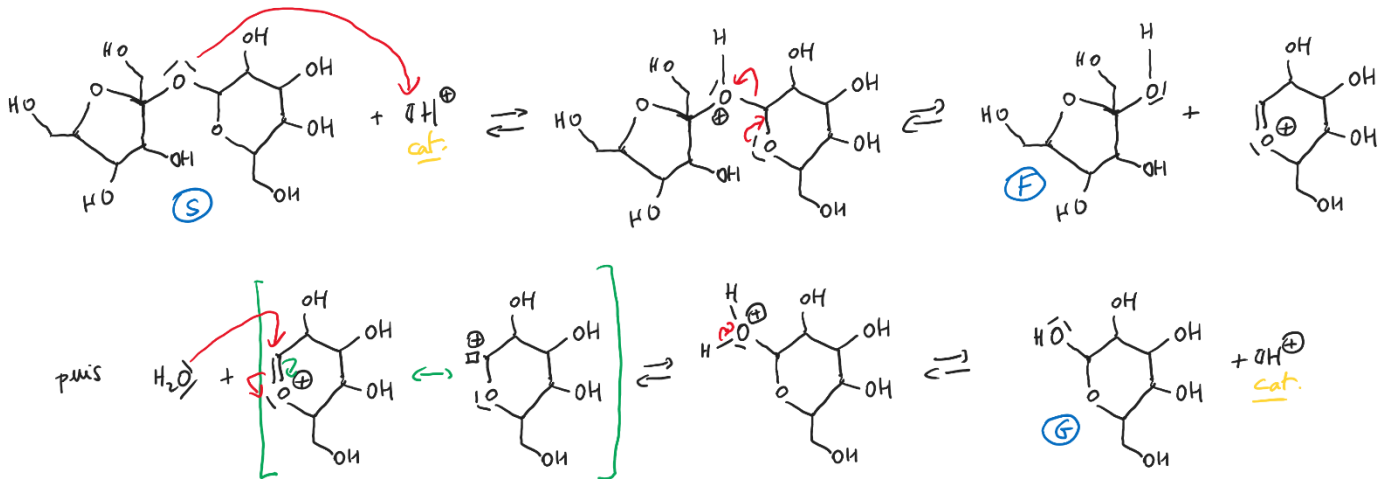
Invertase : correction

Question simple

Voir cours

Question ouverte

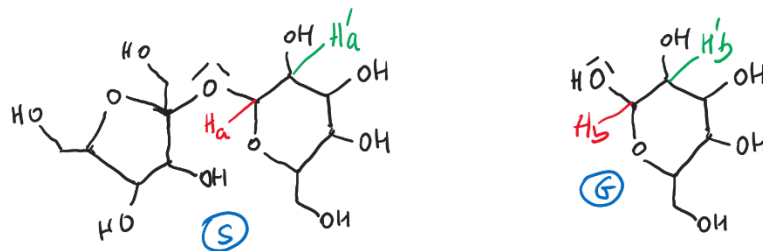
1) Mécanisme de l'hydrolyse acide du saccharose : mécanisme s'apparentant à l'hydrolyse acide d'un acétal



Suivi cinétique par RMN :

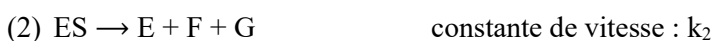
Il est possible de suivre la transformation de S en G et F, en suivant la disparition progressive du doublet autour 5,4 ppm pour S, et l'apparition simultanée progressive du doublet autour de 5,2 ppm pour G.

Ces deux doublets très déblindés correspondent au signal des protons H_a et H_b liés à un carbone lui-même lié à deux oxygènes (voir doc4). Ces deux protons sont tous deux couplés à un autre proton (respectivement $H'a$ et $H'b$). En mesurant l'aire de chacun de ces pics et en admettant que cette aire est proportionnelle à la concentration en S et G respectivement, on peut réaliser un suivi cinétique.



2) Modèle de Michaelis – Menten :

Modèle de Michaelis-Menten (en notant l'enzyme, E, le substrat, S, les produits, F et G) :



$$v = \frac{d[G]}{dt} = k_2[ES]$$

APER sur ES : $v_1 = v_{-1} \Rightarrow k_1[E][S] = k_{-1}[ES]$

Conservation de la matière pour l'enzyme : $[E]_0 = [E] + [ES] \Rightarrow [E] = [E]_0 - [ES]$

$$\Rightarrow k_1 \times ([E]_0 - [ES]) \times [S] = k_{-1}[ES] \Rightarrow k_1[E]_0[S] - k_1[ES][S] = k_{-1}[ES] \Rightarrow [ES] = \frac{k_1[E]_0[S]}{k_1[S] + k_{-1}}$$

$$\Rightarrow v = k_2[ES] = \frac{k_2 k_1 [E]_0 [S]}{k_1 [S] + k_{-1}} = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{[S] + \frac{k_{-1}}{k_1}}$$

$$\Rightarrow v = \frac{v_{max}[S]}{[S] + K_M} \quad \text{avec : } v_{max} = k_2[E]_0 \quad \text{et} \quad K_M = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

Linéarisation de Lineweaver – Burke :

$$v_0 = \frac{v_{max}[S]_0}{[S]_0 + K_M} \Rightarrow \frac{1}{v_0} = \frac{[S]_0 + K_M}{v_{max}[S]_0} = \frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{[S]_0} + \frac{1}{v_{max}}$$

Le tracé de $\frac{1}{v_0}$ en fonction de $\frac{1}{[O]_0}$ donne une droite selon ce modèle. L'ordonnée à l'origine, $\frac{1}{v_{max}}$, permettra d'obtenir v_{max} , puis le coefficient directeur, $\frac{K_M}{v_{max}}$, nous donnera K_M .

On observe que les points expérimentaux s'alignent bien suivant la droite modèle et sont répartis aléatoirement autour de celle-ci, on peut donc considérer le Michaelis-Menten comme très réaliste pour décrire cette réaction.

$$\text{On en déduit : } K_M = 0,064 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \quad \text{et} \quad v_{max} = 0,022 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

```

1 import numpy as np
2 import matplotlib.pyplot as plt
3
4 # Données expérimentales
5
6 S0 = np.array([0.03, 0.06, 0.10, 0.15, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60]) # mol/L
7 v0 = np.array([0.006, 0.010, 0.014, 0.017, 0.019, 0.022, 0.024, 0.026, 0.027]) # mol/L/
8 min
9 X = #A COMPLETER
10 Y = #A COMPLETER
11
12 #A COMPLETER Régression linéaire
13
14 print("Résultats de la régression Lineweaver-Burk :")
15 print(f"Pente a = {a:.4f} min·L/mol")
16 print(f"Ordonnée b = {b:.4f} min/L")
17
18 # Calcul des paramètres cinétiques
19 Vmax = 1 / b
20 Km = a / b
21
22 print(f"\nVmax = {Vmax:.4f} mol·L-1·min-1")
23 print(f"Km = {Km:.4f} mol·L-1")
24
25
26 # Tracé du graphique
27
28 plt.figure(figsize=(8,6))
29
30 plt.scatter(X, Y, color='blue', label='Points expérimentaux')
31 plt.plot(X, #A COMPLETER, 'r-', label='Régression linéaire')
32
33 plt.xlabel("1 / [S]₀ (L/mol)", fontsize=14)
34 plt.ylabel("1 / v₀ (min·L/mol)", fontsize=14)
35 plt.title("Lineweaver-Burk (invertase)", fontsize=16)
36 plt.grid(True, linestyle=':')
37 plt.legend()
38 plt.tight_layout()
39 plt.show()

```

Python

Python 3.13.1 (tags/v3.13.1:0671451, Dec 3 2024, 19:06:28) on Windows (64 bits).
 This is the Pyzo interpreter with integrated event loop for ASYNCIO.
 Type 'help' for help, type '?' for a list of *magic* commands.

>>> (executing lines 1 to 46 of "Invertase.py")

Résultats de la régression Lineweaver-Burk :

Pente a = 4.0746 min·L/mol

Ordonnée b = 31.2724 min/L

Vmax = 0.0320 mol·L⁻¹·min⁻¹

Km = 0.1303 mol·L⁻¹