Agrégation de sciences physiques 1977

(Option chimie)

COMPOSITION DE CHIMIE

(Applications)

(Durée : 6 heures)

ETUDE DES INTERACTIONS EN SOLUTION IONIQUE

Le but de ce problème est d'étudier les interactions ioniques dans des solutions aqueuses non idéales.

I. Première partie

Soit un électrolyte de formule AB dissous dans un volume V où il se dissocie totalement en donnant n ions A^{z+} et n ions B^{z-}.

Considérons un élément de volume dV environnant un point M situé à la distance r de l'origine où se trouve un ion positif. On appellera e la valeur absolue de la charge élémentaire, et $\psi(r)$ le potentiel au point M supposé de symétrie sphérique autour de l'origine.

1° Montrer que le nombre d'ions positifs et le nombre d'ions négatifs contenus dans le volume dV peuvent s'exprimer par une relation du genre :

$$x.\ \exp\ (y\ .\ \psi(r)\ .\ dV$$

Expliciter x et y. En déduire la densité de charge $\varrho(r)$. Que devient $\varrho(r)$ dans le cas d'une solution diluée ? $\varrho(r)$ sera appelé ϱ_{DH} dans cette approximation dite de Debye et Hückel.

2° Le potentiel ψ est lié à la densité de charge et à la permittivité absolue ε du milieu supposé continu.

a) Rétablir l'équation de Poisson à laquelle satisfait le potentiel ψ. Déterminer χ défini par :

$$\Delta\psi = \chi^2 \cdot \psi$$

où $\Delta\psi$ représente le laplacien de ψ.

b) Exprimer χ en fonction des paramètres du milieu dans l'approximation de Debye et Hückel. Montrer que χ a la dimension d'une longueur que l'on calculera. On donne :

Constante de Boltzmann : $1{,}38 \cdot 10^{-23}$ JK^{-1} ;
Température : 300 K ;
Charge de l'électron : $1{,}6 \cdot 10^{-19}$ C ;
Molarité : 0,1 mole par litre ;
Nombre de charges portées par chaque ion : 2 ;
Permittivité absolue de l'eau : $6{,}9 \cdot 10^{-10}$ unités S.I.

c) L'équation différentielle précédente peut se résoudre en écrivant que :

$$\psi = (\alpha/r) \cdot \exp(-\beta r).$$

Calculer β en fonction de χ. Pour déterminer α, on appellera a la distance minimale d'approche de l'ion origine et on pourra, par exemple, chercher une relation traduisant que la solution est globalement électriquement neutre. Donner l'expression du potentiel obtenu qui sera noté ψ_{DH} dans la suite du problème.

d) Exprimer ce potentiel sur la sphère d'approche minimale. En déduire la contribution ψ^* des ions entourant l'ion origine. ψ^* est le potentiel d'excès dû aux interactions entre l'ion central et tous les autres ions de la solution.

e) Quelle signification physique peut-on donner à χ ?

II. Deuxième partie

Il faut maintenant calculer l'énergie libre d'excès correspondant à la charge de l'ion origine et de son atmosphère ionique à température constante. On négligera toute variation de volume.

1° A un instant t, on considérera que la charge de l'ion origine est $z e \lambda$ avec λ croissant de 0 à 1, au fur et à mesure qu'il se charge. Le potentiel d'excès précédent devient fonction de λ.

a) Quelle est la variation d'énergie de l'ion central pour une variation $d\lambda$?

b) Quelle est alors l'énergie libre d'excès F^* ?

2° En déduire le coefficient d'activité γ de A^{2+} et de B^{2-}.

3° Si la pression osmotique s'exprime par la relation :

$$P_{vrai} = P_{ideal} \cdot g$$

établir l'expression du coefficient osmotique g.

III. Troisième partie

Des mesures de pression osmotique ont été effectuées sur le sulfate de calcium. Les valeurs de g sont fonction de la molarité. Les résultats de deux expériences sont :

Molarité c, en mole par litre	g_{exp}
0,0036	0,81
0,01	0,74

1° L'expression de g trouvée dans la deuxième partie peut s'écrire sous la forme :

$$g_{DH} = 1 - \frac{14{,}4}{a^3 \chi^2} \left[(1 + \chi a) - \frac{1}{1 + \chi a} - 2 \cdot \ln(1 + \chi a) \right]$$

avec $\chi = 0{,}66 \sqrt{c}$

si a est exprimé en Å, c en mole par litre, et si ln représente le logarithme népérien.

On calculera g_{DH} pour :

$c = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$ avec $a = 4$ Å puis $a = 1$ Å

$c = 1 \cdot 10^{-2}$ avec $a = 4$ Å puis $a = 1$ Å

en se servant de la représentation graphique de la fonction :

$$h = \frac{1}{u^2}\left[(1+u) - \frac{1}{1+u} - 2\ln(1+u)\right]$$ Courbe I (*voir p. 590*).

Que peut-on conclure de la comparaison des valeurs calculées de g_{DH} avec les valeurs expérimentales g_{exp} ?

2° On attribuera la différence $g_{DH} - g_{exp}$ à une association AB entre les ions A^{z+} et B^{z-}. On supposera que la théorie de DEBYE et HÜCKEL s'applique aux ions libres et que les paires d'ions AB peu nombreuses sont sans interaction avec les ions et entre elles.

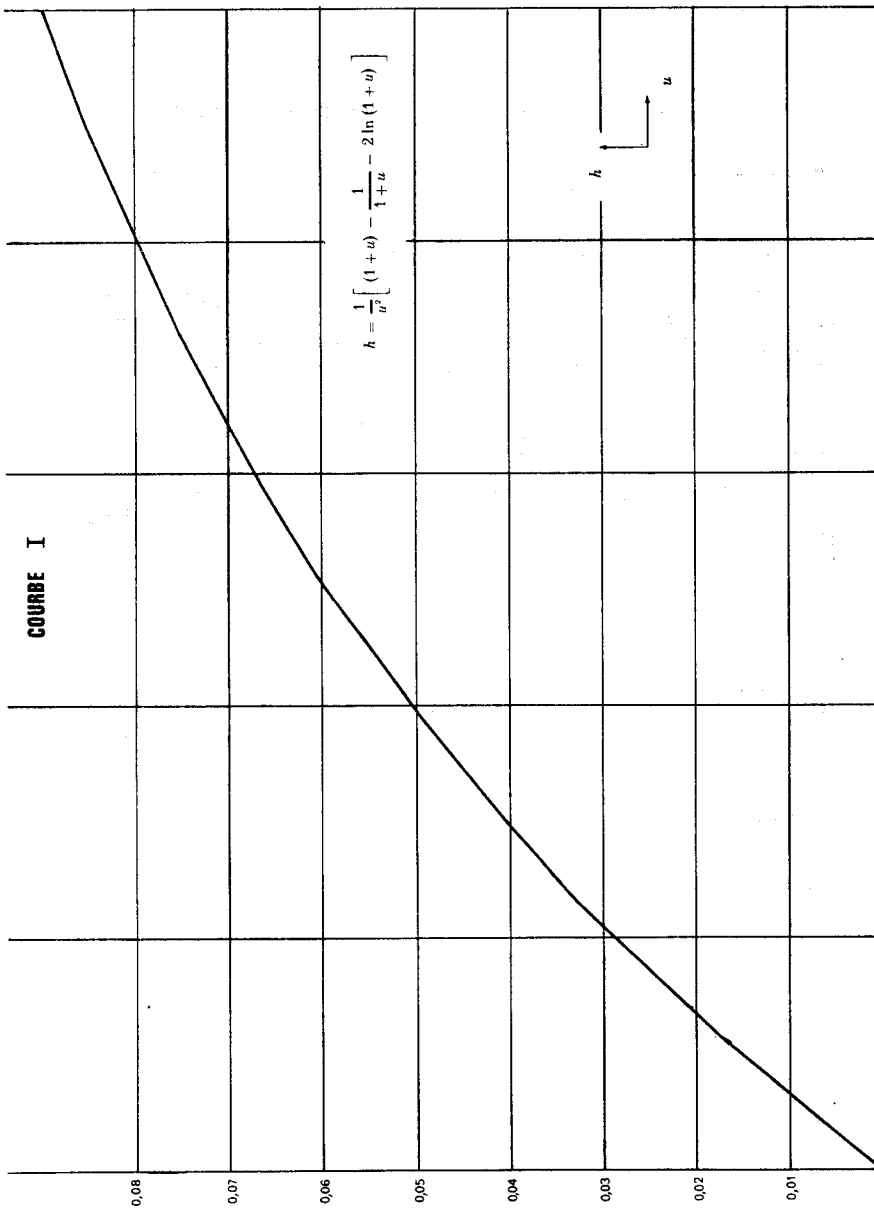
a) On appellera m le coefficient d'association en paires d'ions défini par [AB] = mc. Préciser les nouvelles expressions de χ^2 et de g_{DH} qu'on notera χ^2 (ass) et g_{DH} (ass).

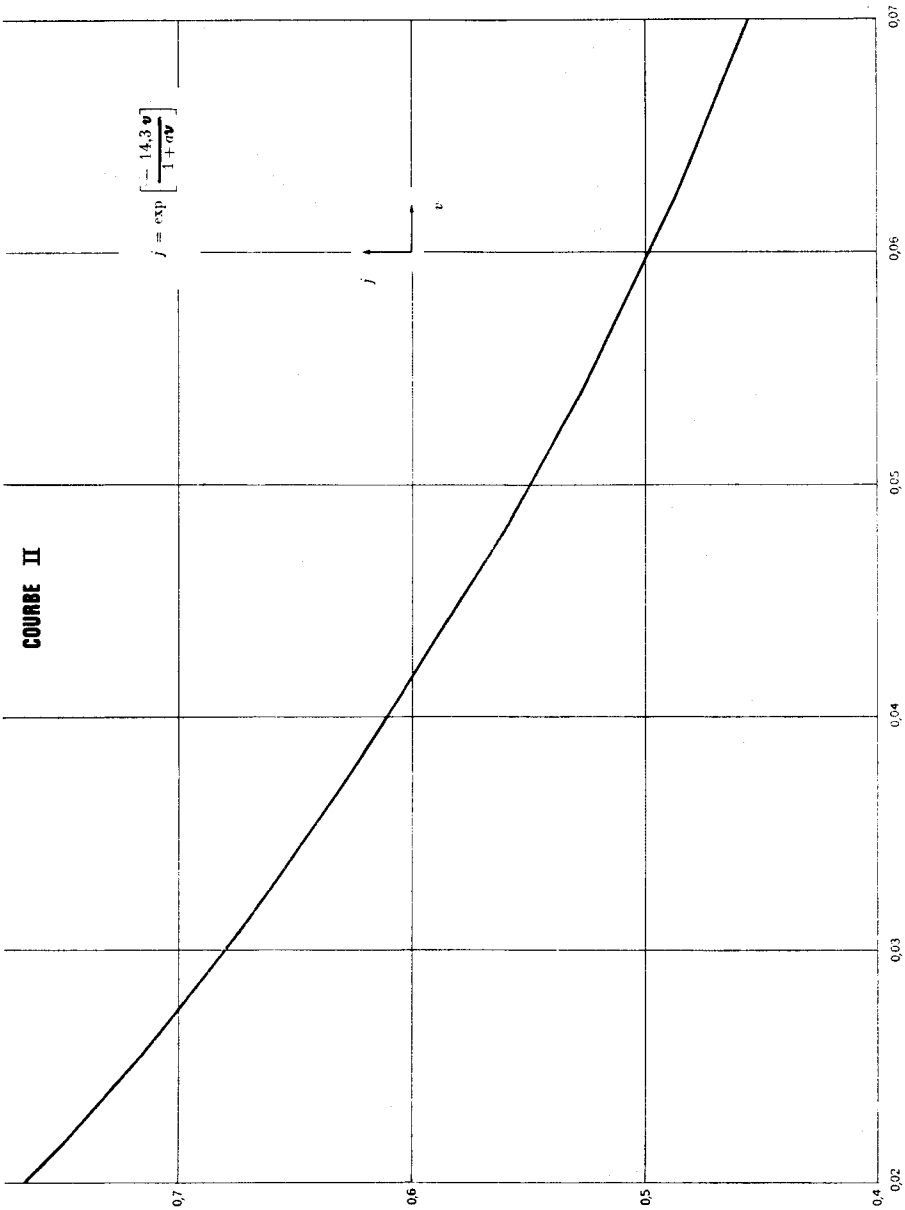
b) Donner la relation qui lie g, coefficient osmotique réel, à g_{DH} (ass) et m. Pour cela, on reprendra l'expression de g défini en II.3° et l'on fera apparaître au numérateur une somme de deux termes l'un relatif aux ions, l'autre relatif aux paires d'ions. On réfléchira bien à la valeur de P_{ideal}.

c) On veut déterminer la constante K de l'équilibre d'association du sulfate de calcium. Il faut donc atteindre m pour une valeur de a et une valeur de c. Si $a = 4$ Å et $c = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$ mole par litre, calculer g_{DH} (ass), puis g en considérant successivement $m = 0$, $m = 0{,}1$, et $m = 0{,}2$. En déduire la valeur de m qui satisfait à $g = g_{exp}$. Calculer les coefficients d'activité en se servant de la fonction j représentée sur la courbe II (*voir p. 591*).

En déduire K. Recalculer K pour $a = 4$ Å et $c = 10^{-2}$ mole par litre.

d) Commenter les résultats obtenus pour le sulfate de calcium. Cette méthode permet-elle d'atteindre le couple (K, a) représentant au mieux l'association en paires d'ions ?


COURBE I
$h = \frac{1}{u^2}\left[(1+u) - \frac{1}{1+u} - 2\ln(1+u)\right]$
h
u
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01


COURBE II
$j = \exp\left[\frac{-14{,}3\,v}{1+dv}\right]$
j
v
0,7
0,6
0,5
0,4
0,02
0,03
0,04
0,05
0,06
0,07

ETUDE CINETIQUE DE QUELQUES MECANISMES DE REACTIONS EN CATALYSE ENZYMATIQUE

On se propose d'étudier la cinétique de la transformation d'un substrat S en produit P, catalysée par l'enzyme E. Ce type de réaction est généralement rapide, c'est pourquoi il est souvent fait appel aux techniques de relaxation pour déterminer les constantes de vitesse.

Dans les applications, la nature de l'enzyme et du substrat n'est pas précisée, *car les valeurs numériques ont été arrondies,* dans un but de simplification.

Les notations suivantes seront utilisées :

	Molarité initiale	Molarité à l'instant t	un état d'équilibre Molarité dans
Substrat S	σ_0	σ	$\overline{\sigma}$
Produit P	0	p	$\overline{p}$
Enzyme E	e_0	e	$\overline{e}$

k_i désigne la constante de vitesse de l'étape élémentaire i.

A. Transformation irréversible a un intermédiaire

Le mécanisme est le suivant :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \xrightarrow{k_2} E + P. \qquad (1)$$

L'intermédiaire A est un composé d'addition (adduit) enzyme-substrat, dont la molarité sera notée a.

1° En appliquant à A l'approximation de l'état stationnaire, exprimer la vitesse v de formation du produit P.

2° En faisant intervenir la molarité initiale en enzyme e_0, montrer que l'expression obtenue peut se mettre sous la forme :

$$v = \frac{V_m}{1 + \frac{K_m}{\sigma}}$$

Expliciter K_m (constante de Michaelis relative au substrat) et V_m. Quelle est la signification cinétique de V_m ?

3° Pour un couple enzyme-substrat donné, avec $e_0 = 10^{-4}$ mol. l^{-1}, les résultats suivants ont été obtenus :

σ (mol. l^{-1})	10^{-2}	$2 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-1}
$\frac{10^{-3}}{v}$ (s. mol^{-1}. l)	16,7	11,7	8,7	7,7

a) Quelles sont les valeurs numériques de K_m et V_m ?

b) Montrer que les résultats de cette seule expérience ne permettent pas de calculer les trois constantes de vitesse. Peut-on prévoir une valeur limite de k_1 ?

4° Une relation supplémentaire entre les constantes peut être obtenue en étudiant la période transitoire qui précède l'établissement de l'état stationnaire.

a) Reprendre le mécanisme proposé et établir l'équation différentielle :

$$\frac{d^2p}{dt} + \lambda \frac{dp}{dt} = \mu.$$

Préciser, en fonction de σ, les expressions de λ et μ.

b) Si l'on opère avec un excès de substrat ($\sigma_0 \gg e_0$), sa molarité varie très peu durant la période initiale. Intégrer dans ces conditions l'expression obtenue ci-dessus et montrer que pour λt suffisamment grand, la molarité en p est donnée par :

$$p = \frac{\mu t}{\lambda} - \frac{\mu}{\lambda^2}.$$

c) En déduire un procédé graphique simple de détermination de λ.

d) La réaction envisagée au 3° a donné les résultats suivants : (avec $e_0 = 10^{-4}$ mol. l^{-1} et $\sigma_0 = 10^{-2}$ mol. l^{-1})

10^{+2} t (s)	25	30	35	40
10^{+6} p (mol. l^{-1})	10,2	13,2	16,2	19,2

En déduire λ, puis calculer les constantes k_1, k_{-1} et k_2. On prendra comme échelle 1 cm pour $2 \cdot 10^{-2}$ s et 1 cm pour 10^{-6} mol. l^{-1}.

B. Transformation irréversible a deux intermédiaires

L'intermédiaire A s'isomérise réversiblement en adduit B (du type EP), dont la destruction irréversible conduit au produit final.

Le mécanisme complet est schématisé par :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} B \xrightarrow{k_3} E + P. \qquad (2)$$

La constante de vitesse k_3 est nettement inférieure aux quatre autres : la molarité de B sera notée *b*.

1° Montrer que la vitesse d'apparition de P peut encore se mettre sous la forme :

$$v = \frac{V'_m}{1 + \dfrac{K'_m}{\sigma}}.$$

Expliciter V'_m et K'_m en fonction de e_0 et des constantes de vitesse.

2° Les constantes de vitesse peuvent être déterminées à l'aide des techniques de relaxation dont on rappelle le principe. A partir d'un état d'équilibre pour lequel la molarité de chaque espèce X est $\bar{x}$, on fait subir au système une *faible* perturbation ; la molarité de chaque espèce devient $\bar{x} + \Delta x$; le retour à l'équilibre obéit alors à une cinétique du premier ordre et permet de définir un temps de relaxation τ tel que :

$$-\frac{d}{dt}(\Delta x) = \frac{\Delta x}{\tau}.$$

a) En ne considérant d'abord que le premier équilibre entre E, S et A, exprimer le temps de relaxation correspondant τ_1 en fonction de $\bar{e}$ et $\bar{\sigma}$.

b) On suppose, d'une part que le premier équilibre s'établit beaucoup plus rapidement que le second, d'autre part que la destruction de B en E et P est trop lente pour modifier notablement les molarités. En considérant dans ces conditions l'ensemble du mécanisme, montrer que l'on peut définir deux temps de relaxation τ_1 et τ_2 ; donner leurs expressions en fonction des constantes de vitesse et des molarités à l'équilibre.

c) Le tableau suivant rassemble les résultats d'une série d'expériences :

$10^4\ (\bar{e} + \bar{\sigma})$ mol. l^{-1} ..	1	2	4	6	10
$10^{-3}\ \tau_1^{-1}$ (s^{-1})	15	20	30	40	60
$10^{-3}\ \tau_2^{-1}$ (s^{-1})	1,67	2,00	2,33	2,50	2,67

En déduire les valeurs des constantes k_1, k_{-1}, k_2 et k_{-2}.

d) Sachant que, pour la même réaction, $V'_m = 1{,}5 \cdot 10^{-3}$ mol. l^{-1}. s^{-1}, pour $e_0 = 10^{-4}$ mol. l^{-1}, calculer k_3.

C. Transformation réversible a un intermédiaire

Le schéma réactionnel est le suivant :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} E + P.$$

1° La constante d'équilibre globale est définie par : $\bar{K} = \dfrac{\bar{p}}{\bar{\sigma}}$.

Etablir la relation entre $\bar{K}$ et les constantes de vitesse.

2° On suppose que le *premier équilibre* (entre E, S et A) *s'établit plus rapidement que le second.*

Montrer qu'il existe alors deux temps de relaxation τ_1 et τ_2, dont on donnera les expressions en fonction des constantes de vitesse et des molarités à l'équilibre.

3° Dans le cas où $\sigma_0 \gg e_0$, les molarités en substrat et en produit à l'équilibre sont très supérieures à $\bar{e}$.

a) Montrer que dans ces conditions τ_2 est une fonction affine de σ_0, pour e_0 = constante. Pour simplifier l'écriture, on posera :

$$K_1 = \frac{k_{-1}}{k_1} \quad \text{et} \quad K_2 = \frac{k_2}{k_{-2}}.$$

b) Proposer un procédé de détermination des quatre constantes de vitesse.

D. Intervention d'un inhibiteur

On se propose d'étudier deux cas d'inhibition de la transformation irréversible à un intermédiaire, considérée au paragraphe A.

1° Il existe des substances Y, susceptibles de s'associer à l'enzyme selon un équilibre très rapide :

$$E + Y \underset{k_{-4}}{\overset{k_4}{\rightleftarrows}} EY.$$

On désignera par y la molarité de l'inhibiteur à l'instant t et on posera :

$$K_4 = \frac{k_{-4}}{k_4}$$

Donner l'expression de la vitesse de formation de P en fonction de V_m, K_m (cf. partie A), K_4 et des molarités y et σ.

2° Il existe également des inhibiteurs Z, susceptibles de s'associer très rapidement à l'adduit A :

$$A + Z \underset{k_{-5}}{\overset{k_5}{\rightleftarrows}} AZ.$$

On posera : $K_5 = \frac{k_{-5}}{k_5}$ et on désignera par z la molarité de la substance Z.

Trouver la nouvelle expression de la vitesse de formation de P.

3° Pour des molarités initiales en inhibiteur très supérieures à e_0, donner une représentation graphique simple des deux lois de vitesse précédentes ; comparer à la loi de vitesse de la réaction non inhibée.

ETUDE DES INTERACTIONS EN SOLUTION IONIQUE

PREMIÈRE PARTIE

1) La relation donnée correspond à la loi de distribution de BOLTZMANN :

$$x = \frac{n}{V} \quad \text{et} \quad y = -\frac{ze}{kT} \qquad \text{si cation,}$$

$$x = \frac{n}{V} \quad \text{et} \quad y = \frac{ze}{kT} \qquad \text{si anion.}$$

La densité de charge correspond à la charge par unité de volume soit :

$$\varrho = \frac{nez}{V}\left[\exp\left(-\frac{ze\psi}{kT}\right) + (-1)\exp\left(\frac{ze\psi}{kT}\right)\right]$$

En solution diluée, approximation de DEBYE-HÜCKEL,

$$\varrho = \varrho_{DH} = -\frac{2ne^2z^2\psi}{V\,kT}.$$

2) Le rétablissement de l'équation de POISSON est immédiat :

$$\Delta\psi = \chi^2\varphi = -\frac{\varrho}{\varepsilon} = \frac{2ne^2z^2\psi}{V\varepsilon\,kT}.$$

$$\chi = \sqrt{\frac{2ne^2z^2}{V\varepsilon\,kT}}$$

χ s'exprime en $Å^{-1}$ et vaut : $\chi = 0{,}66\sqrt{c}$, soit :

$$\frac{1}{\chi} = 4{,}8\ Å.$$

Puisque le milieu est de symétrie sphérique :

$$\Delta\psi = \frac{1}{r^2} \cdot \frac{d}{dr}\left(r^2 \frac{d\psi}{dr} \right) = \frac{\alpha\beta^2}{r} \cdot \exp(-\beta r)$$

mais :

$$\Delta\psi = \chi^2 \psi = \frac{2 n e^2 z^2}{V k \varepsilon T} \cdot \frac{\alpha}{r} \cdot \exp(-\beta r).$$

$$\beta^2 = \chi^2$$

Pour avoir α, on exprimera le fait que la charge totale extérieure à l'ion central de rayon a est égale à la charge de cation central, soit $z e$, au signe près :

$$\int_a^\infty \varrho \cdot 4\pi r^2 \cdot dr = -z e$$

avec $\varrho = -\varepsilon \chi^2 \psi$

d'où :

$$\alpha = \frac{z e \exp(\chi a)}{4\pi\varepsilon(1 + \chi a)}.$$

Le potentiel sur la sphère d'approche minimale correspond à l'action de tous les ions de la solution, y compris l'ion central, pour $r = u$:

$$\psi_{DH} = \frac{z e}{4\pi\varepsilon a(1 + \chi a)}$$

$$\psi_{DH} = \psi \text{ (ion central)} + \psi^*$$

$$\frac{z e}{4\pi\varepsilon a(1 + \chi a)} = \frac{z e}{4\pi\varepsilon a} + \psi^*$$

d'où :

$$\psi^* = -\frac{z e \chi}{4\pi\varepsilon(1 + \chi a)}$$

χ permet d'atteindre la dimension de la sphère minimale d'approche.

Deuxième partie

1) Une variation de charge $z e\, d\lambda$ entraîne une variation d'énergie :

$$\psi^* \cdot z e\, d\lambda$$

ψ^* étant devenu une fonction de λ.

L'énergie libre d'excès est donc :

$$F^* = \text{nombre d'ions} * \int_0^1 \psi^* \, z\, e \, d\lambda$$

On notera également que χ devient $\lambda\chi$ au cours de ce processus de charge :

$$F^* = 2u \int_0^1 z\, e \cdot \frac{\lambda\, e \cdot \lambda\, \chi\, z}{4\pi\varepsilon(1 + \lambda\, \chi\, a)} \cdot d\lambda$$

d'où : $$F^* = -\frac{kVT}{4\pi a^3}\left[\frac{\chi^2 a^2}{2} - \chi a + \log(1 + \chi a)\right]$$

2) On sait que :

$$\text{Log}\ \gamma = \frac{1}{2\,kT} \cdot \frac{\partial F^*}{\partial n}$$

d'où :

$$\text{Log}\ \gamma = -\frac{Ne^2 z^2}{8\pi\varepsilon RT} \cdot \frac{\chi}{1 + \chi a}$$

et $$\gamma = \exp\left[-\frac{14{,}3\,\chi}{1 + a\chi}\right]$$

3) $$P_{vrai} = P_{ideal} + P_{exces} = P_{ideal} \cdot g$$

d'où :

$$g = 1 + \frac{P_{exces}}{P_{ideal}}$$

mais :

$$P_{exces} = -\frac{\partial F^*}{\partial V} \quad \text{et} \quad P_{ideal} = \frac{2\,n\,kT}{V}$$

d'où :

$$g_{DH} = 1 - \frac{V}{8\pi n a^3}\left[\frac{\chi a}{2} + \frac{\chi a}{2(1 + \chi a)} - \text{Log}(1 + \chi a)\right]$$

TROISIÈME PARTIE

1) Les calculs donnent les valeurs suivantes:

$c = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$	$a = 4$ Å	$g = 0{,}849$	$g_{exp} = 0{,}81$
$c = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$	$a = 1$ Å	$g = 0{,}820$	
$c = 1{,}0 \cdot 10^{-2}$	$a = 4$ Å	$g = 0{,}779$	$g_{exp} = 0{,}74$
$c = 1{,}0 \cdot 10^{-2}$	$a = 1$ Å	$g = 0{,}712$	

Dans un cas, g_{exp} est dans la fourchette calculée, dans l'autre cas non.

2) L'association d'ions s'écrit :

$$\underset{c\,(1-m)}{A^{2+}} + \underset{c\,(1-m)}{B^{2-}} \rightleftarrows \underset{c\,m}{AB}$$

χ devient :

$$\chi^{(ass)} = 0{,}66\sqrt{c}\cdot\sqrt{1-m} = \chi\sqrt{1-m}$$

$$g_{DH}{}^{(ass)} = 1 - \frac{14{,}4\,k}{a}$$

avec :

$$k = \frac{1}{a^2\chi^2(1-m)}\left[1 + a\chi\sqrt{1-m} - \frac{1}{1+a\chi\sqrt{1-m}} \ldots \right.$$

$$\left. \ldots\ 2\,\mathrm{Log}\left(1 + a\chi\sqrt{1-m}\right)\right]$$

Si les paires d'ions se comportent comme un ion électrolyte, et si l'approximation de DEBYE-HÜCKEL s'appliquent aux ions restants :

$$g = \frac{m}{2} + g_{DH}{}^{(ass)}\,(1-m)$$

Si $a = 4$ Å et $c = 3{,}6\cdot10^{-3}$

$g_{DH}{}^{(ass)} = g = 0{,}849$ si $m = 0$

$g_{DH}{}^{(ass)} = 0{,}854$ $g = 0{,}819$ si $m = 0{,}1$

$g_{DH}{}^{(ass)} = 0{,}261$ $g = 0{,}789$ si $m = 0{,}2$

on en déduit :

$$m = 0{,}130 \quad \text{pour} \quad g_{exp} = 0{,}81$$

alors :

$$\chi = 0{,}66\cdot0{,}06\cdot\sqrt{0{,}870} = 0{,}037$$

d'où :

$$\gamma = 0{,}630$$

d'où :

$$K = \frac{c\,m}{c^2(1-m)^2\gamma^2} = 120.$$

Le calcul répété avec $a = 4$ Å et $c = 10^{-2}$ mol.l^{-1} donne :

$$K = 116 \quad \text{avec} \quad m = 0{,}19$$

$$\text{pour} \quad \chi_{exp} = 0{,}74.$$

Le choix d'un couple a, K convenable n'est pas évident car la courbe est extrêmement plate : les deux valeurs a, K sont voisines.

BIBLIOGRAPHIE

1. P. SOUCHAY. — *Thermodynamique chimique.* Masson, 1968, p. 275.

2. H. FALKENHAGEN, W. EBELING. — *Ionic interactions.* Academic Press 1971, p. 1.

3. H. YOKOHAMA, H. YAMATERA. — *Bull. Chem. Soc., Japan, 48,* 1975, p. 2708.

ETUDE CINETIQUE DE QUELQUES MECANISMES DE REACTIONS EN CATALYSE ENZYMATIQUE

A. TRANSFORMATION IRRÉVERSIBLE A UN INTERMÉDIAIRE

Mécanisme :

$$E + \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \xrightarrow{k_2} E + P$$

1° La vitesse d'apparition de P est $v = k_2 a$.

En appliquant au composé d'addition A, l'approximation de l'état stationnaire :

$$\frac{da}{dt} = 0 = k_1 e\sigma - (k_{-1} + k_2) a.$$

On obtient :

$$v = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2} e\sigma.$$

2° La molarité initiale en enzyme est donnée par :

$$e_0 = e + a = e\left(1 + \frac{k_1 \sigma}{k_{-1} + k_2}\right)$$

D'où :

$$v = \frac{k_2 e_0}{1 + \dfrac{k_{-1} + k_2}{k_1 \sigma}} = \frac{V_m}{1 + \dfrac{K_m}{\sigma}}$$

avec :

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad \text{et} \quad V_m = k_2 e_0$$

V_m représente, pour e_0 donné, la vitesse maximum de la réaction, correspondant à une concentration élevée en substrat.

3° La transformation $\dfrac{1}{v} = \dfrac{1}{V_m} + \dfrac{K_m}{V_m}\dfrac{1}{\sigma}$ permet d'obtenir $V_m = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$ mole. litre^{-1}. s^{-1} et $k_m = 1{,}5 \cdot 10^{-2}$ mole. litre^{-1}.

On peut en déduire $k_2 = 1{,}5\ s^{-1}$ et $k_1 > \dfrac{k_2}{K_m}$ (car $k_{-1} > 0$) soit $k_1 > 100$ litre. mole^{-1}. s^{-1}.

4° Durant la période transitoire, précédant l'établissement de l'état stationnaire, les équations suivantes s'appliquent :

$$\frac{dp}{dt} = k_2 a \text{ et } \frac{d^2p}{dt^2} = k_2 \frac{da}{dt} = k_2 [k_1 e\sigma - (k_{-1} + k_2) a]$$

En tenant compte de $a = e_0 - e$, il vient :

$$\frac{d^2p}{dt^2} = k_2 [k_1 e_0 \sigma - (k_1 \sigma + k_{-1} + k_2) a] = \mu - \lambda \frac{dp}{dt}$$

avec $\lambda = k_1 \sigma + k_{-1} + k_2 = k_1 (\sigma + K_m)$ et $\mu = k_1 k_2 e_0 \sigma$.

Si l'on opère en présence d'un excès de substrat, $\sigma \simeq \sigma_0$; λ et μ sont alors des constantes. L'intégration de l'équation différentielle (tenant compte des conditions initiales : à $t = 0$ ($p = 0$ et $\dfrac{dp}{dt} = 0$ conduit à :

$$p = \frac{\mu t}{\lambda} - \frac{\mu}{\lambda^2} [1 - \exp(-\lambda t)].$$

En fin de période transitoire, $t \gg \lambda^{-1}$ et $p = \dfrac{\mu t}{\lambda} - \dfrac{\mu}{\lambda^2}$.

Le tracé de la droite $p = f(t)$ permet la détermination de λ (pour $p = 0$, $t = \lambda^{-1}$). De $\lambda = 12{,}5\ s^{-1}$, on déduit $k_1 = 500$ litre. mole^{-1}. s^{-1} et $k_{-1} = 6\ s^{-1}$.

B. TRANSFORMATION IRRÉVERSIBLE A DEUX INTERMÉDIAIRES

Mécanisme :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} B \xrightarrow{k_3} E + P.$$

1° La constante de vitesse k_3 étant nettement inférieure aux quatre autres, on peut considérer que les équilibres sont réalisés :

$$k_1 e\sigma = k_{-1} a \quad \text{et} \quad k_2 a = k_{-2} b.$$

Le produit P se forme à la vitesse $v = k_3 b$.

Compte tenu de $e_0 = e + a + b$ (conservation de l'enzyme), on obtient :

$$v = \frac{k_3 e_0}{1 + \dfrac{k_{-2}}{k_2} + \dfrac{k_{-1} k_{-2}}{k_1 k_2 \sigma}} = \frac{V'_m}{1 + \dfrac{K'_m}{\sigma}}$$

en posant : $V'_m = \dfrac{k_2 k_3}{k_2 + k_{-2}} e_0$ et $K'_m = \dfrac{k_{-1} k_{-2}}{k_1 (k_2 + k_{-2})}$.

2° *a*) Considérons l'équilibre (1) après perturbation :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A$$

$$(\bar{e} + \Delta e)\ (\bar{\sigma} + \Delta\sigma)\ (\bar{a} + \Delta a).$$

La vitesse de retour à l'équilibre est :

$$v = -\frac{d\sigma}{dt} = k_1\ (\bar{e} + \Delta e)\ (\bar{\sigma} + \Delta\sigma) - k_{-1}\ (\bar{a} + \Delta a).$$

En tenant compte de la conservation des réactifs : $\Delta e = \Delta\sigma = -\Delta a$ et de la condition d'équilibre : $k_1 \bar{e}\,\bar{\sigma} = k_{-1}\,\bar{a}$, on obtient, en négligeant l'infiniment petit du second ordre :

$$v = \Delta\sigma\ [k_1\ (\bar{e} + \bar{\sigma}) + k_{-1}] = \frac{\Delta\sigma}{\tau_1}.$$

D'où $\tau_1^{-1} = k_1\ (\bar{e} + \bar{\sigma}) + k_{-1}$.

b) D'après les données, on peut considérer que l'équilibre (1) se rétablit d'abord seul (temps de relaxation τ_1). La destruction de B étant lente, l'équilibre (2) s'établit ensuite avec un temps de relaxation τ_2. Les relations suivantes traduisent ces hypothèses :

— conservation de l'enzyme et du substrat :

$$\Delta\sigma = \Delta e \qquad \Delta e + \Delta a + \Delta b = 0$$

— état d'équilibre atteint pour (1) :

$$k_1 e\,\sigma = k_{-1} a \text{ ou } k_1\ (\bar{e} + \bar{\sigma})\,\Delta\sigma = k_{-1}\ \Delta a$$

— retour de (2) à l'équilibre :

$$-\frac{d(\Delta b)}{dt} = \frac{\Delta b}{\tau_2} = k_{-2}\ (\bar{b} + \Delta b) - k_2\ (\bar{a} + \Delta a) = k_{-2}\ \Delta b - k_2 \Delta a$$

On obtient finalement :

$$-\frac{d(\Delta b)}{dt} = \Delta b \left[k_{-2} + \frac{k_1 k_2 (\bar{e} + \bar{\sigma})}{k_{-1} + k_1 (\bar{e} + \bar{\sigma})} \right]$$

Soit :

$$\tau_2^{-1} = k_{-2} + \frac{k_1 k_2 (\bar{e} + \bar{\sigma})}{k_{-1} + k_1 (\bar{e} + \bar{\sigma})}.$$

c) L'étude des variations de τ_1^{-1} en fonction de $(\bar{e} + \bar{\sigma})$ conduit à :

$$k_1 = 5 \cdot 10^7 \text{ litre. mole}^{-1}\,\text{s}^{-1} \quad \text{et} \quad k_{-1} = 10^4 \text{ s}^{-1}.$$

En remarquant que :

$$\tau_2^{-1} = k_{-2} + k_1 k_2 \left(\frac{\bar{e} + \bar{\sigma}}{\tau_1^{-1}} \right)$$

On obtient :

$$k_2 = 2 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1} \quad \text{et} \quad k_{-2} = 10^3 \text{ s}^{-1}.$$

d) Connaissant V'_m et e_0, on peut calculer la cinquième constante de vitesse : $k_3 = 22{,}5 \text{ s}^{-1}$.

C. Transformation réversible a un intermédiaire

Mécanisme :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} A \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} E + P.$$

1° *A l'équilibre :*

$$k_1 \bar{e}\,\bar{\sigma} = k_{-1}\,\bar{a} \quad \text{et} \quad k_2 \bar{a} = k_{-2}\,\bar{e}\,\bar{p}$$

d'où :

$$K = \frac{\bar{p}}{\bar{\sigma}} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} k_{-2}} = \frac{K_2}{K_1}.$$

2° *L'équilibre* (1) *s'établissant beaucoup plus rapidement, on a encore :*

$$\tau_1^{-1} = k_1 (\bar{e} + \bar{\sigma}) + k_{-1}.$$

L'équilibre (2) s'établit ensuite :

— conservation des réactifs :

$$\Delta e + \Delta a = 0 \qquad \Delta\sigma + \Delta p + \Delta a = 0$$

— équilibre (1) établi :

$$k_1 (\bar{e}\,\Delta\sigma + \bar{\sigma}\Delta e) = k_{-1}\,\Delta a$$

— retour à l'état d'équilibre pour (2) :

$$\frac{d(\Delta p)}{dt} = -\frac{\Delta p}{\tau_2} = k_2\,\Delta a - k_{-2}\,(\bar{e}\,\Delta p + \bar{p}\,\Delta e).$$

L'ensemble de ces relations conduit à :

$$\tau_2^{-1} = \bar{e} \left[k_{-2} + \frac{k_1 (k_2 + k_{-2}\bar{p})}{k_{-1} + k_1 (\bar{\sigma} + \bar{e})} \right] \ldots$$

$$\ldots = \frac{[k_{-1} k_{-2} + k_1 k_2 + k_1 k_{-2} (\bar{e} + \bar{\sigma} + p)]\,\bar{e}}{k_{-1} + k_1 (\bar{\sigma} + \bar{e})}.$$

3° Lorsque la concentration initiale en substrat est très supérieure à e_0, $\bar{e}$ (et par conséquent $\bar{a}$) est négligeable devant $\bar{\sigma}$ ou $\bar{p}$.

Par ailleurs, $\sigma_0 \simeq \bar{\sigma} + \bar{p}$.

En faisant apparaître $\bar{K}$, K_1 et K_2, on peut alors écrire :

$$\tau_2 = \frac{k_1(\bar{\sigma} + K_1)}{\bar{e}\, k_{-1} k_{-2} \left[1 + \bar{K} + \dfrac{\sigma_0}{K_1} \right]} = \frac{\bar{\sigma} + K_1}{\bar{e}\, k_{-2}(K_1 + K_2 + \sigma_0)}$$

Les relations de conservation conduisent à :

$$e_0 = \bar{e} + \bar{a} = \bar{e}\left(1 + \frac{\bar{\sigma}}{K_1}\right) \quad \text{et} \quad \sigma_0 = \bar{\sigma} + \bar{p} = \bar{\sigma}(1 + \bar{K})$$

D'où :

$$\tau_2 = \frac{K_1 + K_2 + \sigma_0}{(1 + K)^2 e_0 K_1 k_{-2}} = \frac{1}{k_{-2} e_0 (1 + \bar{K})} + \frac{\sigma_0}{K_1 k_{-2} [1 + K]^2 e_0}$$

L'étude des deux temps de relaxation permet encore la détermination des quatre constantes de vitesse et, par suite, des constantes d'équilibre.

D. Intervention d'un inhibiteur

1° *Inhibition au niveau de l'enzyme.*

On a toujours, en appliquant le principe de l'état stationnaire à A :

$$v = \frac{dp}{dt} = k_2 a = \frac{k_2 e \sigma}{K_m}.$$

La conservation de l'enzyme s'écrit :

$$e_0 = e + a + [EY] = a\left(1 + \frac{K_m}{\sigma} + \frac{K_m y}{K_4 \sigma}\right)$$

Avec les notations de la partie A :

$$v = \frac{V_m}{1 + \dfrac{K_m}{\sigma}\left(1 + \dfrac{y}{K_4}\right)}$$

2° *Inhibition au niveau de l'adduit.*

L'équilibre entre A, Z et AZ étant réalisé, l'application de l'approximation de l'état stationnaire à A conduit encore à :

$$a = \frac{e\sigma}{K_m}.$$

Tenant compte de $e_0 = e + a + [AZ]$, on obtient :

$$V = \frac{V_m}{1 + \frac{K_m}{\sigma} + \frac{z}{K_5}}.$$

3° *Lorsque les concentrations en inhibiteurs Y ou Z sont pratiquement constantes,* les fonctions $\frac{1}{v} = f\left(\frac{1}{\sigma}\right)$ sont représentées par des droites.

Par rapport au mécanisme sans inhibition :

— le 1er cas (inhibition par Y) conduit à une droite possédant même ordonnée à l'origine et une pente plus élevée,

— le 2me cas (inhibition par Z) conduit à une droite de même pente, mais possédant une ordonnée à l'origine supérieure.

A. CAMUS,
(*Lycée Chateaubriand - Rennes*).
C. DUBOC,
(*Université Pierre-et-Marie-Curie - Paris*)
Y. JEANNIN,
(*Université Pierre-et-Marie-Curie - Paris*)
A. TALLEC,
(*Faculté des Sciences - Rennes*).

BIBLIOGRAPHIE

J. RICARD. — *Cinétique et mécanismes d'action des enzymes,* T.I. Doin, Paris, 1973.

M. DIXON et E.-C. WEBB. — *Enzymes,* Longmans, London, 1964.

J. WONG. — *Kinetics of enzyme mechanisms,* Academic Press, London, 1975.

G.-G. HAMES et P.-R. SCHIMMEL. — *The enzymes, Kinetics and mechanism,* Vol. II, ed. by P.-D. Boyer, Academic Press, New York, 1970.