

CINÉTICA – EFEITO DA TEMPERATURA NAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS

Objetivos:

- 1) Verificar a influência do fator temperatura na atividade da enzima.

Materiais

Sacarose 0,2 M

Invertase em tampão acetato de sódio 0,05 M pH 4,7

Tampão acetato de sódio 0,05 M pH 4,7

Reagente 3,5 dinitro salicílico (DNS) em meio alcalino

Banhos maria a 10°C, 30°C, 40 °C, 50 °C , 60°C e 70 °C.

Espectrofotômetro

Cuba de gelo

Procedimento

- 1) Seguir o protocolo abaixo:

Tubo	1	2	3	4	5	6	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Água (ml)	-	-	-	-	-		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sacarose 0,2 M (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Tampão (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

- 2) Colocar os tubos nos banhos a 10°C, 30°C, 40 °C, 50 °C , 60°C e 70 °C;
- 3) Adicionar 0,2 ml da solução de invertase aos tubos 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Anotar para cada tubo a hora da adição;
- 4) Após exatamente 5 minutos, adicionar 1 ml de DNS em todos os tubos;
- 5) Transferir todos os tubos para banho a 100 °C e marcar 5 minutos;
- 6) Resfriar, Homogeneizar e ler as absorbâncias a 540 nm; Usar os respectivos brancos para zerar o aparelho, pois a sacarose pode hidrolisar pelo calor.

Resultados e Discussão

- 1) Completar a tabela

Temperatura (°C)	Temperatura (K)	Abs (540 nm)	V (UI/ml)

- 2) Lançar em gráfico $v \times T$; Determine a temperatura ótima da enzima

- 3) Lançar em gráfico $\log v \times 1/T$ e calcular a energia de ativação (a partir de Arrhenius).