

## CINÉTICA – EFEITO DA TEMPERATURA NAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS

### Objetivos:

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

### Materiais

Amido solúvel 1%

$\alpha$ -amilase em tampão acetato de sódio 0,05 M pH 5,5

Tampão acetato de sódio 0,05 M pH 5,5

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

Banhos maria a 10°C, 25°C, 37°C, 45 °C, 50°, 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)	-	-	-	-	-		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Amido 1% (ml)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Tampão (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

- 2) Colocar os tubos nos banhos a 10°C, 25°C, 37 °C, 45 °C, 60°C e 70 °C;
- 3) Adicionar 0,1 ml da solução de  $\alpha$ -amilase aos tubos 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Anotar para cada tubo a hora da adição;
- 4) Após exatamente 10 minutos, adicionar 0,5 ml de DNS em todos os tubos;
- 5) Transferir todos os tubos para banho a 100 °C e marcar 5 minutos;
- 6) Resfriar, adicionar 3,5 mL de água destilada, homogeneizar e ler as absorbâncias a 540 nm; Usar os respectivos brancos para zerar o aparelho, pois o amido 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).