

ESCOLA SECUNDÁRIA ENG. ACÁCIO CALAZANS DUARTE

**Utilização e organização dos laboratórios escolares
Oficina de Formação**

**GUIÃO PARA A REALIZAÇÃO DE UMA
ACTIVIDADE LABORATORIAL**

FACTORES QUE INFLUENCIAM A ACTIVIDADE ENZIMÁTICA

Formanda: Maria de Fátima Santos Carvalho
Julho de 2010

Formador: Dr. Victor Teodoro



Escola Secundária Engº Calazans Duarte

Biologia 12ºAno - Aula prática nº ____

Ano Lectivo _____

Nome _____ nº ____ Turma ____

VERSÃO DO PROFESSOR

Actividade Experimental: FACTORES QUE INFLUENCIAM A ACTIVIDADE ENZIMÁTICA (Pesquisa da acção da enzima catalase em fígado de porco)

Objectivos:

- 1 – Verificar a influência das alterações de pH na actividade enzimática.
- 2 – Verificar a influência da temperatura na actividade enzimática.

Introdução:

Nas células forma-se peróxido de hidrogénio (H₂O₂) como resultado de algumas reacções químicas. Devido à elevada toxicidade desta substância, ela terá de ser decomposta para evitar a destruição das células. O H₂O₂ pode ser convertido em Oxigénio tal com está evidenciado na equação seguinte:



Muitos organismos podem decompor o peróxido de hidrogénio enzimaticamente.

As enzimas são catalizadores biológicos que têm a função de acelerar as reacções, pois diminuem a energia de activação necessária para estas se desencadarem.

São proteínas globulares com estrutura terciária e possuem uma região, denominada centro activo, que se liga ao substrato.

A actividade enzimática é condicionada por diversos factores. Tanto as temperaturas altas com as temperaturas baixas inactivam as enzimas, podendo a inibição ser irreversível. O pH baixo ou elevado também acarreta inactivação das enzimas uma vez que interfere com a configuração dos centros activos.

A velocidade da reacção enzimática pode ser estudada medindo a concentração do produto formado. Neste caso é utilizado o sensor de O₂, uma vez que o oxigénio é um dos produtos finais do metabolismo do H₂O₂.

Verificar significados: Elaborar breves descrições dos seguintes conceitos:

Modo de proceder:

a) Com o computador e a calculadora gráfica

1. Ligue o sensor de O₂ ao LabPro. Use o cabo de ligação para ligar o LabPro ao computador.
2. Escolher a actividade e o sensor e clicar em “start data collection”



3. Ligue a calculadora e inicie a aplicação EASY DATA. Prima Enter.
4. Se a calculadora exibir pH em canal 1, continue. Se não o exibir, seleccione o sensor manualmente.



5. Seleccione o modo de recolha de dados:

Seleccione SETUP.

Seleccione Time Graph.

Seleccione Editar.

6. Defina 5 como o tempo de recolha entre as amostras e prima Next.

7. Defina 36 como o total de recolhas e prima Next.

8. Prima OK.

9. Prima Start, quando iniciar o registo.

b) Com o material laboratorial:

1. Numere os tubos de 1 a 5 e coloque-os no suporte.

2. Deite 10 ml de H₂O₂ em cada um dos tubos.

3. Acrescente 5 gotas de HCl no tubo 3 e 5 gotas de NaOH no tubo 4.

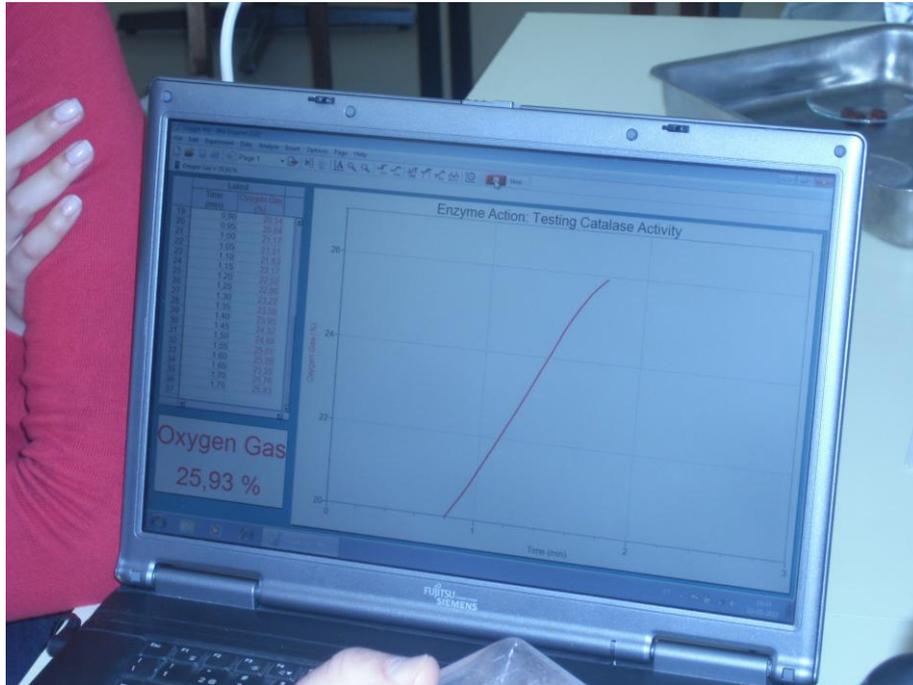
4. Verifique o pH nos tubos 3 e 4 utilizando o sensor de pH.

5. Coloque um fragmento de cerca de 200 mg de fígado cru no frasco.



6. Verta o conteúdo do tubo 1 no frasco do sensor de O₂, tendo o cuidado para que este não entre em contacto com o fígado e coloque imediatamente o sensor.

7. Inicie o registo dos resultados logo que a solução entre em contacto com o fígado.



8. Repita este passo de acordo com as indicações do quadro seguinte, tendo o cuidado de não tocar no material biológico.

Tubo	Procedimento	Resultados
1	H ₂ O ₂ + fígado cru	
2	H ₂ O ₂ + fígado cru triturado	
3	H ₂ O ₂ + 5 gotas de HCl + fígado cru	
4	H ₂ O ₂ + 5 gotas de NaOH + fígado cru	
5	H ₂ O ₂ + fígado cozido	

9. Elabore o relatório do trabalho efectuado, procurando responder às seguintes questões:

9.1 Procure explicar as diferenças de resultados entre os tubos 1 e 2.

9.2 O que pode concluir acerca do pH óptimo da enzima catalase?

9.3 Como explica os resultados do tubo 5?

Avaliação da actividade

10. Avalie a actividade que acabou de realizar, respondendo às seguintes questões:

	Sim	Não
1. Achou que o protocolo o ajudou na concretização da actividade?		
2. Achou a actividade interessante?		
3. Teve dificuldade em tirar conclusões?		
4. Mudaria alguma coisa no protocolo da actividade?		
5. Achou que o tempo para a realização da actividade foi suficiente?		

11. Se respondeu, afirmativamente à pergunta 4, indique o que alteraria no protocolo.



FIM

A professora: Fátima Carvalho

Escola Secundária Engº Calazans Duarte

Biologia 12ºAno - Aula prática nº ____

Ano Lectivo _____

Nome _____ nº ____ Turma ____

VERSÃO DO ALUNO

Actividade Experimental: FACTORES QUE INFLUENCIAM A ACTIVIDADE ENZIMÁTICA (Pesquisa da acção da enzima catalase em fígado de porco)

Objectivos:

- 1 – Verificar a influência das alterações de pH na actividade enzimática.
- 2 – Verificar a influência da temperatura na actividade enzimática.

Introdução:

Nas células forma-se peróxido de hidrogénio (H₂O₂) como resultado de algumas reacções químicas. Devido à elevada toxicidade desta substância, ela terá de ser decomposta para evitar a destruição das células. O H₂O₂ pode ser convertido em Oxigénio tal com está evidenciado na equação seguinte:



Muitos organismos podem decompor o peróxido de hidrogénio enzimaticamente.

As enzimas são catalizadores biológicos que têm a função de acelerar as reacções, pois diminuem a energia de activação necessária para estas se desencadearem.

São proteínas globulares com estrutura terciária e possuem uma região, denominada centro activo, que se liga ao substrato.

A actividade enzimática é condicionada por diversos factores. Tanto as temperaturas altas com as temperaturas baixas inactivam as enzimas, podendo a inibição ser irreversível. O pH baixo ou elevado também acarreta inactivação das enzimas uma vez que interfere com a configuração dos centros activos.

A velocidade da reacção enzimática pode ser estudada medindo a concentração do produto formado. Neste caso é utilizado o sensor de O₂, uma vez que o oxigénio é um dos produtos finais do metabolismo do H₂O₂.

Verificar significados: Elaborar breves descrições dos seguintes conceitos:

Conceitos	Breve descrição
Catalisador	Toda e qualquer substância que acelera uma reacção, diminuindo a energia de activação, diminuindo a energia do complexo activado, sem ser consumido, durante o processo.
Enzima	As enzimas são proteínas que, actuando como catalisadores na maioria das reacções bioquímicas, baixam a energia de activação necessária para que se dê uma reacção química.
Centro activo	Local da enzima onde o substrato se "encaixa"
Propriedades das enzimas	<ul style="list-style-type: none"> - As enzimas não se gastam nem se alteram durante as reacções químicas - Cada enzima é específica para um determinado substrato - Cada enzima possui um pH óptimo e uma temperatura óptima de funcionamento
Desnaturação	A desnaturação é um processo em que a proteína perde a sua estrutura tridimensional e, portanto, as suas propriedades
Inibição enzimática	Há substâncias que podem inibir a actividade enzimática. Os inibidores podem ser reversíveis ou irreversíveis, de acordo com a estabilidade gerada pela sua ligação com a enzima. A inibição pode ainda ser competitiva ou não-competitiva

Material: Além do material a seguir indicado, que é essencial para a experiência, necessita de mais material de apoio, após ler o protocolo preencha o quadro seguinte

LabPro interface

Computador com software Logger Pro

CBL2

Calculadora gráfica

Sensor de O₂ gasoso

Sensor de pH

Material	
Descrição	Quantidades
Recipiente de 250 ml	1
Tubos de ensaio	5
Suporte para tubos de ensaio	1
Proveta graduada de 10 ml	1

H2O2 a 20 volumes	10 ml
Hidróxido de sódio	5 gotas
Ácido clorídrico	5 gotas
Pinça e bisturi	1
Almofariz com pilão	1
Fígado fresco e fígado cozido	200 mg
Vidro de relógio	1
Balança	1
Recipiente de 250 ml	1

Modo de proceder:

b) Com o computador e a calculadora gráfica

10. Ligue o sensor de O₂ ao LabPro. Use o cabo de ligação para ligar o LabPro ao computador.
11. Escolher a actividade e o sensor e clicar em “start data collection”



12. Ligue a calculadora e inicie a aplicação EASY DATA. Prima Enter.
13. Se a calculadora exibir pH em canal 1, continue. Se não o exibir, seleccione o sensor manualmente.



14. Seleccione o modo de recolha de dados:

Seleccione SETUP.

Seleccione Time Graph.

Seleccione Editar.

15. Defina 5 como o tempo de recolha entre as amostras e prima Next.

16. Defina 36 como o total de recolhas e prima Next.

17. Prima OK.

18. Prima Start, quando iniciar o registo.

b) Com o material laboratorial:

1. Numere os tubos de 1 a 5 e coloque-os no suporte.

2. Deite 10 ml de H_2O_2 em cada um dos tubos.

3. Acrescente 5 gotas de HCl no tubo 3 e 5 gotas de NaOH no tubo 4.

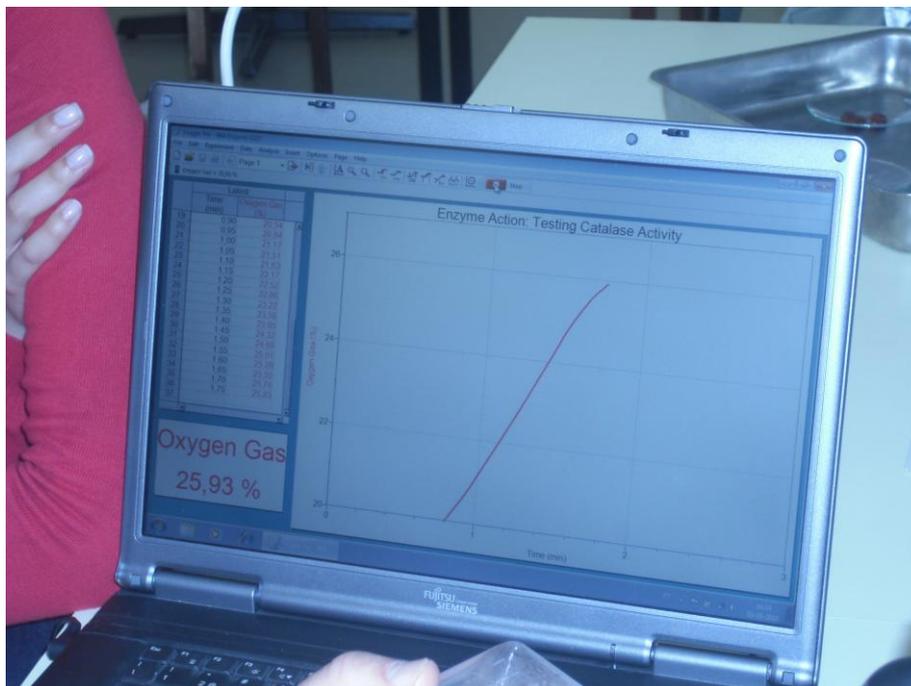
4. Verifique o pH nos tubos 3 e 4 utilizando o sensor de pH.

5. Coloque um fragmento de cerca de 200 mg de fígado cru no frasco.



6. Verta o conteúdo do tubo 1 no frasco do sensor de O_2 , tendo o cuidado para que este não entre em contacto com o fígado e coloque imediatamente o sensor.

7. Inicie o registo dos resultados logo que a solução entre em contacto com o fígado.



8. Repita este passo de acordo com as indicações do quadro seguinte, tendo o cuidado de não tocar no material biológico.

Tubo	Procedimento	Resultados
1	H ₂ O ₂ + fígado cru	Há libertação de O ₂
2	H ₂ O ₂ + fígado cru triturado	Há um aumento da libertação de O ₂ em relação ao tubo anterior
3	H ₂ O ₂ + 5 gotas de HCl + fígado cru	Libertação de O ₂ semelhante ao tubo anterior
4	H ₂ O ₂ + 5 gotas de NaOH + fígado cru	Não há libertação de O ₂
5	H ₂ O ₂ + fígado cozido	Não há libertação de O ₂

9. Elabore o relatório do trabalho efectuado, procurando responder às seguintes questões:

9.1 Procure explicar as diferenças de resultados entre os tubos 1 e 2

Verificou-se maior libertação de O₂ no tubo 2 porque, ao triturarmos o fígado, aumentamos a superfície de contacto com a enzima, daí haver maior libertação de O₂

9.2 O que pode concluir acerca do pH óptimo da enzima catalase?

O pH óptimo da enzima é 2,8, logo pH ácido, uma vez que comparando os tubos 3 e 4, apenas houve libertação de O₂ no tubo 3

9.3 Como explica os resultados do tubo 5?

Ao cozermos o fígado, este foi sujeito a temperaturas elevadas, assim ocorreu a desnaturação das enzimas e por isso não houve reacção.

Avaliação da actividade

10. Avalie a actividade que acabou de realizar, respondendo às seguintes questões:

	Sim	Não
1. Achou que o protocolo o ajudou na concretização da actividade?		
2. Achou a actividade interessante?		
3. Teve dificuldade em tirar conclusões?		
4. Mudaria alguma coisa no protocolo da actividade?		
5. Achou que o tempo para a realização da actividade foi suficiente?		

11. Se respondeu, afirmativamente à pergunta 4, indique o que alteraria no protocolo.



FIM

A professora: Fátima Carvalho