Atividade Laboratorial — Ação Enzimática

12.º Ano | Biologia | 3 páginas

Objetivo

Investigar experimentalmente a **ação da temperatura**, do pH e de **inibidores competitivo e não competitivo** sobre a velocidade da reação catalisada por uma enzima (α-amilase sobre o amido), interpretando os resultados, identificando fontes de erro, comunicando as conclusões e sugerindo melhorias na atividade experimental.

Material e reagentes

Solução de α-amilase · solução de amido a 1 % · soluções tampão a pH 3, 5, 7, 9 e 11 · solução de iodo · inibidor competitivo e inibidor não competitivo (soluções de trabalho fornecidas) · tubos de ensaio e suporte · pipetas graduadas · banho-maria com termómetro · cuba de gelo · cronómetro · conta-gotas.

> **Segurança e precisão:** o iodo mancha a pele e as roupas — usa luvas e batas e evita o contacto. Não provar nenhum reagente. Marca sempre o tempo com o **mesmo cronómetro** e mantém os tubos no banho o tempo indicado antes de iniciar a contagem.

Procedimento

1. Prepara tubos com 2 mL de amido e 1 mL de α-amilase; determina a **tempo de reação** (minutos até o iodo deixar de dar coração) como medida da velocidade.
2. **Ensaio A — temperatura:** mantém os tubos a 10, 25, 37, 50 e 65 °C (5 min), inicia a reação em cada um e cronometra até à hidrólise completa.
3. **Ensaio B — pH:** repete com os tampões pH 3, 5, 7, 9 e 11, sempre à temperatura óptima encontrada no ensaio A.
4. **Ensaio C — inibidores:** testa três condições: sem inibidor (controlo) · com inibidor competitivo à concentração normal de substrato · com inibidor competitivo e substrato em excesso · com inibidor não competitivo.
5. Regista os tempos nos quadros e calcula a **velocidade relativa** = (tempo mínimo observado ÷ tempo do ensaio) × 100 %.
6. Faz três repetições por condição e usa a média.

© 2026 Estudantices

Registo de dados

Ensaio A — temperatura (pH 7 constante):

Temperatura (°C)	**10**	**25**	**37**	**50**	**65**
Tempo até hidrólise (min)					
Velocidade relativa (%)					

Ensaio B — pH (temperatura óptima do ensaio A):

pH	3	5	7	9	11
Tempo até hidrólise (min)					
Velocidade relativa (%)					

Ensaio C — inibidores (substrato normal, salvo indicação):

Condição	**Tempo (min)**	**Velocidade relativa (%)**
Controlo (sem inibidor)		
Competitivo · substrato normal		
Competitivo · substrato em excesso		
Não competitivo		

R1. Porque é que os tubos têm de ficar 5 minutos na temperatura alvo *antes* de começar a contagem?

R2. Formula as tuas hipóteses: o que esperas ver à temperatura óptima e a 65 °C?

R3. O que esperas para o inibidor competitivo com substrato em excesso, em comparação com o não competitivo?

© 2026 Estudantices

Tratamento de resultados

T1. Calcula a velocidade relativa de cada linha do ensaio A e desenha o gráfico velocidade em função da temperatura.

T2. Identifica o pH óptimo no ensaio B. O que acontece nos extremos e porquê?

T3. Compara as duas linhas do inibidor competitivo. O que demonstra o excesso de substrato?

T4. Distingue as fontes de erro sistemáticas (temperatura do banho, concentração dos reagentes) das acidentais (cronometragem, leitura do teste de iodo).

Análise e conclusão

C1. Que forma tem o gráfico do ensaio A? Porque é que a queda a 65 °C é acentuada e pouco recuperável?

C2. Conclusão final em 3 frases sobre cada fator investigado (temperatura, pH, inibidores).

C3. Sugere uma melhoria concreta da atividade experimental e explica que erro ela reduziria.

Conclusão-chave (valores esperados, didáticos): Ensaio A: tempos **25 · 6 · 3 · 9 min** a 10 · 25 · 37 · 50 °C e **sem reação** a 65 °C → óptimo ≈ **37 °C**, queda brusca por **desnaturação** acima do óptimo, lentidão a baixa temperatura (enzima intacta). Ensaio B: óptimo ≈ **pH 7**, muito lento a pH 3 e pH 11 — nos extremos altera-se a carga do sítio ativo e, se persistir, a enzima desnatura. Ensaio C: competitivo com substrato normal ≈ **55 %**, com substrato em excesso ≈ **85 %** (o substrato compete e vence), não competitivo ≈ **40 %** (mais substrato não corrige). C3 (exemplo): usar banho-maria com agitação e cronómetro digital — reduz o erro de temperatura não uniforme e de cronometragem.

© 2026 Estudantices