

## Orientação para o professor

### Protocolo Experimental

Título: Cinética enzimática – Actividade das enzimas Lipase – Detergente doméstico em pó  
*Pseudomona cepacia*

Neste trabalho experimental medir-se-á a actividade enzimática pela a formação de ácidos gordos, que é o produto da hidrólise de lípidos e que pode ser verificado por meio de um eléctrodo de pH.

As lipases são classificadas como hidrólases e actuam sobre as ligações acilgliceróis, libertando ácidos gordos e glicerol.

#### Objectivos:

- ▶ Demonstrar experimentalmente o estudo da cinética enzimática, usando a Lipase- *Pseudomona cepacia* ou do detergente.
- ▶ Avaliar a actividade enzimática ao longo do tempo pela formação de produto medição de pH.

#### Método experimental

- Preparar 12 tubos de ensaio e identifica-los (tem em conta os ensaios em branco), conforme descrito na tabela I;
- Colocar 2ml de água destilada em todos os tubos de ensaio;
- Adicionar 1 g de margarina, em cada um dos tubos;
- Colocar os tubos em banho-maria a 40°C, inicia a contagem do tempo de hidrólise;
- Colocar em todos os tubos de ensaio 1 ml de enzima – *Pseudomona cepacia*; Detergente;
- De seguida resfriar em banho de gelo cada tubo de ensaio após cumprir o tempo de incubação;
- Transferir o conteúdo de cada tubo de ensaio para um erlenmeyer (de 100ml) contendo 10ml de solução de etanol-acetona (50 %);
- Mede o pH e regista na tabela I que se segue:



## Tabela I – Resultados

Apresentação dos resultados na tabela - Substrato margarina

| <b>Tubos</b>              | <b>1</b>   | <b>2</b>   | <b>3</b>   | <b>4</b>  | <b>5</b>   |
|---------------------------|------------|------------|------------|-----------|------------|
| Tempo de banho-maria 40°C | 0 minutos  | 10minutos  | 20minutos  | 30minutos | 45minutos  |
| Resfriar                  | 1 minuto   | 1 minuto   | 1 minuto   | 1 minuto  | 1 minuto   |
| <b>Tubos</b>              | <b>1</b>   | <b>2</b>   | <b>3</b>   | <b>4</b>  | <b>5</b>   |
| <b>tempo</b>              | 0 minutos  | 10minutos  | 20minutos  | 30minutos | 45minutos  |
| <b>pH</b>                 |            |            |            |           |            |
| <b>Tubos</b>              | <b>1 ‘</b> | <b>2’</b>  | <b>3’</b>  | <b>4’</b> | <b>5’</b>  |
| <b>tempo</b>              | 0 minutos  | 10 minutos | 20 minutos | 30minutos | 45 minutos |
| <b>pH</b>                 |            |            |            |           |            |

