

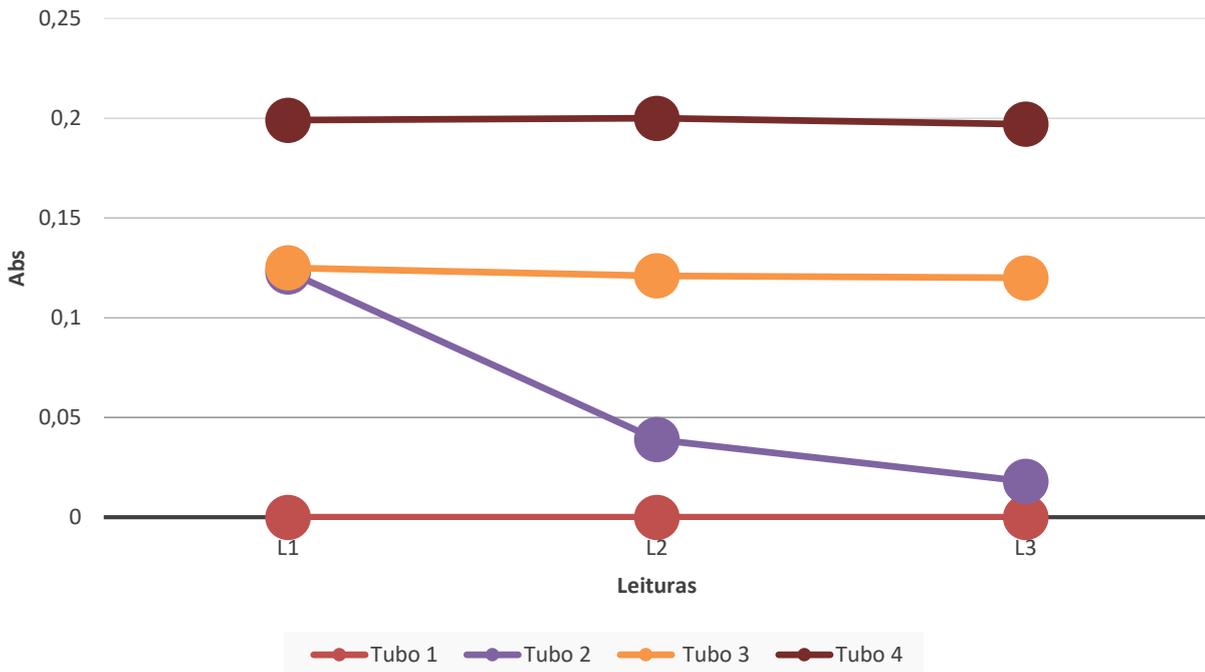


AULA 6. REAÇÃO DE HILL (FOTÓLISE DA ÁGUA)

1. Cortar em pedaços o espinafre (5 gramas) e colocar no almofariz
2. Macerar o espinafre adicionando Sacarose 0,35M aos poucos num total de 10 mL
3. Filtrar o homogenizado (funil com algodão) coletando em tubo de centrifuga (tubo Falcon)
4. Centrifugar a 1300 rpm durante 2 minutos
5. Passar o sobrenadante para novo tubo de centrifuga (cerca de 9 mL)
6. Centrifugar a 1300 rpm durante 7 minutos
7. Desprezar o sobrenadante
8. Ressuspender o precipitado (cloroplasto) em 10 mL de Sacarose em Tampão Fosfato
9. Colocar 1,5 mL da suspensão de cloroplasto no tubo de ensaio número 4. Ferver por 3 minutos em banho-Maria
10. Durante a fervura do tubo 4, distribuir 1,5 mL da suspensão de cloroplasto nos demais tubos (1,2, 3).
11. Adicionar uma pitada de ácido ascórbico no tubo 1
12. Adicionar 3 mL de Tampão Fosfato nos tubos 1,2,3 e 4.
13. Manter o tubo 3 no escuro (com a tampa)
14. Adicionar 0,5 mL de 2,6 DCF nos tubos 1,2,3 e 4
15. Fazer a leitura imediatamente (540 nm).
16. Deixar os tubos por 1 min à luz da lâmpada 100 W (tubo 3 com papel alumínio)
17. Repetir a leitura por mais 2 vezes.
18. Preencher a tabela abaixo.

TUBOS	SUSPENSÃO CLOROPLASTO (ML)	TAMPÃO FOSFATO (ML)	2,6-DCF (ML)	Leitura 1		1 min à lâmpada (100W)	Leitura 2		1 min à lâmpada (100W)	Leitura 3	
				T (%)	Abs.		T (%)	Abs.		T (%)	Abs.
1*	1,5 (ác. ascórbico)	3	0,5		0		0		0		
2	1,5	3	0,5		0,123		0,039		0,018		
3	1,5 (coberto com alumínio)	3	0,5		0,125		0,121		0,120		
4	1,5 (ferver 3')	3	0,5		0,199		0,200		0,197		

* Ajustar o "zero" do aparelho.



- Discutir os resultados:

a) Represente no Gráfico abaixo as três leituras dos tubos 2, 3 e 4.

b) Em quais tubos ocorrem fotólise? Por quê?

A fotólise ocorre no tubo 2 pois todos os componentes necessários para que a fotólise ocorra estão presentes e operando normalmente (cloroplastos, enzimas e luz).

No tubo 3, é possível que ocorra um pouco de fotólise, pois, apesar de ter sido deixado no escuro, em alguns momentos (durante as leituras) as amostra podem ter tido contato com a luz, o que faz com que aconteça a fotólise, mesmo que minimamente.

c) Em quais tubos não ocorre a fotólise? Por quê?

Não ocorre fotólise nos tubos 1 e 4.

No tubo 1, controle positivo, foi colocado o ácido ascórbico, um forte antioxidante, impedindo a perda de elétrons da água e conseqüentemente a redução do 6-DCF.

No tubo 4, não ocorre a fotólise pois durante a fervura da amostra contendo cloroplastos, as moléculas e enzimas foram degradadas, logo, não ocorre fotólise.