

# Metabolismo Energético 2023/2024

## Aula Prática

### *Espectro de Ação da Fotossíntese*

3 culturas de *Phaeodactylum tricornutum* cultivadas apenas recebendo um tipo de cor do espectro luminoso com recurso a um filtro.



Luz Total



Luz Azul



Luz Vermelha

Cada grupo escolhe uma cultura.

#### 1. Análise Fotoquímica (PAM) das Culturas

- Pipetar 1 mL de cultura para uma cuvette de plástico.
- Colocar a cuvette contendo a cultura no escuro durante 10 min.
- Após este período colocar a cultura no fluorímetro e fazer uma leitura OJIP.
- Calcule a densidade celular usando o parâmetro  $F_0$  e a equação:

$$[\text{Cells}] (\text{cell/mL}) = -3429 \times F_0 - 976200$$

- Calcular os fluxos relativos de energia aprisionada, transportada e dissipada.

#### 2. Análise Pigmentar

- Retirar 2 mL de cultura para um *ependorf*.
- Centrifugar as culturas (5 min, velocidade máxima).
- Descartar o sobrenadante.
- Adicionar 1 mL de MetOH ao *pellet*.
- Colocar os *ependorfs* com as amostras no banho de ultrasons durante 30 segundos.
- Colocar os tubos a extrair no congelador.
- Após finalização do protocolo do ponto 1 colocar as amostras extraídas a centrifugar (5 min, velocidade máxima).
- Analisar a absorvância dos extratos no espectrofotómetro a 632 nm e a 664 nm.
- Usando as equações abaixo calcule a concentração de clorofila *a* e *c* nas culturas, exprimindo ambas as concentrações mesmas por célula:

$$[\text{Chl } a] (\mu\text{g/mL}) = -2,6839 \times \text{Abs}_{630 \text{ nm}} + 13,2654 \times \text{Abs}_{664 \text{ nm}}$$

$$[\text{Chl } c] (\mu\text{g/mL}) = 28,8191 \times \text{Abs}_{630 \text{ nm}} - 6,0138 \times \text{Abs}_{664 \text{ nm}}$$