



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ – UESC  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DISCIPLINA: BIOFÍSICA / PROF<sup>a</sup> BIANCA MENDES MACIEL

### VIII. EFEITO DA OSMOLARIDADE DO MEIO SOBRE A INTEGRIDADE DAS HEMÁCIAS

NOME DOS COMPONENTES:

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_


#### OBJETIVOS:

- Demonstrar o efeito da osmolaridade do meio sobre a integridade das hemácias;
- Estimar o ponto de isotonicidade celular com relação à osmolaridade do meio extracelular

#### CONSIDERAÇÕES:

- Qualquer experimento que envolva cultivo de células, tecidos ou órgãos é primordial preservar a integridade estrutural da célula. Para isso, o ponto de isotonicidade celular deve ser determinado com relação à osmolaridade do meio externo.

#### MATERIAL

##### I. Equipamentos:

- Espectrofotômetro com cubetas
- Centrífuga

##### II. Vidrarias e utensílios:

- Tubos de ensaio 15 mL (tipo Falcon)
- Pipetas graduadas 10 mL
- Estantes para tubo de ensaio
- Pipetadores (ou peras)
- Micropipeta de 100  $\mu$ L
- Ponteiras
- Luvas
- Canetas para marcação em vidro
- Papel toalha
- Termômetro

##### III. Reagentes:

- Soluções preparadas na aula V: NaCl (0,2 M); KCl (0,2 M);  $\text{CaCl}_2$  (0,15 M); Sacarose (0,4 M); Manitol (0,4 M); Glicose (0,4 M)
- Sangue de ovino com EDTA
- Água destilada

#### PROCEDIMENTO:

1. Dilua uma das soluções (uma solução por grupo), conforme o quadro a seguir:

TUBOS	SOLUÇÃO (mL)	ÁGUA (mL)	CONCENTRAÇÃO (Osm.L <sup>-1</sup> )	PRESSÃO OSMÓTICA (mmHg)
[1]	2	8		
[2]	3	7		
[3]	4	6		
[4]	5	5		
[5]	6	4		
[6]	7	3		
[7]	8	2		
[8]	9	1		

2. Calcule as concentrações osmolares e as pressões osmóticas das soluções;
3. Meça a temperatura dos tubos (basta apenas medir de um dos tubos);
4. Adicione em cada tubo 0,1 mL de sangue (use luvas), agite cuidadosamente por inversão e deixem em repouso por 5 minutos;
5. Em seguidas, centrifugue a 2.500 rpm por 5 minutos;
6. Transfira o sobrenadante para uma cubeta de colorímetro e meça a absorbância a 540 nm.

**ANOTAÇÃO DOS RESULTADOS:**

TUBOS	CONCENTRAÇÃO (mOsm.L <sup>-1</sup> )	A (540 nm)
[1]		
[2]		
[3]		
[4]		
[5]		
[6]		
[7]		
[8]		

**EXERCÍCIOS:**

- 1) ***Construa um gráfico (no Excel) relacionando a absorbância (na ordenada) e a osmolaridade da solução (na abscissa).***
  
  
  
  
  
  
  
  
  
  
- 2) ***Com base nos seus dados, faça uma estimativa da osmolaridade no interior das hemácias.***
  
  
  
  
  
  
  
  
  
  
- 3) ***Que conclusões podem ser tiradas acerca da integridade das hemácias em função da concentração da solução no experimento realizado?***
  
  
  
  
  
  
  
  
  
  
- 4) ***De acordo com a literatura, uma solução de NaCl a 0.9% é isosmolar com o sangue. Isto está de acordo com os seus resultados? Apresente explicações para possíveis discrepâncias:***