

PRÁTICA Nº. 4.6

EFEITOS DA TEMPERATURA SOBRE A PERMEABILIDADE DAS MEMBRANAS CELULARES

INTRODUÇÃO

Segundo o modelo do mosaico-fluido, atualmente aceito, as biomembranas são estruturas fluidas constituídas por moléculas de lipídios que se organizam em dupla-camada, na qual as proteínas encontram-se embebidas, formando um mosaico. Devido à apolaridade (hidrofobicidade) dos lipídios e das proteínas que formam a sua estrutura, as biomembranas, além de apresentarem permeabilidade seletiva, também promovem a separação de compartimentos aquosos.

As células das raízes de beterraba contêm um pigmento vermelho e hidrossolúvel, a betanina, pertencente ao grupo das betacianinas que, juntamente com as betaxantinas, formam uma classe de pigmentos vermelhos e amarelos (betaláinas). A estrutura molecular das betaláinas não guarda relação com a das antocianinas, mas elas, como os flavonoides em geral, possuem um açúcar em sua molécula. A parte da molécula de betanina sem o açúcar é a betanidina, que ainda conserva a sua cor. Ao contrário das antocianinas, as betaláinas não mudam de cor em resposta a variações no pH. O tonoplasto e a plasmalema são essencialmente impermeáveis às antocianinas e às betaláinas. Entretanto, em resposta a certos tratamentos, a permeabilidade das membranas pode aumentar, fazendo com que esses pigmentos extravasem das células.

Devido à constituição bioquímica e estrutural das membranas biológicas, elas são muito sensíveis a variações na temperatura. O aumento da temperatura resulta em aumento na energia cinética fazendo com que os átomos das proteínas vibrem e se movam mais, facilitando a quebra das ligações iônicas e de pontes de hidrogênio nas moléculas de proteína, alterando a conformação do sistema. Como resultado, as proteínas não conseguem controlar o fluxo de substâncias para dentro e para fora da membrana, o que leva à perda da seletividade. Temperaturas muito elevadas também podem levar à desnaturação de proteínas, causando desorganização global da estrutura das membranas.

Por sua vez, devido à transição de fases dos lipídios, temperaturas muito baixas também interferem na estrutura das membranas celulares, promovendo a sua ruptura e a perda de seletividade. A intensidade dos danos nas membranas causados por temperaturas baixas depende, dentre outros fatores, da constituição da membrana, da duração e da intensidade do frio, assim como, das velocidades de formação e de derretimento dos cristais de gelo nos tecidos.

OBJETIVOS

Observar os efeitos de temperaturas diversas sobre a permeabilidade das membranas de células das raízes de beterraba.

MATERIAIS

- Raízes de beterraba



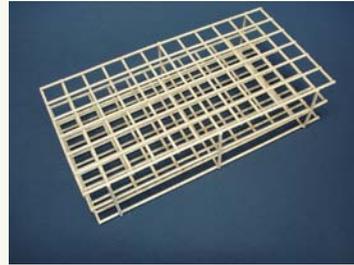
- Banho-maria



- Tubos de ensaio (12,5 x 1,5 cm)



- Suporte para tubo de ensaio



- Pipeta de 10 mL



- Espectrofotômetro



- Perfurador de rolhas



PROCEDIMENTOS

Com um perfurador de rolhas de cerca de 10 mm de diâmetro, retire cilindros de uma raiz de beterraba vermelha. Corte cinco segmentos de coloração homogênea com 20 mm de comprimento e lave-os por cerca de 5 minutos em água corrente, até que não saia mais pigmentos das superfícies dos cortes. Mantenha um cilindro no congelador (-15°C) por mais ou menos uma hora e coloque os cilindros restantes em tubos de ensaio contendo 13 mL de água destilada. Leve os tubos de ensaio para banhos às temperaturas de -1, 5, 18, 50 e 80°C, mantendo-os nessas condições por cerca de uma hora. Retire o cilindro do congelador e coloque-o em um tubo de ensaio contendo 13 mL de água destilada. Após 30 min, inverta esse tubo algumas vezes e, após 5 min, retire o cilindro do seu interior. Proceda da mesma forma para os tubos de ensaio mantidos nas diferentes temperaturas.

Transfira parte do conteúdo de cada tubo para uma cubeta de espectrofotômetro e leia as respectivas absorvâncias a 425 nm. Construa um gráfico colocando as temperaturas na abscissa e as absorvâncias na ordenada. Na falta de um espectrofotômetro, é possível se fazer observações visuais.