**Aula prática sobre osmose**

Nessa aula usaremos hemácias como modelo para estudarmos o fluxo de água pela membrana celular em resposta a alterações da tonicidade externa.

*Material*:

-9 a 12 Tubos *Eppendorffs* de 1,5 ml.

-Pipetas automáticas de 2 e 1000 µl e respectivas ponteiras.

-Microlancetador para extração do sangue ou agulha de insulina.

-Microscópio.

-Placa com de 24 poços

-Pipeta Pasteur

-Soluções de NaCl 145 mM (salina), 75 mM e 300 mM.

-Soluções de sacarose de 150 mM, 290 mM e 600 mM

-Solução de uréia de 290 mM.

-Agua destilada.

*Métodos*:

1-Pipete 7 tubos *Ependorff* com 1,5 ml de cada solução e rotule-os. Um tubo preencha com 1,5 ml de água destilada.

2-Calcule a osmolaridade e pressão osmótica para cada solução. Assuma coeficientes de reflexão para o NaCl e sacarose de 1 de uréia de 0,2.

3-Em um osmômetro meça e anote a osmolaridade de cada solução de acordo com as instruções da pessoa responsável pelo equipamento.

4- Retire de 1 a 3 voluntários 3 gotas de sangue do dedo indicador com o microlancetador ou com uma agulha de insulina. Pingue o sangue de cada voluntário em um tubo *Eppendorff* diferente. **Use agulhas novas para cada indivíduo.** Para evitar a coagulação inicie rapidamente o passo 3.

5- Pipete 2 µl de sangue em cada tubo. Agite os tubos para homogeneizar. Observe a suspensão defronte a uma folha de papel contra uma fonte de luz. Observe a opacidade das soluções e anote suas observações.

6-Pingue com uma pipeta Pasteur uma gota de cada suspensão (ou pipete 0,5 ml) em cada poço da placa. Espere por volta de 10 minutos e observe as hemácias no microscópio. Compare o volume e forma das hemácias em cada situação e anote. Tire fotos com seu celular aproximando a lente da câmera da ocular do microscópio para registro.

7-Misture agora 0,75 ml da solução de ureia 290 mM com a mesma quantidade de sacarose 290 mM ou de salina 100%. Repita os experimentos e observe a turbidez da solução e depois no microscópio.

*Responda*

1-Discuta seus resultados de acordo com a osmolaridade calculada, medida e medida e pressão osmótica efetiva.

2-Quais seriam os coeficientes de reflexão da sacarose, NaCl e ureia. Quais são as implicações disso sobre a osmolaridade e a tonicidade das soluções.

3-Em que situação o NaCl poderia perder o seu efeito de mantenedor da pressão osmótica efetiva plasmática? O que aconteceria com as células nessa situação? Explique.

4- Explique os resultados do experimento 7