

Instituto Politécnico, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Nova Friburgo, RJ

SILVA, E. C. DA; MANSANARES, A. M.; VARGAS, H.
Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP

The Open Photoacoustic Cell (OPC) technique is a particularly suitable tool for the *in vivo* and *in situ* study of plant leaves, as described elsewhere [1]. In this work we used the OPC technique for monitoring the photosynthesis induction in dark-adapted plants of maize and eucalyptus. The photoacoustic signal in plant leaves has two contributions, namely, the photothermal contribution and the photobaric contribution. The former is related to the heat production in the leaf due to the absorption of the excitation light. The later is due to the oxygen evolution resulting from the photochemical reactions. Both contributions are modulated at the excitation frequency and engender pressure oscillations at the photoacoustic chamber, thus being detected by the microphone. Monitoring the OPC signal of previously dark adapted plant leaves, as a function of the time of exposition to the excitation light, is a straight way to obtain photosynthesis induction curves. For short excitation time the OPC signal represents the photothermal contribution, since no oxygen is evolved immediately after the leaf is exposed to light. The photobaric contribution appears after a characteristic time, and it is superimposed on the photothermal contribution, thus increasing the total signal, which reaches a saturation level for long exposition. The whole curve has, generally, an S-shape. Analyzing this curve, and extracting its characteristic parameters, one can evaluate the photosynthesis efficiency of the plant.

It is presented here data obtained on three maize families, each one consisting of two inbred lines and their hybrid. The photosynthesis efficiency is discussed based upon the plant genotypes. As another application of the technique, one shows results on eucalyptus exposed to different stress conditions.

[1] A. C. Pereira *et al*, Meas. Sci. Technol. **3**, 931 (1992).

ESTUDOS COM MARCADORES DE SPIN DA PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO DE PEPTÍDEOS MELANOTRÓPICOS EM MEMBRANAS LIPÍDICAS

RISKE, K. DO A.; BIAGGI, M. H.; FREUND, M. T. L.

Instituto de Física - Universidade de São Paulo - SP

A interação dos peptídeos melanotrópicos, "α-Melanocyte stimulating hormone" (α-MSH, Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂) e do análogo [Nle⁴,DPhe⁷]-α-MSH com membranas lipídicas foi investigada por RPE utilizando-se marcadores de spin. O α-MSH é um hormônio fisiologicamente importante nos processos

que regulam a pigmentação da pele e o seu análogo é mais ativo que o hormônio natural. Embora os hormônios peptídicos interajam com a membrana celular através de receptores proteicos (Castrucci et al. *Drugs of the Future*, **15**, 41, 1990) supõe-se que a fase lipídica das membranas tenha significativa importância, facilitando a interação peptídeo-receptor (Sargent e Schwyzer, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. **83**, 57 74, 1986). Vesículas unilamelares (diâmetro aproximado de 1000 Å) de dimiristoil fosfatidilglicerol (DMPG) foram preparadas com 1% em molas de marcadores de spin com o grupo nitroxido em diversas posições da cadeia hidrocarbônica, permitindo assim a monitoração dos efeitos destes peptídeos em diferentes profundidades da bicamada e também a compararação com resultados obtidos por fluorescência (Macedo, Z., *Dissertação de Mestrado - USPIF- 1993*). A análise dos espectros destes marcadores mostrou que ambos os peptídeos (carregados positivamente em pH fisiológico) interagem com a membrana de DMPG (carregada negativamente) alterando sua estrutura. Foram observadas modificações nos espectros tanto acima quanto abaixo da temperatura de transição de fase do lipídio, sendo que acima os hormônios causam uma diminuição da fluidez da bicamada enquanto abaixo o efeito é oposto. Também foi observado um efeito maior do análogo em relação ao hormônio natural. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP, BID e FINEP.

ESTUDO POR R.P.E. DE TRIGO IRRADIADO COM ⁶⁰Co

CATTANI, M. M.; MASTRO, N. L. D.

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN/CNEN-SP

ITO, A. S.; SANO, W.

Universidade de São Paulo

Um dos mais recentes métodos utilizados para a conservação de alimentos é o da irradiação. Estudamos modificações produzidas pelo processo de irradiação do trigo com raios γ do ⁶⁰Co, através do monitoramento dos sinais de radicais livres induzidos pela radiação. Amostras de trigo foram estudadas na forma de: farelo, gérmen, grão e farinha. O farelo e o gérmen irradiados apresentam um sinal singleto sem estrutura hiperfina, tendo o gérmen um sinal mais largo. Os grãos de trigo inteiros apresentam um espectro R.P.E. complexo, provavelmente devido a uma mistura de radicais induzidos nos seus constituintes. A farinha de trigo, que é predominantemente um polímero de glicose, apresenta espectro composto por 4 tipos de sinais, 2 dubletos e 2 tripletos, conforme resultados de simulação espectral. Neste último caso, os sinais originaram-se de radicais livres localizados em diferentes carbonos da estrutura da glicose. Verificamos ainda que as intensidades dos sinais crescem e saturam com o aumento da dose de irradiação. Finalmente, observamos que a umidade e a pre-

sença de O₂ influenciam no tipo de radical e no número de radicais induzidos além de alterar as cinéticas de decaimento. (Apoio Financeiro: CNPq)

**PENETRAÇÃO DO HORMÔNIO
MELANÓCITO ESTIMULANTE EM
VESÍCULAS DE FOSFOLIPÍDIOS: ESTUDO
ATRAVÉS DA FLUORESCÊNCIA DO
TRIPTOFANO**

MACÊDO, Z. S.; FURQUIM, T. A. C.; ITO, A. S.
Instituto de Física, Universidade de São Paulo

A interação do α -MSH com vesículas fosfolipídicas unilamelares foi estudada por espectroscopia de fluorescência de estado estacionário. O comprimento de onda de excitação era 290nm, correspondendo à excitação do resíduo Trp do α -MSH. Nas titulações com vesículas preparadas com DMPG e DMPS, foram observados deslocamentos espectrais de cerca de 15nm para o azul, e aumentos de rendimento quântico do espectro de fluorescência do α -MSH na presença de vesículas, comparado com o espectro da solução de α -MSH em tampão Hepes (pH=7,2). Este comportamento indica mudança do resíduo Trp do hormônio do meio aquoso para outro meio menos polar. Empregando os dados das titulações, fizeram-se gráficos de Scatchard e Recíprocos, utilizando-se o modelo de Gouy-Chapman para a análise da contribuição eletrostática para a interação. As constantes de dissociação (K_d) e o número de lipídios (n) que interagem com uma molécula de α -MSH determinados foram: $K_d = (9 \pm 1) \cdot 10^{-3}M$ e $n = 9 \pm 4$ para interação com DMPG, e $K_d = (13 \pm 1) \cdot 10^{-3}M$ e $n = 81 \pm 4$ para interação com DMPS. Experimentos de supressão de fluorescência do α -MSH por acrilamida e iodeto indicaram que, em presença de vesículas à proporção de $[DMPG]/[\alpha - MSH] = 75$, apenas 60% das moléculas do hormônio encontram-se acessíveis ao supressor. Determinou-se a profundidade de penetração do resíduo triptofano do α -MSH na membrana, através da supressão de fluorescência por marcadores de spin ligados em diversas posições da cadeia hidrocarbônica. Os resultados foram analisados através do método da paralaxe, indicando que o Trp encontra-se a uma distância entre 7.7 e 9.3Å do centro da bicamada. (Apoio financeiro: CNPq, FAPESP e CAPES)

**Observação da germinação de grãos de milho
com holografia**

LESCHÉ, B.; MILMAN, P.
Instituto de Física UFRJ

A holografia é uma técnica de gravação de imagens que permite gravar a informação óptica de maneira completa incluindo informação sobre a fase das ondas luminosas. Com imagens holográficas podemos superimpor as ondas refletidas por um objeto original com as on-

das refletidas por o mesmo objeto após ter sofrido uma pequena deformação. As figuras de interferência resultantes dão informação sobre a deformação. Este é o método de interferometria holográfica. Estudamos os movimentos de grãos de milho durante apenas 2 minutos com interferometria holográfica. Comparamos grupos de grãos secos, molhados e molhados e cozidos. Encontramos os maiores movimentos nos grãos molhados e não cozidos. O método é potencialmente uma ferramenta para estudos dos processos bio-físicos e químicos durante a germinação.

**ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS DE
HEMOGLOBINA DE GLOSSOSCOLEX
PAULISTUS E SUAS SUBUNIDADES:
DICROISMO CIRCULAR E
FLUORESCÊNCIA.**

TABAK, M.; TINTO, M. H.; IMASATO, H.
Universidade de São Paulo-IFQSC

Nos últimos anos temos estudado as propriedades espectroscópicas da hemoglobina (Hb) de *G. paulistus* (G.p.), uma Hb extracelular de peso molecular cerca de 3,1 MDa sendo uma estrutura oligomérica complexa. Estudos recentes de uma Hb homóloga (*L. terrestris*, Ownby et al. 1993) mostraram a existência de trímeros ligados por pontes dissulfeto, monômeros contendo grupos heme e proteínas "linkers", cuja função é estrutural, sem heme. Na Hb de G.p. na forma oxí a cromatografia em pH 7 evidencia uma única banda (proteína não dissociada) e a pH 9 ocorre dissociação em oligômeros (abcd)₂, trímeros e monômeros. Na forma meta a pH 7 a proteína encontra-se na forma não dissociada e a pH 9 a dissociação é completa em duas bandas: trímeros e monômeros. Nos interessa avaliar a contribuição dos resíduos aromáticos para a fluorescência e o dicroísmo circular (DC). Os rendimentos quânticos (RQ) dos triptofanos obtidos foram de $2,9 \times 10^{-3}$ e $4,3 \times 10^{-3}$ para a Hb nativa e o monômero ambos na forma oxí. Na forma oxidada obtivemos RQ de $4,6 \times 10^{-3}$ e $1,6 \times 10^{-2}$ para a proteína íntegra e o monômero. Esses valores são consistentes com os baixos valores de RQ encontrados em hemoproteínas. A análise dos espectros de DC foi realizada usando o algoritmo de "convex constraint" desenvolvido por Fasman e que permite estimar as contribuições de estrutura secundária. Em nosso caso observou-se um baixo conteúdo de α -hélice e uma contribuição significativa dos resíduos aromáticos em especial no caso da metaHb. A modelagem do monômero da Hb de *L. terrestris* está sendo feita por E. Viana e R. Garrat e os resultados preliminares mostram que um dos triptofanos tem uma orientação bastante diferente da que ocorre nas subunidades de Hb humana e mioglobina. Desta forma julgamos que em Hb de G.p. a importância dos resíduos aromáticos seja grande tanto na estrutura secundária quanto na fluorescência. Os dados espectroscópicos em conjunto com a modelagem