6.17. MEMBRANOS RAMYBĖS POTENCIALO TYRIMAS

Darbo tikslas

Nustatyti potencialų skirtumą tarp dviejų skirtingos koncentracijos elektrolito tirpalų, atskirtų membrana.

Darbo užduotys

- Nustatyti membranos ramybės potencialus skirtingų koncentracijų skysčių kombinacijoms.
- Apskaičiuoti teorines membranos potencialo vertes ir jas palyginti su eksperimentinėmis vertėmis.

Teorinės temos

- Membranos struktūra, savybės ir funkcijos.
- Membranos ramybės potencialas.
- Difuzija ir aktyvioji pernaša.
- Parametrai, darantys įtaką difuzijos spartai.
- Nernsto potencialas.

Darbo priemonės ir prietaisai

„Cobra3 Chem-Unit“ matavimo sistema, „Ussing“ kamera su membrana, pH matavimo elektrodas, skaitmeninis termometras, buteliukai su skirtingų koncentracijų HCl, NaCl ir KCl tirpalais, kompiuteris su programine įranga.

Darbo metodika

Tirpalų elektrinį laidumą lemia juose ištirpusių druskų jonai. Tirpalo elektrinis laidumas priklauso nuo jonų koncentracijos, ištirpusių druskų tipo, temperatūros. Gyvųjų organizmų ląstelėse, nervų sistemoje pagrindinė gyvybinė informacija perduodama nerviniais signalais, kurie fizikiniu požiūriu yra ne kas kita, kaip skirtingos koncentracijos tirpalų sąveika per juos skiriančią membraną. Per membraną vyksta ištirpusių druskos jonų perėjimas iš vieno tirpalo į kitą – difuzija. Jonų perdavimas per membraną vyksta abiem kryptimis, tačiau jonų perėjimas iš didesnės koncentracijos tirpalo į mažesnės koncentracijos tirpalą vyksta kur kas sparčiau nei priešinga kryptimi, todėl dažniausiai yra laikoma, kad difuzija vyksta tik viena kryptimi – iš didesnės koncentracijos tirpalo į mažesnės.

6.17.1 pav. Kamera „Ussing“ su dviem elektrodais

Tirpaluose esančių teigiamųjų ir neigiamųjų druskos jonų (pvz., Na^+ ir Cl^-; K^+ ir Cl^-) charakteristikos skiriasi, todėl jų laidumas per membraną nėra vienodas – vieni jonai lengviau difunduoja per membraną, kiti sunkiau. Dėl to, vykstant jonų difuzijai per membraną, vienoje jos pusėje

ima kauptis daugiau teigiamųjų jonų, o kitoje – daugiau neigiamųjų. Taip membranoje susidaro potencialų skirtumas, kuris sukuria (dėl Kulono jėgų) pasipriešinimą jonų difuzijai. Kai jonų koncentracijos gradientas (koncentracijų skirtumas abiejose membranos pusėse) atsveria elektrinio potencialo gradientą, nusistovi pusiausvyra, o membranoje susidaręs elektrinis potencialas yra vadinamas membranos ramybės potencialu.

Membranoje susidarantį potencialų skirtumą aprašo Nernsto potencialas:

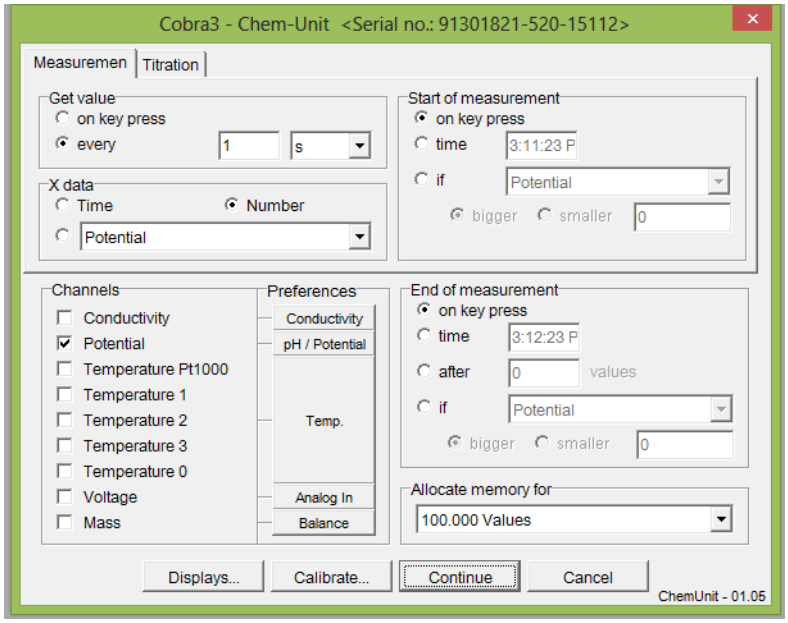
$$E = \frac{RT}{zF} ln\left(\frac{c_1}{c_2}\right), \qquad (6.17.1)$$

čia R – universalioji dujų konstanta, T – termodinaminė tirpalo temperatūra, z – elektronų molių skaičius, perduotas per membraną, F – Faradėjaus konstanta, c_1 ir c_2 – vienoje ir kitoje membranos pusėje esančių tirpalų koncentracija.

Šiame laboratoriniame darbe dviejų skirtingų koncentracijų tirpalų potencialų skirtumui matuoti yra naudojama „Ussing“ kamera (6.17.1 pav.), kuri sudaryta iš dviejų atskirų talpyklų, skirtų tirpalams įpilti, atskirtų membrana. Šios kameros šonai yra padengti skaidriu organiniu stiklu, kad būtų matyti, kiek įpilta skysčio.

Darbo eiga

1. Išėmus varžtus sudrėkinta membrana ištempiama per vidinį „Ussing“ kameros langelį. Plėvelė pritvirtinama su elastine juostele ir paliekama išdžiūti maždaug 5 minutėms. Šį punktą atlikti reikia tik jei nurodo inžinierius!
2. Įstatoma antroji kameros pusė. Abi kameros pusės sutvirtinamos varžtais, kurie perveriami per plėvelę (6.17.1 pav.). Šį punktą atlikti reikia tik jei nurodo inžinierius!
3. Abu sidabriniai elektrodai įjungiami į „Cobra3 Chem-Unit“ matavimo sistemą naudojant BNC laidą arba 4 mm adapterį. Pastarasis prijungiamas prie „Cobra3 Chem-Unit“ matavimo sistemos BNC jungties (6.17.3 pav., 8). „Cobra3 Basic-Unit“ matavimo sistema USB kabeliu prijungiama prie kompiuterio (6.17.3 pav., 11) ir įjungiamas maitinimas (6.17.3 pav., 14).
4. Nuėmus apsauginius gaubtus, abu elektrodai įstatomi į cilindrą su 0,1 mol/l KCl tirpalu. KCl tirpale jie turi būti laikomi visada tarp visų matavimų, net kai nenaudojami! Šis tirpalas yra kalibracinis. Vykdant 5–10 darbo



6.17.2 pav. Eksperimento parametrai, įrašomi lange „New measurement“

eigos punktus patikrinama, ar elektrodų potencialas kalibraciniame tirpale yra lygus nuliui. Jei ne, šią vertę reikės atimti iš tolesnių matavimų rezultatų.

5. Kompiuteryje paleidžiama „measure Cobra3“ programa.
6. Naudojantis programa, paleidžiamas naujas eksperimentas: paspaudžiamas meniu „File“ ⇨ „New measurement“ (liet. *Failas* ⇨ *Naujas matavimas*). Atsivėrusiame lange įvedami eksperimento parametrai, parodyti 6.17.2 paveiksle. Jie turėtų būti tokie: laukelyje „Get value“ (liet. *Pamatuoti vertę*) pasirenkama „every“ (liet. *kiekvieną*), laukelyje „X data“ (liet. *X duomenys*) pasirenkama „number“ (liet. *skaičius*), laukelyje „Channels“ (liet. *Kanalai*) pasirenkama „Potential“ (liet. *Potencialas*).
7. „Naujo matavimo“ lange spaudžiamas mygtukas „Continue“ (liet. *Tęsti*).
8. Paspaudus mygtuką „Start measurement“ (liet. *Pradėti matavimą*) pradedamas matavimas.
9. Palaukus apie 10 sekundžių, matavimas sustabdomas mygtuku „Stop measurement“ (liet. *Baigti matavimą*).
10. Apskaičiuojama vidutinė potencialo vertė: programos meniu juostoje pasirenkama „Analysis“ ⇨ „Show average value“ (liet. *Tyrimas* ⇨ *Rodyti vidutinę vertę*).
11. 1-oje lentelėje parodytos galimos įvairių skysčių, kuriuos galima naudoti eksperimentuose, kombinacijos. Šiame darbe reikės išbandyti jas visas arba tas, kurias nurodys inžinierius. Abi „Ussing“ kameros pusės pripildomos pasirinktos koncentracijos NaCl tirpalų. Abi kameros dalis visuomet reikia pripildyti vienu metu (galima naudotis dviem menzūrėlėmis).
12. Tiriamų tirpalų temperatūros pamatuojamos skaitmeniniu termometru.
13. Elektrodai išimami iš cilindro su kalibraciniu tirpalu ir įstatomi į tiriamus tirpalus, supiltus į „Ussing“ kamerą (6.17.1 pav.).
14. Kartojant darbo eigos 6–10 punktus, apskaičiuojama potencialo tarp elektrodų vertė. Jei potencialų skirtumas tarp elektrodų kalibraciniame tirpale buvo nelygus nuliui, jį reikia atimti iš šio rezultato (4 darbo eigos punktas).
15. Elektrodai maždaug 2 minutėms dedami į kalibracinio tirpalo pripildytą indą.
16. 14–15 punktuose aprašyti žingsniai pakartojami iš viso tris kartus. Pagal visų trijų matavimų rezultatus apskaičiuojama vidutinė ramybės potencialo vertė.
17. Apskaičiuojami teoriniai membranos difuzijos potencialai. Naudojama iš Nernsto ir Planko lygties (6.17.1) išvesta formulė:

$$\varepsilon[mV] = \frac{\mu - \upsilon}{\mu + \upsilon} \cdot 0.2T \lg\frac{a_1}{a_2}, \qquad (6.17.2)$$

čia T – absoliučioji tirpalo temperatūra, μ – katijonų difuzijos sparta, υ – anijonų difuzijos sparta, a_1 – didesnės koncentracijos tirpalo aktyvumas, a_2 – mažesnės koncentracijos tirpalo aktyvumas. Aktyvumas lygus koncentracijai, padaugintai iš aktyvumo koeficiento ($a = c \cdot f$).

18. Eksperimentiškai pamatuoti ir teoriškai apskaičiuoti difuzijos potencialai palyginami.

1 lentelė. NaCl tirpalų kombinacijos eksperimentui

	1 matavimas	2 matavimas	3 matavimas	4 matavimas	5 matavimas
Kameros dalis su didesnės koncentracijos tirpalu	100 ml 0,01 mol/l NaCl	100 ml 0,1 mol/l NaCl	100 ml 0,1 mol/l NaCl	100 ml 1 mol/l NaCl	100 ml 1 mol/l NaCl
Kameros dalis su mažesnės koncentracijos tirpalu	100 ml 0,001 mol/l NaCl	100 ml 0,001 mol/l NaCl	100 ml 0,01 mol/l NaCl	100 ml 0,01 mol/l NaCl	100 ml 0,1 mol/l NaCl

2 lentelė. Difuzijos sparta

μ, katijonas	Sparta (cm/s)	υ, anijonas	Sparta (cm/s)
H^+	318	OH^-	174
Na^+	43,5	Cl^-	65,4
K^+	64,7		

3 lentelė. Tirpalų aktyvumo koeficientai

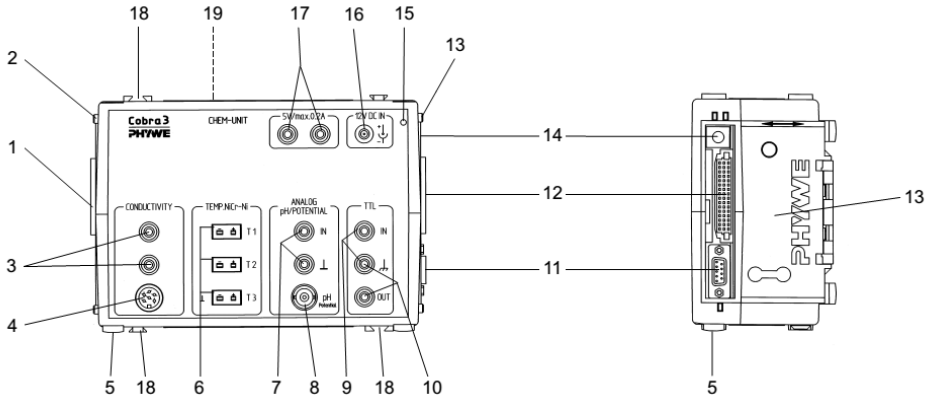
	0,001 mol/l	0,01 mol/l	0,1 mol/l	1 mol/l
NaCl	0,966	0,906	0,786	0,664
KCl	0,965	0,902	0,771	0,611

Literatūra

1. J. Butrimaitė, A. Dementjev, G. Dikčius, R. Gadonas, J. Jasevičiūtė, V. Karenauskaitė, V. Sirutkaitis, V. Smilgevičius, Fizika biomedicinos ir fizinių mokslų studentams, 2 dalis, vadovėlis, Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 2004, 351 p. ISBN 9986-19-595-9.
2. B. H. Brown, R. H. Smallwood, D. C. Barber, P. V. Lawford, D. R. Hose, Medical Physics and Biomedical Engineering, New York N.Y.; London: Taylor and Francis, 1999.
3. Arthur C. Guyton, John E. Hall, *Textbook of medical physiology*, Philadelphia Pa.: Saunders/Elsevier, 2011.
4. Irving P. Herman, *Physics of the human body*, Berlin; Heidelberg: Springer, 2007.

Priedas

„Cobra3 Chem-Unit“ matavimo sistema



6.17.3 pav. „Cobra3 Chem-Unit“ matavimo sistemos pagrindinės dalys

1. Praplėtimo jungtis (48 kojelių) papildomai matavimo sistemai prijungti.
2. Jungimo elementai papildomam matavimo prietaisui pritvirtinti.
3. 4 mm kištuko jungtis elektriniam laidumui matuoti.
4. Jungtis laidumo ir temperatūros zondams arba Pt1000 temperatūros zondams su diodu prijungti. Jei prie šios jungties prijungiamas laidumo ir temperatūros zondas, dar vieno laidumo zondo prijungti negalima (3).
5. Guminės kojelės.
6. Termoporų su DIN kištukais (K tipo) NiCr-Ni jungtys.
7. Įžeminta analoginio signalo įvesties jungtis su dviem 4 mm lizdais įtampoms tiesiogiai matuoti ±3,2 V, ±32 V ir ±81 V ribose.
8. BNC jungtis pH elektrodams.
9. TTL jungtis su apsaugotais 4 mm lizdais TTL impulsams matuoti.
10. TTL jungtis su apsaugotais 4 mm lizdais matavimams reguliuoti su TTL impulsais.
11. RS232 jungtis. 9-ių kojelių SUB-D lizdas prijungti matavimo sistemai prie kompiuterio serijinės jungties.
12. Praplėtimo jungtis (48 kojelių) papildomai matavimo sistemai prijungti.
13. Jungimo elementai papildomam matavimo prietaisui pritvirtinti.
14. Šoninė 12 V įtampos šaltinio jungtis. Alternatyvi priekyje esančiai 16-ai jungčiai.
15. Indikacinis žalias šviesos diodas, šviečiantis, kai įrenginys yra įjungtas. Kai kuriuose eksperimentuose šviesos diodas gali būti naudojamas kaip signalas.
16. Priekinė 12 V įtampos šaltinio jungtis. Alternatyvi 14-ai jungčiai.
17. Fiksuotos įtampos (5 V / max. 0.2 A) išėjimo signalo jungtys.
18. Mechaninės jungtys keliems prietaisams sujungti.
19. Jungiamasis gnybtas.