

A15. Pomiar stężenia białek w układzie modelowym osocza krwi

Celem ćwiczenia jest poznanie metody pomiaru gęstości i stężenia miniaturowych próbek roztworów, wykorzystującej prawo Stokesa oraz zjawisko opadania kropli.

Zjawiska i prawa fizyczne wykorzystuje się powszechnie we wszystkich dziedzinach działalności człowieka, również w diagnostyce medycznej. Stężenie białek w surowicy krwi jest jednym z podstawowych wskaźników diagnostycznych wielu chorób oraz monitoringu przebiegu różnych przewlekłych schorzeń. Problemem zasadniczym w procedurach oznaczeń stężenia białek w osoczu krwi są bardzo małe objętości dostępnego materiału badawczego.

W związku z tym, użyteczna okazuje się metoda wynikająca z analizy zjawiska opadania pojedynczych kropli roztworu w lepkim ośrodku ciągłym.

Kropla osocza o masie m_x (złożona w ponad 90% z wody), po umieszczeniu w ośrodku hydrofobowym, np. w oleju, przyjmuje kształt kuli o promieniu r , a więc $m_x=4/3\pi r^3\rho_x$, gdzie ρ_x jest poszukiwaną gęstością roztworu, bezpośrednio związaną ze stężeniem c_x substancji rozpuszczonej. W polu grawitacyjnym, na kroplę działa zwrócona pionowo w dół **siła ciężkości** o wartości:

$$F_g = \frac{4}{3} \pi r^3 \rho_x g \quad (1)$$

oraz, zwrócona pionowo do góry, **siła wyporu** o wartości:

$$F_w = \frac{4}{3} \pi r^3 \rho_o g \quad (2)$$

gdzie ρ_o jest gęstością ośrodka do którego wprowadzono kroplę.

W przypadku, gdy $\rho_x > \rho_o$, kropla zacznie poruszać się w dół **ruchem jednostajnie przyspieszonym**, zwiększając swoją prędkość zgodnie z **II zasadą dynamiki**. W tych warunkach pojawia się **siła tarcia wewnętrznej**, czyli **lepkości** o zwrocie przeciwnym do zwrotu prędkości, a zarazem zwrotu siły ciężkości. Zgodnie z **prawem Stokesa** wartość tej siły w ośrodku o współczynniku lepkości równym η jest proporcjonalna do osiągniętej w danej chwili wartości prędkości v :

$$R = 6\pi \eta r v \quad (3)$$

W momencie, gdy kropla osiągnie prędkość krytyczną v_c , działające siły równoważą się, czyli $F_g = F_w + R$. Zaczyna wówczas obowiązywać **I zasada dynamiki**, zgodnie z którą kropla będzie poruszać się **ruchem jednostajnym** z właśnie osiągniętą prędkością krytyczną. Wówczas, na podstawie wymienionego warunku i powyższych zależności uzyskuje się wyrażenie określające związek między gęstością substancji kropli oraz prędkością jej przemieszczanie się, a w przypadku określonej drogi opadania H , między gęstością i czasem opadania t_x ($v=H/t$). Wówczas:

$$\rho_x = \rho_o + \frac{A_x}{t_x} \quad (4)$$

gdzie:

$$A = \frac{9\eta H}{2gr^2}$$

Powtórzenie powyższych rozważań dla kropli rozpuszczalnika (cieczy wzorcowej) o gęstości ρ_w umieszczonej i opadającej w tym samym ośrodku prowadzi do analogicznej zależności:

$$\rho_w = \rho_o + \frac{A_w}{t_w} \quad (5).$$

W przypadku, gdy pomiar cieczy badanej i wzorcowej pozwala zakładać równe wartości współczynników $A_x=A_w$ (jednakowe: drogi opadania oraz promienie kropli) na podstawie (4) i (5) uzyskuje się wyrażenie na gęstość badanego roztworu w postaci:

$$\rho_x = \rho_o + (\rho_w - \rho_o) \frac{t_w}{t_x} \quad (6)$$

Wykorzystując liniową zależność między względnym stężeniem i gęstością roztworów polimerów:

$$c_x = \frac{\rho_x - \rho_w}{\rho_b - \rho_w} \quad (7)$$

stężenie białka w osoczu oblicza się ostatecznie z zależności uzyskanej z podstawienia wyrażenia (6) do (7):

$$c_x = \frac{(\rho_w - \rho_o)}{(\rho_b - \rho_w)} \left(\frac{t_w}{t_x} - 1 \right) \quad (8)$$

Gdzie ρ_w , ρ_o i ρ_b to odpowiednio gęstości cieczy wzorcowej (np. wody) i ośrodka otaczającego krople (np. oleju) oraz gęstość molekuł (np. białka) rozpuszczonych w badanym roztworze, wartości t_w oraz t_x to średnie czasy opadania jednakowych kropli odpowiednio cieczy wzorcowej i roztworu badanego po przebyciu takiej samej drogi.

Literatura uzupełniająca:

1. D. Halliday, R. Resnick, J. Walker – Podstawy fizyki – T.2, rozdz.15
2. S. Przestalski – Fizyka z elementami biofizyki i agrofizyki – Część 4 rozdz. 4

Zobacz też:

symulacje komputerowe na stronie internetowej *Katedry Fizyki i Biofizyki*

(<https://sparrow.up.poznan.pl/kfb/>) (zakładka: *Symulacje zjawisk fizycznych*).

A15. Protokół pomiarów i obliczeń

Nr pary:	Imię i nazwisko studenta:	Kierunek studiów:
		Grupa:
Data:	Imię i nazwisko prowadzącego:	Zaliczenie:

Wykonanie ćwiczenia

Przyrządy i materiały: szklany cylinder z olejem, pipeta automatyczna, końcówki do pipet (tipsy), stoper, roztwór badany, ciecz wzorcowa (woda), dwie szklane zlewki.

1. Do oznaczonych zlewek wlewamy wodę oraz roztwór białka.
2. Automatyczną pipetę ustawiamy tak aby objętość pobranej cieczy wynosiła 20 μL .
3. Osuszoną końcówkę pipety z wciśniętym do pierwszego oporu przyciskiem tłoka zanurzamy w wodzie i odpuszczając przycisk pobieramy zadaną objętość próbki.
4. Kończówkę napełnionej pipety wprowadzamy pod powierzchnię (ok. 1cm) oleju i płynnie wciskając przycisk pipety uwalniamy kroplę wody. Mierzymy czas jej opadania t_i na drodze między dwoma znacznikami naniesionymi na cylinder.
5. Opisaną procedurę powtarzamy 10-ciokrotnie najpierw dla wody, a następnie dla cieczy badanej (roztworu białka). Wyniki pomiarów czasów opadania notujemy w tabeli pomiarowej.
6. W tablicach fizycznych znajdujemy gęstość wody dla odczytanej uprzednio temperatury otoczenia.

Tabela

	t_1 [s]	t_2 [s]	t_3 [s]	t_4 [s]	t_5 [s]	t_6 [s]	t_7 [s]	t_8 [s]	t_9 [s]	t_{10} [s]
Czas opadania kropli wody t_w										
							$t_{w\bar{s}r}$ [s] =	$\Delta t_{w\bar{s}r}$ [s] =		
Czas opadania kropli białka t_x										
							$t_{x\bar{s}r}$ [s] =	$\Delta t_{x\bar{s}r}$ [s] =		

$T = \dots\dots\dots$ [°C]

gęstość wody $\rho_w = \dots\dots\dots$ [kg/m³]

Opracowanie wyników:

1. Poszukiwaną wartość stężenia białka c_x w modelowym osoczu obliczamy z zależności:

$$c_x = \frac{(\rho_w - \rho_o)}{(\rho_b - \rho_w)} \left(\frac{t_w}{t_x} - 1 \right),$$

przyjmując gęstość oleju $\rho_o = 916 \text{ kg/m}^3$, gęstość molekuł białka $\rho_b = 1330 \text{ kg/m}^3$ i gęstość ρ_w jako wartość tabelaryczną dla wody w temperaturze pomiaru.

2. Wyniki pomiarów czasu każdej serii poddajemy opracowaniu statystycznemu, obliczając średnie wartości czasów t_{xsr} oraz t_{wsr} wraz z odpowiednimi błędami bezwzględnymi Δt_{xsr} oraz Δt_{wsr} ,

obliczonymi ze wzoru:

$$\Delta t = 3 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{sr} - t_i)^2}{n(n-1)}}$$

3. Błąd pomiaru stężenia białka obliczamy metodą różniczki zupełnej prowadzącej do zależności:

$$\Delta c_x = \frac{(\rho_w - \rho_o)}{(\rho_b - \rho_w)} \left(\left| \frac{1}{t_{xsr}} \right| \Delta t_{xsr} + \left| \frac{t_{wsr}}{t_{xsr}^2} \right| \Delta t_{wsr} \right)$$

4. Obliczoną wartość c_x zestawiamy na końcu protokołu z błędem bezwzględnym Δc_x tej wielkości w postaci: $(c_x \pm \Delta c_x)$ jedn.SI .