

WYZNACZANIE RÓŻNICY POTENCJAŁÓW NA BŁONIE JONOSELEKTYWNEJ W WARUNKACH RÓWNOWAGI

Aparatura i roztwory

1. multimetr
2. komory pomiarowe przedzielone błoną kationoselektywną
3. elektrody chloro-srebrowe (Ag/AgCl) – 2 szt.
4. roztwory NaCl: 0,01 mol/dm³; 0,001 mol/dm³; 1 mol/dm³

Przebieg ćwiczenia

1. Za pomocą cylindra pomiarowego odmierzyć 85 ml **0,01 molowego roztworu NaCl** i napełnić nim lewą komorę (**L**) układu pomiarowego (jest to stężenie c_1). Komorę prawą (**P**) napełnić 85 ml **0,001 molowym roztworem NaCl** (jest to stężenie c_2).
2. Powoli unieść uchwyt z elektrodami pomiarowymi i zdejmij z nich plastikowe osłonki (próbówki).
3. Przemyj elektrody wodą destylowaną z tryskawki i osusz ligniną.
4. Powoli zanurzaj elektrody w roztworach, przez otwory w komorach, opuszczając uchwyt z elektrodami. Sprawdź czy elektrody nie dotykają dna komór.
5. Połącz elektrody z gniazdami multimetru – COM (lewa elektroda) oraz V/ Ω (prawa elektroda), sprawdzając uprzednio czy miernik jest **wyłączony**.
6. Włącz miernik i odczytaj wartość różnicy potencjałów (mV).
7. Odczytuj wartości różnicy potencjałów w odstępach około 30 sek, aż do momentu ustalenia się wartości odczytu. Ustaloną wartość wpisz do tabeli pomiarowej.
8. Wyłącz miernik, powoli podnieś elektrody, opłucz je wodą destylowaną (tak, aby woda nie dostała się do wnętrza komór) i osusz ligniną.
9. Na pipetę **1** nałóż końcówkę z pudełka **1**, ustaw odpowiednią objętość na pipecie używając górnego pokrętkła.
10. Do komory prawej (P) za pomocą pipety dodaj 100 μ l, 1 molowego roztworu NaCl i wymieszaj roztwór w tej komorze za pomocą szklanej bagietki. Nie zmieniaj stężenia roztworu w komorze lewej (L).
11. Powoli zanurzaj elektrody w roztworach, przez otwory w komorach, opuszczając uchwyt z elektrodami. Sprawdź czy elektrody nie dotykają dna komór.
12. Włącz miernik i odczytaj wartość różnicy potencjałów (mV) jak w punkcie 7.
13. Wykonaj kolejne pomiary powtarzając czynności z punktów od 8 do 12. Przed każdym pomiarem dodaj do prawej komory (P) 1 molowy roztwór NaCl: najpierw pięć razy po **100 μ l**, a następnie cztery razy po **200 μ l**. Pamiętaj o wymieszaniu roztworu po każdorazowej zmianie stężenia.
14. Po zakończeniu pomiarów wyłącz miernik i odłącz od niego elektrody.
15. Przemyj elektrody wodą destylowaną.
16. Powoli unieść uchwyt z elektrodami pomiarowymi i załóż na nie plastikowe osłonki (do osłonek możesz

wlać wodę destylowaną), a następnie powoli opuścić uchwyt z elektrodami.

17. Roztwory z komór wylej, komory przepłucz kilkakrotnie wodą destylowaną, a na koniec napełnij je wodą destylowaną.
18. Wartości stężeń roztworu NaCl w prawej komorze wylicz ze wzoru:

$$c_2 = \frac{c_0 V_0 + c_d V_d}{V_0 + V_d}$$

gdzie: c_0 – stężenie wyjściowe roztworu w komorze prawej,

c_d – stężenie roztworu dodawanego,

V_0 – objętość początkowa roztworu w komorze prawej,

V_d – suma objętości 1 molowego NaCl do tej pory dodanego do komory prawej (czyli cała objętość dodanego roztworu).

19. Wykreśl na papierze milimetrowym zależność różnicy potencjałów w funkcji logarytmu ze stosunku stężeń $\Delta V = f(\log c_1/c_2)$.
20. Oblicz teoretyczną wartość członu zaznaczonego ramką we wzorze Nernsta w formie z logarytmem dziesiętnym (log) dla jonów jednowartościowych ($z = 1$) w temperaturze pokojowej:

$$\Delta V = \frac{RT}{zF} \cdot \ln \frac{c_{out}}{c_{in}} = \boxed{2.303 \frac{RT}{zF}} \cdot \log \frac{c_{out}}{c_{in}}$$

przyjmując:

$R = 8,314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$ – stała gazowa,

$F = 96\,485 \text{ C/mol}$ – stała Faradaya,

$T = 293 \text{ K}$ (20°C) – temperatura bezwzględna.

Innymi słowy oblicz $2,303 \cdot RT/zF$. Wynik podaj w miliwoltach. Współczynnik ten określa, o ile miliwoltów zmienia się potencjał przy dziesięciokrotnej zmianie stosunku stężeń.

21. Przez punkty pomiarowe na otrzymanym wykresie $\Delta V = f(\log c_1/c_2)$ poprowadź prostą najlepiej do nich dopasowaną. Na prostej (nie w punktach pomiarowych) wybierz dwa punkty A i B możliwie daleko od siebie (o współrzędnych $X_A Y_A$ oraz $X_B Y_B$) i odczytaj ich współrzędne. Wyznacz nachylenie prostej:

$$a = \frac{(Y_B - Y_A)}{(X_B - X_A)}$$

22. Porównaj otrzymane nachylenie z wartością $2,303 \cdot RT/zF$ obliczoną w punkcie 20.

Wymagane wiadomości teoretyczne

1. Transport bierny przez błonę – elektrodyfuzja i jej składowe: dyfuzja w gradiencie stężenia (prawo Ficka) i migracja jonów w gradiencie potencjału elektrycznego (prawo Ohma dla elektrolitów).
2. Omówić pojęcia: stan równowagi Nernsta, potencjał równowagowy (wraz ze znajomością typowych wartości dla jonów potasowych, sodowych, wapniowych i chlorkowych), siła elektrochemiczna napędzająca ruch jonu przez błonę.
3. Omówić wzór Nernsta opisujący potencjał błonowy w funkcji stężeń danego jonu
4. Omówić mechanizm potencjału spoczynkowego błony komórkowej ze szczególnym uwzględnieniem roli błonowej przepuszczalności poszczególnych jonów i mechanizmu elektrodyfuzyjnego zjawiska.
5. Omówić wzór Goldmana-Hodgkina-Katza, wymienić parametry w nim występujące i ich znaczenie.

Zalecana literatura

1. A. Hendrich, K. Michalak „Ćwiczenia laboratoryjne z biofizyki”, Wydawnictwo AM Wrocław, 2002;
Rozdział 10
2. Suplement teoretyczny do ćwiczenia na stronie Katedry
3. Opracowanie na stronie katedry : <http://www.biofiz.umed.wroc.pl/dydaktyka/inne/bfstr65.html>
4. Opracowanie na stronie katedry : <http://www.biofiz.umed.wroc.pl/dydaktyka/inne/bfstr61.html>
5. S. Mięgisz, A. Hendrich, „Wybrane zagadnienia z biofizyki”, Volumed, Wrocław 1998.
Rozdziały 4.1 i 4.2

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu Katedra i Zakład Biofizyki i Neurobiologii	Ćwiczenie 8 Wyznaczanie różnicy potencjałów na błonie jonoselektywnej w warunkach równowagi	
	 Imiona i nazwiska studentów	Wydział: nr grupy: Data:
Ocena:	Podpis prowadzącego ćwiczenia	

1. Wykonać pomiary i wypełnić tabelę:

Lp.	Stężenie roztworu c_2 [mol/dm ³]	Stosunek stężeń c_1/c_2	Log (c_1/c_2)	Zmierzona różnica potencjałów ΔV [mV]
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				

2. Sporządzić na papierze milimetrowym wykres zależności $\Delta V = f(\log c_1/c_2)$.

Wartość teoretyczna członu $2,303 \cdot RT/zF$ [mV]	
Wartość wyznaczona eksperymentalnie (nachylenie otrzymanej prostej [mV])	