

BIOFYZIKA

návody ke cvičením

Vladimír Scholtz
Pavel Hozák
Lukáš Pekárek

2017

Obsah

1	Bělousovova-Žabotinského reakce	3
2	Měření osmotického tlaku	6
3	Chování erytrocytů v hypotonickém roztoku	8
4	Měření povrchového napětí	10
5	Chování lipidů na povrchu vody	12
6	Elektrické projevy živých organismů – EKG	15
7	Biomechanika proudění kapalin – měření krevního tlaku	16
8	Vidění komorovým okem a optické přístroje	17
9	Audiometrie	18
10	Účinky vnějších vlivů prostředí na mikroorganismy	19

Úvod

Následující text představuje stručný popis laboratorních úloh k vybraným tématům probíraným na přednáškách předmětu Biofyzika. Při provádění laboratorní úlohy vám cvičící uvede danou problematiku, sdělí další podrobnosti a upřesní případné modifikace.

Po skončení měření uveďte pracoviště do původní podoby, případné roztoky vylijte do odpadní výlevky a použité nádobí dobře opláchněte. Z laboratorního měření sepište protokol, který bude obsahovat jména členů pracovní skupiny, datum provedení práce, stručný záznam o měření a v závěru smysluplný komentář prováděné práce.

Kapitola 1

Bělousovova-Žabotinského reakce

Úloha

Pozorujte vznik struktur v Bělousovově-Žabotinského (BZ) reakci.

Teoretický úvod

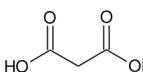
Objev Bělousovovy-Žabotinského reakce náleží sovětskému chemikovi Borisu P. Bělousovi, který v 50. letech 20. století studoval katalytické jevy v citrátovém cyklu. Při svých experimentech pozoroval, že ve směsi bromičnanu draselného, síranu ceričitého, kyseliny propionové a kyseliny citronové dochází k oscilacím koncentrací ceritých a ceričitých iontů, které se projevily změnou barvy roztoku z bezbarvé na žlutou a zpět. Práce, kterou k tomuto tématu napsal, byla pravděpodobně bohužel odmítnuta renomovanými periodiky a Bělousov ji publikoval pouze v neznámém sborníku. Jeho objevu si však v roce 1961 všiml Anatolij M. Žabotinskij, který ho dále studoval a později představil vědecké společnosti. Následovaly další objevy různých oscilačních reakcí v různých systémech a provedeních. V rámci tohoto laboratorního cvičení budete pozorovat oscilační chování směsi v tenké vrstvě na Petriho misce, kde jako redoxní indikátor bude sloužit ferroin (viz dále). Podrobnější informace o reakcích a jejich teoretickém popisu naleznete v článku V. Scholtz: Bělousovova-Žabotinského reakcia, Aldebaran bulletin, 9, 32 (2011), http://www.aldebaran.cz/bulletin/2011_32_zab.php.

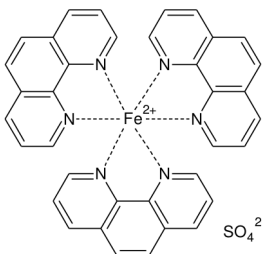
Pomůcky

1. Petriho miska s víčkem o průměru 18 cm,
2. injekční stříkačky.

Chemikálie

1. NaBrO_3 – bromičnan sodný,
2. H_2SO_4 – kyselina sírová,
3. NaBr – bromid sodný,

4.  – kyselina malonová,

5.  – ferroin,
6. H_2O – dihydrogeniummonoxid.

V laboratoři jsou pro urychlení práce připravené zásobní roztoky označené A, B, C, D. Jejich složení je následující:

1. roztok A: 25 g NaBrO₃, 335 ml destilované vody, 10 ml koncentrované H₂SO₄,
2. roztok B: 10 g NaBr, 100 ml vody,
3. roztok C: 10 g kyseliny malonové, 100 ml vody,
4. roztok D: 0,025 mol/l roztok ferroinu.

Ke každému zásobnímu roztoku přísluší jedna injekční stříkačka. **Pro zachování funkčnosti a stability zásobních roztoků vždy po odměření objemu odložte injekční stříkačku vedle příslušného zásobního roztoku tak, aby nedošlo k záměně a následné kontaminaci roztoků!**

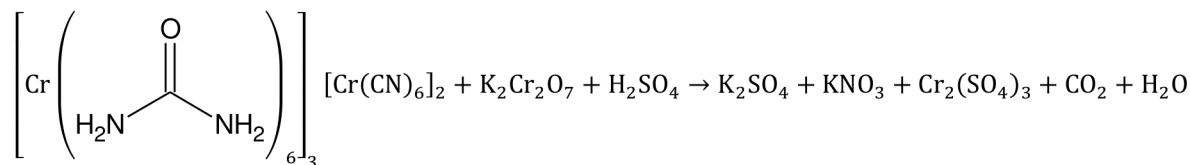
Postup

Při smíšení roztoků A, B a C se do okolí uvolňuje nezanedbatelné množství bromu. Vzhledem k jeho škodlivým účinkům proto **provádějte kroky a) až d) bodu 1 pouze v digestoři!**

1. V skleněné Petriho misce (průměr 18 cm) smíchejte složky k vytvoření BZ reakce:
 - (a) přidejte 18 ml roztoku A,
 - (b) přidejte 1,5 ml roztoku B,
 - (c) přidejte 3 ml roztoku C,
 - (d) počkejte na odbarvení roztoku (navázání Bromu na kyselinu malonovou),
 - (e) misku přikryjte víčkem a přeneste z digestoře na své pracoviště,
 - (f) přidejte 3 ml roztoku D.
2. Přiklopte misku víčkem a vyčkejte cca 2 minuty na spuštění reakce.
3. Pozorujte vznikající struktury.
4. Zaznamenejte do protokolu.

Bonusové úlohy (nepovinné, ale zajímavé a relativně zábavné)

1. Zkuste si ještě vzpomenout na pravidla názvosloví komplexních sloučenin a sestavit systematický či semi-systematický název ferroinu podle výše uvedeného vzorce.
2. V Bělousovově-Žabotinského reakci probíhá několikero redoxních dějů. V kurzu anorganické chemie jste redoxní rovnice vyčíslovali, že? Vyčíslování dějů v BŽ reakci by bylo moc jednoduché (vzhledem k tomu, že jsou uvedeny na výše zmíněné adrese, možná až triviální). Zkuste vyčíslit tuto rovnici, kde probíhá oxidace hexakyanochromitanu hexakis(urea)chromnatého dichromanem draselným v prostředí kyseliny sírové (pokud Vám nebudou alespoň u některých sloučenin vycházet tříciferné stechiometrické koeficienty, Váš výsledek není správně):



Protokol z laboratorní úlohy: **Bělousovova-Žabotinského reakce**

Pracovní skupina:

Datum měření:

Popis a nákres pozorovaných struktur:

Závěr:

Bonusové úlohy:

Kapitola 2

Měření osmotického tlaku

Úloha

Změřte osmotický tlak roztoku polyethylenglykolu (PEG) 3000 přes semipermeabilní membránu.

Teoretický úvod

J. Novák a kol.: Fyzikální chemie, skriptum, VŠCHT Praha, 2008, kap. 11.2.3
<http://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCH4Mgr.view.pdf>

Pomůcky

- | | |
|------------------------------|---------------------|
| 1. zkumavka ve stojanu, | 6. papírový tampon. |
| 2. skleněná trubička, | |
| 3. semipermeabilní membrána, | |
| 4. gumička, | |
| 5. injekční stříkačka, | |

Chemikálie

- | |
|------------------------------------|
| 1. destilovaná voda, |
| 2. vodný roztok PEG 3000 (50 g/l), |

Postup

1. Připravenou zkumavku naplňte destilovanou vodou.
2. Jeden konec skleněné trubičky obalte semipermeabilní membránou a upevněte gumičkou.
3. Do skleněné trubičky nastříknete 0,5 ml roztoku PEG.
4. Vložte trubičku do zkumavky tak, aby byly hladiny kapaliny ve zkumavce a trubičce ve stejné výšce, trubičku podle potřeby zafixujte papírovým tamponem.
5. Pozorujte stoupání hladiny v trubičce po dobu několika desítek minut.
6. Poté zasuňte trubičku co nehlouběji do zkumavky a po ustálení hladin odečtete rozdíl Δh ve výšce hladin a spočítejte osmotický tlak. K ustálení hladin dojde poté, co se osmotický tlak p_{osm} vyrovná s tlakem hydrostatickým a tudíž platí, že

$$p_{osm} = \rho_{peg} g \Delta h,$$

kde hustota roztoku může být pro zjednodušení ztotožněna s hustotou vody $\rho_{peg} = 1000 \text{ kg/m}^3$ a gravitační zrychlení $g \doteq 10 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$.

7. Zaznamenejte do protokolu.

Protokol z laboratorní úlohy: **Měření osmotického tlaku**

Pracovní skupina:

Datum měření:

Naměřené hodnoty:

$$\Delta h =$$

Vypočtené hodnoty:

$$p_{osm} = \rho_{peg} g \Delta h =$$

Závěr:

Kapitola 3

Chování erytrocytů v hypotonickém roztoku

Úloha

Pozorujte zvětšování a rozpad erytrocytů v hypotonickém roztoku.

Teoretický úvod

J. Novák a kol.: Fyzikální chemie, skriptum, VŠCHT Praha, 2008, kap. 11.2.3
<http://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCH4Mgr.view.pdf>

Pomůcky

1. sterilní krev,
2. podložní sklíčko,
3. krycí sklíčko,
4. injekční stříkačky,
5. destilovaná voda,
6. mikroskop.

Postup

1. Na podložní sklíčko nakápněte z připravené stříkačky kapičku krve.
2. Přikryjte krycím sklíčkem.
3. Vložte pod mikroskop a pozorujte erytorcyty při 200násobném zvětšení.
4. Ke kraji krycího sklíčka nastříkněte na podložné sklíčko kapičku destilované vody.
5. Ihned pozorujte tok erytrocytů směrem proti směru gradientu koncentrace soli, jejich zvětšování a rozpad.

Protokol z laboratorní úlohy: **Chování erytrocytů v hypotonickém roztoku**

Pracovní skupina:

Datum měření:

Popis pozorovaného chování erytrocytů:

Kapitola 4

Měření povrchového napětí

Úloha

Změřte povrchové napětí různých kapalin du Noüyho odtrhávací metodou.

Teoretický úvod

J. Novák a kol.: Fyzikální chemie, skriptum, VŠCHT Praha, 2008, kap. 10.2 a 10.4.1.3
<http://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCH4Mgr.view.pdf>

Pomůcky

1. Petriho miska,
2. odtrhávací prstenec,
3. posuvné měřítko,
4. siloměr s posunem a stojanem.

Chemikálie

1. měřené kapaliny
2. destilovaná voda,
3. voda z vodovodu,
4. saponát.

Postup

1. Posuvným měřítkem změřte průměry jednotlivých kružnic odtrhávacího prstence tvořících hrany a spočítejte celkovou délku hrany l .
2. Na siloměr zavěste odtrhávací prstenec.
3. Do Petriho misky nalijte zkoumanou kapalinu a položte na stojan.
4. Odtrhávací prstenec zanořte spodním okrajem do kapaliny.
5. Použitím posuvného šroubu pomalu vytahujte pstenec z kapaliny, na siloměru pozorujte sílu.
6. V okamžiku odtržení zaznamenejte maximální sílu F , od které odečtete tíhovou sílu působící na odtržený prstenec.
7. Ze síly a délky hrany spočítejte povrchové napětí γ jako

$$\gamma = \frac{F}{l}.$$

8. Zaznamenejte do protokolu.

Protokol z laboratorní úlohy: **Měření povrchového napětí**

Pracovní skupina:

Datum měření:

Nákres odtrhávacího prstence a jeho důležité rozměry:

Naměřené hodnoty pro různé kapaliny:

1. Kapalina:

číslo měření	1	2	3	4	5
odtrhávací síla / mN					

Výpočty:

$$\gamma =$$

2. Kapalina:

číslo měření	1	2	3	4	5
odtrhávací síla / mN					

Výpočty:

$$\gamma =$$

3. Kapalina:

číslo měření	1	2	3	4	5
odtrhávací síla / mN					

Výpočty:

$$\gamma =$$

Závěr:

Kapitola 5

Chování lipidů na povrchu vody

Úloha

Pozorujte chování filmu kyseliny palmitové na povrchu vody a na čistém odmaštěném sklíčku vytvořte lipidovou monovrstvu a dvojvrstvu.

Teoretický úvod

Mastné kyseliny patří mezi amfifilní látky – jejich molekula se skládá z hydrofobní (alifatický řetězec) i hydrofilní (karboxylová skupina) části. Tato vlastnost má vliv na jejich chování ve vodě (obecně v rozpouštědlech). Jedná se o tzv. surfaktanty – povrchově aktivní látky. Při kontaktu s vodou se shlukují u povrchu, kde se orientují tak, aby hydrofilní část bylo v kontaktu s vodou, zatímco hydrofobní je odhazená na hladině.

Pomůcky

1. miska,
2. skleněná tyčinka,
3. elastický kroužek,
4. pipeta,
5. pinzeta,
6. podložné sklíčko s posunem.

Chemikálie

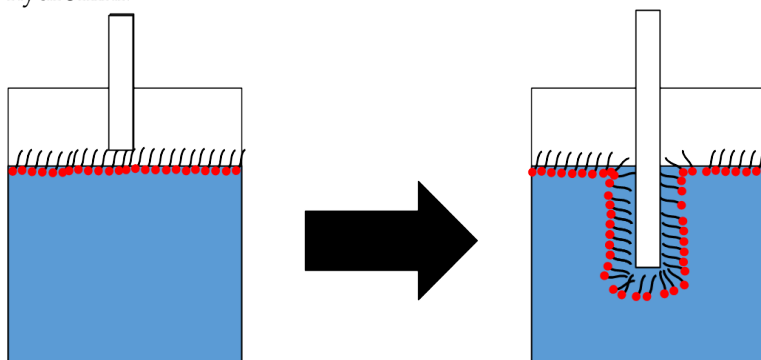
1. destilovaná voda,
2. roztok kyseliny palmitové v toluenu.

Postup

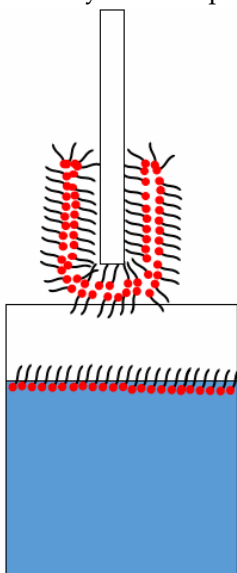
Po celou dobu pracujeme s odmaštěnými nástroji (skla, misky, tyčinky) a snažíme se minimalizovat jejich znečištění.

1. Připravíme si odmaštěnou plastovou misku, kterou naplníme až po okraj destilovanou vodou (nejlépe lehce nad okraj).
2. Přes misku umístíme odmaštěnou skleněnou tyčinku tak, aby se tyčinka dotýkala vodní hladiny.
3. Na povrch vody vložte elastický kroužek tak, aby zůstal plavat na hladině.
4. Pozorujte, že pomalým pohybem tyčinky po hladině se nemění tvar kroužku.
5. Kápneme 0,1 ml roztoku kyseliny palmitové v toluenu na hladinu vedle kroužku a počkáme na odpaření acetonu.
6. Posunem tyčinky po misce můžeme regulovat povrchovou hustotu kyseliny palmitové na hladině a pozorovat deformaci elastického kroužku.

7. Skrz vzniklou lipidovou monovrstvu pomalu ponoříme odmaštěné mikroskopické sklíčko. Během pomalého zanořování sklíčka dochází k pokrytí jeho povrchu monovrstvou kyseliny palmitové – sklíčko je navenek hydrofilní.



8. Při pozdějším pomalém vytahování pokryjeme sklíčko druhou vrstvou kyseliny palmitové – na sklíčko tak vzniká hydrofobní povrch.



9. Při následném pomalém ponoření a rychlém vytažení se může povést přidat na sklíčko ještě třetí navenek hydrofilní vrstvu.
10. Po oschnutí porovnejte smáčivost jednotlivých částí sklíčka kapkou destilované vody.



11. Chování interpretujte.

Protokol z laboratorní úlohy: **Chování lipidů na povrchu vody**

Pracovní skupina:

Datum měření:

Popis pozorovaného chování elastického kroužku:

Popis pozorované smáčivosti:

Interpretace výsledků:

Kapitola 6

Elektrické projevy živých organismů – EKG

Úloha

Pozorujte elektrické projevy srdeční činnosti na elektrokardiogramu (EKG).

Teoretický úvod

Bude vysvětleno na cvičení.

Pomůcky

1. elektrokardiograf.

Postup

1. Seznamte se s principem činnosti elektrokardiografu.
2. Zaznamenejte EKG člověka.
3. Diskutujte dosažené výsledky. Například na základě knihy Cook-Sup So: Praktische EKG-Deutung, Thieme, 2013.

Kapitola 7

Biomechanika proudění kapalin – měření krevního tlaku

Úloha

Změřte krevní tlak askultační metodou mechanickým tonometrem.

Teoretický úvod

Klasická metoda měření spočívá v tom, že sám vyšetřující odečítá hodnoty krevního tlaku pomocí fonendoskopu. Tlak v manžetě je třeba zvýšit tak, aby na počátku měření převyšoval tlak v tepně. Manžeta tak představuje uměle vytvořenou překážku krevnímu průtoku. Postupným pomalým snižováním tlaku v manžetě dojde v určitém okamžiku k obnovení průtoku krve za místo obstrukce. Tlak v manžetě však způsobí deformaci tepny, díky níž je proudění pronikající krve turbulentní. Hodnota tlaku, při níž začínají být ve fonendoskopu slyšitelné srdeční ozvy a především šelesty způsobené turbulentním prouděním (Korotkovův fenomén), odpovídá hodnotě systolického krevního tlaku. Ozvy jsou slyšitelné do té doby, dokud tlak v manžetě postačuje k deformaci tepny a tím k udržení turbulentního proudění. Jakmile tlak v manžetě poklesne natolik, že již nestačí tepnu deformovat, obnoví se původní laminární proudění a Korotkovovy fenomény přestanou být slyšitelné. Tento okamžik odpovídá hodnotě diastolického krevního tlaku. Není přitom důležité, zda je používán rtuťový, aneroidní anebo digitální tonometr. Tato metoda měření tlaku se nazývá auskultační (latinsky auscultare = poslouchat).

Auskultační metoda je považována za nej přesnější způsob měření krevního tlaku. Zvládnutí auskultační techniky měření není samo o sobě složité, přesto je třeba počítat s možnou chybou ze strany vyšetřujícího.

http://cs.wikipedia.org/wiki/M%C4%9B%C5%99en%C3%AD_krevn%C3%ADho_tlaku

Pomůcky

1. askultační tonometr,
2. fonendoskop.

Postup

1. Nasadíte vyšetřovanému manžetu na paži.
2. Napumpujete tonometr nad očekávanou hodnotu systolického tlaku.
3. Postupně snižujete tlak v manžetě a fonendoskopem posloucháte charakteristický šelest Korotkovových fenoménů.
4. Určete hodnotu systolického a diastolického tlaku.

Kapitola 8

Vidění komorovým okem a optické přístroje

Úloha

Sestavte jednoduché optické přístroje lupu, mikroskop a dalekohled ze sady demonstračních čoček a pozorujte vybrané objekty.

Teoretický úvod

J. Hofmann, M. Urbanová: Fyzika I, skriptum, VŠCHT Praha, 2005, kap. 6.2.4
<http://www.ulozto.cz/xS2r5wM/fyzika-vscht-zip>

Pomůcky

1. dvě slabé čočky,
2. milimetrový papír,
3. čtverečkovaný papír.

Postup

1. Vyberte si jednu z čoček, použijte jí jako lupu a pozorujte předmět umístěný před ohniskem, v ohnisku a za ohniskem. Odhadněte ohniskovou vzdálenost.
2. Použijte čočku pro vytvoření obrazu vzdáleného předmětu (budova FEL za oknem) na stínítko a diskutujte analogii se zobrazováním v komorovém oku.
3. Použijte obě čočky k sestavení mikroskopu a pozorujte milimetrový papír, odhadněte zvětšení.
4. Použijte obě čočky k sestavení dalekohledu a pozorujte čtverečkovaný papír ve vhodné vzdálenosti, odhadněte zvětšení.

Kapitola 9

Audiometrie

Úloha

Změřte si tónovou audiometrii vzdušního vedení vlastního sluchu. Měřte intenzitu různých zvuků hlukoměrem.

Teoretický úvod

Tónovou audiometrií vyšetřujeme sluchový práh vzdušného a kostního vedení pro čisté (sinusové) tóny. Je řazena mezi kvantitativní vyšetřovací postupy. Sluch pro vzdušné i kostní vedení se vyšetřuje pro každé ucho samostatně, pomocí kalibrovaných generátorů tónů a šumů – audiometrů. Vzdušné vedení je sluchátky vyšetřeno pro každé ucho samostatně na sedmi základních frekvencích (125 Hz, 250 Hz, 500 Hz, 1 kHz, 2 kHz, 4 kHz a 8 kHz) a až čtyřech doplňkových frekvencích (750 Hz, 1,5 kHz, 3 kHz a 6 kHz). Kostní vedení pomocí speciálního vibrátoru na pěti základních frekvencích (250 Hz, 500 Hz, 1 kHz, 2 kHz, 4 kHz). Celé zvukové pásmo od 16 Hz – 20 kHz se nevyšetřuje, protože frekvence nad 4 kHz nejsou pro rozumění řeči podstatné a u frekvencí nad 10 kHz existují potíže se standardizací. Vyšetření sluchu nad 10 kHz se věnuje tzv. vysokofrekvenční audiometrie.

O. Stanický: Audiometrie, diplomová práce, VUT Brno, 2011 <https://dspace.vutbr.cz/bitstream/handle/11012/20387/Audiometrie Stanick%C3%BD_78003.pdf?sequence=2>.

Pomůcky

1. tónový generátor (notebook a vysílač),
2. sluchátka (bezdrátová),
3. hlukoměr.

Postup

1. Nasadíte si sluchátka a postupujete podle pokynů vyučujícího.
2. Zaznamenejte si vlastní audiogram pro levé i pravé ucho.
3. Hlukoměrem měřte intenzitu různých zdrojů zvuku.

Kapitola 10

Účinky vnějších vlivů prostředí na mikroorganismy

Úloha

Pozorujte nárůst mikroorganismů *Saccharomyces cerevisiae* na agarové plotně a jeho inhibici po působení nízkoteplotního plazmatu.

Teoretický úvod

Bude vysvětleno na cvičení.

Pomůcky

1. Vodní suspenze kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, směsné kultury z kuchyňského droždí,
2. Petriho misky se Sabouroudovým agarem,
3. pipeta,
4. zdroj nízkoteplotního plazmatu.

Postup

1. Pipetou naneste 0,5 ml suspenze na povrch agarového média, nakláněním rozlejte suspenzi po celém povrchu a počkejte na úplné vsáknutí suspenze.
2. Vystavte působení nízkoteplotnímu plazmatu.
3. Kultivujte při pokojové teplotě do příštího cvičení.
4. Pozorujte růst a jeho inhibici v místě působení.