

F. Kumaszka

Katedra Fizyki
Śląskiej Akademii Medycznej

WZGLĘDNE ZMIANY LEPKOŚCI WŁAŚCIWEJ JAKO FUNKCJA
ZMIANY STRUKTURY ROZTWORÓW BIAŁEK

Katedra Fizyki Śl. Akad. Medycznej, Katowice

Streszczenie. W pracy zaproponowano posługiwanie się w badaniach roztworów podczas ich przepływu wskaźnikiem względnej zmiany lepkości właściwej $\Delta \eta_{ww}$. Przy pomocy tego wskaźnika określono szybkość narastania zmian struktury i podatność na zmiany. Na przykładzie kilku roztworów pokazano, że proponowany wskaźnik jest dość czuły na te zmiany wywołane różnymi czynnikami fizycznymi. Równoczesne podanie wszystkich trzech wielkości opisuje roztwór bardziej wyczerpująco, niż pomiar lepkości właściwej.

Własności fizyczne i chemiczne białek określa w zasadzie, jak wiadomo, ich konformacja. Zmiana naturalnej konformacji molekuly białkowej, pod wpływem różnych czynników fizycznych lub chemicznych, powoduje zmianę jej własności [1] i [2]. Pociąga to za sobą zmianę, a nawet utratę pewnych funkcji biologicznych białka wyjściowego.

Każdy przepływ cieczy zawierającej rozproszone w niej obecne cząstki, lub cząsteczki, jest związany z zaburzeniem w strumieniu cieczy, a więc ze zmianą konformacji. Dla przepływu rozproszonych w cieczy cząstek sztywnych, kulistego kształtu, wyprowadził Einstein [3] i [4] jeszcze w 1906, a następnie 1911 r., zależność tzw. lepkości właściwej roztworu od cząstkowej objętości rozproszonych cząstek:

$$\eta_{wz} = 2,5 Nv, \quad (1)$$

gdzie v jest objętością pojedynczej cząstki, a N ich liczbą.

Jest zrozumiałe, że podczas przepływu cieczy rzeczywistej objętości te mogą zmieniać się tak ze względu na niezupełną sztywność cząstek, jak też z powodu pewnych deformacji struktury wynikającej z oddziaływań pomiędzy cząstkami. Z tego też względu następne lata przyniosły szereg prób dostosowania równania Einsteina do opisu przepływu w cieczach rzeczywistych (np. Taylor [5], Guth i Simha [6], R. Simha [7]). R. Simha wyprowadził zależność lepkości właściwej od cząstkowej objętości i funkcji stosunku głównych osi elipsoidy obrotowej przy bardzo małym gradiencie prędkości, daną wzorem:

$$\eta_{wz} = \phi \cdot b(p). \quad (2)$$

W tym równaniu $p = \frac{a_1}{a_2}$; a_1 jest osią elipsoidy stanowiącą oś obrotu, natomiast a_2 osią prostopadłą do a_1 . ϕ jest ułamkiem objętościowym wyrażającym udział rozproszonych cząstek. W niektórych specjalnych przypadkach funkcja $b(p)$ da się przedstawić w postaci jawnej. W ogólności jednak nie ma do tej pory teorii opisującej w zadowalający sposób zależność lepkości roztworu od rozmiarów i przestrzennego ugrupowania cząsteczek substancji rozpuszczonej.

Równanie (2) można przedstawić w postaci ([7], [2], [8], [9]):

$$\eta_{wz} = b \left(\frac{a_1}{a_2} \right) \cdot c N_A \frac{v}{M} \quad (3)$$

gdzie c jest stężeniem roztworu, v objętością cząsteczki łącznie z zawartym w niej rozpuszczalnikiem, N_A - stałą Avogardo, a M - ciężarem cząsteczkowym ciała rozpuszczonego.

Wyrażenie $b \left(\frac{a_1}{a_2} \right) \cdot v$, odpowiedzialne za strukturę wewnętrzną rozpuszczonych cząstek, decyduje o wartości lepkości właściwej.

Roztwór płynący pod działaniem różnych naprężeń ścinających zmienia nieco swą wewnętrzną strukturę i można go traktować przy różnych naprężeniach jako inny nieco roztwór. Porównując więc lepkości właściwe tych "różnych" roztworów, można z uwagi na (3), wyznaczyć względną zmianę lepkości właściwej względem któregoś roztworu wyjściowego [7]:

$$\Delta \eta_{ww} = \frac{\Delta \eta_{wz}}{\eta_{wz}} = \frac{b \left(\frac{a_{11}}{a_{21}} \right) \cdot v_1 - b \left(\frac{a_{12}}{a_{22}} \right) \cdot v_2}{b \left(\frac{a_{11}}{a_{21}} \right) \cdot v_1} \quad (4)$$

Prawa strona powyższego wzoru jest miarą zmian kształtu i objętości rozproszonych drobin. Mimo niejawnej postaci tej zmiany struktury przy wymuszaniu przepływu, wyrażenie (4) jest dość czułe na zachodzące zmiany wewnątrz roztworu i może posłużyć do oceny tak wielkości zmian, jak też stabilności roztworu.

Celem tej pracy było przedstawienie względnych zmian lepkości właściwej w zależności od przykładanych naprężeń Δp dla kilku roztworów białek surowicy krwi ludzkiej i kilku surowic. Na podstawie otrzymanych wyników próbowano uzasadnić celowość stosowania proponowanej zależności w badaniach hydrodynamicznych własności płynów biologicznych. W doświadczeniu poddawano przepływowi przez kapilary wzmiankowane roztwory białek i surowice i wyznaczono ich pozorne lepkości przy różnych różnicach ciśnień wymuszających przepływ wg znanego wzoru Poiseuille'a [10]. Rezultaty doświadczenia przedstawiono na trzech rycinach i w tabeli 1. $\Delta \eta_{ww}$ liczone jako stosunek lepkości właściwej przy różnych Δp do lepkości właściwej przy $\Delta p = 10 \text{ cm H}_2\text{O}$.

Wyniki pomiarów i ich omówienie.

We wszystkich przypadkach uzyskano zasadnicze deformacje struktur już przy niewielkich naprężeniach wymuszających przepływ. W miarę wzrostu naprężenia szybkość narastania zmian - v_g ustala się i jest znacznie mniejsza (rys. 1 a) krzywa 1; 1b) krzywa 1 i 2; oraz rys. 2a) krzywa 2, i 2 b) krzywa 4) w porównaniu z początkową szybkością. Całkowita zmiana struktur $\Delta \eta_{ww}$ jest jednak znaczna i sięga kilkunastu do kilkudziesięciu procent. Oznacza to zapewne, że już małe naprężenia powodują uporządkowanie kłębków, czyli zmianę konformacji molekuł białkowych. Dalszy wzrost naprężenia dodaje już niewiele do początkowych zmian.

W dwu roztworach γ - globuliny w temperaturze 20°C i dwu w 37°C (rys. 2a krzywa 3 i 4 oraz 2b krzywa 2 i 3) zmiana struktury jest wprost proporcjonalna do zmian ciśnienia.

Zwiększenie stężenia roztworu albumin, γ - globulin oraz ich mieszanin w temp. 20°C wpływa stabilizująco. Zmniejsza ono szybkość narastania zmian i wartość wskaźnika $\Delta \eta_{ww}$, a więc usztywnia strukturę (tabl. 1). W temperaturze 37°C wpływ stężenia jest raczej przeciwny, za wyjątkiem mieszanin albumin z γ - globulinami, w których wzrost stężenia również ustala zmiany.

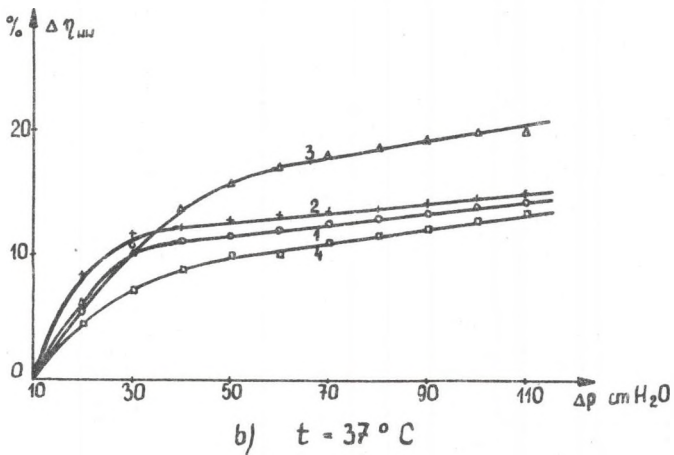
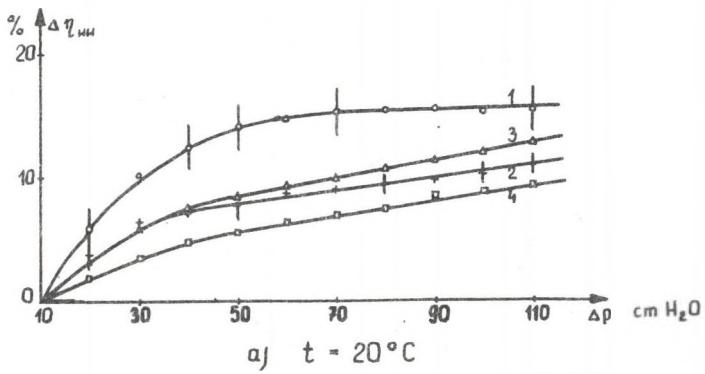
Podwyższenie temperatury roztworów białek i surowicy krwi podnosi równocześnie znacznie wartość wskaźnika odkształceń (rys. 1, 2 oraz 3 krzywa 5 i 5₁), z wyjątkiem 1% roztworu γ - globuliny, którego zachowanie się jest wprost przeciwne.

Na podstawie powyższych obserwacji można powiedzieć, że roztwory białek i surowica krwi są podatniejsze na zmiany struktur w podwyższonych temperaturach (wyższa $\Delta \eta_{ww}$) oraz posiadają na ogół większą szybkość narastania zmian.

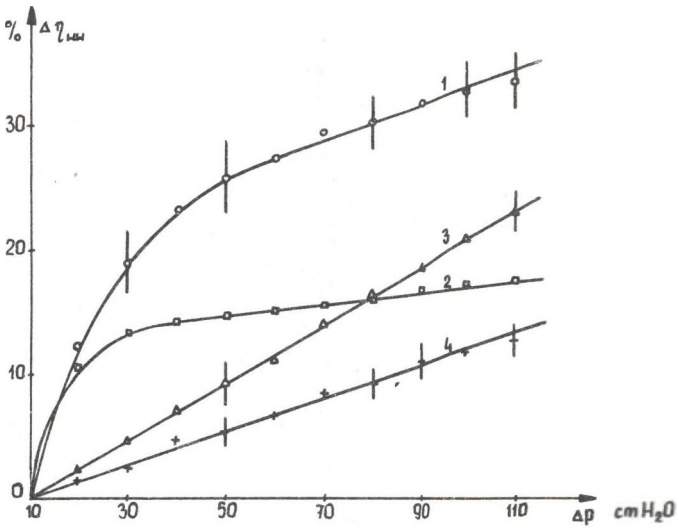
Podatność P_d na zmiany można scharakteryzować stosunkiem względnych zmian lepkości właściwej w dwu różnych temperaturach, lub dwu różnych stężeniach.

O ile wskaźnik podatności równy jedności oznacza brak różnicy w podatności na zmiany, to wartości przewyższające liczbę jeden podają zwiększenie podatności, a mniejsze od jeden - zmniejszenie. Wskaźnik taki podano w tabeli 1.

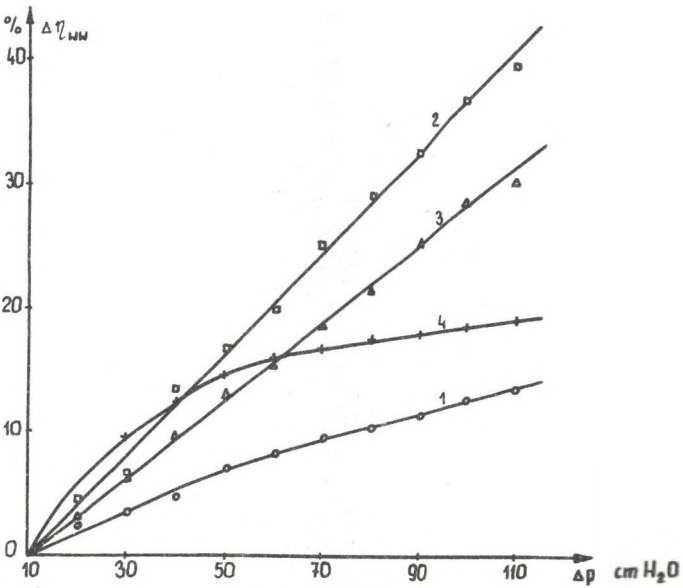
W grupie roztworów albumin, które poddano napromienieniu kobaltem Co-60 obserwuje się bezpośrednio po napromienianiu niewielki wzrost (ok. 3%) lepkości. Wyraźny natomiast jest wzrost szybkości narastania zmian i znaczny jest też wskaźnik podatności na zmiany (rys. 3 krzywa 1,2) i tabl. 1. ryc. 3 krzywa 1,2). Na odwrót, dla roztworu przechowywanego przez dalsze 21 godz. po napromienianiu lepkość wzrasta o ponad 8%, a szybkość narastania zmian i podatność spada nawet poniżej odpowiedniej wartości dla roztworu kontrolnego (rys. 3 krzywa 1,3). Oznacza to bezsprzecznie ustalenie się zmian strukturalnych wzbudzonych napromienianiem i usztywnienie nowej struktury.



Rys. 1. Wodne roztwory albumin i ich mieszanin z γ -globulinami
 1. 6% albuminy, 2. 8% albuminy, 3. 6% alb. + 1% δ -glob. 4. 6% alb. + 4%
 δ -glob.



a) $t = 20^\circ\text{C}$



b) $t = 37^\circ\text{C}$

Rys. 2. Wodne roztwory γ - globulin

1. 1% γ - globuliny, 2. 2.2% γ -globuliny, 3. 3% γ - globuliny
4. 4% γ - globuliny

Tabela 1

Zmiany prędkości narastania wskaźnika η_{sp} wraz ze zmianą naprężenia ścinającego i podatność na zmiany

Oznaczenie	Roztwór	Spadek lepkości dla $\Delta p = 30$ cm H ₂ O w%	Prędkość narastania v dla Δp w cm H ₂ O				Podatność $P_d - 37/20^\circ C$	
			20°C		37°C		30 cm H ₂ O	80 cm H ₂ O
			30	80	30	80		
r.I.1	6% Albuminy	30	5,5	0,2	~5	0,4	1,1	1,2
2	8% "	30	3,5	0,5	~9	0,4	1,7	1,5
3	6+1% Alb.+ γ -gl.	33	3,2	0,75	4,5	0,8	1,8	1,8
4	6+4% Alb.+ γ -gl.	33	1,6	0,7	2,9	0,5	2,-	1,5
r.II.1	1% γ -globuliny	21	12,-	0,8	1,8	1,-	0,2	0,3
2	2% "	28	11,-	0,5	4,1	4,1	0,6	1,8
3	3% /	31	2,3	2,3	3,2	3,2	1,4	1,3
4	4% "	32	1,4	1,4	4,8	0,6	3,3	1,8
r.III.1	6% Alb.-kontr	-			3,1	0,9	wzgl. kontroli	
2	6% " $\rightarrow C_{60}$	-2,6			4,8	1,3	1,6	1,4
3	6% " $\rightarrow CC_{20}$	-8,4			2,8	1,1	0,9	1,2
4	Surowica krwi	1	1,9	0,5			wzgl. 1:	
4	"	11	0,9	0,9			0,33	0,6
5	"	2	1,-	0,7				
5	"	2 ₂	31,6	-	2,1	1,-	1,7	1,7

Należy zauważyć, że podatność na zmiany nie odpowiada szybkości narastania zmian ani pod względem wartości, ani kierunkowości. Gdy porównuje się szybkości zmian i podatności przy niskich naprężeniach, to zdarza się, że najniższej szybkości odpowiada niekiedy największa podatność (tab. 1. r.I.1-4), a podobnym szybkościom zmian odpowiadają zgoła różne podatności (tabl.I.r.I.3, r.II.2 i 4 oraz r.III.2). Widoczny jest również brak jakiegokolwiek korelacji pomiędzy wartościami szybkości narastania zmian, wartościami podatności i procentowym spadkiem lepkości odnośnych roztworów. Świadczy to wyraźnie o tym, że wszystkie trzy wielkości są charakterystyczne dla danego roztworu, a więc, wszystkie trzy należy uwzględnić przy badaniu własności roztworów. Taka zależność powodowana jest prawdopodobnie tym, że podatność jest miarą łatwości podlegania zmianom - miarą stałości struktury. Natomiast szybkość narastania zmian zależy od podatności i od ilości istniejących "słabych struktur", mogących ulec zmianie przy danym naprężeniu. Lepkość w znacznej mierze jest funkcją zagęszczenia rozproszonych w rozpuszczalniku cząsteczek i dopiero w następnej kolejności zależy też od łatwości zmian i ilości zmieniających swe konformacje drobin. W pewnych jednak warunkach, te "wtórne" cechy roztworu

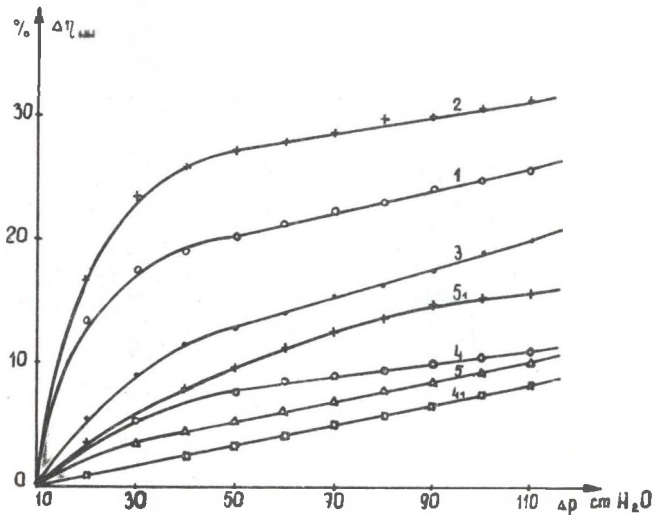
mogą zdecydować o wyraźnym wzroście lepkości. Potwierdza to zachowanie się napromieniowanych roztworów.

Przeprowadzone obserwacje pozwalają wysunąć następujące wnioski:

Proponowany wzorem (4) wskaźnik zmian struktury nadaje się do ogólnej oceny tych zmian ze względu na jego dość dużą czułość

Posługiwanie się tym wskaźnikiem uwidocznia pewne charakterystyczne własności roztworów, jak podatność na odkształcenia P_d i szybkość narastania zmian podczas przepływu v_g , a to oczywiście określa jakość roztworu.

Względne zmiany lepkości właściwej wskazują na różnice w zachowaniu się roztworów poddawanych pewnym czynnikom fizycznym, jak np. zagęszczanie, podwyższenie temperatury lub napromieniowanie, w sposób bardziej wyraźny niż same pomiary lepkości przy różnych naprężeniach.



Rys. 3. 1 - kontrolny 6% roztwór albuminy, 2 - ten sam roztwór po 47 godz. napromieniowaniu kobaltem Co-60, 3 - ten sam roztwór po napromieniowaniu i przechowaniu przez dalsze 21 godz.; temp. pomiaru 37°C. 4 - surowica krwi wypuszczono pacjenta chorego na zawał, 4₁ - surowica krwi tego samego pacjenta po leczeniu (1 tydzień), temp. pomiaru 20°C, 5 - surowica krwi - pomiar w temp. 20°C, 5₁ - ta sama surowica badania w temp. 37°C

LITERATURA

- [1] F. Haurowitz: *Chimia i funkcji białek*. wyd. "Mir", Moskwa 1965.
- [2] W.N. Cwietkow, W.Je. Eskin, S.Ja. Frenkel: *Struktura makrocząsteczek w roztworach*. W.N.T.W-wa 1968.
- [3] A. Einstein: *Ann.Physik*, 4,19,289,1906
- [4] A. Einstein: *Ann.Physik*, 4,34,591,1911.
- [5] G.J. Taylor: *Proc.Roy.Soc.A.* 138,31,1932.
- [6] E. Guth, R. Simha: *Kolloid, Z.* 74, 266, 1936.
- [7] R. Simha: *J.Phys.Chem.* 44,25,1940
- [8] H. Morawetz: *Makromolekuły w roztworze*. wyd. "Mir", Moskwa 1967, (tłum. s. angielskiego).
- [9] *Fizyczne metody badania białek i nukleinowych kwasów*. red. J. S. Łasurkin, wyd. "Nauka", Moskwa 1967.
- [10] F. Kumszaka, B. Turczyński: *Acta Physiol.Pol.* XIX,6,1968

RELATIVE CHANGES OF SPECIFIC VISCOSITY AS A FUNCTION OF STRUCTURE CHANGES OF PROTEIN SOLUTIONS

S u m m a r y

In the paper, an indicator of relative change in proper viscosity has been suggested to investigate the solutions while floating through capillaries.

By means of this indicator the speed of increasing changes in structure and the susceptibility to changes have been determined. On the example of several solutions it has been shown that the proposed indicator is sensitive enough to those changes evoked by various physical factors and indication of the there factors determines the solution more completely than the measurement if the proper viscosity.

ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОБСТВЕННОЙ ВЯЗКОСТИ
В ОТНОШЕНИИ К СТРУКТУРНЫМ ИЗМЕНЕНИЯМ РАСТВОРОВ БЕЛКОВ

Р е з ю м е

В работе было предложено пользоваться в исследованиях растворов во время их протекания указателем относительного изменения собственной вязкости $F \eta_{\text{wv}}$. При помощи этого указателя определяли скорость нарастания структурных изменений и податливость к изменениям. На примере нескольких растворов показано, что предлагаемый указатель является довольно чувствительным на эти изменения, которые были вызваны разными физическими факторами. Одновременная подача всех трёх величин описывает растворы более исчерпывающе, чем измерение собственной вязкости.