

Jacek WĄSIK¹ i Andrzej ŚLĘZAK²

¹ Zakład Fizyki Środowiska, Akademia im. J. Długosza w Częstochowie

42-200 Częstochowa ul. Armii Krajowej 13/15

² Zakład Biomedycznych Podstaw Kultury Fizycznej, Politechnika Częstochowska

42-200 Częstochowa ul. Armii Krajowej 19b

Charakterystyki czasowe strumienia objętościowego w 2-membranowej komórce dyfuzyjno-osmotycznej

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań nad strumieniem objętościowym w układzie 2-membranowym, zawierającym serię dwóch (M_l i M_r), ustawionych poziomo płaskich mikroporowatych i symetrycznych membran polimerowych (*Nephrophane* i *Cellulose IMP-1*). Membrany te rozdzielały trzy przedziały (l , m , r) zawierające niejednorodne i niejonowe roztwory binarne (wodne roztwory glukozy lub etanolu) lub ternarne (roztwory glukozy w $0,75 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ wodnym roztworze etanolu lub roztwory etanolu w $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ wodnym roztworze glukozy) roztwory nieelektrolitów. Stężenia roztworów spełniały warunek $C_k^l > C_k^m > C_k^r$. Przedział międzymembranowy (m) był infinitezymalną warstwą roztworu. Objętość przedziału m i przedziałów zewnętrznych (l i r) spełniały odpowiednio warunki $V_m \rightarrow 0$ i $V_l = V_r \rightarrow \infty$. Badania przeprowadzono dla konfiguracji A i B układu 2-membranowego. W konfiguracji A roztwór znajdował się pod membraną M_r , a woda pod membraną M_l , natomiast w konfiguracji B – ta kolejność była odwrotna. Otrzymane rezultaty badań zinterpretowano w kategoriach konwekcyjnej niestabilności, zwiększającej wartość współczynnika przepuszczalności dyfuzyjnej układu: warstwa graniczna/membrana/warstwa graniczna.

Wstęp

Opublikowane na początku lat 60-tych ubiegłego wieku przez Diamonda [3] i Currana [1] wyniki badań nad mechanizmem transportu wody przez błony nabłonkowe stanowią podstawę dla obecnego poglądu, że ów transport wody odbywa się w sposób bierny. Oznacza to, że bodźce potrzebne dla przepływu wody przez błony komórek nabłonkowych oddzielających identyczne roztwory wynikają z fizycznego ich powiązania z sumarycznym przepływem substancji rozpuszczonych. W 1962 roku Curren i McIntosh [2] przedstawili tzw. model błony podwójnej, który wyjaśnił wszystkie charakterystyki transportu biolo-

gicznego wody. Ów model wymaga istnienia dwu błon o różnych parametrach przenikania ułożonych w serię i rozdzielających roztwory o różnych stężeniach.

Przeprowadzone w latach następnych badania nad transportem substancji w tym układzie wykazały wiele jego ciekawych właściwości, szczególnie z biofizycznego punktu widzenia. Ponadto ów układ 2-membranowy wykazuje, charakterystyczne dla układów biologicznych, właściwości prostownicze. W oparciu o koncepcję transportu izoosmotycznego Ginsburg [4] opracował 2-membranowy model imitujący symplastyczny szlak wody w poprzek korzenia roślin. W 1967 roku Diamond i Bossert [5] przedstawili mechanizm izotonicznego transportu wody, który łączy podstawowe zasady modelu błony podwójnej i budowę anatomiczną różnych tkanek nabłonkowych.

Komórka biologiczna jest obiektem przestrzennym, w którym można tak dobrać elementy błony zewnątrzkomórkowej, aby były one do siebie równoległe i stanowiły układ 2-membranowy. Wśród wielu konfiguracji przestrzennych względem wektora natężenia pola grawitacyjnego można wyróżnić konfiguracje, w której elementy będą usytuowane w płaszczyznach horyzontalnych lub wertykalnych. W przypadku horyzontalnego usytuowania membrany (lub membran), siła grawitacji działa prostopadle do powierzchni membrany. Z kolei w przypadku wertykalnego usytuowania membrany (lub membran) siła grawitacji działa równoległe (stycznie) do powierzchni membrany. W związku z tym układ 2-membranowy możemy potraktować jako:

- 1) równoległe połączenie dwóch układów 1-membranowych, w którym roztwory rozdzielane przez membrany spełniają warunek $C_l < C_m > C_r$,
- 2) szeregowe połączenie dwóch układów 1-membranowych, w którym roztwory rozdzielane przez membrany spełniają warunek $C_l > C_m > C_r$.

We wszystkich przypadkach, jeśli roztwory rozdzielane przez membrany są pozbawione mieszania mechanicznego, każda z membran tworzących układ 2-membranowy ulega polaryzacji stężeniowej, polegającej na wytworzeniu po obydwu jej stronach, stężeniowych warstw granicznych. To stwierdzenie zostało poparte badaniami interferometrycznymi obszarów przymembranowych [6] oraz badaniami przepływów osmotycznych i dyfuzyjnych [8, 9].

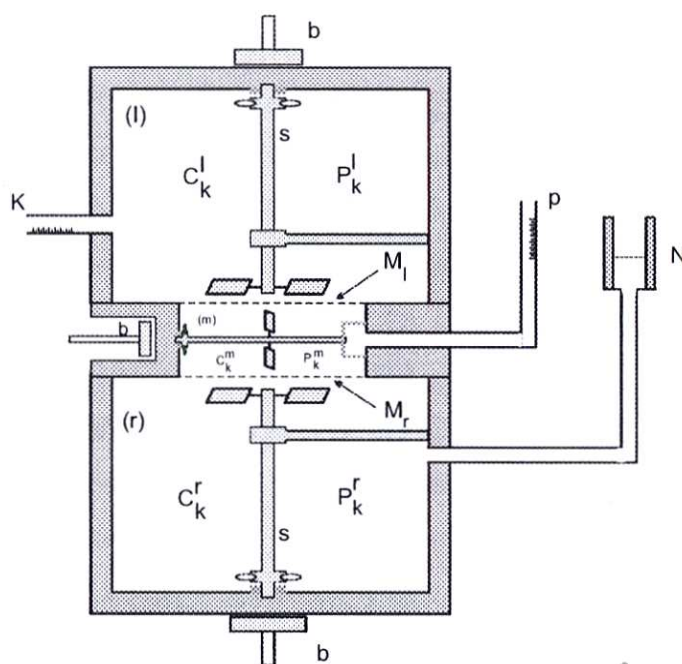
W obecnej pracy przedstawiono wyniki badań doświadczalnych i teoretycznych nad czasowymi charakterystykami strumienia objętościowego w układzie 2-membranowym, w którym dwie membrany polimerowe ustawione w płaszczyznach horyzontalnych rozdzielają trzy przedziały (l, m, r) zawierające niejednorodne dwu- i trójskładnikowe roztwory nieelektrolityczne. Stężenia roztworów spełniały warunek $C_k^l > C_k^m > C_k^r$. Objętość przedziału m i przedziałów zewnętrznych (l i r) spełniały odpowiednio warunki $V_m \rightarrow 0$ i $V_l = V_r \rightarrow \infty$. Badania wykonano dla konfiguracji A i B układu 2-membranowego. W konfiguracji A roztwór znajdował się pod membraną M_l , a woda pod membraną M_r , natomiast w konfiguracji B – ta kolejność była odwrotna.

Materiały i metody

Zestaw 2-membranowy, przedstawiony schematycznie na rysunku 1, składał się z trzech cylindrycznych naczyń l , m oraz r rozdzielonych membranami M_l i M_r o powierzchni $3,36 \text{ cm}^2$ każda. Naczynie l napełniano roztworem C_k^l , natomiast naczynie r we wszystkich eksperymentach napełniano czystą wodą. Naczynie m zawierało w chwili początkowej roztwór, którego stężenie było równe średniej arytmetycznej stężeń roztworów z przedziałów zewnętrznych (l , r). Do naczynia l podłączono wyskalowaną pipetę (K), a do naczynia r – rezerwuar zawierający czystą wodę. Manometr (p) służący do pomiaru ciśnienia hydrostatycznego P_m^i podłączono do naczynia m . Objętości naczyń zewnętrznych (l , r) były jednakowe i wynosiły $V_l = V_r = 350 \text{ cm}^3$, natomiast środkowego (m) – $V_m = 2,1 \text{ cm}^3$. Ponieważ ciśnienia hydrostatyczne w przedziałach zewnętrznych były jednakowe ($P_l = P_r$), więc różnica owych ciśnień była równa zero. Objętościowe przepływy osmotyczne zachodziły zawsze od naczynia r do l , natomiast przepływy substancji rozpuszczonych w kierunku przeciwnym, tj. od naczynia l do r . Objętościowy strumień osmotyczny (J_v^i) obliczano na podstawie wzoru:

$$J_v^i = \left(\frac{1}{S} \cdot \frac{dV}{dt} \right)_{\Delta P, \Delta C} \quad (1)$$

gdzie: dV — przyrost objętości w pipecie K zachodzący w czasie dt , S — powierzchnia membrany; $i = A, B$ odnosi się odpowiednio do konfiguracji A i B układu pomiarowego.



Rys. 1. Zestaw pomiarowy 2-membranowej komórki dyfuzyjno-osmotycznej (l , m , r — naczynia pomiarowe; N — zbiornik zewnętrzny roztworu; M_l i M_r — membrany; C_k^l , C_k^m , C_k^r — stężenia roztworów; P_k^l , P_k^m , P_k^r — ciśnienia mechaniczne; K — wykalibrowana pipeta; P — manometr; s — mieszałka mechaniczna; b — magnesy)

W konfiguracji A przedział górny 2-membranowej komórki dyfuzyjno-osmotycznej zawierał wodę, natomiast przedział dolny – badany roztwór. Z kolei w konfiguracji B przedział górny zawierał badany roztwór, natomiast dolny – wodę. Przeprowadzono dwie serie pomiarów. W pierwszej serii membrana M_l rozdzielała roztwory C_k^l i C_k^m , natomiast membrana M_r – roztwory C_k^m i C_k^r . W drugiej serii pomiarowej zamieniono kolejność ustawienia membran.

Badania przepływów objętościowych, których miarą jest strumień J_v^i w obydwu konfiguracjach grawitacyjnych układu 2-membranowego przeprowadzono według następującej procedury pomiarowej.

W pierwszym etapie wyznaczono charakterystyki $J_v^i(t)$ w warunkach równomiernego mieszania mechanicznego roztworów z prędkością ścinania 500 obr/min dla różnych stężeń roztworów. W drugim etapie owe charakterystyki wyznaczano w warunkach braku mieszania mechanicznego roztworów. Każdą serię pomiarową powtarzano 3–5 razy. Błąd względny popełniony przy wyznaczaniu J_v^i nie był większy niż 5%. Badania przepływów objętościowych w układzie 2-membranowym przeprowadzono w stałej temperaturze wynoszącej $T = (295 \pm 0.5)K$. Badania przepływów objętościowych przeprowadzono dla dwóch płaskich, symetrycznych i porowatych membran z octanu celulozy stosowanych w hemodializatorze zwojowym o nazwie *Nephrophane* i *Cellulose IMP-1*. Do badań użyto roztworów binarnych i ternarnych. Jako roztworów binarnych użyto wodnych roztworów glukozy, których gęstość rośnie ze wzrostem stężenia oraz wodnych roztworów etanolu, których gęstość maleje ze wzrostem stężenia. Roztworami ternarymi były roztwory glukozy w $0,75 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ wodnym roztworze etanolu oraz roztwory etanolu w $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ wodnym roztworze glukozy. W przeciwieństwie do omawianych roztworów binarnych, gęstość roztworów ternarnych może być mniejsza, równa lub większa od gęstości rozpuszczalnika. Wartości parametrów przenikania owych membran, tj. współczynników: przepuszczalności hydraulicznej (L), odbicia (σ_s) i przepuszczalności dyfuzyjnej (ω_{ks}) dla wodnych roztworów glukozy i/lub etanolu przedstawiono w tabeli 1 i 2.

Czasowe zależności strumienia objętościowego w układzie 2-membranowym

Na rysunku 2 przedstawiono typowe czasowe zależności strumienia objętościowego (J_v^i) w konfiguracjach A i B w układzie 2-membranowym na przykładzie wodnego roztworu glukozy o stężeniu $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Na rysunku 2 przedstawiono charakterystykę $J_v^i(t)$ dla $\Delta P = 0$. Wykres 1, wspólny dla obydwu konfiguracji, ilustrujący wyniki badań otrzymane w warunkach równomiernego mie-

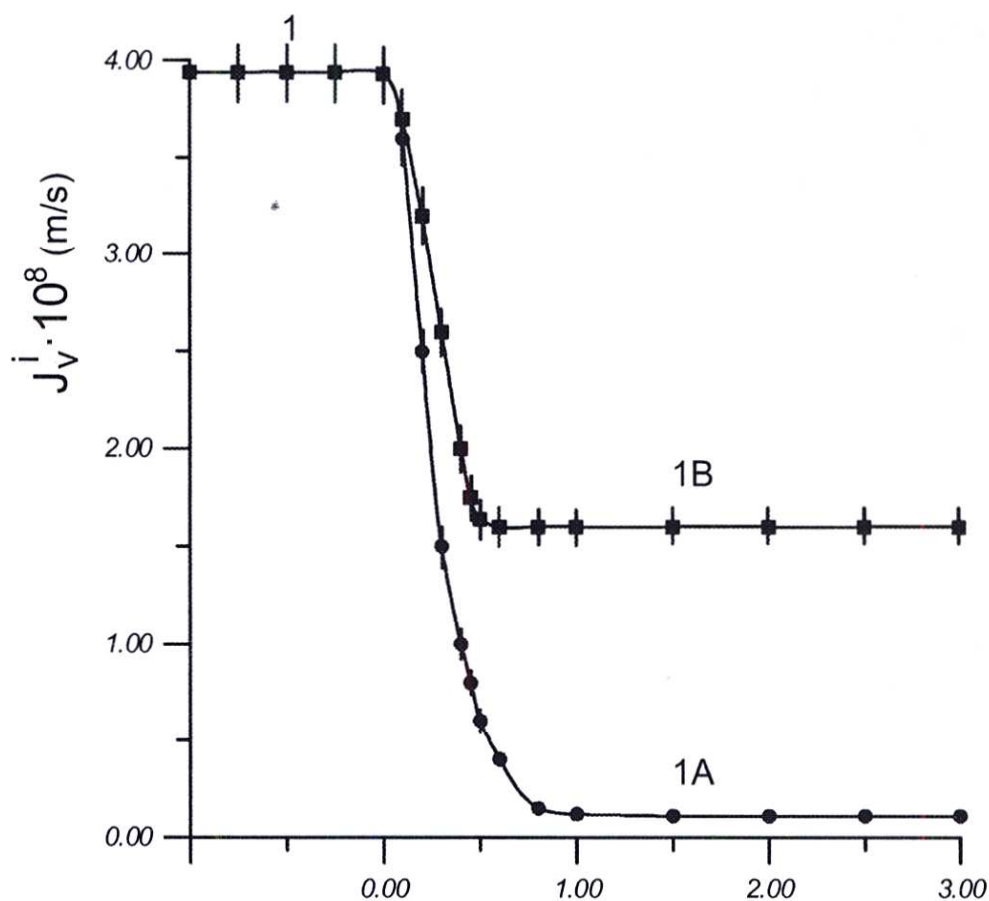
szania mechanicznego z prędkością 500 obr/min pokazuje, że J_v^0 przyjmuje wartość stałą niezależną od konfiguracji komórki dyfuzyjno-osmotycznej. Oznacza to, że podobnie jak w przypadku układu 1-membranowego siła grawitacji jednakowo wpływa na objętościowy przepływ osmotyczny w obydwu konfiguracjach układu 2-membranowego.

Tabela 1. Wartości parametrów transportowych płaskiej membrany dializacyjnej *Nephrothane* dla wodnych roztworów glukozy (indeks 1) i etanolu (indeks 2) [14]

| Współczynnik | Wartość współczynnika | |
|--|-----------------------|----------------|
| | Konfiguracja A | Konfiguracja B |
| $L_r \cdot 10^{12} [\text{m}^3 \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 5,0 ± 0,2 | 5,0 ± 0,2 |
| $\sigma_1 \cdot 10^2$ | 6,8 ± 0,2 | 6,8 ± 0,2 |
| $\sigma_2 \cdot 10^2$ | 2,5 ± 0,1 | 2,5 ± 0,1 |
| $\sigma_1^i \cdot 10^2$ | 0,24 ± 0,01 | 3,4 ± 0,1 |
| $\sigma_2^i \cdot 10^2$ | 1,00 ± 0,04 | 0,10 ± 0,01 |
| $\omega_{11} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 8,0 ± 0,3 | 8,0 ± 0,3 |
| $\omega_{22} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 2,00 ± 0,08 | 2,00 ± 0,08 |
| $\omega_{12} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 8,1 ± 3,5 | 8,1 ± 3,5 |
| $\omega_{21} \cdot 10^{12} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 1,63 ± 0,6 | 1,63 ± 0,60 |
| $\Omega_{11} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0,30 ± 0,04 | 4,0 ± 0,2 |
| $\Omega_{22} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 1,00 ± 0,06 | 0,06 ± 0,02 |
| $\Omega_{12} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0,85 ± 0,30 | 0,07 ± 0,05 |
| $\Omega_{21} \cdot 10^{12} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0,4 ± 0,3 | 4,0 ± 0,8 |

Tabela 2. Wartości parametrów transportowych płaskiej membrany dializacyjnej *Cellulose IMP-1* dla wodnych roztworów glukozy (indeks 1) i etanolu (indeks 2) [14]

| Współczynnik | Wartość współczynnika | |
|--|-----------------------|----------------|
| | Konfiguracja A | Konfiguracja B |
| $L_r \cdot 10^{12} [\text{m}^3 \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 1.6 ± 0,1 | 1.6 ± 0,1 |
| $\sigma_1 \cdot 10^2$ | 16.0 ± 0,5 | 16.0 ± 0,5 |
| $\sigma_2 \cdot 10^2$ | 7.9 ± 0,1 | 7.9 ± 0,1 |
| $\sigma_1^i \cdot 10^2$ | 0.70 ± 0,02 | 8.4 ± 0,2 |
| $\sigma_2^i \cdot 10^2$ | 3.9 ± 0,1 | 0.80 ± 0,02 |
| $\omega_{11} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 3.3 ± 0,1 | 3.3 ± 0,1 |
| $\omega_{22} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 1.50 ± 0,06 | 1.50 ± 0,06 |
| $\omega_{12} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 2.8 ± 0,1 | 2.8 ± 0,1 |
| $\omega_{21} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 2.0 ± 0,1 | 2.0 ± 0,1 |
| $\Omega_{11} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0.10 ± 0,01 | 1.40 ± 0,03 |
| $\Omega_{22} \cdot 10^{10} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0.50 ± 0,01 | 0.04 ± 0,01 |
| $\Omega_{12} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0.20 ± 0,01 | 2.0 ± 0,1 |
| $\Omega_{21} \cdot 10^{13} [\text{mol} \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$ | 0.40 ± 0,02 | 0.03 ± 0,01 |



Rys. 2. Czasowe zależności objętościowego strumienia osmotycznego J_v^i w warunkach: równomiernego mieszania mechanicznego roztworów (wykres 1) oraz w warunkach braku mieszania mechanicznego roztworów (wykresy 1A i 1B) dla konfiguracji A (wykres 1A) i B (wykres 1B) 2-membranowej komórki dyfuzyjno-osmotycznej

Po wyłączeniu mieszania mechanicznego roztworów w chwili $t = 0$, w przypadku konfiguracji A strumień J_v^A maleje i po upływie około 1 godziny osiąga wartość stałą, nieco większą od zera. Oznacza to, że w stanie ustalonym przepływu siła grawitacji prawie nie wpływa na objętościowy przepływ osmotyczny. Z kolei w przypadku konfiguracji B strumień J_v^B osiąga stan stacjonarny po upływie około 0,5 godziny i w stanie stacjonarnym jest 2-krotnie mniejszy w porównaniu ze strumieniem J_v^0 .

Wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że siła grawitacji wpływa w znaczny sposób na przepływ osmotyczny, a wynikiem tego wpływu jest tworzenie się po obu stronach membrany stężeniowych warstw granicznych. Wartości czasowych zależności strumienia objętościowego w układzie 2-membranowym zależą od rodzaju roztworów oraz od konfiguracji układu. W przypadku gdy roztwory są jednorodne, wartość strumienia objętościowego nie zależy od konfiguracji układu. Oznacza to, że siła grawitacji jednakowo wpływa na objętościowy przepływ osmotyczny. Natomiast w sytuacji gdy roztwory nie są jednorodne, tj. po obu

stronach membrany tworzą się warstwy graniczne posiadające właściwości pseudomembran, zauważamy gwałtowne zahamowanie procesów transportu. Dla konfiguracji A w stanie ustalonym następuje prawie całkowite zahamowanie strumienia objętościowego, a w konfiguracji B jest on około 2-krotnie mniejszy w porównaniu ze strumieniem wyznaczonym w warunkach jednorodności.

Literatura

1. Curran P.F., "Na, Cl and water transport by rat ileum in vitro", *J. Gen. Physiol.* 1960, **43**, 1137.
2. Curran P.F., McIntosh J.R., "A model system for biological water transport", *Nature* 1962, **193**, 347.
3. Diamond J.M., "The mechanism of water transport by the gall bladder", *J. Physiol. (London)*. 1962, **161**, 503.
4. Ginsburg H., "Model for iso-osmotic water flow in plant roots", *J. Theoret. Biol.* 1971, **32**, 17.
5. Diamond J.M., Bossert, W.H., "Standing-gradient osmotic flow: a mechanism for solute-linked water transport in epithelia", *J. Gen. Physiol.* 1967, **50**, 2061.
6. Kargol M., Dworecki K., "Interferometric studies of diffusive unstirred layers generated in graviosmotic systems", *Current Topics Biophys.* 1994, **18**, 99.
7. Ślęzak A., "Model equations of the volume transport of multicomponent and heterogeneous non-ionic solutions in double-membrane systems", *J. Biol. Phys.* 1998, **24**, 59.
8. Ślęzak A., "Model equations of the volume transport of multicomponent and heterogeneous non-ionic solutions in double-membrane systems", *J. Biol. Phys.* 1998, **24**, 59.
9. Ślęzak A., "Study of the solute flows of multicomponent and heterogeneous non-ionic solutions in double-membrane system", *J. Biol. Phys.* 2000, **25**, 235.
10. Ślęzak A., Waśnik J., "The volume flows of non-electrolyte solutions across a vertically mounted membranes in a double-membrane system", *Polish J. Med. Phys. & Eng.* 2000, **6**, 225.