

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

Aparatura i materiały:

Kolby próżniowe o pojemności 250 ml i 500 ml, mieszadło magnetyczne wraz z dipolem, pompa perystaltyczna z regulacją szybkości przepływu zaopatrzona w gumowe węże odprowadzające, zlewki o pojemności 0,8 l i 2 l, kuwety spektrofotometryczne, spektrofotometr umożliwiający pomiar absorbancji w zakresie VIS, pipety automatyczne o pojemności 1 ml oraz 5 ml wraz z odpowiednimi końcówkami, cylinder miarowy, stoper, roztwór wodno-metanolowy (1:1) błękitu brylantowego o stężeniu 6 mg/ml, woda destylowana

Wykonanie:

W ćwiczeniu zostaną wykonane pomiary w oparciu o dwa modele hydrauliczne, różniące się objętościami kolb stożkowych oraz szybkościami przepływu wody. Układ eksperymentu należy ustalić wspólnie z asystentem, zgodnie ze Schematem 1 lub Schematem 2:

Schemat 1:

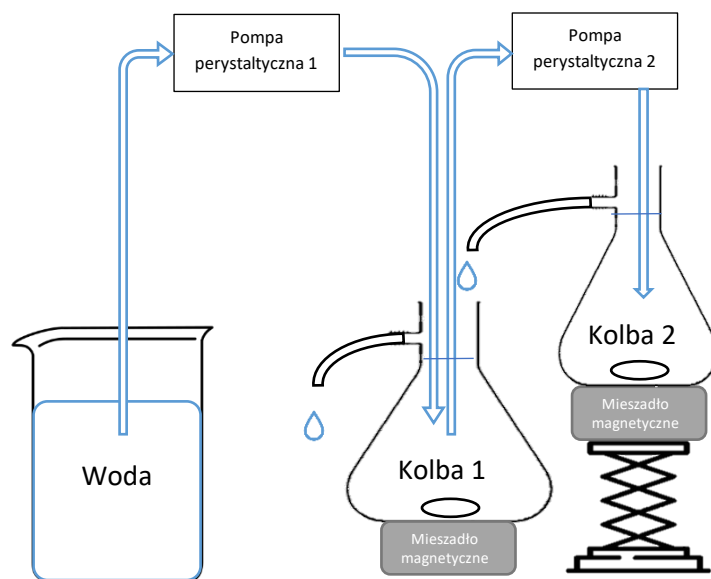
Nr	Objętość kolby 1 [ml]	Objętość kolby 2 [ml]	Szybkość przepływu pompy 1 [ml/min]	Szybkość przepływu pompy 2 [ml/min]
1	250	250	ok. 30	Ok. 60
2	250	250	ok. 60	Ok. 60

Schemat 2:

Nr	Objętość kolby 1 [ml]	Objętość kolby 2 [ml]	Szybkość przepływu pompy 1 [ml/min]	Szybkość przepływu pompy 2 [ml/min]
1	250	250	ok. 30	Ok. 60
2	250	500	ok. 30	Ok. 60

1. Przygotowanie stanowiska:

- a. Skonstruować zestaw do wykonania ćwiczenia zgodnie z następującym schematem na Rycinie 1
- b. Uwaga - węże pompy perystaltycznej powinny być głęboko zanurzone w zlewce oraz w kolbie.
- c. Wykalibrować spektrofotometr przy $\lambda = 580$ nm, stosując wodę jako próbkę ślepą.



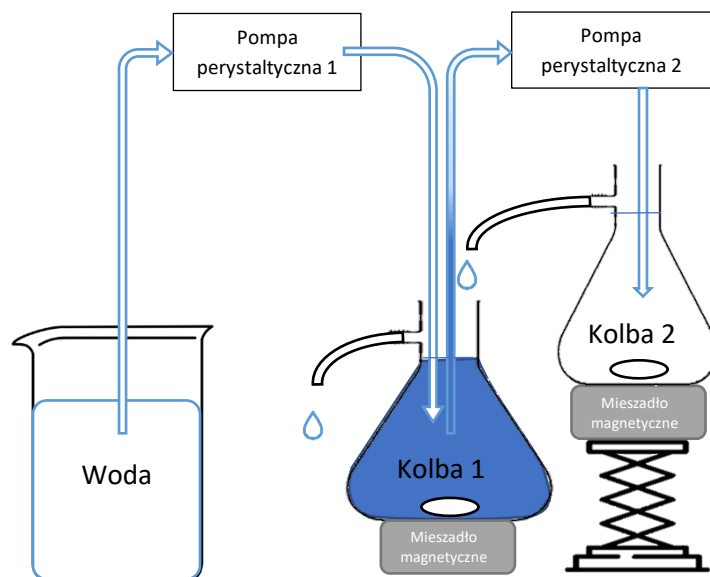
Rycina 1: Początkowy układ eksperymentu. Strzałkami zaznaczono przepływ wody w węzłach gumowych. Kolba 1 stanowi kompartment centralny, natomiast kolba 2 – kompartment peryferyjny (tkankowy).

2. Pomiar szybkości przepływu:

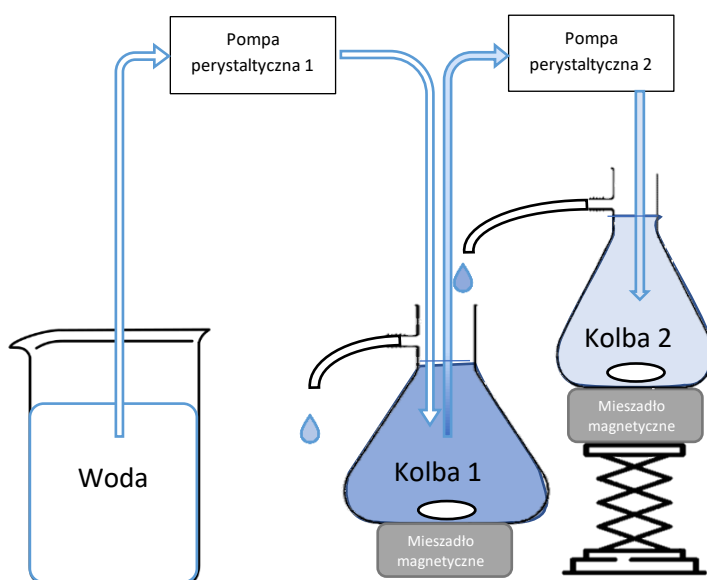
- a. Uruchomić mieszadła magnetyczne, ustawiając pokrętko na szybkość „5”.
- b. Uruchomić pompy perystaltyczne, ustawiając odpowiedni przepływ (ustawienia podaje asystent).
- c. Upewnić się, że woda jednostajnie wypływa z kolb stożkowych.
- d. Nie wyłączając, ani nie zmieniając ustawień pompy przystąpić do wykonania dalszej części ćwiczenia.

3. Pomiar kinetyki zmian stężenia błękitu brylantowego w czasie:

- a. Odmierzyć 1 ml roztworu błękitu brylantowego i dodać do Kolby 1, jednocześnie uruchamiając stoper. Zmiana zabarwienia wody w kolbach powinna przebiegać podobnie jak na Rycinie 2 i 3.



Rycina 2: Wygląd układu tuż po dodaniu błękitu brylantowego.



Rycina 3: Wygląd układu po upływie około 10 minut od dodania błękitu brylantowego.

- b. Pobierać próbki o objętości 3 ml (do probówek) z Kolb 1 i 2 w następujących punktach czasowych: 1, 2, 3, 5, 8, 10, 14, 17 i 20 min od momentu dodania błękitu.
 - c. Zmierzyć absorbancję próbek przy $\lambda = 580$ nm. Wyniki opisywać jako A_1 dla Kolby 1 oraz A_2 dla Kolby 2.
 - d. Po ostatnim pomiarze wyłączyć mieszadła i pompy, wylać zlewki i przygotować kolejny układ pomiarowy.
4. Wizualizacja danych i wstępna ocena wyników:
- a. U uruchomić w programie Microsoft Excel dedykowany skoroszyt.

- b. Wprowadzić uzyskane pomiary absorbancji.
 - c. Na podstawie podanego współczynnika kierunkowego krzywej wzorcowej przeliczyć absorbancję na stężenie błękitu brylantowego wyrażone w $\mu\text{g/ml}$ oraz sporządzić wykresy zależności $C = f(t)$ oraz $\ln C = f(t)$ dla obu kolb.
 - d. Omówić wyniki z asystentem.
5. Obliczenia parametrów wolnej fazy dyspozycji:
- a. Na podstawie wykresu półlogarytmicznego określić, które punkty leżące na terminalnym odcinku należy zaliczyć do wolnej fazy dyspozycji
 - b. Wykorzystując te punkty wyznaczyć linię regresji: $\ln C = \ln B - \beta \cdot t$
 - c. Stała β będzie liczbowo równa współczynnikowi nachylenia tej prostej.
 - d. Stała B będzie równa odlogarytmowanej wartości odciętej.
 - e. Wykorzystując parametr β oblicz $t_{0,5}$ dla wolnej fazy dyspozycji.
6. Obliczenia parametrów szybkiej fazy dyspozycji:
- a. Na podstawie wykresu półlogarytmicznego określić, które punkty leżące na początkowym odcinku należy zaliczyć do szybkiej fazy dyspozycji
 - b. Wykorzystując wcześniej wyznaczone parametry $\ln C = \ln B - \beta \cdot t$ obliczyć teoretyczne stężenia (C') w punktach czasowych szybkiej fazy dyspozycji.
 - c. Od stężeń rzeczywistych (C) odjąć stężenia teoretyczne (C'). Na podstawie powstałych punktów ($C - C'$) wyznaczyć parametry równania: $\ln(C - C') = \ln A - \alpha \cdot t$.
 - d. Stała α będzie liczbowo równa współczynnikowi nachylenia tej prostej.
 - e. Stała A będzie równa odlogarytmowanej wartości odciętej.
 - f. Wykorzystując parametr α oblicz $t_{0,5}$ dla szybkiej fazy dyspozycji.
7. Podsumowanie ćwiczenia:
- a. Jaki wpływ na szybkość dystrybucji i eliminacji leku z organizmu miały wprowadzone w eksperymencie zmiany?

2. Eksperyment 2:

Objętość kolby [ml]	Kolba 1 („kompartment centralny”)	Kolba 2 („kompartment tkankowy”)
Szybkość przepływu [ml/min]	Pompa 1:	Pompa 2:
Dawka [mg]		

Czas [min]	Czas [h]	A_c	C_c [μg/ml]	A_p	C_p [μg/ml]

3. Obserwacje dotyczące wykonanych wykresów $C = f(t)$:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

4. Parametry wolnej i szybkiej fazy dyspozycji

Parametr	Eksperyment 1	Eksperyment 2
β [1/h]		
B [mg/L]		
$t_{0,5 \beta}$ [h]		
α [1/h]		
A [mg/L]		
$t_{0,5 \alpha}$ [h]		

5. Wnioski:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Zaliczenie:

.....

.....

Podpis prowadzącego

Data