

Tematy scenariuszy realizowanych w trakcie zajęć na Pracowni Biofizycznej dla Uczniów

I. Luminescencja wokół nas

W otaczającym nas świecie często spotykamy się ze zjawiskiem świecenia (czyli emisji promieniowania widzialnego) różnych substancji i obiektów. Z reguły świecenie wymaga rozgrzania świecącego obiektu (ognisko, świeca, żarówka), jednakże zdarzają się przypadki emisji światła bez konieczności podgrzewania. Takie "zimne" świecenie, spowodowane różnymi czynnikami, nosi wspólną nazwę luminescencji. W trakcie warsztatów dowiemy się, jakie mogą być przyczyny emisji promieniowania przez różne substancje i jak możemy to zmierzyć. Wykład obejmuje następujące zagadnienia: falowa natura światła; absorpcja i emisja fotonów przez cząsteczki; stany wzbudzone cząsteczek; zasada działania spektrofotometru i spektrofluorymetru; koło barw, barwy dopełniające; zjawisko fluorescencji, fosforescencji, chemiluminescencji (w tym bioluminescencji), scyntytacji i tryboluminencji. Podczas warsztatów uczniowie będą mogli zaobserwować fluorescencję, fosforescencję, chemiluminescencję i tryboluminiscencję samodzielnie przygotowanych próbek. Ponadto - przy okazji chemiluminescencji zapoznają się ze stosowaną w kryminalistyce metodą wykrywania śladów krwi.

II. Związki i wskaźniki pH - czułe

Ustalenie warunków, w których możemy wykonywać eksperymenty, stanowi podstawę wszystkich badań prowadzonych w obrębie dziedziny biofizyki. Jednym z najistotniejszych parametrów, mających duży wpływ na przebieg oraz wyniki eksperymentów, jest pH środowiska, w którym są one przeprowadzane. Oznacza to, że większość związków, wykorzystywanych w trakcie eksperymentów, potrzebuje warunków o odpowiednim dla nich pH, dlatego tak ważne jest jego precyzyjne ustalenie. Dodatkowo, wiele z tych substancji, również takich, które możemy znaleźć w otaczającym nas Świecie, jest niezwykle czułe na zmianę pH środowiska, w którym się znajdują. Zmiana ta może polegać na zmianie barwy, przykładem jest kwas salicylowy, który pod wpływem alkalizacji staje się barwny. Zmiany zabarwienia możemy również obserwować w postaci zmian widm absorpcji (przesunięcia maksimum) w spektroskopii UV-Vis. Podczas wykładu zostanie wprowadzone pojęcie pH oraz sposoby określania pH. Uczniowie przypomną sobie podstawowe pojęcia związane z promieniowaniem elektromagnetycznym oraz zapoznają się z metodą spektroskopii UV-Vis. W trakcie ćwiczenia zastosujemy różne metody określania pH: za pomocą papierków wskaźnikowych, miernika pH, czy wskaźników syntetycznych i naturalnych zmieniających

barwę w zależności od pH. Zbadamy również wpływ zmiany pH środowiska na związki organiczne.

III. Jak promieniowanie elektromagnetyczne pozwala śledzić objekty i procesy niewidoczne dla oka – spektroskopia UV-Vis w badaniach cząsteczek biologicznych.

Spektroskopia to nauka o oddziaływaniu promieniowania elektromagnetycznego z materią. Służy do poznawania struktury mikroskopowej materii. W badaniach biofizycznych ogromne znaczenie odgrywa spektroskopia UV-Vis (ultrafiolet i światło widzialne) Promieniowanie z tego zakresu może być pochłaniane (absorbowane), a niekiedy ponownie wyświecane (emitowane) przez elektrony walencyjne cząsteczek. Na zajęciach przekonamy się jak to zjawisko można wykorzystać do badania oddziaływania (tworzenia kompleksu) witaminy (B2, ryboflawiny) ze specyficznym białkiem wiążącym ryboflawinę (w skrócie RfBP). Wykorzystamy pewną ciekawą właściwość witaminy B2. Otóż rozpuszczona w wodzie i oświetlona promieniowaniem z zakresu bliskiego ultrafioletu, wykazuje silne właściwości fluorescencyjne, które traci tworząc kompleks z białkiem RfBP. Podczas wykładu zostaną omówione następujące zagadnienia: - falowa i korpuskularna natura światła - zjawisko absorpcji i fluorescencji promieniowania elektromagnetycznego - zasada działania spektrofotometru i spektrofluorymetru - oddziaływania białko-cząsteczka Podczas warsztatów uczniowie zmierzą widma absorpcyjne i fluorescencyjne samodzielnie przygotowanych wodnych roztworów witaminy B2 i „białka” jaja kurzego, które zawiera białko RfBP. Sprawdzą jak zmienia się absorpcja i fluorescencja obu roztworów pod wpływem dodawania do nich kolejnych porcji stężonej ryboflawiny. Zaobserwują jaki wpływ na właściwości spektralne roztworów ma dodanie mocznika lub innego czynnika denaturującego.

IV. Krystalografia rentgenowska czyli jak wyznaczamy struktury przestrzenne białek

Zajęcia będą dotyczyły podstawowej metody wyznaczania struktur makrocząsteczek biologicznych z rozdzielczością atomową: krystalografii rentgenowskiej. Znajomość struktur białek ludzkich, a także bakteryjnych i wirusowych, z tak dużą dokładnością jest niezbędna by zrozumieć ich naturalną fizjologiczną funkcję. Pomaga zrozumieć procesy zachodzące w komórkach wszystkich żywych organizmów, przyczyny chorób i wspomaga projektowanie nowych leków. Wykorzystując interferencję i dyfrakcję promieniowania rentgenowskiego na kryształach cząsteczek, mierzy się obrazy rentgenograficzne kryształów. Na ich podstawie można obliczyć rozkład gęstości elektronowej wykrystalizowanej cząsteczki, by następnie wyznaczyć jej strukturę przestrzenną. W czasie wykładu zostanie wyjaśnione w jaki sposób powstają obrazy dyfrakcyjne (interferencja i dyfrakcja promieniowania na kryształach) i jak się je analizuje. Rentgenogram to układ „plamek”, w którym każdej z nich przypisuje się liczbę,



które charakteryzują ich rozmiar, intensywność oraz „miejsce” w którym nastąpiło odbicie promieniowania. Z tak uzyskanych liczb wylicza się rozkład gęstości elektronowej wykrystalizowanej cząsteczki, a następnie dzięki analizie i interpretacji gęstości elektronowej wyznacza się strukturę cząsteczki z dokładnością atomową. W czasie warsztatów uczniowie otrzymają mapę gęstości elektronowej (3D) wybranego białka i z pomocą prowadzących oraz specjalistycznego oprogramowania postarają się odtworzyć strukturę jego cząsteczki z gęstości elektronowej. Warsztaty w całości będą odbywać się przy komputerze.

V. Spektroskopowe oznaczanie stężenia barwników w produktach spożywczych

W dzisiejszych czasach dodatek barwników spożywczych do żywności jest tematem kontrowersyjnym. Niewątpliwie, substancje te sprawiają, że produkty stają się bardziej atrakcyjne dla konsumentów, ale czy są zdrowe? Naturalne barwniki, pochodzenia roślinnego, zwierzęcego czy mineralnego są powszechnie uznawane za bezpieczne. Najczęściej jednak do żywności, zwłaszcza do słodzonych, kolorowych napoi, dodawane są syntetyczne barwniki spożywcze, takie jak żółcień spożywcza czy błękit brylantynowy – w składzie produktu możemy je znaleźć pod postacią symboli zawierających literę E i trzycyfrową liczbę. Substancje te, spożywane w dużych ilościach, mogą negatywnie wpływać na ludzkie zdrowie: wywoływać reakcje alergiczne, ataki astmy czy nadpobudliwość. Dla wielu z nich zostało określone dopuszczalne dzienne spożycie.

Podczas wykładu zostaną omówione następujące zagadnienia: falowa natura światła, długości fali związane z poszczególnymi kolorami, absorpcja promieniowania przez substancje chemiczne, widma absorpcyjne i ich związek z barwą substancji oraz jej stężeniem, zasada działania spektrofotometru.

W trakcie warsztatów uczniowie przeprowadzą pomiary widm absorpcji samodzielnie przygotowanych roztworów wybranego barwnika syntetycznego (żółcień spożywczej, błękitu brylantynowego lub czerwieni koszenilowej) o różnych stężeniach. Na tej podstawie sporządzą krzywą kalibracyjną i wyznaczą stężenie tego barwnika w produktach spożywczych zawierających badany barwnik.

VI. Analiza związków odpowiedzialnych za barwę liści - czyli jak powstała chromatografia

Chlorofile nadają liściom zieloną barwę. W liściach występują też inne barwniki, których obecność możemy zaobserwować jesienią gdy chlorofile ulegają rozkładowi. Rozdziału tych barwników dokonano po raz pierwszy metodą chromatografii cienkowarstwowej.

Wykład obejmuje następujące zagadnienia: chromatografia jako technika rozdziału związków chemicznych, oddziaływania kapilarne, hydrofobowe i hydrofilowe, polarność cząsteczek,



zasady rozdziału substancji metodą chromatografii cienkowarstwowej, falowa natura światła, długości fali związane z poszczególnymi kolorami, zjawisko absorpcji promieniowania, widma absorpcyjne i ich związek z barwą substancji, barwniki naturalne występujące w roślinach. Podczas warsztatów uczniowie samodzielnie wyizolują barwniki z liści (np. mięty), przeprowadzą ich rozdział metodą chromatografii cienkowarstwowej i zidentyfikują na podstawie ich barwy i położenia na chromatogramie. Wykorzystując spektrofotometr zmierzają widmo absorpcyjne wyizolowanej mieszaniny barwników, a następnie przedyskutują związek widma absorpcyjnego z wrażeniami wzrokowymi.

