B 1886

UJ KONTAKTPOTENCIÁL MÉRŐMÓDSZER ÉS BIOFIZIKAI ALKALMAZÁSAI

Doktori értekezés

Gárgyán József

S z e g e d

1980

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS 1

I. A KONTAKTPOTENCIÁL KELETKEZÉSE ÉS MÉRÉSÉNEK FIZIKAI MÓDSZEREI 4

II. A REZGŐELEKTRÓDÁS MÉRŐMÓDSZER ISMERTETÉSE, A MÉRŐMÜSZER RÉSZLETES FELÉPITÉSE 18

1. Tervezési alapszempontok 18
2. A megépitett készülék részletes leirása 24
   a/ Mechanikai konstrukció 25
   b/ Váltóáramu erősitő 31
   c/ Sávszürő és fázisérzékeny detektor /lock-in erősitő/ 35
   d/ Meghajtó erősitő és tápegység 52
3. A készülék használata, hitelesitése 56

III. AZ UJ MÉRŐMÓDSZER BIOFIZIKAI ALKALMAZÁSAI 59

A kettősréteg potenciál 63
A kettősréteg potenciál szerepe membránfolyamatokban 65
a/ Módositott és módositatlan membránok elektromos vezetése 65
b/ Elektromosan töltött molekulák adszorpciója membránokon 66
A dipól potenciál 69
A dipól potenciál szerepe 71
A membránhoz kötött potenciálok biológiai jelentősége 73
A. Ingerelhető membránok áram-feszültség görbéi 73
B. Töltött lipidek eloszlása a biológiai membránban 74
C. Töltött lipidek áthatolása membránokon 75
D. Fluoreszcens próbák 75
E. Ozmózis nyomás kis vezikulumokban 76

Jozsef Attila Tudományegyetem Könyvtára SZEGED

Töltés szeparáció és transzport határfelületeken 76
Viz-olaj határfelület 77
Viz-levegő határfelület 79
Vezető felületen létrehozott vékony rétegek 80

ÖSSZEFOGLALÁS 82

IRODALOM 86

A KÉSZÜLÉK FÉNYKÉPE 91

B E V E Z E T É S

A biofizikai kutatások egyik főiránya a biomembránokon lejátszódó folyamatok vizsgálata. A biomembránok szerkezetét alapvetően egy lipid kettősréteg és az ehhez strukturálisan és funkcionálisan kapcsolódó fehérje molekulák határozzák meg. A membránok funkciójukat sajátos fehérje-lipid szerkezeti egységek közreműködésével végzik, amelyek megismerése nélkülözhetetlen a biológiai rendszerek müködésének molekuláris szintü megértéséhez.

A membránfolyamatok vizsgálatára mind élő, mind mesterségesen rekonstruált rendszerekben számos fizikai módszer alkalmazható. Ugyanakkor szerkezetvizsgálatok a membránok sajátos méreteiből adódóan rendkivül nehezen végezhetők. Különösen vonatkozik ez az élő rendszerekre, de a mesterségesen előállitott membránok, illetve modell rendszerek esetében sem sokkal kedvezőbb a helyzet. Ugyanis, a modellek szükségszerüen ultravékony objektumok, gyakran egy, vagy néhány molekula vastagságuak. Az ilyen vékony filmek szerkezetének, a felületükön, illetve a belsejükben lejátszódó folyamatok vizsgálatára olyan módszerre van szükség, amely nem az anyag nagy tömegének /bulk/ sajátságait, hanem felületi rétegének tulajdonságait érzékeli.

A fizikai kutatásokban régóta ismert a felületi sajátságok vizsgálatára a kontakt-, vagy Volta-potenciál jelenségén alapuló speciális módszer. Ezt a vizsgálati módszert hazánkban egyáltalán nem, külföldön is csak ritkán alkalmazzák biológiai kutatásokban. A módszer elterjedésének hiánya azzal magyarázható, hogy az eddig ismert kontakpotenciál méréstechnikák pontatlansága, gyakorlati megvalósitásuk nehézségei, illetve az objektumot kárositó ionizáló sugárzás alkalmazása nem tette lehetővé, hogy a módszert biológiai kutatásokban alkalmazzák.

A disszertációban biológiai anyagokon elvégezhető, kontaktpotenciál mérésen alapuló vizsgálati lehetőségeket kivánjuk bemutatni egy általunk tervezett és épitett rezgőelektródás mérőberendezéssel.

Célul tüztük ki, hogy az uj készülékben mind a mechanikai, mind a felhasznált elektronikus alkatrészek /tranzisztorok, integrált áramkörök/ a jelenlegi legmagasabb szinten legyenek. Ezáltal létrejöjjön a régi elv felhasználásával egy olyan uj készülék, mellyel korszerü, a mai biofizikai kutatások igényeit magas szinten kielégitő méréseket lehet végezni.

A készülék kifejlesztését az is szükségessé tette, hogy hasonló készülék ezideig sem nálunk sem külföldön kereskedelmi forgalomba nem került. Az egyes kutatóhelyeken létrehozott példányok egyedi fejlesztés eredményei, melyek az adott kor tudományos-technikai szinvonalát tükrözik, illetve kialakitásukban a megoldandó mérési feladat is meghatározó volt.

Hangsulyozzuk, hogy az alkalmazások során emlitett néhány példa csak töredéke a mérőmódszer alkalmazhatóságának. Megemlitjük, hogy itt ugyancsak biológiai vizsgálatokat ragadtunk ki, de a módszer a félvezető kutatásban és gyártásban éppen ugy alkalmazható, mint pld. korrózió vizsgálatoknál, a gyógyszeriparban, vagy a vegyiparban.

A disszertáció első részében a regzőelektródás kontaktpotenciál-mérés fizikai alapjait, a másodikban a müszer felépitését, a harmadikban a müszer biológiai alkalmazásának lehetőségeit ismertetjük.

I. A kontaktpotenciál keletkezése és mérésének fizikai módszerei

Két különböző anyag összeérintésekor az egyik anyagban pozitiv a másikban negativ töltések halmozódnak fel. A kétféle elektromos töltés szétválasztására ezenkivül lehetőség van még pl. dörzsölés utján, vagy ha már rendelkezésre áll egy elektromos töltésü test, influencia utján. A "dörzsölési elektromosságnál" alapvetőbb és az elektromosságtan fejlődésében is igen nagy szerepet játszott az érintkezési elektromosság, amely két különböző fajta anyag összeérintésekor nyilvánul meg. Az ilyenkor lejátszódó folyamatokat célszerü az érintkező anyagok természetéből függően több csoportra osztani.

Ha szigetelők érintkeznek, és az érintkezés molekuláris szinten zajlik le /pl. paraffingolyó vizbe meritése/ ilyenkor a két anyag kb. 10^{-8} cm távolságra közeliti meg egymást. A töltések szétválása már az érintkezéskor létrejön: a molekuláris természetü, közelebbről nemigen ismeretes "töltésszétválasztó erők" hatására az egyik testről töltéshordozók /elektronok, esetleg ionok/ jutnak

a másik test felületére mindaddig, amig az ezáltal keletkező elektromos tér a további odajutást meg nem akadályozza. Igy az érintkezési felület mentén kialakul egy +Q, $^{-}$Q töltésü elektromos kettősréteg, ennek megfelelően a két anyag között fennáll egy igen rövid erővonalakkal biró elektromos tér és bizonyos V_e érintkezési feszültség /"kontaktpotenciál"/. Ez a feszültség, amelynek mérése szigetelők esetén a legnagyobb nehézséget jelenti a becslések és közelitő mérések szerint 1 V nagyságrendü.

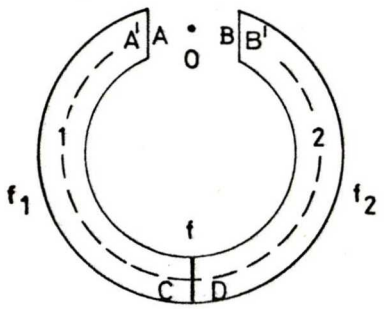
Szilárd test és folyadék között az érintkezés szoros, két szilárd test esetében azonban az elektronok nagyobb számban való átjutásához szükséges benső érintkezést csak a két test összedörzsölésével lehet biztositani. A "dörzsölési elektromosságnál" tehát a dörzsölésnek csupán másodlagos szerepe van, t.i. az érintkezést segiti elő. Hogy az összedörzsölt testek pl. ebonit és szőrme szétválasztása után az érintkezéskor közvetlenül keletkező 1 V nagyságrendü feszültség helyett 10^4 - 10^5 V feszültség is felléphet, annak az az oka, hogy a szétválasztás folytán az eredetileg 10^{-8} cm hosszu erővonalak igen nagymértékben meghosszabbodnak.

Ilyenkor a töltések száma nem változik, a kapacitás viszont lecsökken, szükségszerüen a feszültség tetemesen megnövekszik.

Szigetelő és fém érintkezésénél a fém mutatkozik pozitiv töltésünek, ami annak tulajdonitható, hogy a fémek szabad elektronjaikat aránylag könnyen leadják.

Fémek érintkezése esetén az érintkezési feszültség fellépését a Volta-féle kisérlet bizonyitja: Szigetelő nyélre erősitett sima rézlemezt és cinklemezt kapcsoljunk össze elektrométerrel. Ha a lemezeket összeérintés után szétválasztjuk az elektrométer kitér. Ez a kitérés tanusitja, hogy a cink feltöltődött, előjele pozitiv lett. A lemezek felcserélésével kimutathatjuk, hogy a réz negativ töltéshez jutott. A feltöltődés korpuszkuláris szempontból annak felel meg, hogy az érintkezésnél a cinkről elektronok mennek a rézre, amig csak az igy keletkező érintkezési feszültség további átjutásukat meg nem akadályozza. A kisérletben azonban az elektrométer nem az érintkezési feszültséget jelzi, - ez csak 1 V nagyságrendü - hanem a szétválasztással járó erővonal széthuzás miatt megsokszorozódott feszültséget.

Figyelembe kell vennünk, hogy az egymással érintkező 1 és 2 fémek /1. ábra/ egyuttal valamilyen szigetelővel 0 /pl. levegő/ is érintkeznek.



1. ábra

A három válaszfelületnek /f; f_1; f_2/ megfelelően három kettősréteg és három érintkezési feszültség alakul ki: 1 és 2, 0 és 1, 0 és 2 között rendre U_{12}, U_{o1}, U_{o2}. Az U_{12} azaz a két fém belseje között /az ábrán pl. az A' és B' pontok vagy a C és D pontok közt/ az egynsuly esetén fennálló potenciálkülönbség az 1 és 2 közti Galvani feszültség:

$$U_{G,12} = U_{12}$$

Ettől általában különbözik az a feszültség, amely az 1, illetve a 2 fém felületéhez közvetlenül közel /$\sim 10^{-4}$ cm távolságban/ a szigetelőben felvett A és B

pontok közt jön létre. Nevezetesen, pl. a szaggatott vonal mentén A-tól B-ig haladva, az f_1, f és f_2 felületek átlépésekor rendre U_{01}, U_{12}, U_{20} potenciálesés lép fel, s igy a szóbanforgó feszültség, az 1 és 2 közti Volta feszültség /Volta-potenciál/

$$U_{V_{12}} = U_{01} + U_{12} + U_{20}$$

A fémek érintkezése folytán a szigetelőben keletkező elektromos erőtérre a Volta feszültség a mérvadó és a "kontaktpotenciálon" rendszerint ezt a feszültséget értik. A Galvani-feszültség és a Volta-feszültség értelmezéséből várhatóan mindkettő az érintkező fémek anyagi minőségétől és a hőmérséklettől, a Volta-feszültség ezenkivül még a környező szigetelő minőségétől is függ.

A Galvani-feszültség közvetlenül nem mérhető, a Volta-feszültség mérése viszont több módon is lehetséges /pl. kondenzátormódszerrel/.

A fémeket és néhány más, hasonlóan viselkedő vezetőt VOLTA nyomán u.n. feszültségi sorba lehet osztani. Az ilyen Volta-féle feszültségi sor, pl. az

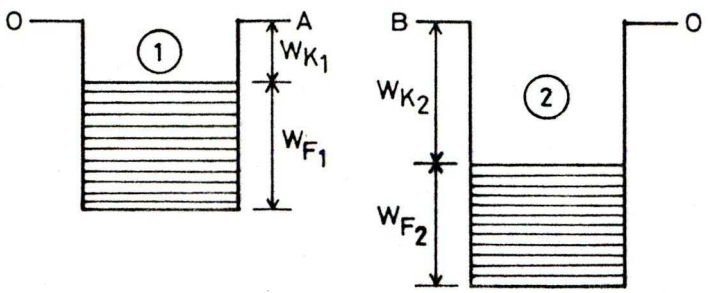
/+/aluminium-cink-ólom-ón-antimon-bizmut-vas-réz--ezüst-arany-platina-szén-barnakő/-/

sor két tagjának érintkezésekor az előbb álló lesz pozitiv /a Volta-feszültség szempontjából/. Megjegyzendő, hogy a Volta-feszültség erősen függ a felületek állapotától is. Az adszorbeált rétegektől igen gondosan megtisztitott és vákuumban levő fémek közti Volta-feszültség - amelynek mérésére és értelmezésére még visszatérünk - általában kisebb, mint ha a fémek normális páratartalmu levegőben vannak.

A feszültségi sorra fennáll Volta törvénye: a sor két tagja közti Volta-feszültség /és a Galvani feszültség is/ független attól, hogy a két tag közvetlenül vagy akárhány más tag közbeiktatásával érintkezik-e egymással, feltéve, hogy valamennyi érintkezési hely egyenlő hőmérsékletü.

A fémeket, illetve általánosabban a Volta-törvénynek eleget tevő vezetőket - a fémes vezetőket - elsőfaju vezetőknek hivjuk.

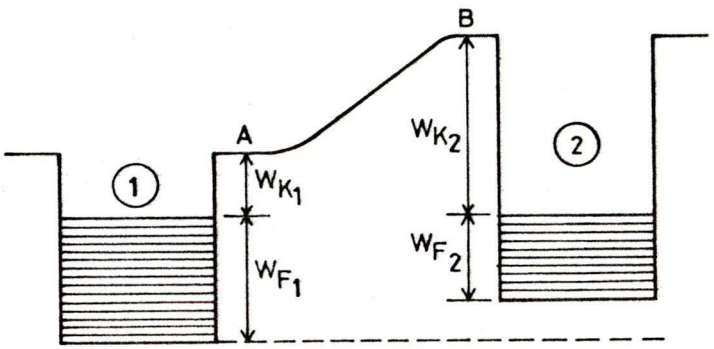
A Volta és Galvani feszültség létrejöttét általánosabban értelmezhetjük a potenciálkád modellel. Az érintkezés előtt a két fémnek - Fermi energiájuk W_{F_1} és W_{F_2}, kilépési munkájuk W_{K_1} és W_{K_2} - a 2. ábrán vázolt potenciálkádak felelnek meg,



2. ábra

ha a 00 zérusnivóként a külső térben levő /pl. az 1. ábra 0 pontjában képzelt/ elektron potenciális energiáját választjuk. Az összeérintés után a magasabb Fermi-nivóval rendelkező, azaz nagyobb maximális energiáju elektronokat tartalmazó 1 fémből elektronok mennek át a 2 fémbe mindaddig, amig a két Fermi-nivó ugyanabban a magasságban nem lesz. Ez a dinamikus egyensulyi állapot azonban nem ugy alakul ki, hogy az 1 fémből igen sok vezetési elektron megy át a 2-be, hanem már aránylag kevés elektron átjutása folytán elegendő pozitiv, illetve negativ töltést nyer az 1, illetve 2 fém ahhoz, hogy energianivóik rendszere eltolódjék a két Fermi-nivó az egész bal oldali potenciálkád sullyedése és a jobb oldali kád emel-

kedése révén - az érintkezés előtti Fermi energiák és kilépési munkák lényeges megváltozása nélkül - ugyanabba a magasságba kerül. /3. ábra/



3. ábra

Ekkor viszont, mint az ábráról leolvasható, az elektron B és A pontokhoz tartozó potenciális energiájának különbsége $W_{K_2} - W_{K_1}$ következésképpen a 2 és 1 fémek közötti /az ábra esetében negativ/ Volta-feszültség vagy Volta-potenciál a kilépési munkák különbségének és az elektron/-e/ töltésének a hányadosa:

$$U_{V,21} = - \frac{1}{e} /W_{K_2} - W_{K_1}/$$

Az ábráról látható továbbá, hogy a 2 potenciálkád feneke az 1-énél $/W_{F_1} - W_{F_2}/$-vel magasabban

van, azaz ennyivel nagyobb az elektron potenciális energiája a 2 fém belsejében, mint az 1-ében. Ennek megfelelően a 2 és 1 fémek közötti /az ábra esetében negativ/ Galvani feszültség vagy Galvani potenciál a Fermi energiák különbségének és e-nek a hányadosa:

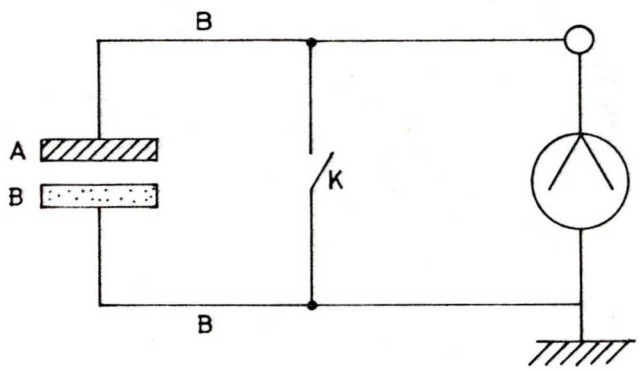
$$U_{G,21} = \frac{1}{e} /W_{F_2} - W_{F_1}/$$

A Volta-feszültség tehát a test /közeg, fázis/ közvetlen közelében, de azon kivül megvalósuló u.n. külső potenciálok különbsége. A külső potenciál szoros kapcsolatban áll a felületi határréteg szerkezetével, igy a felületen bekövetkező változások, mint pl. adszorpció, filmképződés, elektromos feltöltődés, stb. közvetlenül mérhetők mint a külső potenciálok, ill. a Volta-feszültség különbsége. Ezt különösen azért fontos megjegyezni, mert biológiai objektumok tanulmányozása során szinte kivétel nélkül ilyen változásokat vizsgálunk.

Méréseinkben vagy membránokat, illetve azok fragmentumait visszük fel egy vezető /fém vagy félvezető/ felületére és a hordozó /szubszrát/ felületi potenciáljában bekövetkező változásokat regisztráljuk /55/, vagy viz-levegő, illetve viz-olaj fázishatárokon képezünk modell rendszereket és az ezeken

bekövetkező potenciálváltozásokat mérjük /18/, /19/, /20/.

A Volta-feszültség mérésére az egyik legismertebb módszer az u.n. kondenzátormódszer. A módszer elvét a 4. ábra tünteti fel.

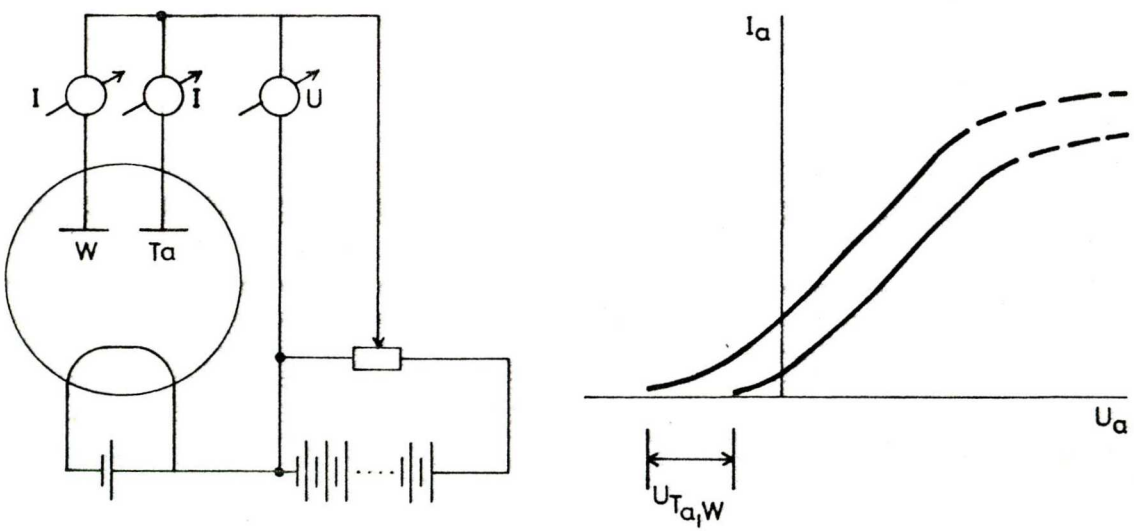


4. ábra

Az egymáshoz közel elhelyezett A és B fémlemezek /pl. cink és réz/ ismert C_1 kapacitásu kondenzátort képeznek, az összekötő vezetékek mind a B anyagból valók. Ha a K kapcsolót zárjuk, majd /az elektrométer nulla állásának leolvasása után/ nyitjuk, az A és B lemezek közt kialakult U_V Volta-feszültségnek megfelelően az /A, B/ kondenzátoron $Q = C_1 U_V$ nagyságu töltés halmozódik fel. Ha most /A, B/ kapacitását C_1-ről a lemezek szét-huzásával C_2-re csökkentjük, a feszültség megnövek-

szik a vezetékekkel együtt C_o kapacitásu elektrométer U feszültséget mutat, A és B közt pedig a feszültség $U + U_V$. Igy a változatlan nagyságu Q töltésre most fennáll: $Q = C_2/U + U_V/ + C_oU = C_1U_V$ és ebből az egyenletből U_V kiszámitható. Ezt a módszert alkalmazzuk némileg módositva, korszerü szinvonalon a disszertáció II. fejezetében az uj mérőmüszer kifejlesztésére. Nagy előnye, hogy kompenzált állapotban a mintát nem terheli, ezért különösképpen alkalmas biológiai rendszerekben történő vizsgálatokhoz /7/.

A másik alkalmazott módszer az 5. ábrán van vázolva.



5. ábra

SZEGED

A szimmetrikus felépitésü kettős dióda két anódjaként a kérdéses két fémet, pl. Wolframot és tantált alkalmazva, megmérjük a két anódáramot, mint a külső U feszültség függvényét.

A felvett két karakterisztika között mutatkozó kis eltolódás éppen a keresett Volta-feszültség, pl. $U_{Ta,W} = +0,55$ V. A tantálanód esetében a valóságos anódfeszültség ennyivel nagyobb, és ezért ugyanakkora U mellett az anódáram is nagyobb, mint a wolframanód esetében. A Volta-feszültséget és az egyik fém kilépési munkáját ismerve meghatározható a másik fém kilépése munkája.

pl. $W_{Ta} = W_W - e\,U_{Ta,W} = 4,65\text{eV} - 0,55\text{eV} = 4,10\text{eV}$

Ez a módszer sem alkalmas biológiai minták vizsgálatára, azonkivül nehézkes és pontatlan is.

Szélesebb körben alkalmazható az ionizációs elektróda segitségével történő potenciálmérés /15/, /16/, /17/. Itt a mérendő minta feletti gáz teret radioaktiv anyaggal /általában α - forrás, ionizáljuk, ezáltal elektromos kontaktust teremtünk /amely azonban nem rombolja el a mintát/ a minta és a mérőelektród között. Az elektródák közötti feszültség egy nagy bemeneti ellenállásu voltmérővel mérhető. A módszer hátránya, hogy nagyon sok biológiai mintát a sugárzás károsan befolyásol.

A kontaktpotenciál mérésére legáltalánosabban használható a rezgőelektródás módszer. Ez lényegében a kondenzátormódszer korszerü továbbfejlesztett változata. Korábbi alkalmazását hátráltatta, hogy a készülék megépitésekor igen bonyolult mechanikai és elektronikai problémákat kell megoldani. A módszer előnye viszont, hogy nincs káros hatással a mintára, és az elérhető pontosság, stabilitás is nagyobb, mint a már emlitett valamennyi módszer esetében.

A legnagyobb problémát ennél a módszernél a kis mérőkapacitást terhelő szórt kapacitások okozzák. Ez zavaró mérési hibákhoz, egyes esetekben az érzékenység csökkenéséhez vezet.

A szórt kapacitások által okozott alapvonal eltolódási problémákkal sokan foglalkoztak /2/, /3/, vagy a csökkentés vagy a kompenzálás utján /8/, /9/, /10/. Mások az eddig nehézkes rezgőelektróda meghajtás problémáját próbálták tökéletesiteni, ettől várva a módszer további javulását /11/. Mindezen próbálkozások alapján megkonstruált készülékek nem biztositották az általunk elvégezni kivánt mérésekhez szükséges hosszuidejü stabilitást és érzékenységet.

A különböző módszerekkel kapott potenciálértékeket összehasonlitva ugyanazt az eredményt kapjuk, természetesen az adott módszer által elérhető pontossággal /6/.

II. A rezgőelektródás mérőmódszer ismertetése, a mérőműszer részletes felépitése.

1./ Tervezési alapszempontok

A kontaktpotenciál meghatározásához összehasonlitó mérést kell elvégeznünk, melynek során meghatározzuk a vizsgált anyag, valamint a referenciaként felhasznált anyag közötti potenciálkülönbséget. Rendszerint a vizsgálandó anyag, valamint egy arany, vagy platina /esetünkben Pt/ rezgő lapocska képezi a mérés elvégzéséhez szükséges sikkondenzátort. A kilépési munkák közti különbségből követően potenciálkülönbség lép fel, amely egyenlő:

$$V_K = \frac{1}{e} /W_{Pt} - W/$$

W_{Pt} - a viszonyitási elektród kilépési munkája

W - a vizsgált anyag kilépési munkája.

Ha a sikkondenzátor kapacitását periódikusan változtatjuk és ez a kondenzátor V_K feszültségre van feltöltve, akkor a két fegyverzetet összekötő vezetékben váltakozó áram folyik,

amelynek értéke

$$I = U \frac{dc}{dt}$$

Sikkondenzátor esetében a kapacitás a

$$C = \varepsilon \frac{F}{d}$$

kifejezéssel adható meg, ahol

d - a lemezek közötti távolság,

F - a fegyverzetek felülete,

ε - a dielektromos állandó.

Ha a lemezek közötti távolság periódikusan változik egy d_o érték körül, akkor

$d = d_o + A \sin Bt$, akkor a fellépő áram

$$I = - U \cdot \varepsilon \cdot F \cdot A \cdot B \cos Bt \frac{1}{d^2}$$

A - rezgési amplitudó,

B - rezgési frekvencia.

Látható, hogy a fellépő váltóáram amplitudója arányos a potenciálkülönbséggel U. Az ilyen mérési elrendezés érzékenysége egyenesen arányos a rezgő elektróda felületével F. A másik

elektróda felülete azért nem lényeges, mert az általában végtelen nagynak tekinthető a rezgőelektródáéhoz képest. Az F felület növelésének azonban vannak gyakorlati korlátai. Tekintettel arra, hogy ha a rezgésben tartott Pt lemezke felülete nő, annak tömege is nő, ez pedig szükségszerüen a megvalósitható rezgési frekvencia csökkenéséhez vezet, véges erőforrásokat feltételezve a rezgés fenntartásához. A frekvenciacsökkenés pedig az áramot ugyancsak csökkenti, mivel a fenti kifejezésben az áram a frekvenciával B is egyenesen arányos. Forditottan arányos viszont az áram a lemezek közötti távolság négyzetével d. Ezt a távolságot szilárdfázisu minta esetén lehet és kell is csökkenteni a mérési pontosság növelése érdekében. Ha azonban a mintánk folyadékfelszinen uszik, mint az a monomolekuláris filmek esetében általában, akkor a rezgőelektróda nem közelithető végtelenül a felülethez, mert a felület és a folyadékhordozó közti levegő a folyadék felszinén hullámokat kelt. Ez pedig lerontja a mérés stabilitását, mivel a hullámfelület a d távolság periódikus megváltozását eredményezi. Némileg javit a helyzeten az a tény, hogy a rezgő elektróda

alatti felületen az elektróda integrálja a kontaktpotenciált és a fellépő hullámzás centruma a rezgőelektróda geometriai közepe alatt van, mindazonáltal tapasztalataink azt mutatják, hogy a maximális mérési feloldás elérése érdekében lehetőleg kerülni kell a felszini hullámok képződését.

Zisman-nél /1/ a kondenzátor lemezei a két vizsgálandó fémből álltak. Szilárdfázisu biológiai minták esetén az egyik elektród lehet egy vezető üveglapka, melyen bepárlással képződik a biológiai minta, a másik elektród pedig a rezgő Pt lapka. Folyadékfelszinen történő vizsgálat esetén, ha a folyadék elektrolit, a mérőkondenzátor egyik fegyverzete a monomolekuláris réteget usztató folyadékfázis, melyhez a kapcsolatot a folyadékba meritett nagyfelületü inert elektród, vagy kalomel elektród biztositja, a másik elektród pedig a rezgő Pt lemezke. Ha az usztató folyadék dielektromos állandója nagyon kicsi /szigetelő/ akkor a d távolság a rezgőelektróda és a folyadékban lévő szubsztrátelektróda közötti távolság lesz. Tapasztalataink szerint optimális d érték 0,5 mm, a rezgési amplitudó

pedig 0,05 - 0,1 mm. Ha a rezgő elektróda átmérőjét 18 mm-re választjuk /ekkora elektróda még előállitható vékony fóliában/ a rezgési amplitudót pedig kb. 200 Hz-en biztositani tudjuk, akkor az 1 V kontaktpotenciál-változásra előálló váltóáram amplitudója:

$$I_o = - U \cdot \varepsilon \cdot F \cdot A \cdot B \cdot \cos Bt \; \frac{1}{d^2} =$$

$$= - 1 \cdot 8{,}9.10^{-12} \cdot 81.10^{-6} \cdot 5.10^{-5} \cdot 200 \cdot \frac{1}{25.10^{-8}} = - \underline{3.10^{-9} \; A}$$

Látható, hogy 1 mV potenciálváltozás követéséhez, méréséhez 10^{-12} A nagyságrendü váltóáramok mérésére van szükség. Ez pedig egyáltalán nem egyszerü dolog, az áramerősitő visszacsatoló ellenállásának szórt kapacitása következtében fellépő sönthatás miatt, mivel 200 Hz frekvencián már 1 pF megfelel egy 8.10^8 ohm ellenállásnak. Viszont 10^{-12} A áram méréséhez, ha az árammérő visszacsatoló ellenállását 10^8 ohm-ra állitjuk be, akkor a kimenőfeszültség amplitudója még mindig csak 10^{-12} A . 10^8 ohm = 10^{-4} V lesz, azaz 100 μV nagyságrendü.

A nagyobb rezgési frekvencia azért is előnyös, mert az kiküszöböli a rendszer többi részének nemkivánatos berezgéseit, melyek a mérési hibákat növelnék. A nagyobb rezgési frekvencia nélkülözhetetlen, ha kinetikai méréseket akarunk végezni. Gyakorlatilag ugyan nem a rezgési frekvencia limitálja kinetikai mérések esetén a készülék gyorsaságát, hanem a készülékben felhasznált elektronika teljes időállandója. A kettő azonban szorosan összefügg.

Rendkivül nagy jelentősége van olyan mechanikai kialakitásnak, ahol lehetőség van a referencia elektróda alatt a minták mozgatására, váltására. Ilymódon lehetőség nyilik valódi kontakt potenciál mérésekre. Ha ugyanis az egyik minta kontakt potenciálja ismert, akkor ezt támpontul felhasználva, vele a készülék folyamatosan hitelesithető, és meghatározható az ismeretlen minta kontakt potenciáljának valódi értéke. Ez akkor szükséges, ha pl. a mintát folyamatosan tisztitjuk, vagy egyéb kémiai, vagy biológiai hatásnak tesszük ki.

Másik nagy probléma a minta helyzetével kapcsolatos. Ha a mintát cseréljük, vagy a referenciaként felhasznált rezgőlemezen fejet

helyéről elmozditjuk, vagy ha a mintát termosztáljuk, a dilatáció miatt mindig fennáll annak lehetősége, hogy a minta nem pontosan az eredeti helyére kerül vissza. Hogy ez ne befolyásolja a mérést nagyon fontos, ezért a készüléket ugy kell megépiteni, hogy a minta távolsága a rezgőfejtől /természetesen bizonyos határokon belül/ ne befolyásolja a mérést. Ezt csak akkor lehet elérni, ha a szórt kapacitások hatását kizárjuk, illetve őket minimálisra csökkentjük /2/ /3/.

Mint minden nagyérzékenységü mérőkörnél, itt is a jel/zaj hányadost lehetőleg minél nagyobb szinten kell tartani, a drifteket, valamint az időállandókat kivánatos minél kisebbre csökkenteni. Az elektronikus áramkörök és a rendszer mechanikájának alapos, átgondolt tervezése, kivitelezése lehetőséget biztosit mindezekre.

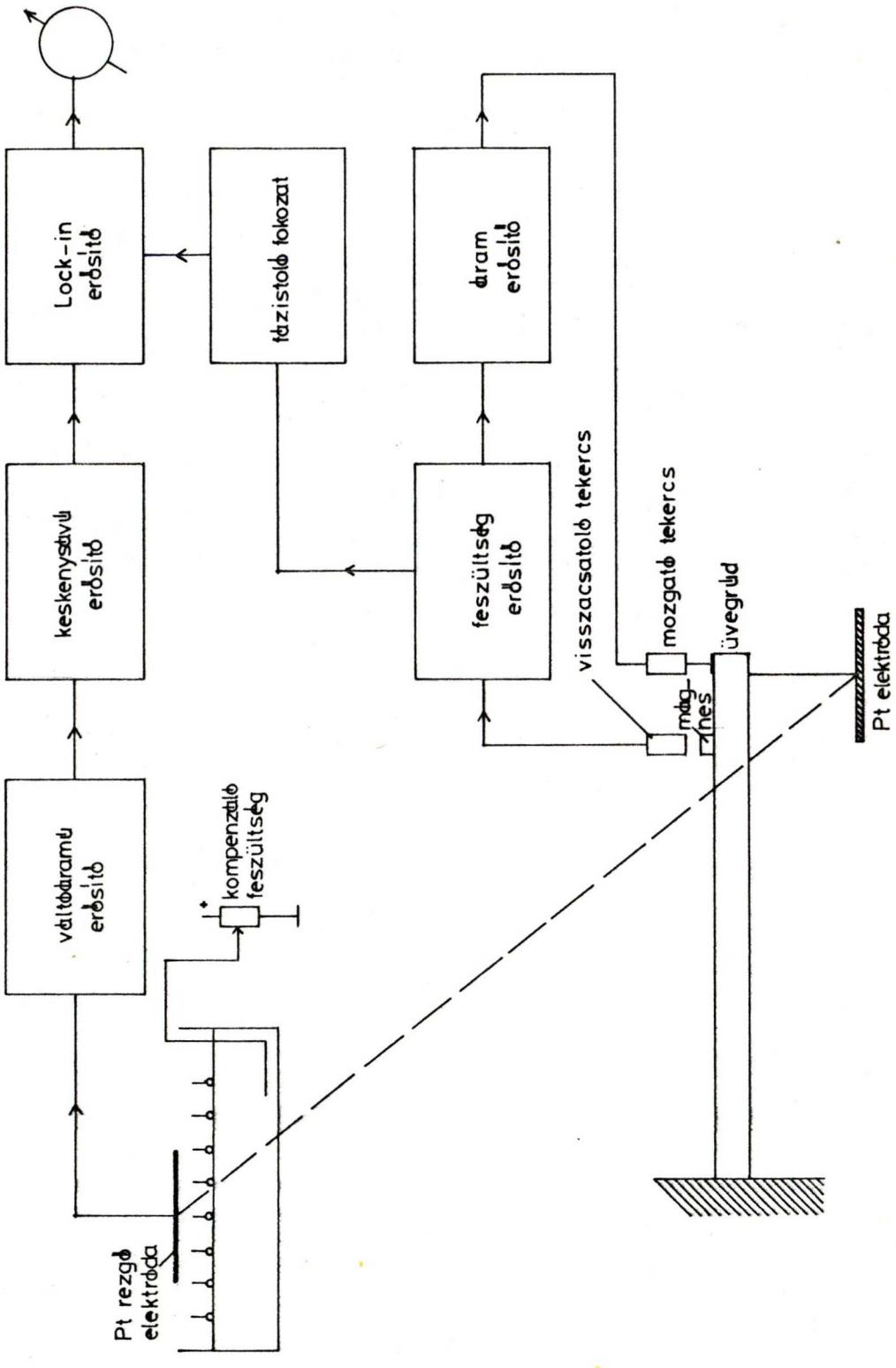
2./ A megépitett készülék részletes leirása.

Az előzőekben vázolt tervezési szempontok alapján épitettük meg a 6. ábra blokkvázlatán bemutatott készüléket. A készülék megépitésénél két alapvető feladatot kell megoldani. Egyrészt,

egy nagy stabilitásu elektromechanikai rezgőrendszert kell létrehozni, másrészt, alacsony jel/zaj viszony mellett kell a rezgési frekvenciának megfelelő jelet detektálni.

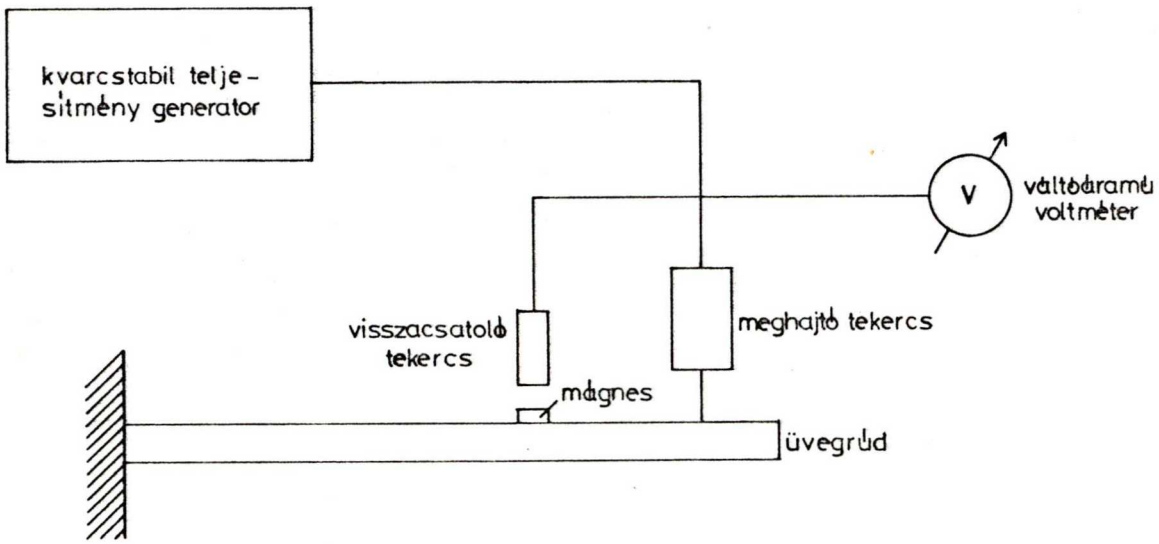
a/ Mechanikai konstrukció

Nagy stabilitásu mechanikai rezgőrendszer létrehozására egy önmagában visszacsatolt elektromechanikus rendszert, u.n. autogenerátort használtunk fel. Az ilyen rendszerek nagy előnye, hogy a rezgés a deformációt végző elen saját frekvenciáján következik be, ami rendkivül nagy stabilitást eredményez, kis energiaigény mellett. Rezgő elemként egyik végén szilárdan rögzitett üvegrudat választottunk, melynek a végére rögzitettünk egy rövid, könnyü plexicső segitségével a 18 mm átmérőjü platina fóliát. A rezgőfej tömegét célszerü nem növelni járulékosan mozgatott elemekkel,hiszen ez az üvegrud rezonanciagörbéjének ellaposodásához vezetne, ami rontaná a mérőrendszer frekvenciastabilitását. A 6. ábrán láthatjuk, hogy az üvegrud hordozza még a mozgató tekercs belsejében lévő üreges vasmagot, valamint egy 3 mm átmérőjü kis ferritmágnest, ami a felvevő /visszacsatoló/ tekercs magja előtt


Lock-in erősítő
fázistoló fokozat
áram erősítő
keskenysávú erősítő
feszültség erősítő
visszacsatoló tekercs
mozgató tekercs
üvegrúd
mág-nes
Pt elektróda
váltóáramú erősítő
kompenzáló feszültség
Pt rezgő elektróda

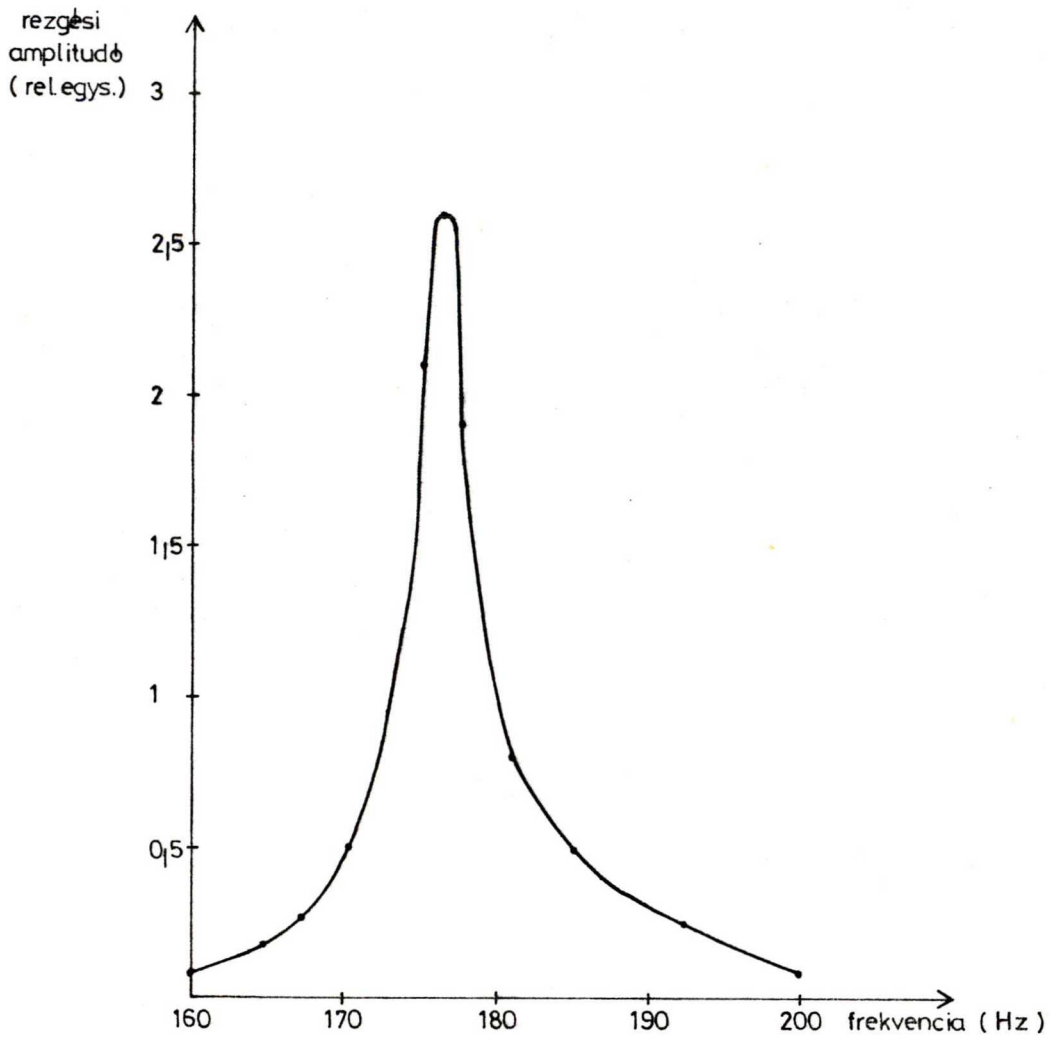
6. ábra

rezegve, az autogenerátor rezgésének fenntartásához szükséges jel képzéséről gondoskodik.
Az ilyen módon összeállitott rendszeren egy teljesitménygenerátor segitségével elvégezzük a stabilitási vizsgálatot a 7. ábrán vázolt mérési összeállitás segitségével:



7. ábra

A generátor frekvenciáját változtatva felvehetjük a rendszer rezonanciagörbéjét. A kapott görbét a 8. ábrán ábrázoltuk.
Látható, hogy a rendszer rezonanciagörbéje az üvegrudra járulékosan felhelyezett tömegek hatása után is megfelelően hegyes marad, biztositva ilymódon a mérőrendszerhez szükséges stabilitást. A hosszidejü stabilitásvizsgálatot



8. ábra

ugy végeztük, hogy a rendszert beállitottuk a maximális rezgési amplitudó frekvenciájára, és megfigyeltük, hogy az amplitudó 8 óra alatt mennyire esett vissza. Visszaesést nem észleltünk. Ennek magyarázatát a merev üvegrud mechanikai tulajdonságaiban kell keresnünk.

Hőmérsékleti stabilitása rosszabb mint a kvarckristálynak /melynél a stabilitás $10^{-6}/^{o}C$ nagyságrendü/, azonban a $10^{-4}/^{o}C$ a mérésünkben teljesen megfelelő. 200 Hz rezgési frekvenciát feltételezve ez fokonként 0,02 Hz frekvenciacsuszást jelent, ami $10^{o}C$-ra vonatkoztatva is bőven belefér a felhasznált elektronika sávszélességébe, és ilymódon sem mérési pontosságunkat, sem hosszidejü stabilitásunkat nem befolyásolja.

A mechanikai konstrukció lehetőséget biztosit arra, hogy a Pt lemezke magasságát és párhuzamosságát a minta sikjával durva és finom állitócsavar segitségével folyamatosan változtatni tudjuk, ami a felület optimális megközelitése, azaz maximális jel/zaj viszony biztositása szempontjából fontos.

A mérőfejen használt egyéb alkatrészek, tartók, rögzitő- és kötőelemek tömegét ugy választottuk meg, hogy mechanikai rezonanciafrekvenciájuk messze essen az üvegrud frekvenciájától, nehogy a mérést zavaró, esetleg káros interferenciát okozó rezgések tudjanak fellépni.

A mechanikai konstrukcióhoz tartozik a váltóáramu előerősitő helyének kiválasztása. $T_e$kintettel a rendkivül kis jelre, ezt az egységet nem lehetett

az elektronikus áramköröket tartalmazó dobozba elhelyezni, mivel a kis jeleket kábelen az előerősitőig elvezetni lényeges jel/zaj viszony romlás nélkül már nem lehetséges, mert a kábel maga is a jellel összemérhető elektronikus zavarok forrása. Ezek részben a környezetből felszedett elektromágneses terek, részben magában a kábelben, annak mozgásakor termelődnek. Másik probléma pedig az, hogy a kábel kb. 100 pF-os kapacitása a rezgő elektroddal és a vizsgált felülettel, azaz a mérőkapacitással párhuzamosan kapcsolódik, azt gyakorlatilag terheli.

Ezért a váltóáramu előerősitőt szintén a mérőfejre szereltük, a rezgő elektróda közvetlen közelébe. A rezgő elektród és az erősitő bemenete között zsebóra 2-3 cm-es balansz rugójából kialakitott rendkivül rugalmas vezető létesitett kapcsolatot, biztositva a szükséges néhány tized pF nagyságrendü minimális szórt kapacitásterhelést is.

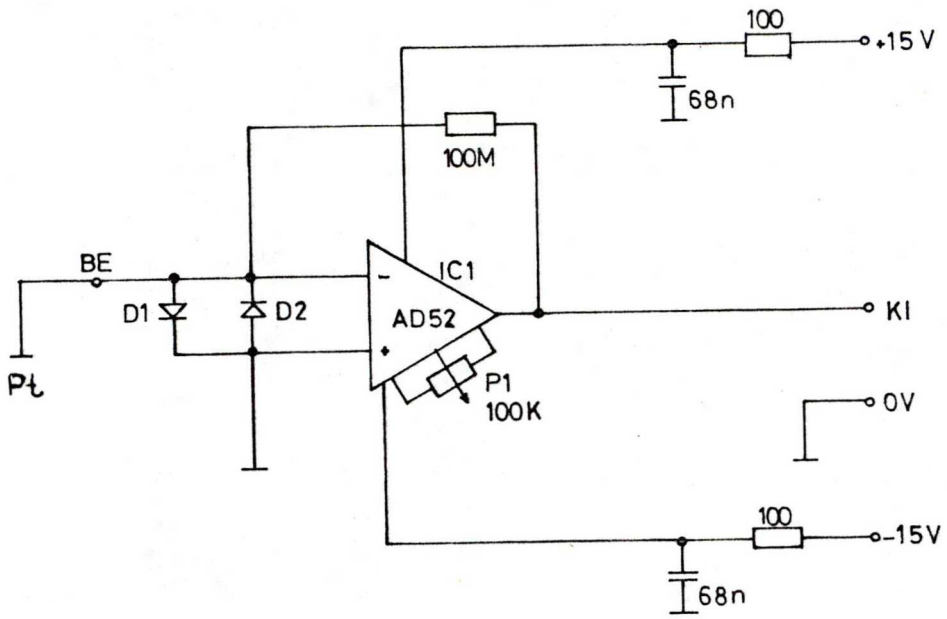
A szerelt kész mérőfej kábelekkel csatlakozik az elektronikus egységhez, ami lehetőséget biztosit arra, hogy a mérőfej vákuumszekrénybe, vagy inert gázzal, vagy különböző páratartalmu térben legyen elhelyezve /pl. biológiai minták nedvességtartalmának vizsgálatához/.

Gondosan árnyékolni kell a mérőelektródát a meghajtó /rezegtető/ tekercs szórt elektromágneses erő-

terétől. Ez a szórt tér azért különösen veszélyes, mivel az ilymódon "becsatolt" jel frekvenciája megegyezik a rezgő elektródán képződött jellel, és a további elektronika /sávszürő + lock-in erősitő/ már nem tud különbséget tenni a hasznos jel, valamint a "becsatolt" jel között. Ezt az árnyékolást a mérőelektróda többszörös vaslemez burkolata végzi. Ez a burkolat harangszerüen védi a rezgő elektródát a felülről és oldalról jövő zavarok ellen. Alulról azonban, a mért felület irányából az elektróda nyitott, ezért ott zavarok tudnak bejutni, ami ellen akkor kell különösképpen védekezni, ha a vizsgált minta monomolekuláris réteg, nagy ellenállásu folyadék felszinén usztatva. Ilyen kritikus mérés esetén biztonságos megoldást az egész mérőfej és a monomolekuláris réteget mutató kád Faraday kalickába helyezése jelenti.

b/ Váltóáramu előerősitő

Az elektronika leglényegesebb egysége. A rezgő elektródáról érkező váltóáramu pA nagyságrendü jel erősitése a feladata. Erre a célra az Analog Devices cég AD 52J tipusu erősitőjét választottuk kedvező zaj, és drift adatai alapján. Az erősitő kapcsolási rajza a 9. ábrán látható.



9. ábra

Az erősitő egy 100 M ellenálláson keresztül 100 %-osan vissza van csatolva. A visszacsatolt erősitők általános elmélete szerint, ebben a kapcsolásban:

$$V_{Ki} = - I_{be} \cdot R_{vcs}$$

A dinamikus bemenőellenállás pedig

$$R_{be_{din}} = \frac{R_{vcs}}{A_{nyilt\ hurok}} = \frac{10^8}{10^6} = 10^2 \text{ ohm}$$

Ez a látszólagos ellenállás nem terheli a bemenetet, hanem csak azt mutatja, hogy a bemeneti feszültségesés olyan, mintha a bejövő áram egy 10^2 ohm ellenálláson folyna át.

Ennek értéke

$$V_{be} = I_{be} \cdot R_{be_{din}} = 10^{-12} \cdot 10^{2} = 10^{-10} \text{ V}$$

Látható, hogy ekkora kis feszültség teljesen elhanyagolható, azaz árammérőnk ideálisnak tekinthető, melynek bemeneti feszültségesése 0V. Ennek biztositására szükséges a P1 potenciométer is, hogy az erősitő offsetfeszültsége se okozzon járulékos feszültséget az IC1 invertáló bemenetén. Tehát az erősitő BE pontja és a föld között a feszültségesés 10^{-9} V nagyságrendü, és igy belátható, hogy a D1 és D2 diódák szivárgó áramukkal a mérést egyáltalán nem zavarják. Jelenlétük gyakorlati szükségességü, ugyanis nem zárható ki, hogy a mérés elvégzése során a rezgőelektródához kézzel hozzáérünk, vagy az olyan mintához ér, amely elektrosztatikusan fel van töltődve. Ilyenkor az IC1 invertáló bemenetére jutó nagyfeszültségü impulzus /néhány kV is lehet!/ az áramkör nagyérzékenységü térvezérlésü tranzisztoros bemenetét tönkretehetné. D1 és D2 gondoskodik arról, hogy IC1 bemenetén a feszültség 0,7 V-nál nagyobbra ne nőhessen. A fent emlitett nullához közelitő bemeneti feszültség mellett azonban még az adott pillanatban nyitóirányban előfeszitett diódának is oly nagy az ellenállása, hogy az a mérést nem befolyásolja. A váltóáramu előerősitő feloldását ezek után a következő paraméterek határozzák meg:

visszacsatoló ellenállás zaja, bemeneti áram és feszültségzajok /beleértve az IC1 saját zajait is/.

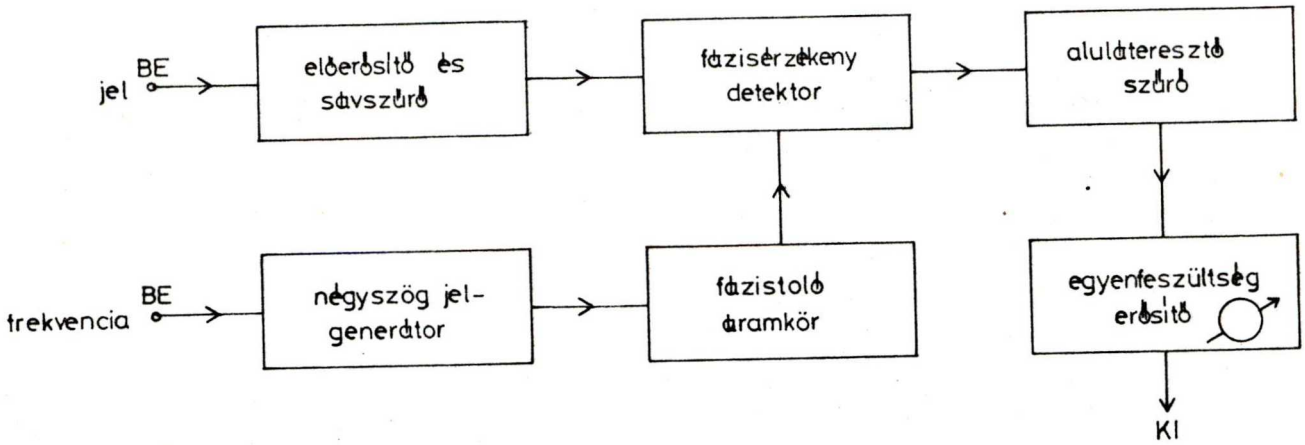
A visszacsatoló ellenállás zaja R_{vcs} értékével arányos, mégis R_{vcs} növelésének más szab határt. Egyrészről kivánatos volna minél nagyobb értékre beállitani, azonban az ellenállás saját, valamint szerelési szórt kapacitása az adott frekvencián söntölni kezd, illetve nemkivánatos fázistolásokat okoz. Készülékünkben $R_{v.s.} = 10^8$ ohm, még éppen nem okoz fázistolást. IC1 zajparaméterei max. 3 μV zajfeszültség a teljes 10 Hz - 100kHz frekvenciatartományban, az áramzaj pedig 0,1 pA. A bemeneti zajfeszültség által létrehozott zajáram csak a bemeneti huzalozás szivárgó ellenállásán keresztül tud kialakulni, melynek értéke üvegszálas nyomtatott áramköri lemez felhasználása esetén biztosan nagyobb, mint 10^{10} ohm. A zajáram tehát $\frac{10^{-6}}{10^{10}} = 10^{-16}$ A nagyságrendü, gyakorlatilag elhanyagolható. Ilymódon a feloldást az erősitő saját zajáramkomponense fogja limitálni. Ha kihasználjuk a fázisérzékeny egyenirányitó után álló szürő maximális időállandóját /10 sec/ akkor az effektiv sávszélesség 0,1 Hz-re csökken. Ez a keskeny sáv garantálja, hogy a bemenő áramzajunk nem lépheti tul a 10^{-13} A értéket. Ha a rezgőelektróda a mérendő felülettől 0,5 mm távolságra van, a rezgési amplitudó pedig 0,05 mm, akkor korábbi számitásaink szerint 1 V kontaktpotenciál 3.10^{-9} A áramot eredményez. Az áramzaj tehát megfelel a fenti átlagosnak tekinthető mérési körülmények között

0,1 mV kontaktpotenciálnak. Készülékünkkel 0,5 mV feloldást tudtunk elérni, ami jól megfelel a számitások által becsült értéknek.

c/ Sávszürő és fázisérzékeny detektor /lock-in erősitő/

Egy sávszürőből és fázisérzékeny detektorból álló egységet lock-in erősitőnek nevezünk. Napjainkban igen sok helyen alkalmazzák őket /4/ a tudományos kutatásban. A lock-in erősitő lényegében egy váltóáramu voltméter. Általában arra használjuk, hogy megmérjük az amplitudóját és/vagy a relativ fázisértékét egy olyan váltakozófeszültségü jelnek, amely magánál sokkal nagyobb zajok kiséretében áll csak rendelkezésre. A zajok lehetnek diszkrét frekvenciájuak, vagy fehér zaj, esetleg véletlenszerü zavarok, vagy az előbbiek tetszőleges kombinációja. Azon célból, hogy a zajból a szükséges jelet ki tudjuk "halászni", szükség van egy olyan referencia jelre, melynek ugyanaz a frekvenciája mint a keresett alapjelnek, valamint időben nem változó fázisviszonyban van vele. Azaz a referencia jel frekvenciája és fázisa az alapjelhez van kötve, kapcsolva /locked/.

A 10. ábrán egy lock-in erősitő tipikus blokkvázlatát láthatjuk. A bejövő jelet, amely a keresett és zavaró frekvenciákat tartalmazza általában 10-50-szeres zavarójel amplitudóval, az előerősitőben erősitjük, és eltávolitjuk belőle egy sávszürő segitségével a hasznos jeltől teljesen idegen frekvenciákat. Ez azért szük-



10. ábra

séges, hogy a zavaró nagy amplitudóju jelek ne vezéreljék tul a további elektronikus áramköröket. Az előerősitő erősitési tényezője kalibrált és fix lépésekben állitható. Az előerősitő egyes esetekben a minta közelében kihelyezett is lehet, és tartalmazhat egy áram-feszültség átalakitó mérőellenállást is, amennyiben a mérendő jel áram formájában áll rendelkezésre /pl. fotoelektronsokszorozóknál/. A referencia jel lényegében egy négyszöggenerátor szinkronizálására szolgál. Az ilymódon előállitott négyszögjel egy kalibrált fázistoló áramkörön halad át és ezután felhasználható a fázisérzékeny egyenirányitó kapuzó, "kapcsoló" jeleként.

A fázisérzékeny egyenirányitóból kijövő jel tartalmazza a keresett váltófeszültségü jel egyenirányitott megfelelőjét, valamint zavaró váltófeszültségü komponenseket. Ezek még akkor is megvannak ha a sávszürőt alkalmazzuk, mivel a sávszürő nem lehet végtelen kis sávszélességü. Az aluláteresztő szürőnek az

a célja, hogy eltávolitsa a nemkivánatos váltófeszültségü komponenseket. A "megtisztitott" egyenfeszültségü jel ezután egy egyenfeszültségü erősitőbe kerül /amely megfelelően kis driftü és stabil/ és felerősitjük olyan szintre, hogy mérhető legyen egy voltmérővel vagy regisztrálóval /általában 1-10 V/.

Ilymódon a lock-in erősitő ugy hat, mintha egy sávszürő volna rendkivül nagy jósági tényezővel, Q-val, /azaz extrém kicsi lenne a sávszélessége/, viszont a sávszürő központi frekvenciája, a kivánt jelfrekvencia. Néhány fontosabb különbséget egy hagyományos sávszürő és egy lock-in erősitővel alkotott szürő között azonban feltétlenül ki kell emelnünk:

a/ Egy "nagy Q-ju" hagyományos erősitő Q-értéke általában maximum 100. Ez felett a szürő instabillá válik és oszcillálni kezd. Egy lock-in erősitő Q-ja ezzel szemben 100 millió is lehet!

$$Q = \frac{f_{\text{központi}}}{f_{\text{félérték szélesség}}}.$$

b/ Minél nagyobb a Q-ja egy hagyományos sávszürőnek, annál kevésbé stabil a középponti frekvenciája és eldriftel, elhangolódik, könnyedén. Ezzel szemben egy lock-in erősitő középponti frekvenciája a referencia bemenet alapfrekvenciája, amely automatikusan mindig a keresett jelre van "hangolva".

c/ A hagyományos sávszürő kizárólag a sávszélességbe eső frekvenciákat engedi át, mig a lock-in lehető-

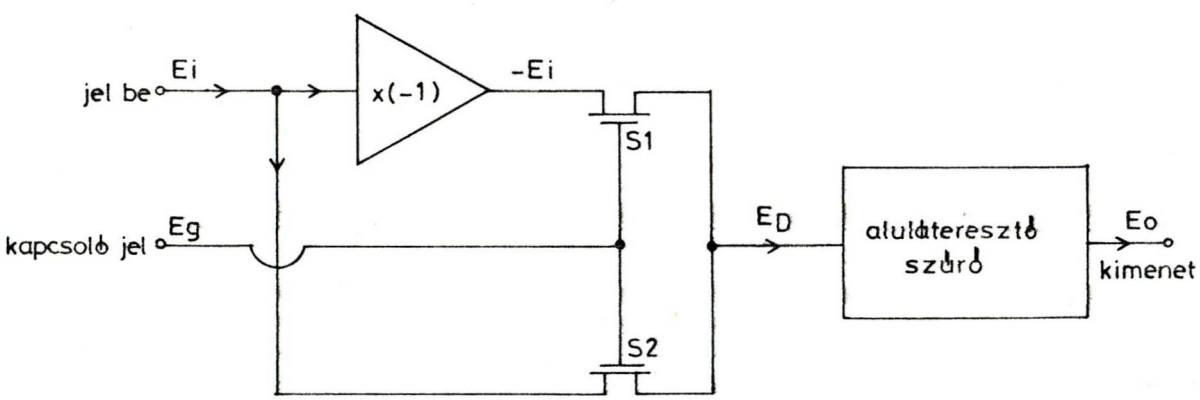
séget ad a referencia frekvencia páratlan felharmónikusainak megfelelő jelfrekvenciák mérésére is. Ilyenkor a lock-in bemeneti sávszürőjét ki kell kapcsolni.

d/ A lock-in erősitő kimenete egyenfeszültség, mely arányos a bejövő váltófeszültség amplitudóértékével.

e/ A lock-in "szürő" fázis érzékeny.

A lock-in erősitő "központi egysége" a fázisérzékeny demodulátor, /PSD/ vagy fázis érzékeny detektor, vagy szinkron egyenirányitó. A PSD-számára a bejövő jelen kivül még biztositani kell a kapcsoló négyszög feszültséget, amely a keresett jelhez frekvenciában és fázisban kötött.

Ezt a kapcsoló négyszögjelet a referencia bemenetről nyerjük.



11. ábra

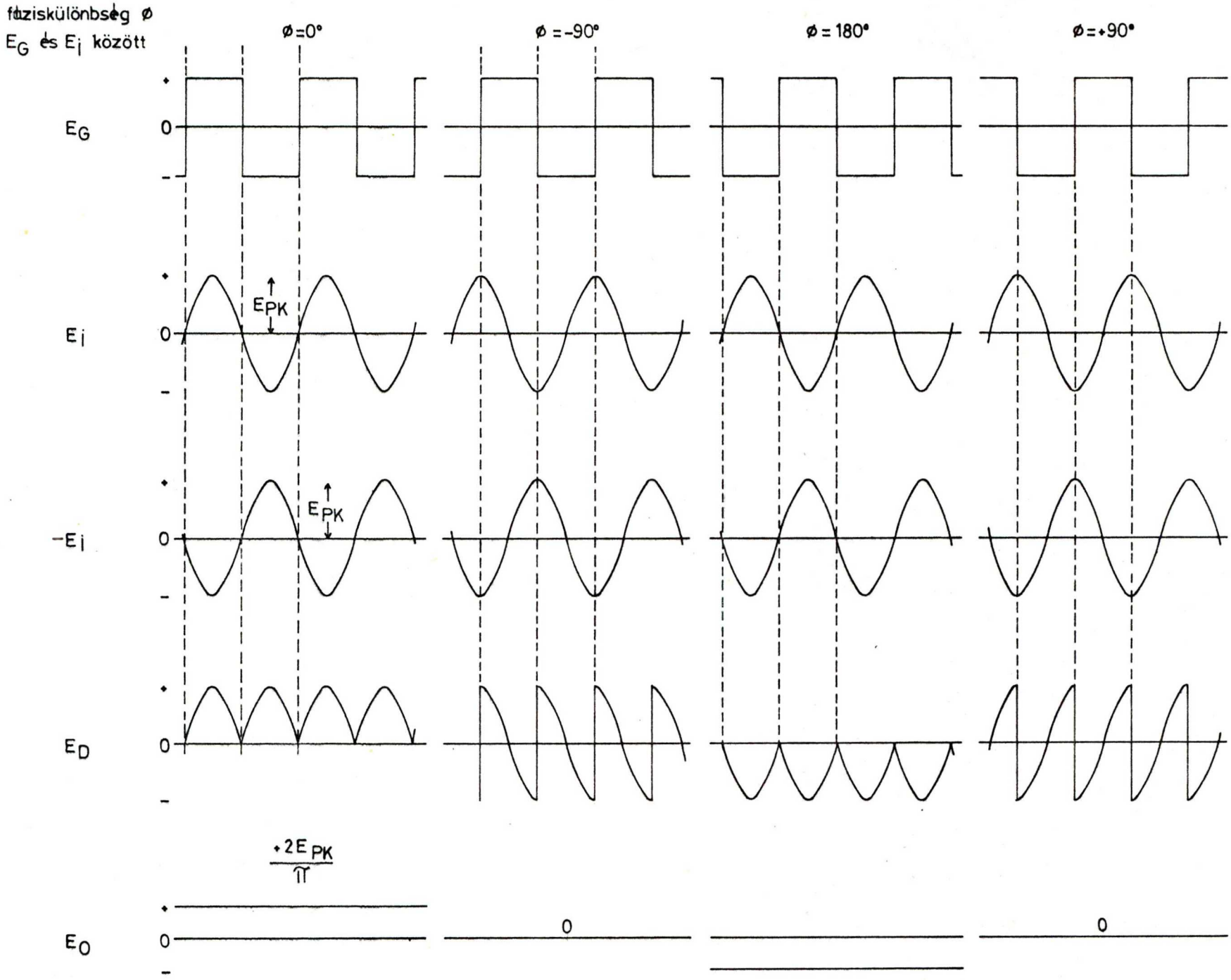
Tipikus PSD elrendezést láthatunk a 11.ábrán. S1 és S2 komplemens FET kapcsoló tranzisztorok. S1 az invertált bemenőjelet kapcsolja az aluláteresztő bemenetére, ami-

kor a kapcsoló jel E_g pozitiv, lekapcsolja, amikor negativ. Hasonlóan S2 a bemenő jelet E_i az aluláteresztő bemenetére kapcsolja, amikor E_g negativ és lekapcsolja, amikor E_g pozitiv. Az aluláteresztő szürő átlagolja a detektor feszültségét E_D, azaz eltávolit minden váltóáramu komponenset, ami kivül esik az áteresztési sávján. Ilymódon ideális esetben az aluláteresztő kimenete tiszta egyenfeszültség.

A 12. ábra mutatja a különböző jelformákat a PSD egyes pontjaiban, négy különböző fázisviszony esetére a bemeneti jel E_i és a kapcsolójel E_g között.

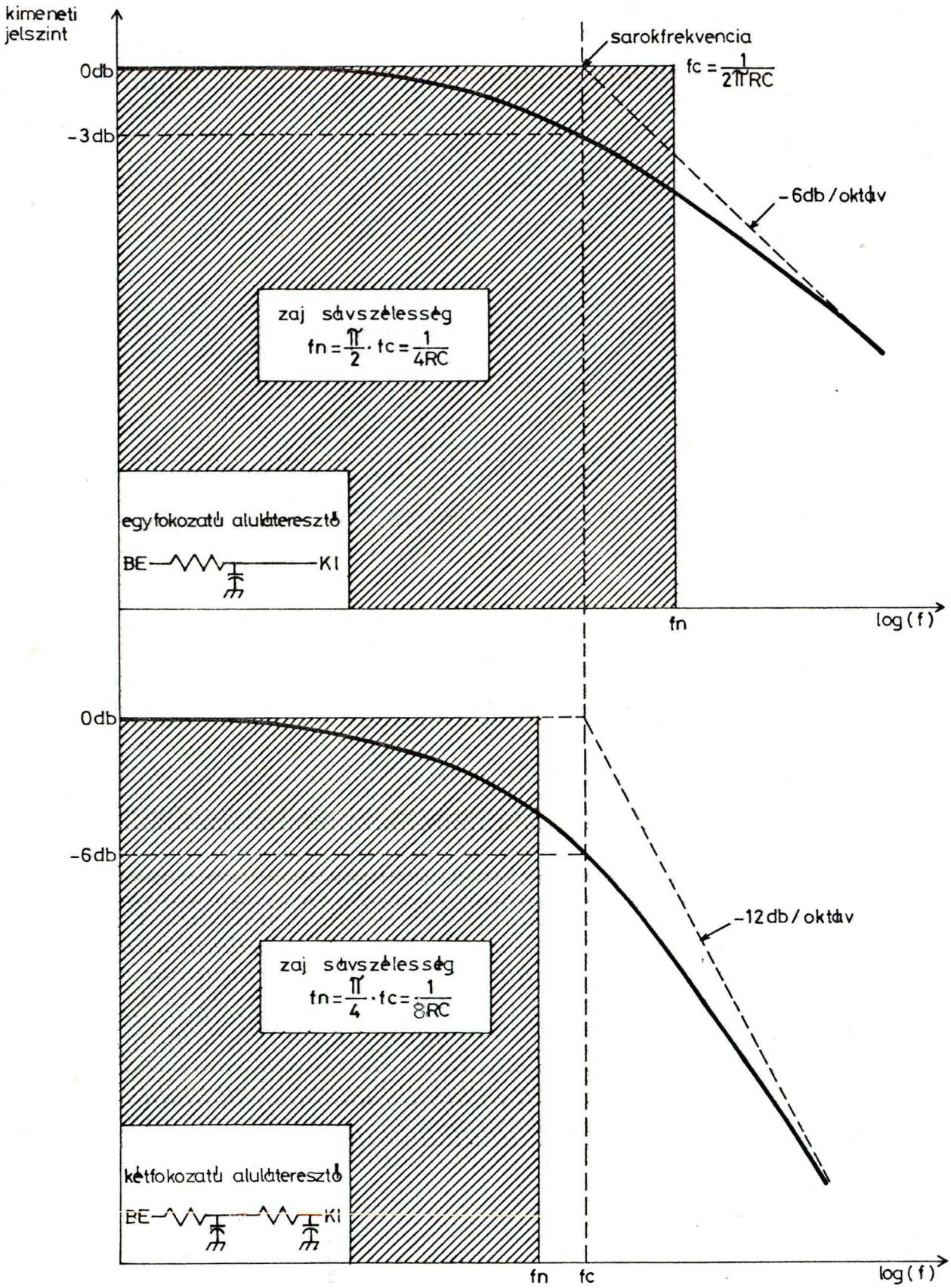
Ha a PSD bemenete szinusz alakul jel, melynek amplitudója E_{pk}, akkor a szürt átlagolt kimenő feszültség $\frac{2E_{pk}}{\pi} \cdot \cos\varphi$, ahol φ a fázisszög a mérendő jel és a kapcsoló jel között. Ha $\varphi = 0^o$ vagy 180°, akkor a kimenő feszültség $\frac{+2E_{pk}}{\pi}$ vagy $\frac{-2E_{pk}}{\pi}$.

Aszinkron zavaró jelek is megjelenhetnek a PSD kimenetén. Ha pl. f_{ref} = 1000 Hz és a bemeneten van egy 1010 Hz frekvenciáju zavaró komponens, akkor a PSD kimenete tartalmazni fog egy 10 Hz frekvenciáju váltófeszültségü összetevőt. Mivel az aluláteresztő szürő vágási frekvenciája nagyon alacsony is lehet / 0.0005 Hz/ ilyen zavaró váltófeszültségü jelet könnyen el lehet távolitani, egy aluláteresztő szürő segitségével.


fáziskülönbség ø
E_G és E_i között
ø=0°
ø=-90°
ø=180°
ø=+90°
E_G
E_i
E_PK
-E_i
E_D
E_O
+2E_PK / π
0

12. ábra

Az aluláteresztő szürő egy vagy két kondenzá-
toron és ellenállás kombinációjából álló hálózat/13.ábra/.



13. ábra

Egyetlen RC tag alkalmazása esetén a szürő karakterisztikája 6 dB/oktáv, vagy 20 dB/dekád meredekséggel fog esni /azaz a kimenet felére esik, ha a frekvencia kétszeres lesz/. A -3 dB-es esési ponthoz tartozó a sarokfrekvenciára igaz, hogy a sávszélesség $f_c = \frac{1}{2\pi RC}$ és az ennek megfelelő zajsávszélesség $f_n = f_c \cdot \frac{\pi}{2} = \frac{1}{4RC}$. Ha két független és egyforma R-C tag soros kombinációját használjuk a szürő karakterisztikája -12 dB/oktáv, vagy 40 dB/dekád meredekséggel fog esni a törésponti frekvencia után /azaz a kimenet negyedére csökken, ha a frekvenciát kétszerezzük. A -6 dB-es esési ponthoz tartozó sarokfrekvenciára igaz, hogy a sávszélesség $f_c = \frac{1}{2\pi RC}$ ennek megfelelő zajsávszélesség $f_n = f_c \cdot \frac{\pi}{4} = \frac{1}{8RC}$.

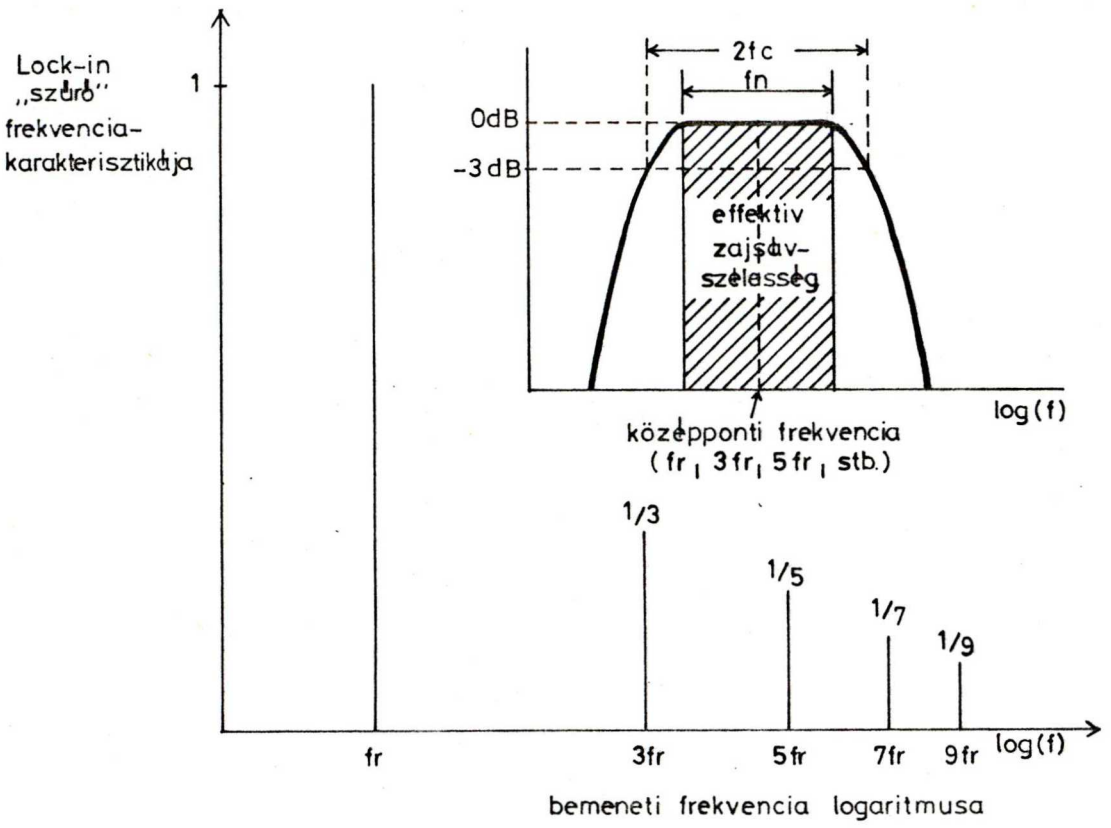
Első látásra ugy tünhet, hogy az esési meredekség 20 dB/dekádról 40 dB/dekádra növelése csupán a zajsávszélesség felére csökkenését eredményezi. Ha azonban a jelfrekvenciához közeli frekvenciáju zavaró jel interferál a fázisérzékeny egyenirányitó bemenetén, a pótlólagos 20 dB/dekád elnyomás hatása nagyon fontos. Például, tételezzük fel, hogy az aluláteresztő bemenetén a jel tartalmaz egy 8 f_c frekvenciáju komponenset, azaz 3 oktávval nagyobb frekvenciájut mint f_c. Ha a -6 dB/oktáv esésü szürőt használjuk, az a jel kb. 18 dB-vel lesz gyengitve, azaz kb. 8-ad részére. A

-12 dB/oktáv szürő esetén azonban ugyanez a jel 36 dB-vel lesz gyengitve, azaz 64-ed részére.

Feltétlenül a -6 dB/oktáv szürőt kell azonban alkalmazni, ha az egész lock-in erősitő egy visszacsatoló kör része. Ebben az esetben a -12 dB/oktáv szürő használata gerjedésekhez vezetne, mivel a -12 dB/oktáv meredekségü szürőnek már nincs fázistartaléka.

Analitikailag megmutatható, hogy a PSD után elhelyezett f_c sávszélességü aluláteresztő szürő hatása egyenértékü egy olyan szürő hatásával, melynek nagyszámu sáváteresztő tagja van és mindegyiknek a sávszélessége $2 f_c$. Mindegyik ilyen sáváteresztő középponti frekvenciája egy olyan frekvencia lesz, amely megtalálható az E_g kapcsoló jelben is. A referenciaként használt kapcsoló négyszögjel E_g az alapfrekvenciáján kivül tartalmaz ugyanis egy hosszu sor páratlan felharmónikust /azaz $3 f_R$, $5 f_R$, $7 f_R$ stb./, melyeknek relativ amplitudóaránya 1/3; 1/5; 1/7 stb. az alapharmónikus amplitudójával összehasonlitva. Ezért egy lock-in "szürő" effektiv amplitudó frekvenciakarakterisztikája a 14.ábrán bemutatott módon alakul.

Egy véletlenszerü, fehér zajnak minősithető jel a PSD bemenetén, azonban egyforma valószinüséggel tartalmaz a referenciával fázisba eső, illetve attól



14. ábra

90°-al eltolt komponenseket. Mivel a 90°-al eltolt komponenseket a PSD során elveszitjük /integráljuk 0/ a valóságos zajsávszélesség a PSD bemenetén a 14. ábrán bemutatott módon alakul, mindegyik középponti frekvencia körüli zajsávokkal f_n sávszélességgel és nem 2 f_n sávszélességgel, ahogy az várható lett volna.

Mivel a különböző zajsávokon átjutó zajfrekvenciák egymáshoz képest nem korrelláltak, ha a hatásukat értékelni akarjuk akkor effektiv értékeiket kell összegeznünk. Valójában a teljes valóságos zaj-

sávszélesség 1,11 f_n és ez a 11 % növekedés a PSD harmonikus jellege miatt van. Hatása könnyedén eltávolitható - amennyiben ez szükséges - a PSD bemenete elé kapcsolt aluláteresztő szürővel.

Egy lock-in erősitő alkalmazása tetemes jel/zaj viszony növelést eredményez, ha összehasonlitjuk az erősitő kimenetén lévő jelet a bemenetivel.

Ha a bemeneten fehér zaj van, a zajfeszültség arányos a sávszélesség négyzetgyökével. Tegyük fel egy B_n sávszélességü fehér zajt adunk lock-in erősitőnk bemenetére, melynek effektiv sávszélessége f_n. Akkor a jel/zaj viszony javulását megkapjuk a zajelnyomási hányadosból

$$\text{Zajelnyomás} = \sqrt{\frac{B_n}{1.11\ f_n}}$$, vagy ha a PSD előtt szürőt használunk, hogy elnyomjuk a zavaró felharmonikusokat

$$\text{Zajelnyomás} = \sqrt{\frac{B_n}{f_n}}$$

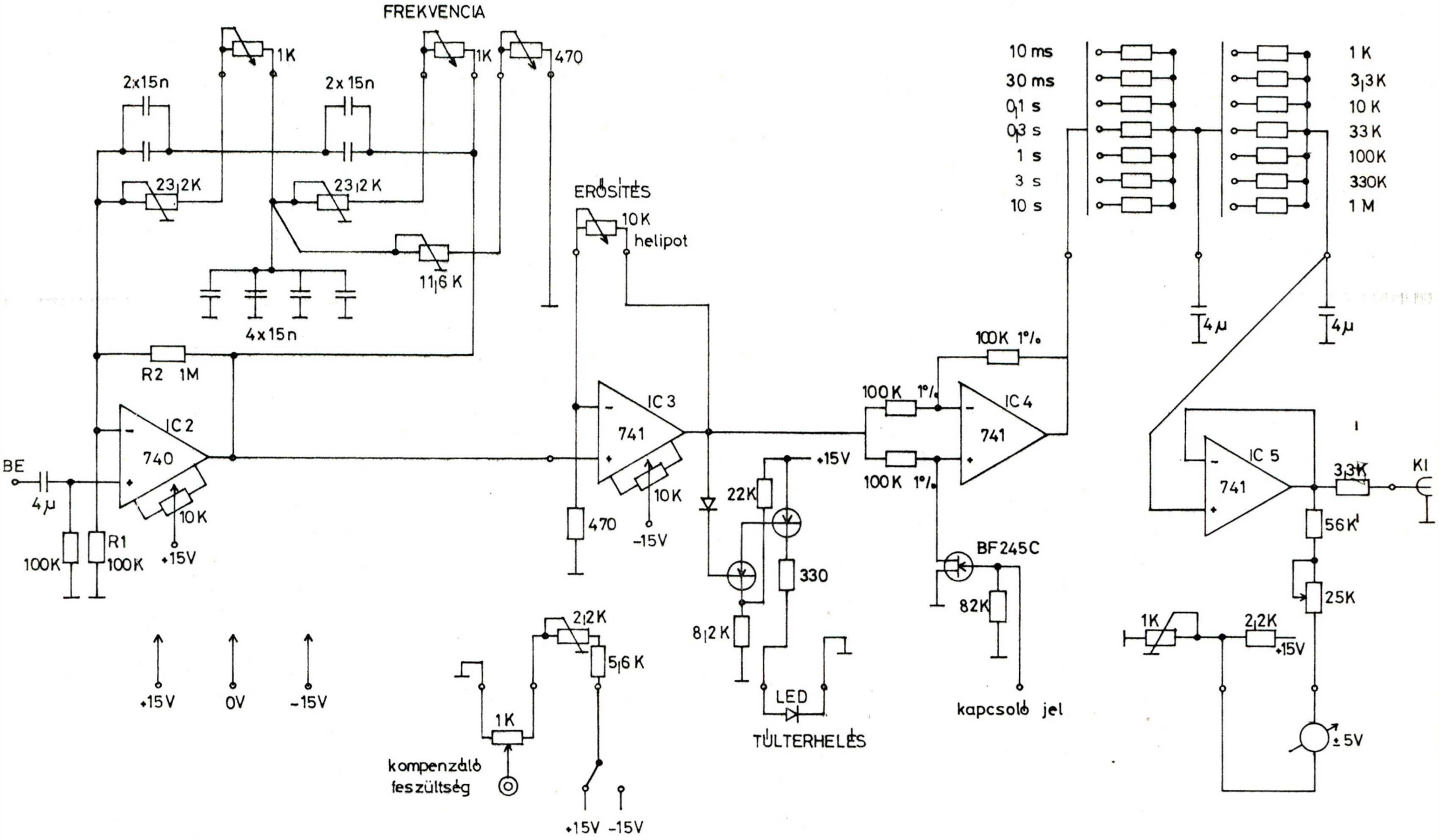
Mivel $f_n = \frac{1}{4RC}$ vagy $\frac{1}{8RC}$ másodrendü 40 dB/dekád aluláteresztő szürő használata esetén, látható, hogy minél nagyobb a készülék időállandója /RC/ annál nagyobb lesz a zajelnyomás. Ha pl. az aluláteresztő szürő időállandója 300 sec, az effektiv zajsávszélesség $f_n = \frac{1}{8 \times 300} = 0{,}000416$ Hz vagy 416 μHz /40 dB/dekád meredekségü aluláteresztő szürő használata esetén.

Ilyen időállandó beállitásával egy 100 KHz bemeneti sávszélességü zaj

$\sqrt{\frac{100\ KHz}{1,11 \times 416\ \mu Hz}}$ = 14 700-szor lesz gyengitve, vagy 83.4 dB-szeresen. Ha sználjuk a PSD előtti szürőt, amellyel kizárjuk a PSD harmonikus hatását a zajelnyomási tényező $\sqrt{\frac{100\ KHz}{416\ \mu Hz}}$ = 15 500-szoros, vagy 84 dB. Ha a keresett jel nem fehér zajban van, hanem valamilyen aszinkron frekvenciák környezetében, az elérhető jel/zaj viszony javulás még jobb, mint a fehér zajnál. Gyakorlatilag ilyen esetben a jel/zaj viszony javulást már csak a müszer tulterhelési toleranciája, valamint a PSD nemlinearitásai határozzák meg.

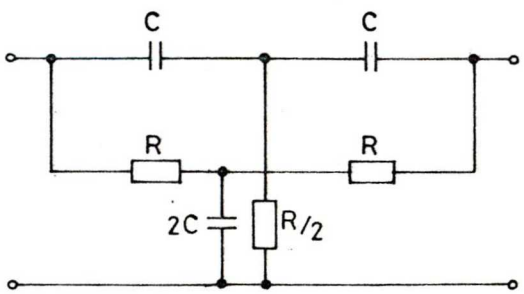
Láttuk, hogy az előerősitő lehet szélessávu, vagy hangolt. Fehér zaj esetén hangolt előerősitő használata nem sok javulást eredményez, annál többet viszont aszinkron zavarófrekvenciák jelenléte esetén. Ilyen lehet a mérés során keletkező valamilyen zavaró jel is, de maga a hálózati 50 Hz-es zavar is. Ezeket a sávszürőket azonban óvatosan kell alkalmazni, mivel mindegyik fázistolást okoz, és ha a jelfrekvencia kicsit változó, akkor a fázistolás miatt a PSD kimenete is változni fog. Pedig valójában a jelamplitudó nem változott.

Mivel a mi készülékünk esetében a jelfrekvencia nagy stabilitása a rezgésbe hozott üvegrud segitségével biztositott /kb. $10^{-4}/^{o}C$ stabilitás érhető el/. Ebben az esetben nem szükséges a sávszürő állandó ujrahangolása, ellenőrzése.


FREKVENCIA
1K
1K
470
2x15n
2x15n
23,2K
23,2K
11,6K
4x15n
R2 1M
IC2
740
BE
4µ
10K
R1
100K
100K
+15V
EROSITES
10K
helipot
IC3
741
470
10K
-15V
22K
+15V
330
8,2K
LED
TÚLTERHELÉS
2,2K
5,6K
1K
kompenzáló
feszültség
+15V -15V
+15V
0V
-15V
100K 1%
100K 1%
IC4
741
100K 1%
BF245C
82K
kapcsoló jel
10 ms
30 ms
0,1 s
0,3 s
1 s
3 s
10 s
1 K
3,3K
10 K
33 K
100K
330K
1 M
4µ
4µ
IC 5
741
3,3K
KI
56K
25K
1K
2,2K
+15V
±5V

15. ábra

A 15. ábrán az általunk konstruált készülék sávszürő és PSD fokozatát láthatjuk. A sávszürő fokozatban IC2 müveleti erősitő köré épitettük ki a sáváteresztő visszacsatolást. Figyelembe véve, hogy a zajok elsősorban 50 Hz hálózati eredetüek, illetve tranziens jellegüek, megfelelőnek bizonyult a 1,0 M ohm-os visszacsatoló ellenállással párhuzamosan kapcsolt kettős T szürő alkalmazása. A kettős T tag alapkapcsolása a 16.ábrán látható.



16. ábra

Ennek a négypólusnak sávszürő jellege van az

$$f = \frac{1}{2\pi RC}$$ frekvenciára nézve.

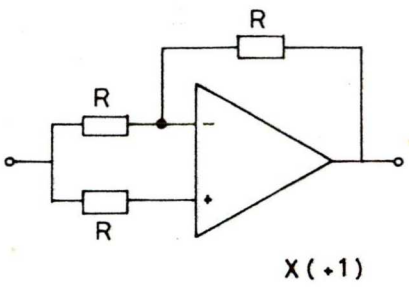
Ezt az alapkapcsolót a gyakorlati igényeknek megfelelően átalakitva használtuk fel készülékünkben. A kapacitiv tagokat előre válogattuk 1 % türésen belüli értékre. A számitással meghatározott R tagokat egy belső trimmer, és a készülék előlapjáról állitható változtatható ellenállás soros kombinációjából állitottuk elő. Az ilyen módon kapott szürő tulajdonságait az

amplitudó-frekvenciakarakterisztika felvételével ellenőriztük. Gondos beállitással a Q értékét kb. 30-on tudtuk tartani, ami azt jelentette, hogy a szürőnek sávszélessége kb. 6 Hz volt, figyelembe véve hogy a sávközép frekvencia az üvegrud mechanikai tulajdonságaiból kifolyólag 184 Hz lett. Ha a Q értékét tovább próbáltuk javitani, a szürő instabillá vált és könnyen oscillálni kezdett. Használat közben a készülék előlapján lévő FREKVENCIA feliratu gomb segitségével időről időre ellenőrizni lehet, hogy a szürő sávközép frekvenciája ténylegesen 184 Hz maradt-e. Ha bármely okból ez megváltozott volna, akkor a kimeneti egyenfeszültség mérő maximum helye alapján lehetőség van az utánállitásra. Mivel az R tagoknak csak mintegy 5 % hányada hangolható, ez megfelelő lehetőséget biztosit a szükséges finom szabályozás eléréséhez. A rezonancia frekvencián a szürő ellenállása végtelen naggyá válik a visszacsatoló ellenálláshoz képest, és a fokozat erősitési tényezőjét az $1 + \frac{R2}{R1}$ összefüggés alapján az R2 és R1 visszacsatoló ellenállások fogják 11-re beállitani. Tekintettel a visszacsatoló hálózatban lévő nagyértékü /1,0 Mohm/ ellenállásra ebben a fokozatban szükségszerü volt a FET bemenetü μA 740 integrált áramkör alkalmazása.

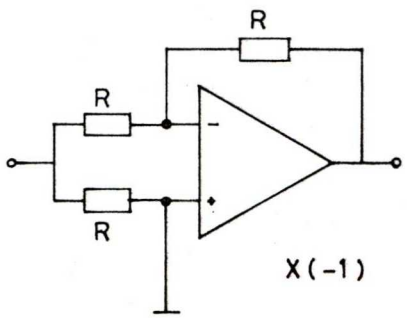
A sávszürőkből a jel IC3 erősitőbe jut, melynek fokozata a szürt jelet a fázisérzékeny demodulálásra felerősiteni. Ennek a fokozatnak az erősitési tényezője

1-20 között változtatható. Ezt a nagy erősitést azért lehet megengedni, mert a zavaró jelek már ki vannak szürve, és itt gyakorlatilag kizárólag a jelfrekvencia jelei vannak erősitve. Mindazonáltal ezt a fokozatot követi egy tulvezérlésjelző áramkör. A két tranzisztorból és az előlapra elhelyezett fényemittáló diódákból álló áramkör beépitése azért vált szükségessé, mert az ezután következő PSD fokozat az alkalmazott kapcsoló miatt nagyon érzékeny a tulvezérlésre. A kimeneten ezt a tulvezérlést azonban nem lehet érzékelni, mivel a kimenő jel nagyságának folyamatos csökkenését okozza. Ez a figyelő áramkör az előlapon lévő fényemittáló dióda kigyulladásával figyelmezteti a készülék kezelőjét a tulvezérlés bekövetkezésére.

A fázisérzékeny kapcsoló fokozat a következőképpen müködik. Az IC4 nem invertáló bemenete és a föld között elhelyezett FET tranzisztort a referenciafrekvenciából képzett négyszögjel vezérli, melynek amplitudója 0 és -12 V között változik. Ez a jel a FET tranzisztort hol teljesen kinyitja, /vezérlőfeszültség értéke 0V/, ilyenkor ellenállása kb. 50Ω, ami az alkalmazott 100 K-os erősitésbeállitó ellenállásokhoz képest rövidzárnak tekinthető. A vezérlőjel másik állapotában a FET tranzisztor teljesen le van zárva a vezérlőelektródára adott -12 V-os feszültséggel. Ebben a fokozatban tehát a rezgő üvegrud mozgásával szinkron az alábbi két állapot változik:



17a. ábra



17b. ábra

Látható, hogy a 17a. ábra lényegében a követő erősitó +1 erősitési tényezővel, a 17b. ábra pedig egy invertáló erősitő -1 erősitési tényezővel. Ilyen módon előáll a bejövő váltófeszültségü jel szinkron demodulálása.

A kimeneti jel szürését a 15.ábrán látható aluláteresztő szürő végzi. Ez egy másodfoku aluláteresztő szürő 40 dB/dekád meredekséggel. A szürő időállandóját a készülék hátlapján lehet a kivánt értékre beállitani. A szürő kimenetére van követve az előlapi középállásu kijelző müszer, valamint a regisztráló csatlakoztatására alkalmas kimenet.

Funkcionálisan nem tartozik ide, azonban ugyanezen az egységen lett kialakitva a P1 kalibrált helipottal megvalósitott kalibráló feszültségforrás. Segitségével ± 2000 mV tartományban lehet kompenzáló feszültséget adni a mintára. Ennek kettős jelentősége van:

1/ Nullázni lehet a kimenetet, ezután az ERŐSITÉS növelésével a készülék érzékenységét a legkisebb kontakt-

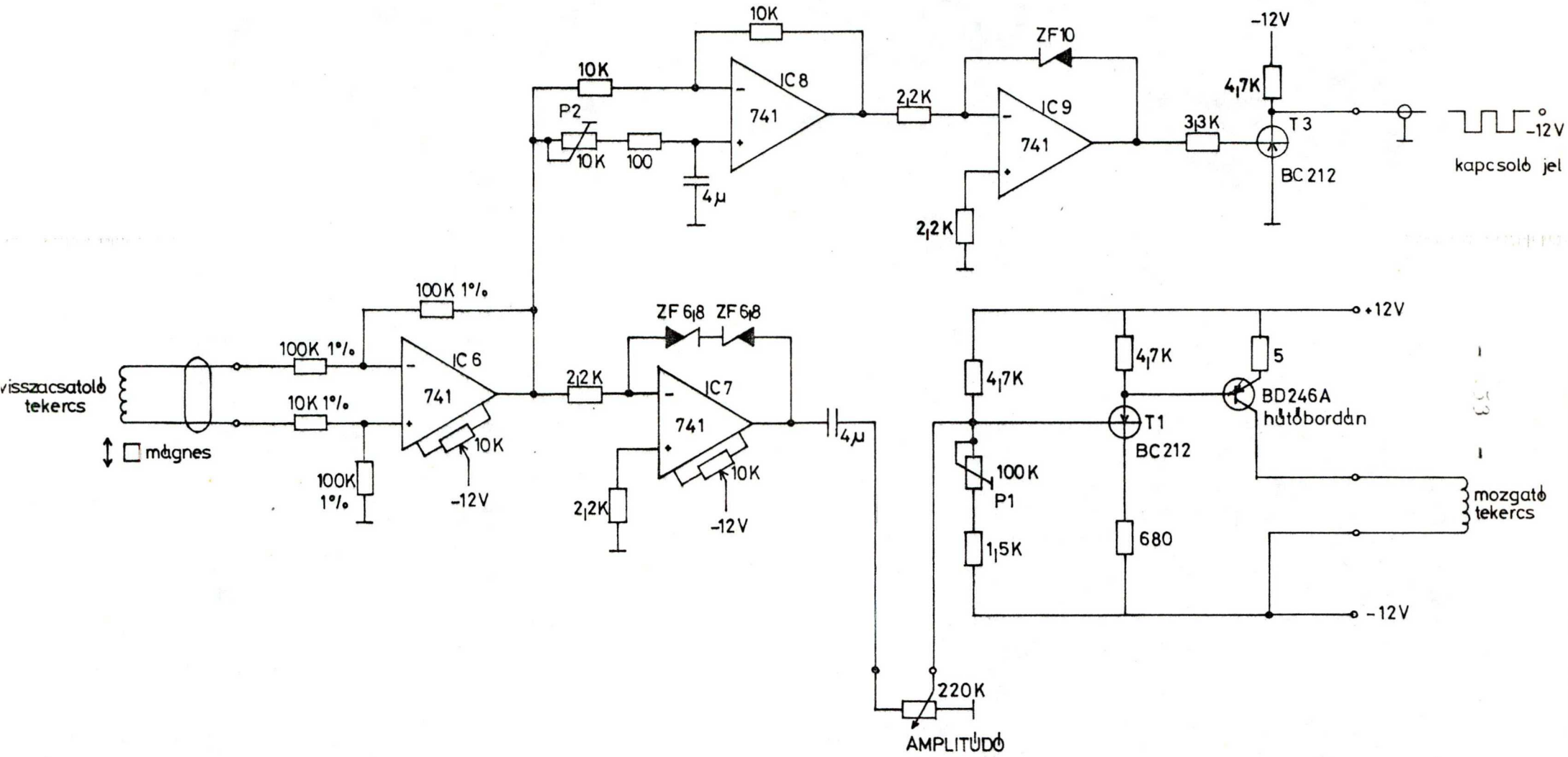
potenciál változásokhoz is illeszteni lehet.

2/ Tetszőleges beállitás esetén ellenőrizni lehet a készülék teljes érzékenységét.

d/ Meghajtó erősitő és tápegység

A meghajtó erősitő feladata az üvegrud rezgésbe hozatala, annak rezonancia frekvenciáján. Biztositani kell a rezgési amplitudó folyamatos változtathatóságát 0,05-0,5 mm között. Ugyanebben a fokozatban képződik a fázisérzékeny demodulátort vezérlő négyszögjel. Ez az erősitő lényegében egy autogenerátor, amelynél a kimenet a bemenetre pozitivan vissza van csatolva. Az erősitő kapcsolási rajzát a 18. ábra mutatja.

IC6 erősiti a felvevő tekercsben képződő mV nagyságrendü jelet. Ez a fokozat differencierősitőnek van kialakitva, hogy ilymódon csökkentsük a felvevő tekercsben indukált egyéb zavarok hatását. IC7 müveleti erősitő tovább erősiti ezt a jelet, és $\pm$ 7 V n gyszögjellé alakitja. Ez vezérli a T1 és T2 tranzisztorokból kialakitott egységnyi feszültségerősitésü áramerősitőt. T2 tranzisztor kollektorába van elhelyezve a meghajtó tekercs, melyet a P1 trimmer segitségével kb. 400 mA árammal elő kell feszitenI, mivel a mozgató elektromágnes a vezérlő négyszögfeszültség pozitiv és negativ polaritása esetén is a magot befelé huzza. Ha előfeszitjük, ezzel az üvegrudat is előhajlitjuk kissé, és e körül a nyugalmi helyzet körül már ki tud alakulni a harmonikus rezgés.

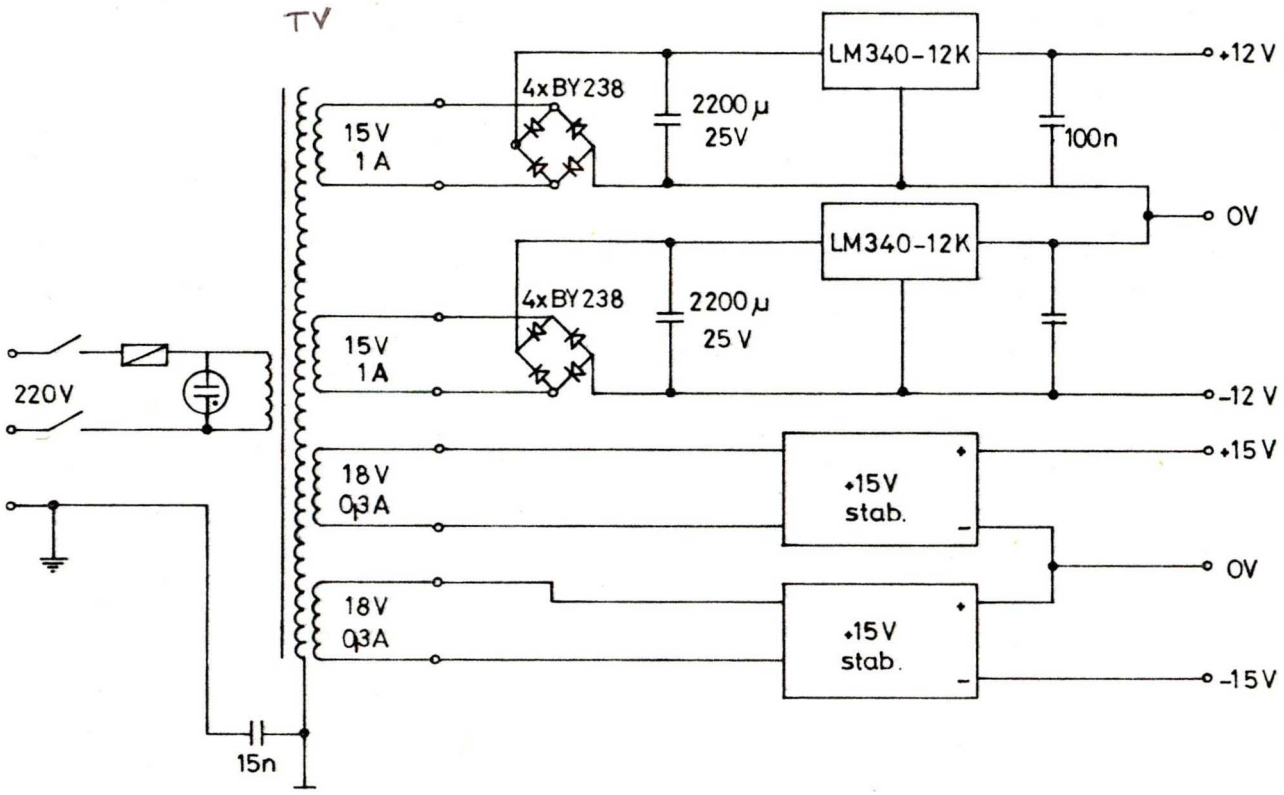

10K
10K
P2
10K
100
IC 8
741
4μ
2,2K
ZF10
IC 9
741
2,2K
3,3K
-12V
4,7K
T 3
BC 212
-12V
kapcsoló jel
100K 1%
100K 1%
10K 1%
IC 6
741
10K
-12V
100K
1%
visszacsatoló
tekercs
mágnes
ZF 6,8 ZF 6,8
2,2K
IC 7
741
10K
-12V
2,2K
4μ
+12V
4,7K
4,7K
5
BD246A
hűtőbordán
T1
BC 212
100K
P1
1,5K
680
mozgató
tekercs
-12V
220K
AMPLITÚDÓ

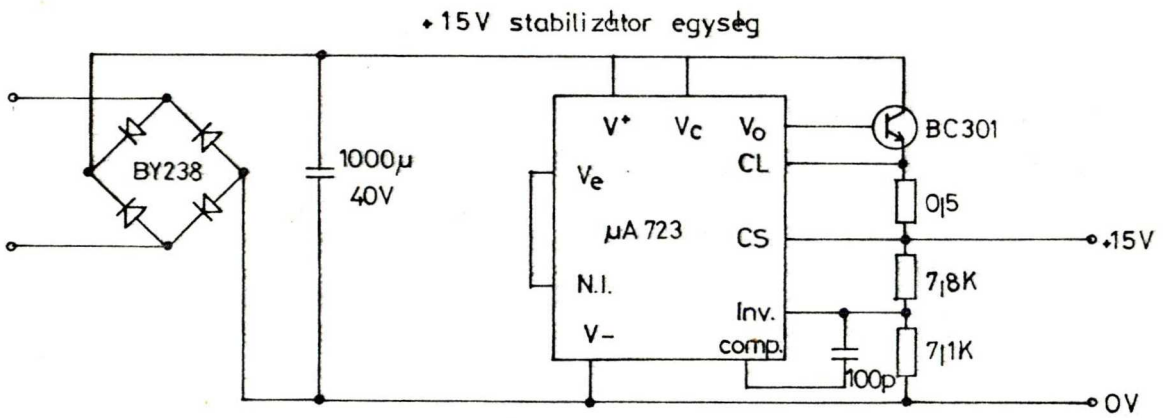
18. ábra

A rezgési amplitudót az előlapon elhelyezett potenciométer segitségével folyamatosan állitani lehet.

IC6 kimenetén megjelenő szinusz feszültséget az IC8 fokozaton felépitett fázistoló fokozatba vezetjük. Erre azért van szükség, mert a lock-in erősitőnél láttuk, hogy az fázisérzékeny egyenirányitás eredményeképpen fellépő jel átlagértéke 0 is lehet, ha a fázis rosszul van beállitva. A meghajtó erősitőben és az egész elektronikában létrejönnek járulékos fázistolások, melyek hatását kompenzálni kell. P2 trimmer segitségével a fázispompenzálást a kimeneti müszeren végezhetjük, annak maximum állitására állitva a fázistoló potenciométert. IC9 és T3 tranzisztorokból kialakitott fokozat az eltolt fázisu jelből létrehozza a 0 és -12 V között váltakozó, fázishelyes kapcsoló jelet a szinkron demodulátor vezérlésére.

A készülék tápegységét a 19. ábrán mutatjuk be. A hálózati feszültséget TV hálózati transzformátor alakitja a szükséges váltófeszültséggé. Zavaró csatolások elkerülése érdekében szükséges volt a meghajtó tekercs és az erősitőfokozatok integrált áramköreinek tápfeszültség ellátását már a hálózati transzformátor szekunder tekercsénél szétválasztani. A 2x15 V-os tekercs biztositja a tápfeszültséget a meghajtó erősitőnek, egyenirányitás, szürés és stabilizálás után. Itt az LM-340-12K u.n. 3 pont stabilizátorokat alkalmaztuk, melyek stabilitása ugyan kisebb, viszont beépitett tuláramvédelem-


TV
4xBY238
15 V
1 A
2200 µ
25V
LM340-12K
100n
+12 V
0V
4xBY238
15V
1A
2200 µ
25 V
LM340-12K
-12 V
220V
18 V
0,3A
+15V
stab.
+15 V
0V
18 V
0,3A
+15V
stab.
-15 V
15n


+15V stabilizátor egység
BY238
1000µ
40V
V+
Vc
Vo
Ve
CL
µA 723
CS
N.I.
Inv.
comp.
V-
BC301
0,5
7,8K
7,1K
100p
+15V
0V

19. ábra

mel rendelkeznek. Mivel a meghajtó erősitő kimenetén a meghajtó tekercs a T2 tranzisztor kollektorába van kötve, ami áramgenerátoros táplálást jelent, ennek a feszültségnek nagyfoku stabilizálását mellőzni lehetett.

A többi erősitők tápfeszültségét a 2x18 V váltakozófeszültségből állitjuk elő. Itt a A 723 stabilizátoron integrált áramkör köré kiépitett nagystabilitásu tápegységet alkalmaztuk, különös tekintettel arra, hogy ide van kapcsolva a ± 2000 mV hitelesitő potenciométer is.

A készülék felépitését bemutató fénykép a disszertáció végén található.

3./ A készülék használata, hitelesitése

A készülék mérőfejét a mérendő felület felett helyeztük el. Először a durva magasságállitócsavar segitségével a Pt lemezkét a minta fölé engedjük kb. 1 mm magasságban. Ebben az állásban elvégezzük a 3 szintezőcsavar segitségével a platinalemezke és a felület párhuzamos sikba állitását. Ez különösen fontos, ha nagyon nagy érzékenységgel akarunk mérni, mivel ha a platinalemez sikja nem párhuzamos a mintával, akkor a "mérőkapacitást" nem tudjuk optimalizálni, mert a Pt lemez egyik széle hozzáér a mintához.

Ezután a finomállitó magasságcsavar segitségével

kb. 0,5-0,3 mm távolságra megközelitjük a mintát. Bekapcsoljuk a készüléket. Az amplitudóbeállitó gomb segitségével beállitjuk a kivánt amplitudót. Folyadékfelületen uszó monomolekuláris réteg esetén a felületi hullámok elkerülése céljából kisebb amplitudót választunk. A szubszrátelektródot hozzákapcsoljuk a hitelesitő referenciafeszültségforrás kimenetéhez. Ellenőrizzük, hogy ezután a referenciafeszültség segitségével a készülék kimenete nullázható-e. Ha ez nem következik be, akkor vagy érintkezik a platinaelektród a mintával, vagy a szubszrátáramkör nem folytonos.

A fenti probléma elháritása után a müszer mutatója középen 0 értéken kell hogy álljon. A referenciafeszültséggel kb. 10 osztás kitérést adunk valamelyik irányba. A sávszürő gombjának csavarásával ellenőrizzük, hogy a jelfrekvenciánk a sávközépen található. Ezután elkezdjük növelni az erősitést. Az erősités addig növelhető, amig a kimenetünk nem kezd instabillá válni. Ez a minta kontaktpotenciál stabilitásának a függvénye. Biológiai mintáknál előfordul, hogy az erősitést nem növelhetjük maximálisra, mert a minta folyamatosan driftel. Ezután beállitjuk a készülék hátlapján a szükséges időállandót. Amennyiben nem kinetikai mérést végzünk, célszerü az időállandót nagyobbra választani /lehetőség van 30 mS - 10S közötti érték beállitására/. Ha szükséges a készülékhez csatlakoztatjuk a rekordert.

A készülék hitelesitését a mérés megkezdése előtt végezzük. Ehhez a minta kontaktpotenciáljának változását immitáljuk a szubsztrátelektróda adott kompenzálófeszültség megváltoztatásával. Ezáltal lényegében hitelesitjük a készülék kimenetét, a bemenetére adott látszólagos kontaktpotenciál változással. Amennyiben az ilymódon kiszámitott mérestartományba belefér a várható kontaktpotenciál változás, akkor kezdődhet a mérés.

Biológiai minták, monomolekuláris filmek esetén általában nem engedhető meg mérés közben a minta árammal való terhelése, mivel a minták belső ellenállása /impedanciája/ olyan nagy, hogy a mérőáram mindenképpen a valóságos kontaktpotenciált megváltoztató feszültségesést eredményezne. Ezért a nullára kiegyenlités módszerét alkalmazzák, miközben mérik a kalibráló potenciométeren azt a feszültséget, amely szükséges az áram folyásának megszüntetéséhez. Ha nemcsak statikus potenciálértékek mérésére van szükség, hanem a folyamat kinetikája az érdekes, akkor a nullára egyenlités egy szervohurok segitségével fenntartható, ahol az áramfolyás megszüntetéséhez szükséges feszültségről a szervokör gondoskodik. Ebben az esetben azonban a PSD-ben az aluláteresztő szürő nem lehet másodfoku, a belengések elkerülése céljából.

III. Az uj mérőmódszer biofizikai alkalmazásai

A Volta potenciál mérésén alapuló vizsgálati módszer - jellegénél fogva - a határfelületen, ill. felületi rétegben uralkodó töltéseloszlás és az ezzel szorosan összefüggő potenciáleloszlás tanulmányozására szolgál és igy a biofizikában a membránjelenségek kutatásában hasznositható.

Általában nem a Volta potenciál abszolut értéke hordozza a szükséges információt, hiszen ez nagymértékben az alkalmazott elektródák függvénye, hanem annak megváltozása. Ez utóbbit szokták a gyakorlatban felületi potenciálnak nevezni, abban az esetben, ha okozója egy mesterségesen létrehozott film folyadék-gáz, szilárd test-gáz vagy folyadék-folyadék határfelületen. Ilyenkor a filmet alkotó molekulák dipólus jellege miatt egy orientált dipólrétegről van szó. Helmholz szerint ekkor egy $\chi = -4\pi n\mu$ potenciálugrás tapasztalható a határfelületen:

n - egységnyi területen lévő dipólok száma

μ - dipólnyomaték

Amennyiben a potenciálváltozás oka a fázishatáron keresztül történő töltéstranszport: pl. a határfelületen lejátszódó redox reakció következtében, ionmegoszlás eredményeként, aktiv transzportot végző enzim müködéseként, ebben az esetben fázisközi potenciálról beszélünk.

Természetesen mind a felületi, mind a fázisközi potenciál abszolut értéke önmagában is sok információt hordoz a felületi réteg szerkezetére, ill. a töltésszeparáció jellegére vonatkozóan, mégis sok esetben ezek változásait használjuk fel az egyes folyamatok jellemzésére.

1. Biomembránok szerkezeti és elektrosztatikus modellje.

A biomembránok szerkezetére vonatkozó ismereteket két szempontból is célszerü röviden áttekintenünk. Egyrészt segitenek eligazodni a mérőmódszer alkalmazását illetően, másrészt ezen ismeretek részben ilyen mérésekből származnak.

Gorter és Grendel monomolekuláris filmeken végzett vizsgálatai /21/, illetve Danielli és Davson munkássága óta /22/ a biomembránokat egy kb. 70 Å vastag lipid kettősréteggel modellezzük, ahol a fehérje molekulák részben a réteg belsejében /vagy azt helyettesitve/, részben a réteghez tapadva helyezkednek el. Eltekintve egyes speciális membránalkotóktól, mint pl. a csatornák, a membrán belseje hidrofób, külső felszine pedig hidrofil jellegü. Vagyis a belső rész egy apoláros, kis dielektromos állandóju olajszerü közeg, mely kedvezőtlen az elektromos töltések számára; a külső rész poláros csoportokat tartalmaz, az ionok számára kozzáférhető, illetve maga is lehet ionos jellegü.

Figyelembe véve az emlitett szerkezeti sajátosságokat a membránfolyamatok modellezésére három lehetőség kinálkozik:

a/ lipid kettősréteg két vizes fázis között

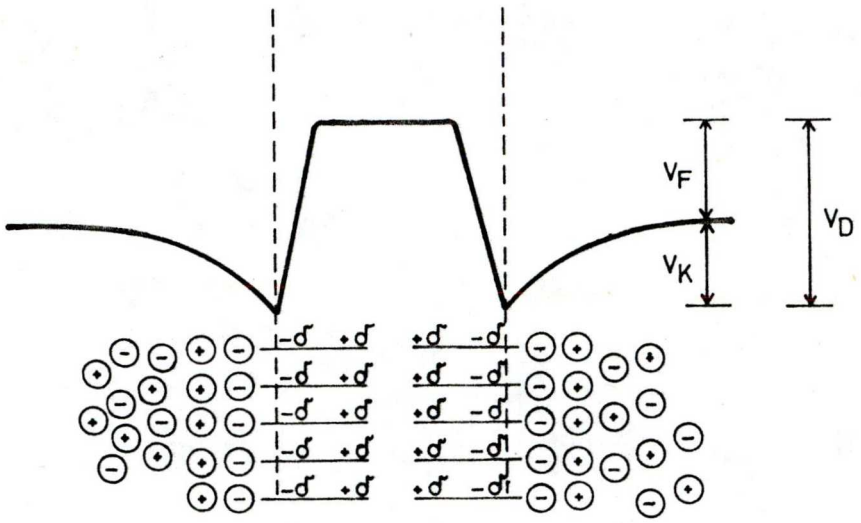
b/ lipid monoréteg viz-levegő, illetve viz-olaj határfelületen

c/ viz-olaj fázishatár.

Az a/ rendszert akkor célszerü alkalmazni, amikor az egész membrán szükséges a folyamathoz /pl. töltéstranszport, integrális fehérjék beépitése stb./; a b/ rendszer a határfelületen végbemenő jelenségeket tükrözi /pl. elektromos kettősréteg szerkezete, ion abszorpció, töltésinjekció stb./ és a szerkezetről ad felvilágositást; végül a c/ rendszer főként a membrán belseje és a membránt körülvevő vizes fázis közti folyamatok /pl. töltött részecskék transzportja, redox folyamatok, stb./ modellezésére szolgál.

Az általunk ismertetett uj módszert a b/ és c/ módszerek vizsgálatánál alkalmazzák széles körben, ami az elektrosztatikus membránmodell /és a módszer természete/ alapján érthető is.

Egy negativan töltött /disszociábilis/ lipidet is tartalmazó bimolekuláris membrán elektrosztatikus profiljának vázlatos rajza látható a 20. ábrán:



20. ábra

V_F - a vizes fázis és a membrán belseje közti potenciál különbség

V_K - a vizes fázis és a membrán felülete közti potenciál különbség, az un. kettősréteg potenciál

V_D - a membrán felülete és belseje közti potenciál különbség, az un. dipól potenciál

$+\delta$, $-\delta$ elemi dipóltöltés

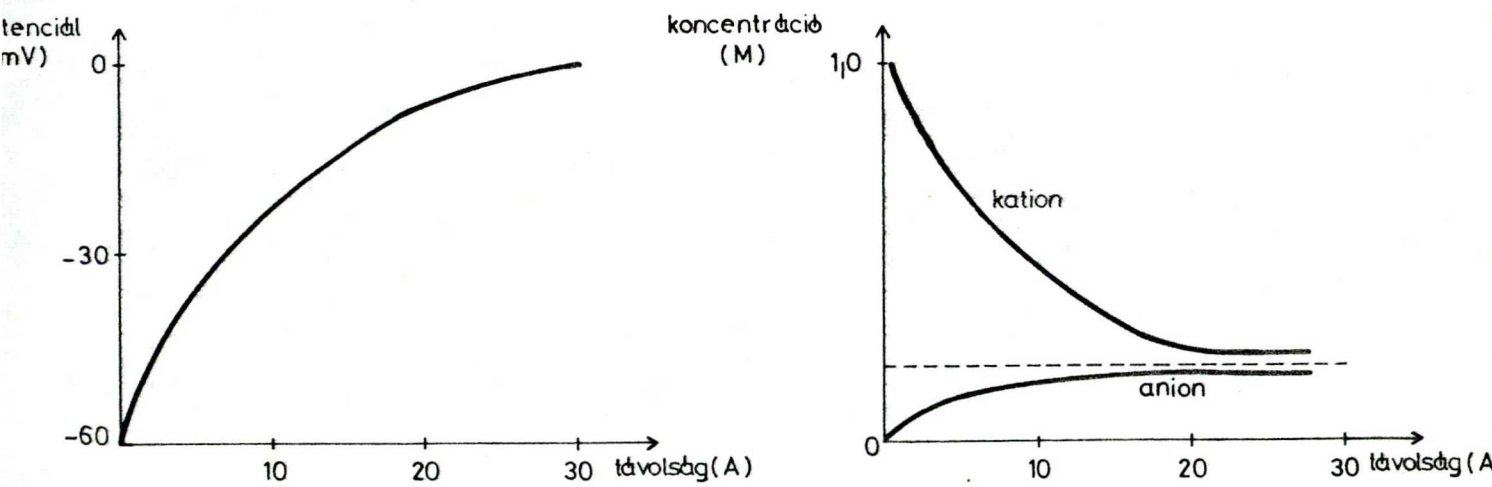
Természetesen a potenciálprofil lehet aszimmetrikus is, ami a biomembránoknál gyakoribb eset. Nyilvánvaló, hogy a transzport és abszorpciós folyamatok szempontjából nem annyira a két vizes fázis közötti potenciál különbség a membrán potenciál, hanem maga a membrán potenciálprofilja a membránhoz kötött potenciál a meghatározó. Erre leginkább a monomolekuláris filmek felületi potenciáljának vizsgálata révén kapunk információt.

Vizsgáljuk meg részletesebben az egyes potenciálokat és szerepüket a membránfolyamatokban.

A kettősréteg potenciál.

Amennyiben a membrán felületén rögzitetten szabad töltések vannak /disszociációból adódóan/ a vele érintkező vizes fázisban az ellenionokból egy fokozatosan ritkuló felhő képződik a vizes fázis belseje felé haladva. Az ellentétes ionokból igy egy un. kettősréteg alakul ki, melyben a potenciáleloszlást a Gouy-Chapman elmélet /23/ irja le. Az elméletet többször módositották, de alapjaiban és pontosságában nem változott jelentősen /24/.

A potenciáleloszlást és az ioneloszlást a 21. ábra szemlélteti egy negativan töltött membrán esetén.



21. ábra

Az elmélet alapján a membrán felületén az oldat belsejéhez képest mért potenciál függ a felületi töltéssürüségtől σ, az elektrolit /szimmetrikus/ töltésétől Z és a koncentrációtól c:

$$A\sigma/\sqrt{c} = \sinh(ze\varphi_0/2kT)$$

$$A = 1/(8N\varepsilon_r\varepsilon_0 kT)^{1/2} \qquad \text{ha} \quad T = 25^\circ C$$

$$[\sigma] = \frac{}{A^{o2}} \qquad [c] = \text{mol/l}$$

akkor $136{,}6\,\sigma/\sqrt{c} = \sinh(z\varphi_0/51{,}4)$, ahol

$$[\varphi_0] = mV$$

Az elméletből egy igen érdekes és biológiai szempontból fontos következtetést vonhatunk le, nevezetesen az egyértékü és kétértékü ionok hatásában jelentős az eltérés. Például, ha $\sigma = -1/300$ /egy negativan töltött molekula található 300 Å^2 területen/, $c = 10^{-1}$ M, $T = 25^\circ C$ és $Z = 1$ /egyértékü ion/, akkor $\varphi_0 = -60$ mV. Ugyanezt a potenciál értéket egy kétértékü ion /Z = 2/ esetében már $c = 8.10^{-3}$ M koncentrációnál elérjük, tehát a kétértékü ionok /Ca^{++}, Mg^{++}/ sokkal hatékonyabbak a felületi pontenciál kialakitásában /azaz csökkentésében/ és természetesen az ezzel összefüggő összes folyamatra nagyobb hatással vannak.

A kettősréteg elméletét kisérletileg többször ellenőrizték különböző renszereken. Mi csak a felületi monorétegeken kontaktpotenciál módszerrel végzett mintákat emlitjük meg.

Davies és Rideal /25/ Kvaterner anionok /hosszu alkil lánchoz kapcsolt/ felületi potenciálját mérte a fürdető oldat sókoncentrációjának függvényében. Tizszeres koncentráció változásra az elméletileg várható -59 mV értéket kapták.

McDonald és Baugham /26/ hasonló vizsgálatokat végzett negativan töltött lipid filmekkel. A felületi töltéssürüséget és a sókoncentrációt változtatva az elméleti értékeknek megfelelő eredményeket nyertek.

Haydon és Myers /27/ különböző technikákat kombinálva ellenőrizték a Gouy-Chapman elméletet. Többek között felületi potenciált mértek különböző töltéssürüségü monorétegeken és az elmélettel jó egyezést találtak.

A kettősréteg potenciál szerepe a membránfolyamatokban.

a/ Módositott és módositatlan membránok elektromos vezetése

A membránban lokalizált pórusok, csatornák mint voltméterek reagálnak a transzmembrán potenciál változására. Monazomyan autibiotikum esetén Müller és Finhelstein /28/ kimutatta, hogy a feszültség-áram karakterisztika eltolódik, ha a membrán két oldalán aszimmetrikus az ioneloszlás. Az eltolódás mértéke megegyezik a kettősréteg potenciálok különbségével, vagyis a kettősréteg potenciálok különbsége transzmembrán potenciál keletkezéséhez vezet.

A transzmembrán potenciál hatására a membrán belsejében jelenlévő töltések elmozdulnak, mindaddig mig a potenciál ki nem egyenlitődik. Ekkor, mivel a kettősréteg potenciálok különbözők, a két vizes fázis között potenciálkülönbség lép fel és a membrán ugy viselkedik, mintha ionszelektiv volna. Ezzel a mechanizmussal értelmezte Bérczi és Szundi /29/ az oxidált koleszterin mesterséges membránok viselkedését, miután kontaktpotenciál méréssel monorétegen kimutatták, hogy a membrán negativan töltött.

b/ Elektromosan töltött molekulák adszorpciója membránokon

Számos farmakológiai szempontból fontos anyag, mely a membránfunkciót befolyásolja, illetve a membránmüködésről információt adó festék és egyéb adalékanyagok hatásához elengedhetetlen feltétel azok adszorpciója a membránon. Példaként a kationos lokális anesztetikumokat /melyek hatása az ideg blokkolásától a virus mediálta sejtmembrán fuzió befolyásolásáig terjed/, a szalicilát aniont /neuron ionvezetését befolyásolja/, ANS és TNS fluoreszcenciás festékeket /membránpotenciál mérésére/ emlithetjük meg. Ezen anyagok mint töltött részecskék kötődnek a membránhoz. Az adszorpció leirására a Langmuir vagy a Stern izotermát alkalmazhatjuk /30/. Az előző nem veszi figyelembe a felület feltöltődését az adszorpció során, mig az

utóbbi egy felületi potenciáltól függő folyamatot ir le. A kisérleti uton a két elmélet közül választani lehet, a számos megközelitési mód közül a felületi potenciál mérésén alapuló vizsgálatokat mutatjuk be.

Haydon és Myers /27/ dodecyl szulfát és dodecyl--trimetilammónium adszorpcióját mérte semleges lipid monorétegen. Az adszorbeált mennyiséget a felületi feszültség változásából számitották a Gibbs egyenlet szerint, majd ezt mint felületi töltést figyelembe véve a Gouy egyenletből meghatározták a felületi potenciált, mely a mért értékekkel jól egyezett. Az adszorpciót a Stern elmélettel lehetett kielégitően leirni.

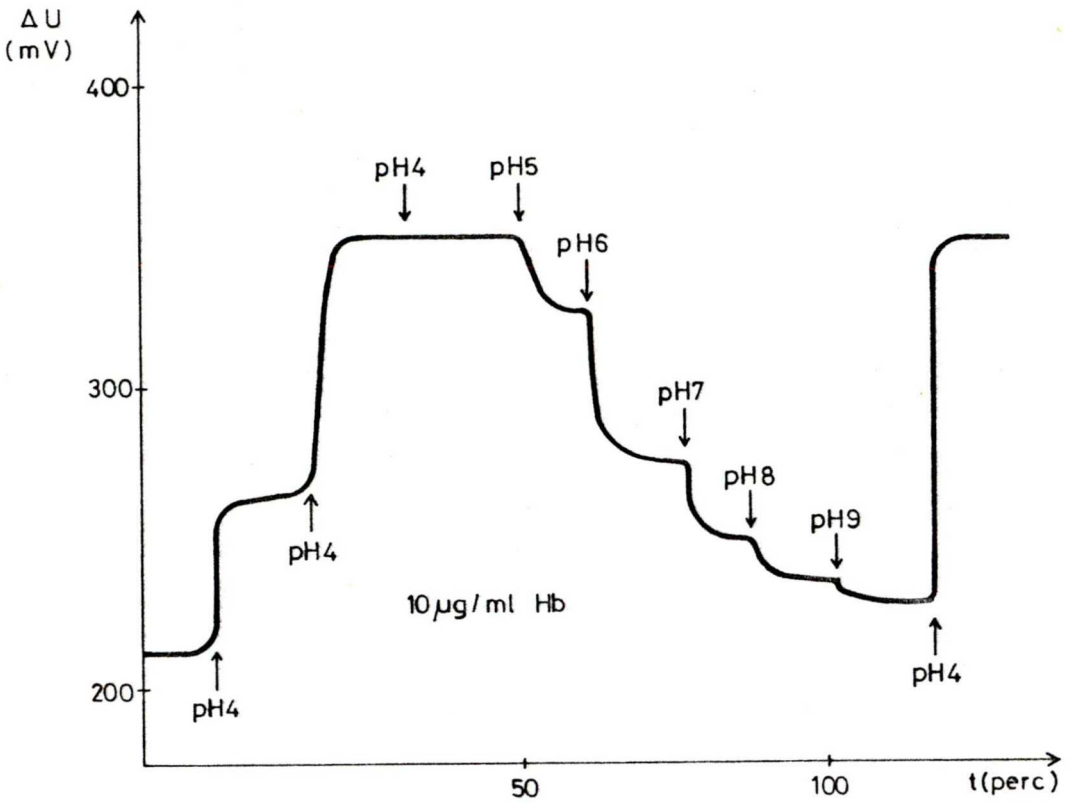
Fromherz és Masters /31/ a proton kötődését vizsgálta negativ töltésü festékindikátorhoz, mely pozitiv töltésü monorétegbe volt beágyazva. A folyamat a felületi potenciált is figyelembe vevő Stern elméletet támasztotta alá. Ugyanakkor az egyezés nem volt ilyen jó a negativ töltést is tartalmazó monorétegek esetén.

A kettősréteg potenciálnak hatása van az enzimkinetikára is. Thenvenet és Borst-Pauwels /32/ kimutatta, hogy a felületi potenciál ismerete fontos az olyan membránkötött enzimek esetében, ahol töltött molekulák vesznek részt a reakcióban.

A felületi töltéseknek irányitó szerepük van töltött fehérje molekulák membránhoz való kötődésében is. Az általunk kifejlesztett módszerrel bizonyitotta Szundi és munkatársai /33/ a hemoglobinnak vörösvérsejt membrán lipidjeihez való kötődésében az elektrosztatikus kölcsönhatás szükségességét és az adszorpció irreverzibilis természetét. A vizsgálatokat röviden a következőkben lehet összefoglalni.

A vörösvérsejt membrán külső felén elektromosan semleges /kettősionos/ lipid molekulák vannak többségben, a negativan töltött lipid /foszfatidilszerin/ a belső felmembránban helyezkedik el tulnyomórészt. A külső és belső felmembránt utánzó lipid monorétegeken a felületi potenciált mérve, csak a negativan töltött esetében figyelhető meg változás, a kettősréteg fokozatosan eltünik az adszorbeált homoglobin pozitivan töltött csoportjai révén. A megkötött fehérje a fürdető oldat pH-jának növelésével semlegesitődik; majd negativvá válik. Reverzibilis folyamat esetén deszorbciónak kellene végbemenni, vagyis a fürdetőoldat cseréjével a fehérje eltávolitható. Az oldat pH-ját lecsökkentve az eredeti értékre meglepő módon, a kiindulási felületi potenciált észleljük, vagyis az adszorpció folyamata irreverzibilis jellegü, amint az a 22. ábrán látható.

Az ábra a hemoglobin kötődését mutatja a belső félmembrán lipidjeihez. A nyilak a cserénél használt



22. ábra

oldatot jelzik. A film kezdeti nyomása 30 mN/m /din/cm/, a kezdeti pH 5-6 /desztillált viz/.

A dipól potenciál.

A membránt alkotó lipid molekulák sok esetben nem hordoznak szabad töltést, azaz nem tartalmaznak disszociációra képes csoportot. Ugyanakkor szerkezeti felépitésüknél fogva poláros csoportokat, kötéseket foglalnak magukban s igy a molekula állandó dipólus jelleggel rendelkezik. A membránban a molekulák orientáltan helyezkednek el, tehát elektromos szempontból nézve egy orientált dipól rétegről van szó. A dipól réteget szemléletesen mint egy feltöltött

kondenzátort tekinthetjük, vagyis a réteg két lapja között feszültség mérhető. Valóban, ha egy elektrolit oldat felületén monomolekuláris lipid réteget hozunk létre az oldatban elhelyezett referencia és az oldat fölé helyezett mérő elektróda között néhány száz mV feszültség változás mérhető a réteg nélküli oldathoz viszonyitva. Természetesen a lipid molekulákat alkotó csoportokon és kötéseken kivül a réteggel érintkező viz molekuláinak orientációjában bekövetkező változások is hozzájárulnak a mért feszültség, röviden felületi vagy film potenciál kialakitásához. Ezt a potenciált, eltérően a kettősréteg potenciáltól, nem befolyásolja a hordozó fázis elektrolit koncentrációja.

A felületi potenciál és a membránban uralkodó dipól potenciál abszolut értéke nem feltétlenül azonos, mivel a mérés során egy viszonyitási alapot /a film nélküli vizes fázis/ kell használni, mely maga is változhat a film képződése során. Bimolekuláris membránokon áthatoló ionokkal /pl. nonaktin - K^+komplex/ végzett kisérletek /34,35/ szerint, a különböző neutrális vagy kettős ionos lipidekből készült membránok vezetőképessége ugy viszonyul egymáshoz, ahogy az elvárható a felületi potenciáljaik alapján. Pl. glicerolmonooleát és foszfatidilkolin felületi potenciáljainak különbsége -120 mV. Ennek megfelelően a vezetőképességek aránya $G_+^{GMO}/G_+^{PC} = \exp - /e\Delta\varphi/_{KT}/ = 10^2$, ami a kisérleti eredménnyel jól egyezik.

Természetesen abszolut értéket mérni nem lehet, hiszen az un. belső vagy Galvani potenciálok nem mérhetők.

A dipól potenciál szerepe.

A dipól potenciál fontos ismérve, hogy a fürdető oldat elektrolittartalmától független, amit a monorétegen végzett mérések is igazolnák /34/. Ez a potenciál nem nyulik bele a vizes fázisba, legalábbis az anionok és kationok adszorpciója a különböző dipól potenciálu lipideken nem tért el számottevően /36/.

A dipól potenciál megváltozhat semleges molekulák, mint pl. koleszterin /36/, szalicilamid /37/ és floretin /38/, illetve töltéssel rendelkező molekulák, pl. SOS /Na-dodecilszulfát /27/ beépülése révén a lipid membránokba.

A hatás különösen érzékletes a koleszterin esetében, ugyanis ez az anyag közismerten csökkenti a membránok folyékonyságát /fluiditását/, azaz tömöriti a membránt.

A membránok vezetőképességének koleszterin hozzáadásával csökkennie kellene, de negativ ionok esetében ez éppen forditva történik, ami egyedül a dipól potenciál megváltozással értelmezhető.

A szalicilamid esetében hasonló jelenség észlelhető. 10 mM-os koncentrációjánál a vizes fázisban a kation vezetés 20-szorosára növekszik, mig az anion vezetés huszadára csökken. Ez -75 mV dipól potenciál változásnak felel meg a kiindulási foszfatidiletanolamin membránhoz képest. Érdekes megemliteni, hogy ugyanez

a koncentráció neuronok kation és anion vezetését is hasonló irányban változtatja meg.

Még nagyobb dipól potenciál változást észlelhetünk a floretin esetében, ami azért is érdekes, mert ez az anyag számos biológiai transzport rendszer lehetséges módositójaként szerepel. Foszfatidiletanolamin modell membránon már 10^{-4} M koncentrációban ezerszeres kation vezetés növelést okozott, az anion vezetést pedig ezredrészére csökkentette. Ez -180 mV dipól potenciál változásnak felel meg, monorétegen hasonló körülmények között -200 mV változást mértek, ami az elméleti fejtegetést jól alátámasztja.

A dipól potenciállal, illetve annak módositásával kapcsolatban emlitjük meg az un. "határréteg" potenciált, mely a szimmetrikus hidrofób ionok adszorpciójával kapcsolatos. Ezek ugyanis hidrofób jellegüknél fogva a membrán belseje felé igyekeznek, de ionpárjuk miatt ugyanekkor a membrán felszinéhez közel kell hogy elhelyezkedjenek.

A kétfajta hatás következtében a membrán felszinétől 1-4 Å távolságban maradnak, s mint töltött részecskék a vizes fázisban lévő ionpárjukkal egy kondenzátort képeznek. Igy a membránban a felszinhez közel egy jelentős tér alakulhat ki, ami a töltött részecskék mozgását erősen befolyásolja /39/.

SZEGED

A membránhoz kötött potenciálok biológiai jelentősége

A. Ingerelhető membránok áram-feszültség görbéi.

A feszültségfüggő ionmozgáson alapuló Hodgkin-Huxley elmélet az akciós potenciál jelenségét pontosan leirta és megmagyarázta mindaddig, mig az 1960-as években perfundált óriás axonokon ellentmondó adatokat nem kaptak.

Az axonokat izotóniás Na^+ illetve cukoroldattal perfundálták, vagyis a K^+tartalmukat lecsökkentették. Amikor a káliumot nátriummal helyettesitették a nyugalmi potenciál -30 mV alá esett, vagyis a sejt depolarizált állapotba került és akciós potenciált kiváltani rajta nem lehetett /40/, ami az elmélettel megegyezik. Cukoroldatos perfuziónál a depolarizált sejtek is mutattak akciós potenciált /41/.

Chandler /42/ és mtsai a jelenséget a kettősréteg potenciál segitségével értelmezte. Szerinte a membránban lévő csatornák nem a mérhető membránpotenciálra reagálnak, hanem a transzmembrán potenciálra. Feltételezve az axon belső felszinén 700 $Å^2$ területen egy negativ töltést a 300 mM-os KCl oldatban -17 mV kettősréteg potenciál várható. Nátriummal való cserénél természetesen ez nem változik, igy a mérhető membrán potenciál változása megfelel a transzmembrán potenciál változásnak. Cukor oldattal történő perfuzió esetén a membrán potenciál csökkenését a kettősréteg potenciál növekedése kompenzálni képes, vagyis a transzmembrán potenciál változatlan marad, és a sejt ingerelhető.

A potenciál-áram görbén ez azt jelenti, hogy a kettősréteg potenciál változásnak megfelelően egy eltolás történt a potenciál tengelyen. Hasonló eltolódás tapasztalható, ha a külső közegbe Ca^{++} adunk /43/, mivel a kétértékü ionok erősen leárnyékolják a felületi töltéseket. A többértékü ionok fokozott árnyékoló hatását más ingerelhető membránok esetében is vizsgálták és a tapasztalt feszültség eltolódást a kettősréteg potenciál változásával jól összehangba lehetett hozni.

B. Töltött lipidek eloszlása a biológiai membránban.

A membránban a lipid molekulák transzverzális /flip-flop/ és laterális diffuzióval mozognak. Amennyiben a biológiai kicserélődés ideje hosszabb a transzverzális diffuzió idejénél a membrán potenciál irányitólag hat a lipidek megoszlásában a két félmembrán között /44/. Pl. 15 % negativ lipidet tartalmazó membrán 75 mV nyugalmi potenciál és 0,5 M sókoncentráció esetén akkor lesz egyensulyban, ha a külső felszin felületi potenciálja -50 mV, a belsőé -15 mV. Ez az emlitett axonra kitünően ráillik.

A flip-flop azonban nagyon lassu folyamat, többórás időállandóval. A laterális diffuzió ezzel szemben meglehetősen gyors /D 10^{-8} cm^2/sec/, ugyhogy megfelelő "átforditó helyek" esetén az egyensulyi megoszlás gyorsan kialakulhat. Ilyen helyeket a membránban még nem mutattak ki.

Az azonban bizonyos, hogy laterális diffuzióval a töltött lipidek a kis görbületi sugaru helyeken összegyülhetnek. Hasonló érvényes a membránban lévő töltött fehérjék környezetére is.

C. Töltött molekulák áthatolása membránokon.

A membránokat különböző csatornák teszik átjárhatóvá az ionok számára. A vezetőképességi vizsgálatok alapján megállapitható, hogy a csatornák nem "érzik" az egész felületi potenciált, hanem annak csak egy részét /45/, ennek oka még tisztázatlan.

Az un. hordozó /carrier/ molekulák ionokkal képzett komplex, pl. nonaktin-K^+ komplex viszont ideálisan reagál a felületi potenciál változásaira, ezért mint potenciál próbákat alkalmazzák.

Egyes gyenge savak /pl. dinitrofenol/ mint proton hordozók szerepinek, effektivitásuk a felületi potenciáltól függ. Szétkapcsoló /uncoupler/ hatásuk, mellyel a mitokondriumok, baktériumok és kloroplasztisok oxidativ foszforilációját gátolják, is az elektrokémiai proton gradiens megszüntetésén alapszik /27/.

D. Fluoreszcens próbák.

A gyakorlatban használatos fluoreszcens próbák /Pl. ANS/ többnyire savas jellegüek, azaz negativan töltött molekulák. Mivel a biológiai membránok is negativ felületi töltéssel rendelkeznek a festék adszorpciója

gátolt. Minden, ami a kettősréteg potenciált csökkenti /kationos lokális anesztetikumok, Ca^{++} stb./ serkentően hat az adszorpcióra. Ez tapasztalható az ANS-nek myelinhez /48/ és egyéb membránhoz /49/ való kötődésében.

E. Ozmozis nyomás kis vezikulumokban.

Sok szubcelluláris részecskének igen nagy a felszine a térfogatához képest. Egy szinaptikus vezikulum sugara kb. 200 Å és 15 % negativ lipidet tartalmaz. A belső felszinén igy kb. 1200 negativ töltés található, ami 1200 elleniont /pozitiv/ tételez fel. Ezek az ionok az ozmózis nyomás kialakitásában nem vesznek részt. Az ozmotikus egyensuly fenntartásához további 3000 ionpárra van szükség, igy érthető, hogy egy vezikulum több mint 3000 acetilkolin molekulát tartalmaz /50/.

Hasonló meggondolásokat lehet tenni a szarkoplazmatikus retikulum Ca^{++} akkumuláló képességét illetően is.

Töltés szeparáció és transzport határfelületeken.

Az előzőekben vázoltuk a membrán elektrosztatikus felépitését és annak szerepét a membrán transzport és egyéb folyamataiban, amikoris egy adott töltés /általában ion/ jut át, a membrán egyik oldaláról a másikra. A biológiai folyamatok nagy részében a helyzet ennél jóval bonyolultabb. Sok, membránhoz kötött kata-

litikus folyamatban a töltésszeparáció csak időleges mert a jelenségek egész láncolatával állunk szemben, példaként megemlithetjük a mitokondriumokban lezajló redox folyamatokat, vagy a fotoszintézis igen összetett folyamatát. Az ilyen bonyolult folyamatok mechanizmusának megismerésére különböző egyszerü modellrendszereket igyekeznek létrehozni, ahol az egyes lépések különválasztva vizsgálhatók. Ezek közül számunkra három tünik elsősorban érdekesnek: a viz-olaj és viz-levegő határfelület, valamint a vezető felületen létrehozott vékony rétegek. Méréstechnikai szempontból mindhárom rendszer hasonló: a kontaktpotenciál változását mérjük vibrációs elektrométerrel. Az összehasonlitó elektród a vizes fázisba merül, illetve a filmet hordozó vezetőréteg maga, a mérőelektródot pedig a réteg fölött helyezzük el.

Viz-olaj határfelület

Az egymással nem elegyedő két fázis határfelületén enzimek és egyszerübb katalizátorok adszorbeálhatók, melyek müködésük során elektronokat vagy protonokat visznek át az egyik redox rendszerből a másikra, bár azok különböző fázisokban helyezkednek el.

Ilyen enzim a mitokondriális ATP-áz /F_1 faktor/, mely Mg^{++} jelenlétében a viz-oktán határfelületen adszorbeálódik és szubsztrát hozzáadásával potenciál változást hoz létre /51/. A mérőrendszer sematikusan a következő:

Vibrációs elektród	levegő	oktán proton akceptor	viz ATPáz, Mg^{++}, ATP	viz telitett KCl	kalomel elektród

Proton akceptorként dinitrofenol /DNF/ használható, mely oktánban jól oldódik.

Az ATPáz a szubsztrátot hidrolizálja és a felszabaduló energia révén protont visz át a vizes fázisból az oktánba, ahol azt az akceptor megköti. Akceptor nélkül az olaj fázisba nem lehetséges töltést bevinni energetikai okok miatt. A proton átvitele révén a két fázis között potenciál változás jön létre, amit az oktán fölé helyezett vibrációs elektróda érzékel.

Egy hasonló elrendezésben a porfirinek katalitikus viselkedését tanulmányozta Boguszlavszkij és mtsai /52/. Az oktán fázisba adták a porfirint és az elektron akceptort, a vizes fázisba a szubsztrátot /aszkorbát/, mely elektront képes leadni. A porfirinek a határfelületen adszorbeálódnak és a szubsztrátból elektront viszneк át a másik fázisba az akceptorhoz, ami negativ töltést ad az oktán fázisnak.

Még érdekesebb eredményt kaptak a szerzők /53/ egy összetett rendszeren, ahol az oktán fázisban a porfirinen kivül proton akceptor /DNF/, a vizes fázisban elektron akceptor /káliumferricianid/ volt. Megvilágitva a rendszert fotopotenciál keletkezik, az akciós spektrum a pigmens "vörös" formájára emlékeztet. A potenciálugráson kivül kimutatták, hogy a rendszerben

oxigén képződik, vagyis miközben proton transzportálódik a szerves fázisba, a vizes fázisban vizbontás megy végbe.

Viz-levegő határfelület

A viz-levegő határfelületen képzett monomolekuláris filmen is lejátszódhatnak töltésszeparációval járó folyamatok. Természetesen itt töltéstranszportról nem beszélhetünk, mivel hiányzik a töltés befogadására alkalmas másik fázis, de bizonyos, molekulán belöli /illetve molekulák közötti/ töltésátrendeződések végbemehetnek. Hasonlóképpen várható, hogy amennyiben a mesterséges membránok elektromos vezetésében elektródfolyamatok valóban végbemennek, akkor ezek az elektródjelenségek a monomolekuláris filmen kimutazhatók. Az utóbbira történt kisérlet intézetünkben jód-jodid rendszer esetében, ahol határfelületi redox reakciókat tételeztek fel /más mechanizmusok mellett/ a mesterséges lipid membránok vezetésének magyarázatára.

A vizsgálatok azt mutatták /54/, hogy a lipid filmet nem lehet semleges elektródának tekinteni, melyen a megforditható redox reakció lejátszódik /mint pl. egy platina lemez esetében/, hiszen a redukált forma /jodid/ egyedül semmilyen hatással nem volt a felületi potenciálra. Az oxidált forma /jód/ a filmen potenciálját jelentősen növelte /pozitiv a vizes fázishoz képest/ és a legnagyobb hatást akkor lehetett elérni, ha a jódot a lipid

film készitéséhez használt oldatba előzőleg belekeverték. Ilyenkor +200 mV potenciálváltozásokat lehetett elérni. Ez arról tanuskodik, hogy a lipid és a jód között olyan kölcsönhatások lépnek fel, mely töltésszeparációval jár, azaz a lipid film pozitiv töltést kap, a negativ töltésü, feltehetően polijodid ionok pedig a filmből a vizes fázisba kerülnek. A jódról ismeretes, hogy hajlamos un. töltésátviteli /charge-transfer/ komplexek képzésére, ilyen kölcsönhatásra utaló abszorpciós változás a kérdéses lipidek esetében is tapasztalható.

A polijodidok koncentrációját növelve a vizes fázisban a potenciálnövekedés visszaszoritható, azaz a komplexet alkotó negativ ionokat vissza lehetett hajtani a lipid filmbe. A rendszer tehát ugy müködik, mint egy ionszelektiv elektróda; más ionok jelenléte /pl. 0,1 M Kcl/ a potenciál értékét nem befolyásolja. Ezek a megfigyelések a mesterséges membránok vezetésével kapcsolatos elképzeléseket uj megvilágitásba helyezik.

Vezető felületen létrehozott vékony rétegek

Bizonyos membránok vagy azok egyes fragmentumai kellő stabilitást mutatnak ahhoz, hogy belőlük szilárd hordozón vizmentes /légszáraz/ rétegeket lehessen képezni. Aszimmetrikus felépitésü fragmentumok esetén lehetőség van arra, hogy ezek a rétegek irányitottan készüljenek, igy a bennük lezajló folyamatok a kontaktpotenciál mérésével követhetők legyenek. Az intézetünkben folyó bakteriorodopszin vizsgálatoknál használatos membránfragmentumokból elektromos térben száritással orientált réteg készithető /55/. A réteget megvilágitva egy foto-

kémiai ciklus játszódik le, melynek során a membránban lévő fehérje-pigmens komplex protont visz át a membrán egyik oldaláról a másikra. Ez a töltés elmozdulás jól követhető kontaktpotenciál méréssel. A fotopotenciál néhány száz mV nagyságrendü is lehet. A potenciálváltozások időbeli lefutásából kinetikai paramétereket lehet meghatározni: a potenciálesés három fázisra bontható 10 s, 60 s és 100 s időállandókkal, mely összhangban van a spektroszkópiai mérésekből meghatározott köztitermék életidőkkel.

A kontaktpotenciál mérés egy érdekes alkalmazási lehetőségét veti fel Minc és mtsa /56/. Elektrolittal érintkező szürőlap felületére sejt szuszpenzióból réteget adszorbeáltatott. A mért potenciál függött a rétegben lévő élő sejtek arányától. A jelenség oka még nem tisztázott jelenleg.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az értekezésben a biológiai kutatásokban eddig hazánkban nem alkalmazott mérőmódszer, a rezgőelektródás kontaktpotenciál mérés technikáját és sokrétü felhasználási lehetőségeit kivántuk bemutatni, hangsulyozva azt, hogy a módszer segitségével a jelenségeket uj, eddig kevésbé ismert oldaláról tudjuk vizsgálni.

Áttekintettük a kontaktpotenciál jelenségének és mérési módszereinek elméleti alapjait. Kidolgoztunk és létrehoztunk egy uj, kontaktpotenciál mérésére alkalmas, készüléket. A megoldásban az alábbi müszaki elveket használtuk fel:

- nagystabilitásu autógenerátor a mechanikus rezgések előállitására;
- szélessávu, kiszaju, váltóáramu pA előerősitő;
- sávszürő erősitő, lock-in erősitő.

Ezzel elértük, hogy a készülék müszaki paramétereit tekintve jobb az eddig kifejlesztett hasonló készülékeknél, különösen emlitésre méltó kis zaja /50 μV/, kis driftje /1 mV/nap/, nagy mérési pontossága, nagy feloldóképessége /500 μV/, valamint gyorsasága. Mindez lényeges alapfeltétele volt a készülék alkalmazhatóságának membránbiofizikai vizsgálatok területén. Lehetőség van a készülék továbbfejlesztésére nullkompenzációs technika irányában, amivel biztositható, hogy még az igen nagy belső ellenállásu biológiai minták kontaktpotenciálját is elhanyagolható hibával tudjuk mérni.

Bemutattuk, hogy a készülék a mechanikai konstrukcióból, valamint az elektromos paramétereiből kifolyólag kifejezetten alkalmas olyan biofizikai vizsgálatokra, ahol a végbemenő szerkezeti változások, töltésszeparáció, és egyéb folyamatok, kontaktpotenciál mérésével nyomonkövethetők.

Röviden összefoglaltuk a membránok szerkezetére és potenciálviszonyaira vonatkozó elméleti ismereteket. Áttekintést adtunk a témakörben végzett kisérleti vizsgálatokról és bemutattuk a membránpotenciálok jelentőségét az egyes biológiai folyamatokban.

Ismertettük az általunk megépitett készülékkel a Szegedi Biológiai Központ Biofizikai Intézetében végzett vizsgálatokat. A viz-levegő határfelületen képezhető monomolekuláris réteg /un. Langumir-film/ segitségével végzett mérésekben tisztáztuk a felületi töltés szerepét a membrán elektromos vezetésében, valamint a hemoglobinnak a lipidekkel való kölcsönhatásában. Kimutattuk a kölcsönhatás irreverzibilis jellegét.

Hasonló beépülési vizsgálatokat végeztünk lipidek jóddal való kölcsönhatásának tisztázására, a modell membránok elektromos vezetési mechanizmusa szempontjából. A potenciálváltozásból a film megváltozott fizikai állapotára, a töltésszétválással járó komplexképződésre tudtunk következtetni.

További fontos alkalmazási lehetőség volt a bakterio-rodopszin fotoelektromos jelenségeinek vizsgálata kontaktpotenciál mérés utján. A bakterio-rodopszin megvilágitás hatására az orientáltan beszáritott rétegben az élő membránhoz hasonlóan fotopotenciált kelt, bizonyitva a membránban müködő protonpumpa töltésszeparáló szerepét. A mintakészités és a mérés viszonylagos egyszerüsége uj lehetőségeket nyit az élő szervezetekben lejátszódó fényenergia átalakitás /fotoszintézis, látás, stb./ folyamatainak vizsgálatához. Ugyanez lehetőséget adhat mesterséges fényenergia hasznositó rendszerek kikisérletezésére is.

Az értekezésben emlitett néhány példán kivül ez a mérőmódszer alkalmas folyadékok, vagy szilárd anyagok felületén lejátszódó folyamatok, reakciók vizsgálatára is; továbbá félvezetők felületi adszorbciójának, felületi töltéshordozó koncentrációjának tanulmányozására, felületi oxidáció, korrózió, adszorpciós és katalitikus folyamatok vizsgálatára.

A fenti felsorolásból látható, hogy a módszer az alap és alkalmazott kutatáson kivül kifejezetten ipari célokra is alkalmas.

Ez a disszertáció a MTA Szegedi Biológiai Központjában készült. Köszönetemet fejezem ki Dr. Keszthelyi Lajosnak, a fizikai tudományok doktorának, a Biofizikai Intézet igazgatójának, Dr. Szundi Istvánnak, az intézet tudományos munkatársának, a disszertáció elkészitése során nyujtott támogatásukért, segitségükért.

Köszönetet mondok Dr. Szalay László egyetemi tanárnak, a Biofizikai Tanszék vezetőjének, a fizikai tudományok doktorának, a disszertáció megirása során kifejtett bátoritásáért, hasznos tanácsaiért.

Köszönettel tartozom a készülék kivitelezésében segitséget nyujtó technikus kollégáimnak, Szücs Miklósnak és Imre Zoltánnak a lelkiismeretes és szinvonalas munkájukért, valamint Gonda Andrásné titkárnőnek a kézirat gondos gépeléséért.

Irodalom

1. Zisman, W.A. 1932. Rev. Sci. Instrum. 3, 367-8.
2. Surplice, N.A. and D'Aray, R.S. 1970. J. Phys. E.: Sci. Instrum. 3, 477-82.
3. de Boer, J.S.W., Krusemeyer, H.J. and Burhoven Jaspers, N.C. 1973. Rev. Sci. Instrum. 44, 1003-8.
4. Ithaco application note IAN-21 Lock-in amplifiers.
5. Budó Ágoston: Kisérleti fizika II.
6. Philips, S.N., Rideal, E.K. Proc. Roy.Soc.Ser. A. 1955, 232, 159.
7. H.A. Engelhardt, P. Fenelber, H. Pfnür, D. Menzel, 1978, J.Phys. E.: Scientific Instruments, 1133-1136.
8. Blott, B.H. and Lee T.J. 1969. J.Phys. E.: Sci. Instrum. 2. 785-788.
9. Danybuk, S. 1972. J.Phys.E.: Sci. Instrum. 5, 478-480.
10. Craig, P.P. and Radeka, V. 1970. Rev.Sci.Instrum. 41, 258-64.
11. Besocke, K. and Berger, S. 1976. Rev.Sci.Instrum. 47, 840-842.
12. Kelvin /Lord/ 1898. Phil.Mag. 46, 82-120.
13. Tracy, J.C. and Palmberg, P.W. 1969. J.Chem.Phys. 51, 4852-62.
14. Höbel, J. and Schrammen, P. 1974. Appl. Phys. 3, 353-7.
15. J. Guyot, Ann. Physique, 2, 506, 1924.
16. A.N. Frumkin, Z.Physik. Chem. /Leipzig/ 116, 485. 1925.

17. K.W. Bewig, Rev. Sci. Instr. 1964, 35, 1160.

18. G.L. Gaines, Insoluble monolayers at Liquid-Gas Interfaces, Interscience Publishers, New York, 1966.

19. D.O. Shah, Progress in Surface Science /ed. S.G. Davison/ Pergamon Press Vol.3, 1973.

20. L.I. Boguszlavszkij, Bioelektrohimicseckije javlenyija u granyica razgyela faz. Nauka, Moszkva 1978.

21. E. Gorter and F. Grendel, I.Exp.Med. 41, 439, 1925.

22. I.F. Danielli and H. Davson, I.Cell Comp.Physiol. 5, 495, 1935.

23. Haydon, D.A. /1964/ Recent Prog. Surface Sci. 1, 94-158.

24. Bockris, I.O'.M., and Reddy, A.K.N. 1973. Modern Electrochemistry, Plenum, New York.

25. Davies, I.T. and Rideal, E.K. 1963. "Interfacial Phenomena" Academic Press, New York.

26. McDonald, R.C. and Bangham, A.D. 1972. I.Membr. Biol. 9, 361-372.

27. Haydon, D.A. and Myers, V.B. 1973. Biochim.Biophys. Acta 307, 429-443.

28. Müller, R.U. and Finkelstein, A. 1972. I.Gen. Physiol. 60, 285-306.

29. Bérczi, A. and Szundi, I. 1979. Studia biophysica 77, 101-108.

30. Aveyard, R. and Haydon, D.A. 1973. "An introduction to the principles of surface chemistry". Cambridge Univ. Press, London and New York.

31. Froomherz, P. and Masters, B. 1974. Biochim. Biophys. Acta 356, 270-275.

32. Theuvenet, A.P.R. and Borst-Pauwels, G.W.F.H. 1976. I.Theor. Biol. 57, 313-329.

33. Szundi, I., Szelényi, J.G., Brener, I.H. and Bérczi, A. /1980/ Biochim. Biophys. Acta 595, 41-46.

34. Hladky, S.B. and Haydon, D.A. 1973. Biochim. Biophys. Acta 318, 464-468.

35. Szabó, G., Eisenman, G., McLanghlin, S.G.A. and Krasne, S. 1972. Ionic probes of membrane structures. Ann. N.Y. Acad. Sci. 195, 273-290.

36. McLanghlin, S. and Harary, H. 1976. Biochemistry 15, 1941-48.

37. McLanghlin, S. 1973. Nature /London/ 243, 234-236.

38. Andersen, O.S., Finkelstein, A., Katz, I. and Cass, A. 1976. I.Gen. Physiol. 67, 749-771.

39. Läuger, P., and Neumcke, B. 1973. Theoretical analysis of ion conductance in lipid bilayer membranes. In "Membranes /G.Eisenman, ed./, Vol. 2, pp. 1-59. Dekker, New York.

40. Baker, P.F., Hodgkin, A.L. and Meves, H. 1963. J. Physiol. /London/ 167, 56-57.

41. Tasaki, I., and Shimamura, M. 1962. Proc.Natl.Acad. Sci. U.S.A. 48, 1571-1577.

42. Chandler, W.K., Hodgkin, A.L. and Meves, H. 1965. J.Physiol. /London/ 180, 821-836.

43. Gilbert, D.L. and Ehrenstein, G. 1969. Biophys. J. 9, 447-463.

44. McLaughlin, S. and Harary, H. 1974. Biophys. J. 14, 200-208.

45. Finkelstein, A. and Holz, R. 1973. Aqueous pores created in thin lipid membranes by the polyene autibiotics mystatin and amphotericin B. In "Membranes" /G. Eisenman, ed./, Vol. 2, pp. 377-408.

46. McLaughlin, S. and Harary, H. 1976. Biochemistry 15, 1941-1948.

47. Mitchell, P. 1966. Biol.Rev. Cambridge Phil.Soc. 41, 445-502.

48. Feinstein, M.B. and Felsenfeld, H. 1975. Biochemistry 14, 3041-3048.

49. Vanderkooi, J. and Martonosi, A. 1971. Arch. Biochem. Biophys. 144, 87-98.

50. Kuffler, S.W. and Yoshikami, D. 1975. J. Physiol. /London/ 251, 465-482.

51. Kozlov, I.A. 1975. Bioorg. Himija 1, 1545.

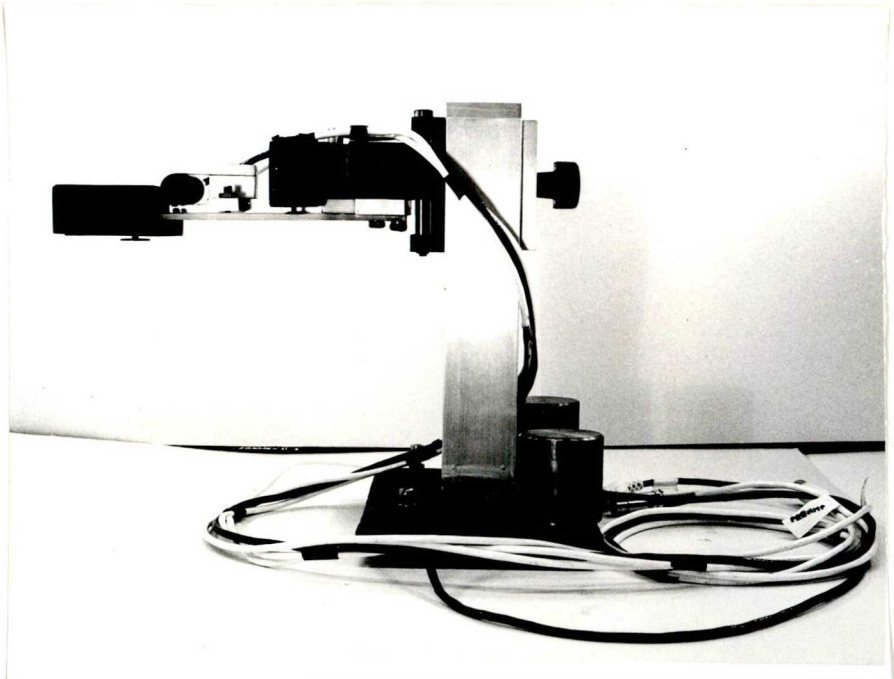
52. Volkov, A.G. Mironov, L.G. Boguszlavszkij, L.I. /1976/ Elektrohimija 12, 1326.

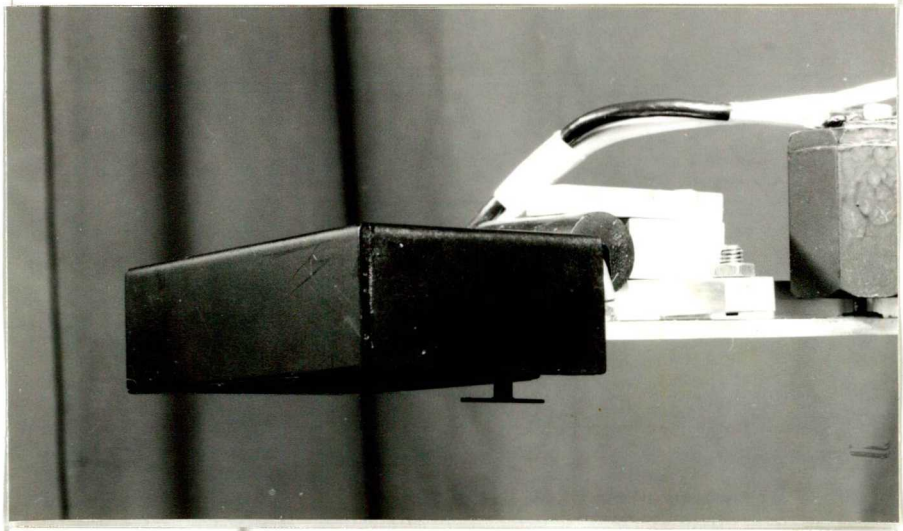
53. Boguszlavszkij, L.I. Volkov, A.G. Kandelaki, M.D., Nizsmikovszkij, E.A., Bibikova, M.A. 1977. Biofizika, 22, 223.

54. Szundi, I. 1979. Electrode properties of a modified lipid layer. COMECON Meeting, Szeged.

55. Nagy, K. 1978. Biochem. Biophys. Res. Commun. 85, 383-390.

56. Minc, S. and Dolowy, K. 1973. Biophysik 9, 172.





Vibrating Plate Electrometer
V
GAIN
POLARITY
OVERLOAD
FREQUENCY
REFERENCE
PREAMP
OUTPUT
AMPLITUDE
MAINS