

DISS. B 967

József Attila Tudományegyetem Biofizikai
Tanszéke és Kísérleti Fizikai Tanszéke

A sugárzás nélküli energiaátadás tanulmányo-
zása több komponensű, rendezett strukturájú
rendszerekben

Doktori disszertáció

B o r E d i t

S Z E G E D

1973

BEVEZETÉS

A fotoszintézis folyamán a fényenergiát a fotoszintetizáló szervezetekben levő pigmentek /klorofilok, karotinoidok, fikobilinek/ nyelik el. Az abszorbeált fényenergia az elnyelés helyétől pigmentről-pigmentre vándorolva jut el a fotoszintézisben ténylegesen résztvevő molekulákhoz. Ezen energiavándorlási mechanizmus ismerete igen fontos a fotoszintézis folyamatának megismerése, valamint a fényenergia felhasználása hatékonyságának növelésére irányuló kutatások szempontjából.

Az energiaátadás bonyolult mechanizmusának felderítése azonban a fotoszintetizáló in vivo rendszerekben igen sok kísérleti akadályba ütközik. Legfőbb problémát ezen rendszerek hő- és fényérzékenysége jelent, de a kísérleti eredmények értékelését az is nehezíti, hogy a legtöbb esetben nem ismeretes a rendszerben található pigmentek összetétele és koncentrációja.

A kísérleti nehézségek kiküszöbölésére célszerű olyan modell-rendszereket vizsgálni, amelyek - első-

sorban fotofizikai szempontból - megközelítik a fotoszintetizáló rendszert.

Az általunk vizsgált modell-rendszer a három fluoreszkáló festéket tartalmazó festékkeverék-detergens rendszer volt, amely rendszerben egy adott, a detergensre jellemző kritikus koncentráció feletti detergens koncentrációknál jól definiált strukturájú ún. micella-rendszer alakul ki, amelynek szerkezete hasonló a kloroplaszt szerkezetéhez. A keverékoldatban jelenlevő festékek a micellákba beépülve hasonló környezetbe kerülnek, mint a kloroplasztban található pigmentek, s így alkalmasak lesznek azok modellezésére. Vizsgált rendszerünk Rhodamin 6G, tionin és metilénkék ekvimoláris keverékét tartalmazta. E három festék kiválasztásának alapját az adta, hogy abszorpciós spektrumaik átfedik a fotoszintézis szempontjából számításba jövő /450-750 nm/ spektrumtartományt, vagyis az egyes pigment formák /klorofillok, karotinoidok/ helyettesítésére alkalmasak; másrészt vízben jól oldódnak, s oldódásuk után pozitív ionjuk világít.

A disszertáció célkitűzése a Rhodamin 6G, tionin és metilénkék ekvimoláris keverékoldataiban végbemenő energiaátadási folyamatok vizsgálata a festék és a detergens koncentráció függésében. E célból megmértük rendszerünk optikai tulajdonságait - abszorp-

ciós és emissziós szinképét, melyek hasznos információkat nyújtanak az energiaátadási folyamatokról.

A disszertációban foglalt anyag ismertetését a fotoszintézis néhány, elsősorban fotofizikai szempontból fontos kérdésének tárgyalásával kezdjük, majd összefoglaljuk a sugárzás nélküli energiaátadásra vonatkozó elméleteket. Külön fejezetben vázoljuk az energiaátadás tanulmányozására használatos modell-rendszerek főbb típusait, majd ismertetjük az általunk vizsgált rendszereket és azok összetételét. Ezután rátérünk az alkalmazott kísérleti berendezések és módszerek bemutatására. Ezt követően összefoglaljuk az egy-, ill. két komponensű festék-detergens rendszerek optikai tulajdonságait, végül ismertetjük kísérleti eredményeinket és azok értelmezését.

1. A FOTOSZINTÉZIS FOTOFIZIKAI FOLYAMATAINAK RÖVID ÖSSZEFOGLALÁSA

A fotoszintézis azon folyamatok összessége, melyek során a növények a fényenergiát széndioxidnak szerves vegyületekké való redukciójára használják fel. A fotoszintézis során tehát a gyakorlatilag korlátlanul rendelkezésre álló fényenergia kémiai energiává alakul át. A fotoszintézis számára hasznosítható fényenergia nagy részét a klorofill-a nyeli el, de emellett az ún. járulékos pigmentek által elnyelt fényenergia is kémiai energiává alakul át.

A fényenergia hatására gerjesztett állapotba jutó molekula kb. $5 \cdot 10^{-9}$ sec alatt elveszti energiatöbbletét. Ennek három utja lehetséges:

i./ az energiatöbblet hő alakjában átadódik a környezetnek, s így a fotoszintézis számára nem hasznosítható,

ii./ a gerjesztett molekula fluoreszcencia fényt bocsát ki, minek következtében ugyanugy elvesz a fotoszintézis számára az energia, mint az előző esetben, de lehetővé teszi a fotoszintézis pri-

mer folyamatainak tanulmányozását a fluoreszcencia fény vizsgálata alapján.

iii./ az energiatöbblet kémiai energiává alakul, s a fotoszintézis ily módon végbemehet. Ehhez azonban szükség van arra, hogy a gerjesztési energia eljusson a fotokémiai folyamatok centrumához, az ún. "reakciócentrum"-hoz, ahol a fotokémiai reakció során keletkező makroerg vegyületek /ATP, NADH_2 / energiájának felhasználásával már sötétben is végbemegy a CO_2 redukciója, s a redukciós termékekből végül szerves anyagok keletkeznek.

a./ A fény abszorbeálása - a pigmentek szerepe az abszorpcióban

A fotoszintetizáló rendszerek pigmentjei a 300-950 nm-es hullámhossz tartományban képesek fényt abszorbeálni, ezért a fotoszintézis szempontjából csak ezen hullámhossz tartományba eső sugárzás tekinthető hasznosnak.

A fényenergiát a klorofill különböző formái veszik fel, melyek minden fotoszintetizáló rendszerben megtalálhatók; a zöld növényekben a klorofill-a /abszorpciós maximuma 675 nm/, a klorofill-b /650 nm/, a kénbaktériumokban a chlorobium klorofill /725 és 747 nm/, a biborbaktériumokban a bakterio klorofill /870-890 nm/. A klorofilok mellett található még a karotin, valamint a karoti-

noidok, melyek a 400-500 nm-es spektrumtartományban abszorbeálnak. Ezen járulékos pigmentek abszorpciójuk révén a látható szinkép jelentős részét hasznosíthatóvá teszik a fotokémiai folyamat számára oly módon, hogy azokban a spektrumtartományokban, ahol a klorofill abszorpció tulajdonságokkal nem rendelkezik, felveszik a fényenergiát és azt valamilyen mechanizmussal a klorofill-a-nak továbbítják, mely a kémiai reakció megindulásában fontos szerepet játszik. Ez az elsődleges energiaátadási, ill. energiavándorlási mechanizmus, a különböző fotoszintetizáló pigmentek között végbemenő folyamat.

Az energiavándorlás azonban magán a klorofillon belül is végbemehet. Ismeretes ugyanis, hogy a klorofill a látható szinképtartományban két abszorpció sávval rendelkezik. Az egyik abszorpció maximum az ún. Soret-band, amely kb. 420 nm körül helyezkedik el, míg a másik, az ún. hosszuhullámu sáv 675 nm körül van a növényi rendszerekben. A klorofill-a által a kék sávban /Soret-band/ elnyelt energia sugárzás nélküli energiaátadással megy át a rendszer alsó gerjesztett állapotába, és onnan kerül kisugárzásra, vagy továbbadódik a kémiai reakciócentrum irányába. A fotoszintézisben ezen felül még egy további energiaátadási folyamat is létezik, az ún. "fotoszintetikus egység"-en belüli folyamat.

b./ A fotoszintetikus egység

Mivel a fotoszintézis szempontjából nélkülözhetetlen klorofill molekulák száma az összpigmentek nagyon kis százalékát jelenti, EMERSON és ARNOLD /1/, GAFFRON /2/, KOK és GOTT /3/, valamint CLAYTON /4/ feltételezték, hogy létezik egy olyan, feltehetően strukturálisan is egy egységet képező legkisebb funkcionális egység, amelyben a fotoszintézis folyamatai végbemennek. Általánosan elfogadott adatok szerint kb. 300 klorofill molekula jelenléte szükséges ahhoz, hogy a fotoszintézis teljesen végbemenjen. Ezt a 300 klorofill molekulát tartalmazó egységet szokás fotoszintetikus egységnek nevezni. A fotoszintetikus egységben akár közvetlen fényelnyeléssel, akár a járulékos pigmentektől energiaátadással felvett fényenergia energiavándorlás útján jut el a fotoszintetikus egységben lévő un. reakciócentrumhoz, amely baktériumoknál a bakterioklorofill-a /4/, a magasabbrendű növényeknél pedig klorofill-a. A reakciócentrumokban "összegyűlő" energia révén azután megindulhat a fotoszintézis folyamatának másodlagos része az un. fotokémiai folyamat. A reakciócentrumok tehát összekapcsolják a fotoszintézis fizikai folyamatait az elektrontranszport kémiai folyamataival.

c./ A fotoszintézis két pigment rendszere

A ma elfogadott elképzelések szerint a fotoszin-

tézisben két fotokémiai reakció játszik szerepet, melyek két különböző pigment rendszerhez kötöttek. Ezt az elképzelést támasztják alá EMERSON /5/, /6/ kísérletei, melyek szerint: ha egy fotoszintetizáló rendszert /pl. chlorella/ 680 nm-nél nagyobb hullámhosszuságú monokromatikus fénnel világítunk meg, kis hatásfoku a fotoszintézis /egységnyi fényenergia hatására kevés O_2 fejlődik/. Ha azonban ezen távoli vörös fénnel egyidejűleg rövid hullámhosszuságú kiegészítő megvilágítást is alkalmazunk, akkor a fotoszintézis hatásfoka jelentősen megnő. A jelenség magyarázatára két, egymással kooperáló pigment rendszer létezését szokás feltételezni, melyek közül az egyik /a 2. fotokémiai rendszer/ nem abszorbeálja a távoli vörös fényt, s emiatt az elnyelt fény csak az egyik pigment rendszert gerjeszti; így a fotoszintézis hatásfoka kisebb. Ha a távoli vörös fénnel egyidejűleg rövid hullámhosszuságú megvilágítást is alkalmazunk, akkor az 1. fotokémiai rendszer is gerjesztődik, s a távoli vörös fény jobban hasznosítódik. Ezen erősítési effektusért a 2. fotokémiai rendszerben található speciális klorofill-a /670 nm-es/, a klorofill-b, egyes algáknál pedig a fikobilinek /7/ felelősek.

A magasabb rendű zöld növények és az algák fotoszintézisében a két pigment rendszerben lejátszódó fo-

tokémiai folyamatok időben elkülönülve, de egymással kooperációban játszódnak le /8/. Az 1. pigment rendszer a CO_2 redukcióját végzi, míg a 2. pigment rendszer feladata a víz fotokémiai szétbontása. A két pigment rendszert elektronszállító lánc köti össze, s így ezek funkcionális egységet képeznek.

A két pigment rendszert ANDERSON és BORDMAN /9/, /10/ kloroplasztokból biokémiai kezelés után differenciál centrifugálással előállították, majd vizsgálták a könnyebb /1. pigment rendszer/ és a nehezebb /2. pigment rendszer/ frakció abszorpció és fluoreszcencia tulajdonságait. A vizsgálatok szerint /11/ az 1. pigment rendszer a 673 nm körül abszorbeáló pigmentekben gazdagabb, fluoreszcenciája 730 nm körül észlelhető; míg a 2. pigment rendszerek festékanyagai 683 nm-nél abszorbeálnak, fluoreszcenciájuk maximuma pedig 695 nm körül van.

d./ A gerjesztési energia vándorlása a fotoszintetizáló rendszerekben

Az abszorbeáló molekula által felvett gerjesztési energia átadásához oldatokban szükséges az átadó és átvevő molekula érintkezése, mely ütközéssel valósulhat meg. Az ütközéshez szükséges idő azonban - különösen hig oldatok esetén - jóval nagyobb, mint a gerjesztett

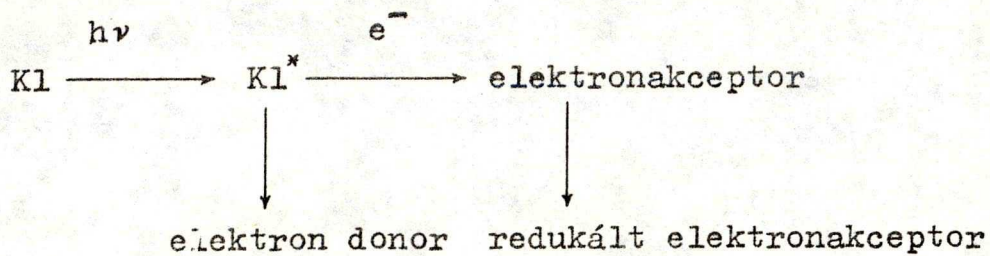
állapot időtartama, emiatt az energia hő alakjában szétszóródik a környezetben. In vitro sikerült kimutatni a klorofill egy olyan triplett gerjesztett állapotát, amelynek élettartama 10^{-4} sec, de ennek in vivo előfordulása nem bizonyított /12/.

Az energiaátadás a triplett gerjesztett állapot feltételezése nélkül is értelmezhető, mivel a klorofill a fehérje és lipid molekulákkal együtt nem oldott állapotban található a kloroplasztiszban, hanem többé-kevésbé szabályos szerkezetet képeznek. Ennek figyelembevételével a gerjesztett molekula energiájának a szomszédos molekulára való átadása lehetséges.

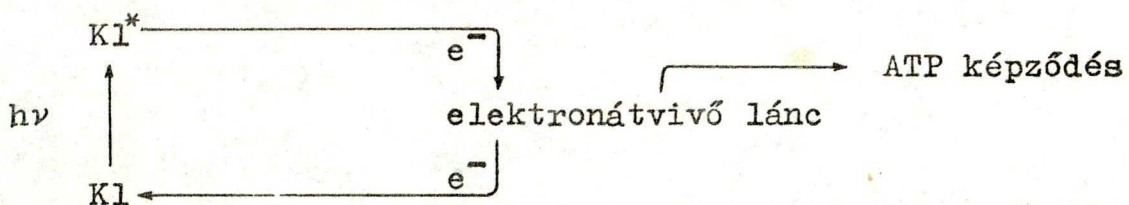
A gerjesztési energia átadásának két módja ismeretes.

A. A töltés formájában történő energiaátadás; mely szintén két uton mehet végbe.

i./ A gerjesztett klorofill elektront ad át egy akceptor molekulának, mely így redukálódik, energiában dúsabb lesz. A klorofill leadott elektronját valamilyen más rendszer pótolja, mely elektrondonor a klorofill elektront felvevő elektronakceptort nem képes közvetlenül redukálni.



ii./ A gerjesztett klorofill magas energiaszintre került elektronja elektronakceptorokon keresztül vándorolva visszatér a klorofillhoz, miközben gerjesztési energiáját magas energiatartalmu vegyületbe /ATP, redukált koenzimek/ építi be, s így a klorofillhoz már alapállapotban jut vissza. E folyamatban nincs szükség külső elektrondonorra



B. Az elnyelt energia fénkvantum formában vándorol

Ez az un. induktív rezonancián alapuló energiaátadás, melyet később részletesen ismertetünk. A rezonancián alapuló energiaátadást bizonyítja az a tapasztalat, hogy többféle molekula együttes jelenléte esetén nemcsak az abszorbeáló molekula bocsáthatja ki a felvett energiát fluoreszcencia fény formájában.

A gerjesztési energia egyik molekuláról a másik molekulára történő átadása akkor lehetséges, ha az egyik molekula fluoreszcencia spektrumának és a másik abszorpciós spektrumának van egymást átfedő része. Ekkor az energia mindig a kisebb gerjesztési energiát igénylő /nagyobb hullámhosszúságú abszorpciós maximummal rendelkező/ molekulafajta felé vándorol.

Az energiavándorlás irreverzibilis folyamat, és lehetővé teszi, hogy egyes /hosszabb hullámhosszaknál abszorbeáló/ molekulák összegyűjtsék a többi - rövidebb hullámhosszaknál abszorbeáló - molekula által felvett fotonokat is. A fotoszintézis folyamatában résztvevő járulékos pigmentek szerepe éppen az ilyen jellegű fénykoncentráció.

Az energiavándorlásnak határt szab az egyes energiaátadási lépcsőkben résztvevő anyagok koncentrációja. Az energiaátadás utolsó lépésének sebességét a fotokémiai redukció sebessége határozza meg. Ha az utolsó lánc tag kis koncentrációban van jelen, akkor nem lehetséges megfelelő sebességű energiaátvitel, s mivel a gerjesztett állapot élettartama rövid, az utolsó előtti lánc tag fluoreszcencia fény formájában leadja a gerjesztési energiát. Ily módon ezen fluoreszcencia fény intenzitása felvilágosítást adhat a fotokémiai folyamat hatásosságáról. /Megjegyzendő, hogy a klorofill-a-nak mindig

van egy bizonyos konstans fluoreszcenciája, s a klorofill-a molekulák csak egy részének fluoreszcenciája függ a fotokémiai folyamat intenzitásától./

2. A SUGÁRZÁS NÉLKÜLI ENERGIAÁTADÁS

a./ Az elektron gerjesztési energia átadására vonatkozó első megfigyelések

A gerjesztési energia átadásának az optika általános törvényei alapján legkönnyebben elképzelhető mechanizmusa a következő: a gerjesztett molekula vagy atom által emittált fénykvantumot a másik atom vagy molekula elnyeli, reabszorbeálja.

CARIO és FRANK /13/ az atomok szenzibilizált fluoreszcenciáját vizsgálva higany és tallium gőzök keverékét a Hg rezonanciás vonalának fényével világították meg, s mindkét atom emissziós spektrumát észlelték. Mivel a tallium atomok nem abszorbeálták a gerjesztő fényt, gerjesztett állapotba csak oly módon kerülhettek, hogy a Hg atomok átadták a gerjesztési energiát, azaz donorként, ill. szenzibilizátorként viselkedtek ezen folyamatban. Hasonló megfigyeléseket tett TERENIN és KARYAKIN /14/ molekulagőzök szenzibilizált fluoreszcenciáját vizsgálva. FÖRSTER /15/, /16/ tripaflavinnal és Rhodaminnal végzett kioltási kísérleteket. GALANIN és LJOVSIN /17/ közvetlenül a donor élettartamának csökkenését mérték. WATSON és LIVINGSTON /18/ először végzett olyan kísérleteket, melyekben mindkét fluoreszkáló komponens lumineszcencia intenzitását mérték klorofill rendszerekben.

BOWEN és munkatársai /19/, /20/, /21/ 1-klo-roantracénnel és perilénnel végzett kísérletei jelentősek még, mert ebben a rendszerben az energiaátadás sugárzás nélkül 40 Å távolságra megy végbe.

Az energiaátadás különböző mechanizmusainak kvalitatív jellemzői a következőkben foglalhatók össze:

A sugárzás nélküli energiaátadás különbözik a reabszorpciótól, mert független az oldat térfogatától és nem változtatja meg a donor fluoreszcencia spektrumát. A sugárzás nélküli energiaátadás és az ütközéses átadás különbözősége a viszkozitástól való függésben nyilvánul meg, mivel az előbbi független az oldat viszkozitásától, az ütközéses energiaátadás pedig növekvő viszkozitással csökken. A komplexképződés révén végbemenő energiaátadás során az abszorpciós spektrum változik, a donor élettartama pedig változatlan, szemben a sugárzás nélküli energiaátadással, ahol az abszorpciós spektrum változatlan, a donor élettartama pedig csökken.

Összefoglalva:

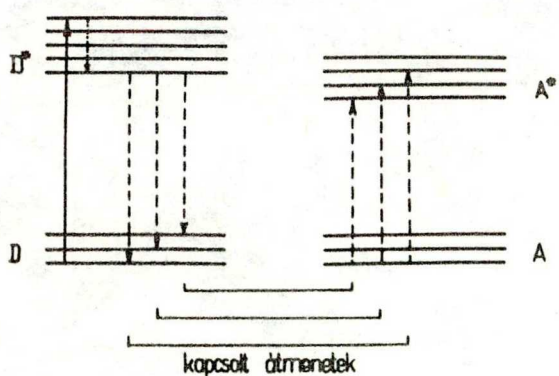
	sugárzás nélküli energia- átadás	reab- szorpció	komplex képződés	ütközéses energia- átadás
térfogati függés	nincs	nő	nincs	nincs
viszkozitástól való függés	nincs	nincs	nincs	csökken
donor élet- tartama	csökken	nem vál- tozik	nem vál- tozik	csökken
donor fluoresz- cencia spektruma	nem vál- tozik	változik	nem vál- tozik	nem vál- tozik
abszorpciós spektrum	nem vál- tozik	nem vál- tozik	változik	nem vál- tozik

A sugárzás nélküli energiaátadás további vizsgálata szerint az ilyen típusu átadás a gerjesztett molekula minden 10^{-8} sec nagyságrendü élettartama alatt előfordulhat. Ez az időtartam elegendő a vibrációs szintek relaxációja végbemene-
teléhez, mely 10^{-12} sec alatt játszódik le. Emiatt a távo-
li atomok vagy molekulák közötti viszonylag gyenge kölcsön-
hatások elegendőek a gerjesztési energia átadásához, így a
rezonancia feltételek egy része teljesül.

A molekulák közötti gerjesztési energia átadásra vo-
natkozó első formulát J. PERRIN /22/, /23/ fogalmazta meg
klasszikus fizikai alapokon. Ezt F. PERRIN /24/ fejlesz-
tette tovább kvantum mechanikai megfontolások alapján.
Ezen elméletek ismertetésére nem térünk ki.

b./ Az induktív rezonanciás energiaátadás Förster-féle elmélete

FÖRSTER /25/ elmélete olyan molekulákra vonatkozik, melyeknél az elektronszintek és a mag-vibrációs szintek átfedése jelentős. Az 1. ábra két ilyen molekula egyszerűsített energiadiagrammját mutatja.



1. ábra

Az abszorpció során a donor molekula /D/ első gerjesztett állapotának /D*/ magasabb vibrációs szintjére gerjesztődik. Ebből a helyzetből ugyanezen elektron-állapot alacsonyabb vibrációs szintjére kerül, miközben környezetével termodinamikai egyensúlyba jut. Ezen termodinamikai kiegyenlítődéshez oldatokban általában 10^{-13} , 10^{-12} sec elegendő. Ha a hőmérséklet elegendően alacsony, akkor a gerjesztett molekula a legalacsonyabb vibrációs szinten marad 10^{-8} sec ideig. Ezután a donor vagy spon-

tán sugárzásos, vagy sugárzás nélküli folyamat során alapállapotba kerül. Tételezzük fel, hogy a donor ezen dezaktivációs folyamata során létrejövő energia-különbség pontosan megfelel egy, a közelben lévő akceptor molekula /A/ egy lehetséges abszorpciós átmenetének. Ekkor energetikai kapcsolat révén a dezaktiváció és a gerjesztés szimultán végbemehet, vagyis megtörténhet a gerjesztési energia átadása a donorról az akceptor molekulára. Az energiaátadás ilyen típusát rezonanciás vagy induktív rezonanciás átadásnak nevezzük. A sokatomos molekulák oldatainak széles spektruma lehetőséget ad a donor és az akceptor közötti energia átmenetnek, ha a donor emissziós spektrumát átfedi az akceptor abszorpciós spektruma.

Kvantitatív vizsgálatok szerint /25/, /26/, a gerjesztett donor /D*^{*}/ és a tőle R távolságban levő gerjesztetlen akceptor molekula /A/ között létrejövő sugárzás nélküli energiaátadás $n_{D^* \rightarrow A}$ gyakoriságára a következő kifejezés érvényes

$$n_{D^* \rightarrow A} = \frac{9\kappa^2 (\ln 10) c^4}{128\pi^5 n^4 N_A \tau_{eD} R^6} \int_0^\infty \epsilon_A(\nu) f_{qD}(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} \quad , \quad /2,1/$$

ahol κ a két molekula orientációjára jellemző dimenzió nélküli állandó átlagértéke véletlenszerű eloszlás esetén /27/ $\overline{\kappa^2} = \frac{2}{3}$; c a fény terjedési sebessége vákuumban,

$\underline{n}$ az oldat törésmutatója, $N' = 6,02 \cdot 10^{20}$, az 1 milliméterben lévő molekulák száma, τ_{eD} a gerjesztett molekula természetes közepes csillapodási ideje, $\epsilon_A(\nu)$ az akceptor moláris dekadikus extinkciós koefficiense, $f_{qD}(\nu)$ a donor emissziós kvantum spektruma az átfedési tartományban.

A /2,1/ egyenlet szemléletesebb alakra hozható

$$n_{D \rightarrow A} = \frac{1}{\tau_{oD}} \left(\frac{R_o}{R} \right)^6, \quad /2,2/$$

ahol τ_{oD} a donor közepes csillapodási ideje. A τ_{oD} , τ_{eD} és η_D^o /a szenzibilizált fluoreszcencia kvantum hatásfoka/ között a következő kapcsolat van:

$$\tau_{oD} = \eta_D^o \cdot \tau_{eD} \quad /2,3/$$

R_o az a kritikus, donor és akceptor molekulák közötti távolság, amelynél az energiaátadás $\frac{1}{\tau}$ gyakorisága azonos a donor természetes dezaktivációjának gyakoriságával.

A /2,1/ és /2,3/ egyenlőségekből

$$\begin{aligned} R_o^6 &= \frac{9\pi^2 (\ln 10) c^4 \tau_{oD}}{128\pi^5 n^4 N' \tau_{eD}} \int_0^\infty \epsilon_A(\nu) f_{qD}(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} = \\ &= \frac{9\pi^2 (\ln 10) c^4 \eta_D^o}{128\pi^5 n^4 N'} \int_0^\infty \epsilon_A(\nu) f_{qD}(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} \quad /2,4/ \end{aligned}$$

Ez az egyenlet csak akkor érvényes, ha a két molekula

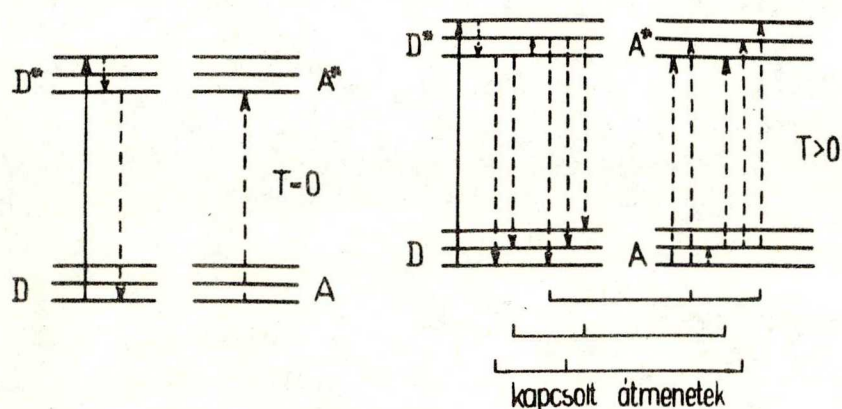
vibrációs szintjein termikus egyensulyi eloszlás van, vagyis a spektrumok felvétele ugyanazon hőmérsékleten történt. Látható /2,4/-ből, hogy az energiaátadás valószínűsége független a gerjesztőfény hullámhosszától. R_0 értéke együtt nő a donor fluoreszcenciájának hatásfokával, valamint a spektrumok átfedésének mértékével.

Az előbbi formulák nem érvényesek akkor, ha az energiaátadás már a termikus egyensuly beállása előtt végbemegy. Ez esetben az energiaátadás azon vibrációs szintekről megy végbe, melyekre közvetlenül a gerjesztés révén jutott az elektron, s így a gerjesztő hullámhossztól függ az energiaátadás gyakorisága.

GALANIN /28/ dipól-dipól kölcsönhatás esetén vizsgálta a donor élettartamának csökkenését növekvő akceptor koncentráció mellett. A kísérleti adatokkal /15/, /17/ megegyezően azt találta, hogy a donor élettartamának csökkenése jóval lassabb, mint a szenzibilizált fluoreszcencia intenzitásának csökkenése. Emiatt a kémiailag hasonló felépítésű molekulák között fennálló körülmények nem ideálisak az energiaátadás számára; különösen kedvezőtlen a helyzet alacsony hőmérsékleten. A hasonló molekulák abszorpció és emisszió spektrumainak átfedése minimális. Magasabb hőmérsékleten a vibrációs szintek termikus gerjesztettsége miatt jobb a helyzet, mert ugyanazon molekula abszorpció és emisszió spektruma már bi-

zonyos mértékig átfedi egymást.

A 2. ábra mutatja az alacsony és magas hőmérsék-
letek közötti különbséget. /A jelölések ugyanazok, mint
az 1. ábrán./



2. ábra

A kémiaailag hasonló felépítésű molekulák közötti energiaátadás körülményei ugyanazok tehát, mint dipól-dipól kölcsönhatás esetén, vagyis a $/2,1/-/2,4/$ egyenletek ezen molekulákra is érvényesek. Ha a gerjesztési energia átadása kémiaailag hasonló molekulák között ismételt lépésekben megy végbe, a gerjesztési energia vándorolhat. Az ilyen típusu energiaátadás nem változtatja meg a fluoreszcencia spektrumot, de megfigyelhető a fluoreszcencia polarizációjának növekvő koncentrációval való csökkenése alapján. Ennek a GAVIOLA és PRINGSHEIM /29/ által felfedezett "koncentrációs depolarizáció"-nak az oka az, hogy az abszorbeáló molekuláról a gerjesztési energia

különböző orientációju molekuláknak adódik át.

c./ A Förster-féle elmélet alkalmazhatóságának feltételei

Förster elmélete csak azon esetekre érvényes, melyekre teljesülnek a következő feltételek:

i./ Az elektronok gerjesztési energia vándorlása a gerjesztett és gerjesztetlen molekulák közötti rezonanciás kölcsönhatás következtében lép fel.

ii./ Az energiaátadásban résztvevő molekulák között gyenge dipól-dipól kölcsönhatás van, és az energiaátadás sebessége kisebb, mint a donor és az akceptor vibrációs szintjeinek relaxációja.

iii./ A donor és az akceptor molekulák a gerjesztett állapot időtartama alatt egymáshoz képest nem mozdulnak el /azaz nincs diffúzió/, és közöttük legalább $20 \text{ \AA}$ távolság van /30/.

iiii./ A donor emissziós és az akceptor abszorpció spektrumai nem nagyon strukturáltak, és jelentősen átfedik egymást.

TWEET, BELLAMY és GAINES /31/ kritizálták Förster energiavándorlásra vonatkozó elméletének azon feltételét, hogy a kioltó centrumok száma jóval nagyobb, mint a fluoreszcencia centrumok száma. A szerzők módosított-

ták Förster eredményét, de formulájuk csak akkor alkalmazható, ha a gerjesztés a donor molekulák között teljes egészében delokalizálódik. CELLARIUS /32/ viszont arra a következtetésre jutott, hogy Förster közelítése helyes a donor és a kioltó anyag széles koncentrációtartományában mindazon esetben, amikor a donor molekulák között nincs energiaátadás.

d./ A Förster-elmélet alkalmazása fotoszintetizáló rendszerekre

Förster elméletét elsőként DUYSENS /32/ alkalmazta fotoszintetizáló szervezetek pigment rendszerében végbemenő energiavándorlási folyamatok értelmezésére.

Az elmélet alkalmazhatóságának elsősorban az ad alapot, hogy a fotoszintetizáló rendszerekben a donor fluoreszcencia és az akceptor abszorpciós spektrumai jelentős átfedést mutatnak. Különösen kedvező az az átfedés a klorofill-a abszorpciós és a klorofill-b, valamint a fikocianin emissziós spektrumai között; s ez a tény magyarázatot ad arra, hogy miért nagy az energiaátadás valószínűsége a két említett pigmentről a klorofill-a-ra.

A klorofill molekulák közötti energiaátadást jellemző R_0 értéket többen vizsgálták /31/, /34/, /35/, /36/. Az általánosan elfogadott érték $70 \text{ \AA}$ /34/, /36/. A fluo-

reszcencia koncentrációs depolarizációja alapján nyert érték R_0 -ra 65-92 Å /37/. Ha az energiaátadásban résztvevő molekulák távolsága kisebb 70 Å-nél, az induktív rezonanciás átadás mellett más energiaátadási folyamatok is előtérbe kerülnek, így az átadás valószínűsége megnő.

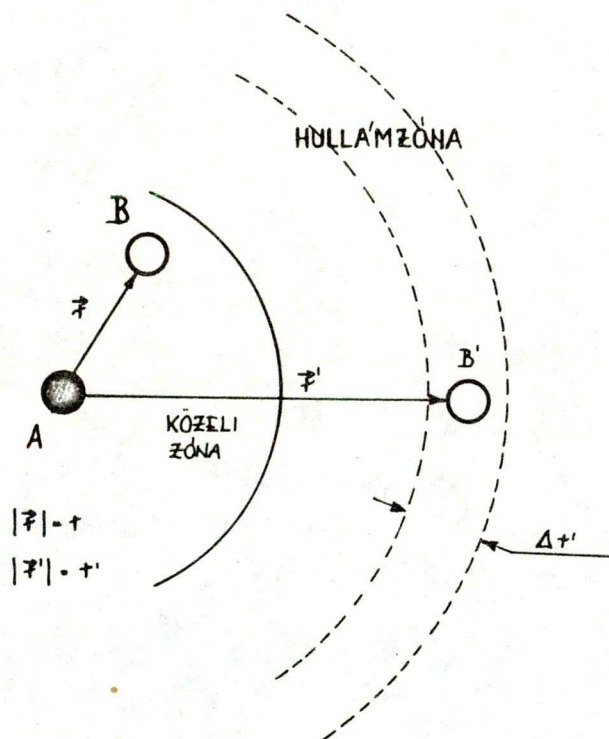
A molekulák távolsága gránumokban RABINOWITCH /38/ szerint 10-20 Å. Hasonló értéket kapott DUYSSENS /34/, valamint PEARLSTEIN /39/, /40/ is. Ezen molekulatávolság esetén az energiaátadás valószínűsége igen nagy; s ez ad magyarázatot arra, hogy a viszonylag kis számban lévő /az összes klorofill 1 %-át kitevő/ reakciócentrumok felé miért olyan hatásos az energiaátadás.

HÖCH /41/, ROBINSON /42/, /43/ és PEARLSTEIN /39/ vitatják a Förster elmélet 15-20 Å molekulatávolság esetén való alkalmazhatóságát. Robinson szerint ilyen kis molekulatávolság esetén az energiaátadás kb. százszor gyorsabban játszódik le, mint a reakciócentrumba jutott gerjesztési energia kémiai energiává való átalakulása. Vagyis a reakciócentrum nem képes minden gerjesztési energiát "befogni". OLSON és CLAYTON /44/, valamint CLAYTON és SISTROM /45/ biborbaktériumokkal végzett kísérleteikben azonban bebizonyították, hogy az előbbi elgondolás helytelen; a reakciócentrum a hozzá eljutott gerjesztési energia nagy részét hasznosítja.

e./ Ketskemény elmélete a dipólus-dipólus kölcsönhatás révén létrejövő energiaátadás gyakoriságáról

A Förster elmélettel azonos eredményre vezetett Ketskemény /46/ lényegesen rövidebb, a klasszikus kvantumelméleten alapuló igen szemléletes tárgyalásmódja, melyet a következőkben ismertetünk:

Legyen az A molekula a $t = 0$ időpontban gerjesztett állapotban. /3. ábra/ Annak a valószínűségét, hogy az A



3. ábra

molekula a $t = 0$ időpontot követő Δt intervallumban egy $\Delta \nu$ frekvencia-intervallumba eső fluoreszcencia

kvantumot kisugároz, a τ_e "természetes csillapodási idő" és az $f_q(\nu)$ normált fluoreszcencia kvantumspektrum segítségével a következőképpen adhatjuk meg:

$$w_\nu^e \Delta t \Delta \nu = \frac{1}{\tau_e} f_q(\nu) \Delta \nu \Delta t . \quad /2,5/$$

Az A molekula által kibocsátott foton az A molekulától $r'(>> \lambda)$ távolságban, az A hullámzónájában lévő $\Delta r'$ vastagságu gömbhéjban $w_\nu^e \Delta \nu \Delta t k(\nu) \Delta r'$ valószínűséggel abszorbeálódik, ahol $k(\nu)$ az oldat abszorpciós koefficiensét jelenti. Az abszorpció valószínűségének egy, az említett $\Delta r'$ vastagságu gömbhéjban levő B' molekulára eső hányada:

$$w_\nu^a(r') \Delta \nu \Delta t = \frac{w_\nu^e \Delta \nu \Delta t k(\nu) \Delta r'}{4\pi r'^2 \cdot c_M L \cdot 10^{-3} \Delta r'} , \quad /2,6/$$

ahol $4\pi r'^2 \Delta r'$ a gömbhéj térfogata; c_M a moláris koncentráció; L Loschmidt-féle állandó.

A /2,5/ egyenlettel adott $w_\nu^e \Delta t \Delta \nu$ értékét /2,6/-ba helyettesítve

$$w_\nu^a(r') \Delta \nu \Delta t = \frac{f_q(\nu) \Delta \nu \Delta t \cdot k(\nu)}{4\pi r'^2 c_M \cdot L \cdot 10^{-3} \tau_e} . \quad /2,7/$$

Ha a B molekula az A molekula közeli zónájában van, akkor az A által emittált foton B molekula általi abszorpciójának valószínűségét a következő gondolatmenettel le-

het meghatározni:

A fluoreszkáló oldatok molekulái az abszorpció és emisszió folyamata szempontjából elektromos dipólus-oszcillátoroknak tekinthetők, amelyek abszorpciós teljesítménye, következésképpen az abszorpciós kvantumugrások gyakoriságának száma $(E^2)_\nu$ -vel arányos. $/(E^2)_\nu$ az elektromos térerősség amplitudójának négyzete./

Annak a $w_\nu^a(r)\Delta\nu\Delta t$ valószínűsége, hogy Δt idő alatt a $\Delta\nu$ frekvencia-intervallumban emittált fluoreszcencia kvantumot az A-tól $r(\ll\lambda)$ távolságban /tehát az A közeli zónájában/ levő B molekula elnyeli, a klasszikus kvantumelmélet alapján úgy számítható ki, hogy a $[w_\nu^a(r')\Delta\nu\Delta t]$ -t megszorozzuk az $\frac{(E^2)_\nu r}{(E^2)_{\nu r'}}$ hányadossal.

/A felülvonás az A oszcillátor tengelye és az $\vec{r}$, ill. $\vec{r}'$ rádiuszvektorok kölcsönös elhelyezkedése összes lehetséges eseteire való átlagolást jelenti./

Ezek szerint:

$$w_\nu^a(r)\Delta\nu\Delta t = \frac{(E^2)_\nu r}{(E^2)_{\nu r'}} w_\nu^a(r')\Delta\nu\Delta t =$$

$$= \frac{3c^4 r'^2}{16\pi^4 r^6 \nu^4 n^4} w_\nu^a(r')\Delta\nu\Delta t . \quad /2,8/$$

Behelyettesítve /2,7/ értékét /2,8/-ba, az utóbbit Δt -

-vel osztva és az összes $\Delta\nu$ frekvenciaintervallumra összegezve, az $A \rightarrow B$ energiaátadás sec^{-1} -ben kifejezett $W_{A \rightarrow B}(r)$ gyakoriságát kapjuk.

$$W_{A \rightarrow B}(r) = \int_0^{\infty} w_{\nu}^a(r) d\nu =$$

$$= \frac{3c^4}{64\pi^5 r^6 n^4 \tau_e \cdot c_M \cdot 10^{-3} L} \int_0^{\infty} k(\nu) f_q(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} . \quad /2,9/$$

A $k(\nu)$ abszorpciós koefficiens helyett az $\epsilon(\nu) = \frac{k(\nu)}{c_M \cdot \ln 10}$ moláris dekadikus extinkciós koefficienst bevezetve,

/2,9/ a következő alakú lesz:

$$W_{A \rightarrow B}(r) = \frac{3(\ln 10) c^4}{64\pi^5 r^6 n^4 \tau_e \cdot L \cdot 10^{-3}} \int_0^{\infty} \epsilon(\nu) f_q(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} . \quad /2,10/$$

Ez a kifejezés pedig teljesen azonos a Förster által nyert /2,1/ formulával.

3. A FOTOSZINTÉZIS FIZIKAI FOLYAMATAINAK MODELLEZÉSE

a./ A modell-rendszerekkel végzett vizsgálatok célja

A fényabszorpció és az energiaátadás bonyolult mechanizmusának megismerését in vivo rendszerekben az teszi igen nehézé, hogy a még kémiai szempontból azonos molekulák is különböző fizikai állapotban lehetnek jelen a rendszerben. Az asszociátumok létrejötte és a pigment molekuláknak a kloroplaszt többi alkotórészeihez való kötődése miatt az in vitro rendszerekhez képest újabb abszorpciós sávok jöhetnek létre. A fotoszintézis kutatásban igen elterjedt spektroszkópiai vizsgálatok eredményeinek kiértékelését ezen kívül az is nehezkesé teszi, hogy a mért abszorpciós szinkép több zavaró tényező (fényszórás, szűrő hatás /47/) következtében alakul ki. Ezeket legtöbbször csak számításokkal lehet figyelembe venni /48/, /49/, vagy pedig különleges mérési eljárások /50/ szükségesek ahhoz, hogy a valódi abszorpciós szinképet kapjuk. Bonyolítja a vizsgálatokat az is, hogy az in vivo rendszerek fényre, hőre és a kísérleti körülményekre érzékenyek és a legtöbb esetben nem ismeretes a pigment összetétele sem. Ezek a nehézségek részben kiküszöbölhetők akkor, ha a vizsgálatokat a fotoszintetizáló rendszer tulajdonságait jól megközelítő ún. modell-rendszerekben

végezzük. A modell bonyolult rendszerek egyszerűsített, minden részletében áttekinthető, arányosan kicsinyített vagy nagyított, szemléletesen elképzelt vagy gyakorlatilag megvalósított, matematikailag szabatosan leírható, idealizált mása, amely több-kevésbé helyesen szemlélteti a vizsgált rendszer vagy folyamat sajátosságait.

A kísérleti eredmények kiértékelésekor azonban figyelembe kell venni, hogy a modell nem azonos a modellizált rendszerrel, ezért csak bizonyos törvényszerűségek feltárására és szemléltetésére alkalmas.

b./ A fotoszintetizáló rendszerek spektrofotometriai tulajdonságainak és az energiaátadás mechanizmusának tanulmányozására többféle modell kísérlet végezhető, ill. többféle modell alkalmazható. Néhány, gyakrabban alkalmazott modell-rendszer összetételét az alábbiakban ismertetjük:

α / Pigment oldatok

A növényekből extrahált pigmenteket különböző oldószerekben oldják, s így lehetővé válik annak vizsgálata, hogy milyen befolyást gyakorol az oldószer a pigment lumineszcencia jellemzőire. Ezen rendszerek előnye az in vivo rendszerekkel szemben az, hogy a

pigment koncentráció bennük ismert, vagy könnyen meghatározható és tetszés szerint változtatható. Nehézséget jelent ezen oldatoknál is azonban a pigmentek külső behatásokkal szembeni érzékenysége /fény hatására, oxidáció következtében könnyen bomlanak/.

β/ Monomolekuláris vagy vastagabb pigment rétegek

A pigment oldatokból készülnek oly módon, hogy a különböző felületekre /üveg, szűrőpapír, az oldószerrel nem keveredő folyadék felszine/ felvitt oldatból az oldószert elpárologtatják. A pigment összetétele ez esetben is tetszés szerint változtatható. Hátrányuk egyrészt az, hogy technikailag nehezen állíthatók elő, nem ismert a rétegek vastagsága, másrészt a pigmentek más közegbe kerülnek, mint az in vivo rendszerben voltak.

γ/ Adszorbeált rétegek

Ezen rendszereknél különböző aktív felületekre / Al_2O_3 , SiO_2 , fehérjeoldatok/ adszorbeáltatják a pigmenteket, s így az in vivo rendszereket jól megközelítő strukturát kapnak.

δ/ Modell-rendszernek tekintjük a természetes közeg-

ből /pl. levélből/ kiválasztott kloroplasztokat, ill. ezek különböző módon /ultrahangos, detergenssel való kezeléssel/ nyert fragmentumait, melyek a legjobban megközelítik a fotoszintetizáló szervezetek összetételét.

ε/ Az energiaátadás tanulmányozására jól beváltak a micellákat tartalmazó festék-detergens rendszerek, s mivel ezekben végeztük vizsgálatainkat, az alábbiakban részletesebben ismertetjük tulajdonságaikat.

c./ Detergens oldatok

α/ A detergens oldatok fizikai és kémiai tulajdonságai

A detergenssek az asszociációs kolloidok egy csoportját képezik. Az asszociációs kolloidok olyan kis molekulákból álló vegyületek, amelyek molekulái alkalmas oldószerekben, megfelelő körülmények között kolloid méretű halmazokká aggregálódnak. Az aggregáció oka a molekulák amfoter felépítése, azaz a molekula tartalmaz egy apoláris /hidrofób, másnéven lipofil/ és egy vagy több poláris /hidrofil/ atomcsoportot. A hidrofób csoport általában alifás szénhidrogénlánc, ill. alifás-aromás lánc, míg a jellegzetesebb hidrofil csoportok a -OH, -COOH, -NH₂, -SH csoportok.

Az asszociációs kolloidok gyakorlatilag legfontosabb csoportját alkotó felületaktív anyagok, másnéven tenzidek a következő csoportokba osztályozhatók:

- i./ anionos tenzidek: a hidrofób csoport az anion része; ide tartoznak pl. a primer alkil szulfátok: $R-OSO_3Na$, ahol $R: C_{16} \dots C_{18}$.
- ii./ kationos tenzidek: a hidrofób csoport a kation része.
- iii./ nem-ionos tenzidek: a hidrofób csoporthoz változó hosszúságú hidrofil csoport kapcsolódik; ide tartoznak pl. az etilénoxid származékok.

Az amfoter vegyületek oldataiban a megfelelő csoportok kapcsolatba léphetnek egymással. Vizes oldatban a poláros csoportok a poláros vízmolekulákkal intermolekuláris kölcsönhatásba lépnek, míg az apoláros láncok egymás között kapcsolódnak. Így a molekulákból kialakul egy olyan, dinamikus egyensúlyban lévő orientált rendszer, mely pl. a hőmozgás hatására is könnyen megváltozik. Az ily módon kialakult molekula-csoportosulást micelláknak szokás nevezni.

A kis méretű amfoter molekulák kolloid méretű

halmazokká, micellákká való aggregációja egy viszonylag szűk koncentráció tartományban megy végbe, melyet kritikus micella-koncentrációnak /cmc/ nevezünk. A cmc feletti koncentrációknál az oldat kolloid oldat, annál kisebb töménységben valódi oldat. A koncentráció cmc-n túl való növelése nem növeli a micellák méretét, csak azok számát. Az egyedi és az aggregált ionok között termodinamikai egyensúly áll fenn. A cmc értéke molekuláris paraméterektől, hőmérséklettől és az oldatban jelenlévő idegen anyagoktól - főleg elektrolitoktól - függ.

β / A micellák alakja

Az ionos tenzidek vizes oldataiban a cmc-nél nagyobb töménységeknél keletkező aggregátumok alakjára nézve számos elképzelés ismeretes. Triviális megfontolások alapján az amfoter molekulák irányítottan asszociálódnak oly módon, hogy a poláris végek a víz felé helyezkednek el, míg a micella belsejét az apoláris láncok alkotják.

A micellák szerkezetét vizsgálva először HARTLEY /51/, /52/ írt le egy egyszerű, gömb alakú micellát, melynek méretét adott hosszúságú paraffinlánc esetén konstansnak tekintette. Fényszórás mérések alapján azt találták, hogy Na-dodecil-szulfát

esetén 73 detergens molekula alkot egy aggregátumot /53/. Ez az aggregációs szám sók /elektrolitok/ hozzáadása következtében lényegesen megnő. Kisebb mértékben, de ugyancsak növeli az aggregációs számot a felületaktív anyag koncentrációjának növelése.

Mc BAIN kétféle micella típust tételez fel: az egyik a töltéssel rendelkező un. ionos gömbmicella /54/, a másik a lamelláris szerkezetű neutrális micella /55/.

A Hartley-féle gömbmicella és a Mc Bain-féle lamelláris micella kombinálásával HESS és PHILIPPOFF egy általánosan elfogadott micellatípust irtak le /56/.

Töményebb vizes oldatokban /5 %-nál nagyobb koncentrációnál/ anizometrikus aggregátumok keletkeznek, amelyeket Stauff nyomán nagymicelláknak nevezünk. Ezen micellák - röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint /57/ - egymással párhuzamos, henger alakú rostokból állnak, s lokálisan szabályos kétdimenziós hexagonális rendszert alkotnak.

A micellák kialakulásának feltételeivel és a különböző micellatípusokkal WINSOR /58/ foglalkozott részletesen. Megállapítása szerint a micellák kiala-

kitásában az intermolekuláris erők két fő típusa, az un. elektrosztatikus és az elektrokinetikus erő játszik fontos szerepet. Az elektrosztatikus kölcsönhatások az ionok töltéseitől és a dipól molekulák egyenlőtlen töltéseloszlásától származnak. Az ionok és a dipólok közötti kölcsönhatás vonzó orientációkat eredményez. /A víz tulajdonságait is a dipól jellegéből származó elektrosztatikus erők határozzák meg/. Ezeket a kölcsönhatásokat azonban a molekulák hőmozgása csökkenteni igyekszik, ezért a hőmérséklet emelkedésével a rendszerre jellemző rendezettség csökkenni fog. Az elektrosztatikus kölcsönhatások a molekulák hidrofil jellegének kialakításában játszanak szerepet.

Az olyan molekulákban, amelyek elektromosan nem polárosak, elektrosztatikus kölcsönhatások nem lépnek fel, és mégis vonzzák egymást. A vonzóerők ezeknél is elektromos jellegűek, és az elektronok molekulán belüli mozgásának tulajdoníthatók. A szomszédos molekulákban ugyanis az elektronok mozgása igyekszik fázisban lenni egymással, és így alakul ki az elektronok kölcsönhatása /59/. Ez az elektrokinetikus kölcsönhatás határozza meg a paraffin láncok közötti kölcsönhatás lipofil /hidrofób/ jellegét.

7/ A kritikus micella koncentráció meghatározása

A micellák kialakulásához meghatározott mennyiségű szabad ion jelenléte szükséges, s ez a mennyiség a különböző detergensok esetén más és más. A különböző micellatípusoknak megfelelően egy vizes detergens oldat széles koncentráció-tartományában több kritikus koncentráció érték is meghatározható. Munkánk során a lamelláris struktúra kialakulásának kezdetét jellemző kritikus micella koncentráció meghatározása volt igen fontos, mivel a modellezni kívánt kloroplaszt lamelláris szerkezettel bír.

A lamelláris micellák kialakulásakor az addig izotróp oldat anizotróppá válik, fizikai tulajdonságai jelentősen megváltoznak /60/; s ennek alapján a cmc meghatározható:

i./ Vezetőképeség méréssel, amikor a rendszer elektromos vezetőképeségének a detergens koncentrációtól való függését vizsgáljuk. A detergens koncentráció növelésével gyakorlatilag két, különböző hajlásszögű egyenes szakasz mentén változik az oldat vezetőképesége, s a törésnél egy ún. kink /behajlás/ található a görbén. A cmc meghatározása interpolációval történik, amikor a két egyenes szakasz meghosszabbításának metszéspontjához tar-

tozó detergens koncentráció adja a cmc értékét.

ii./ A színátcsapás módszerével, amely azon alapszik, hogy a legtöbb, festéket tartalmazó detergens oldat színe a cmc környezetében változást szenved /61/, mely változás az oldat abszorpciós vagy emissziós szinképének mérésével nyomon követhető. E módszer kevésbé pontos, mint az előbbi /62/.

iii./ Az oldékonyság mérésével, amely módszer használatára a detergens szolubilizáló hatása ad lehetőséget. Egyes, vízben oldhatatlan komplex sókat és aggregátumokat a detergens a cmc-jének megfelelő koncentrációban oldani kezd, s ezen anyagok oldódása pl. abszorpcióméréssel nyomon követhető.

iiii./ A fényszórás mérésével, melynek az az alapja, hogy a cmc alatti detergens koncentrációnál, jelenlévő ionok és a cmc feletti koncentráció esetén megtalálható micellák fényszóróképessége lényegesen különbözik. Megfelelő korrekciós számításokkal a cmc e meglehetősen önkényes és az előbbieknél kevésbé pontos módszerrel meghatározható.

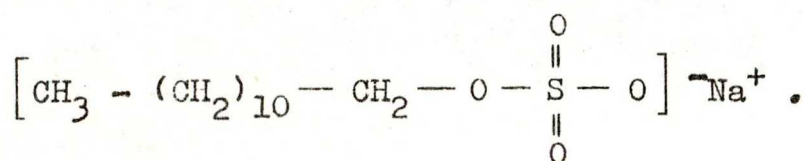
A kritikus micella koncentráció tárgyalásánál meg kell említeni az "indukált micellaképződés" jelenségét.

MUKARJEE és munkatársai /61/ azt tapasztalták, hogy festékanyag jelenlétében az ekvivalens vezetőképesség csökkenése, és ennek folytán a micellaképződés a tiszta detergens oldaténál kisebb detergens koncentrációnál kezdődik meg. Más szavakkal ez azt jelenti, hogy a festék jelenléte indukálja a micellák létrejöttét már olyan, a cmc-nél kisebb detergens koncentrációnál is, amelynél a detergens molekulák önmagukban még nem képesek micellákat alkotni.

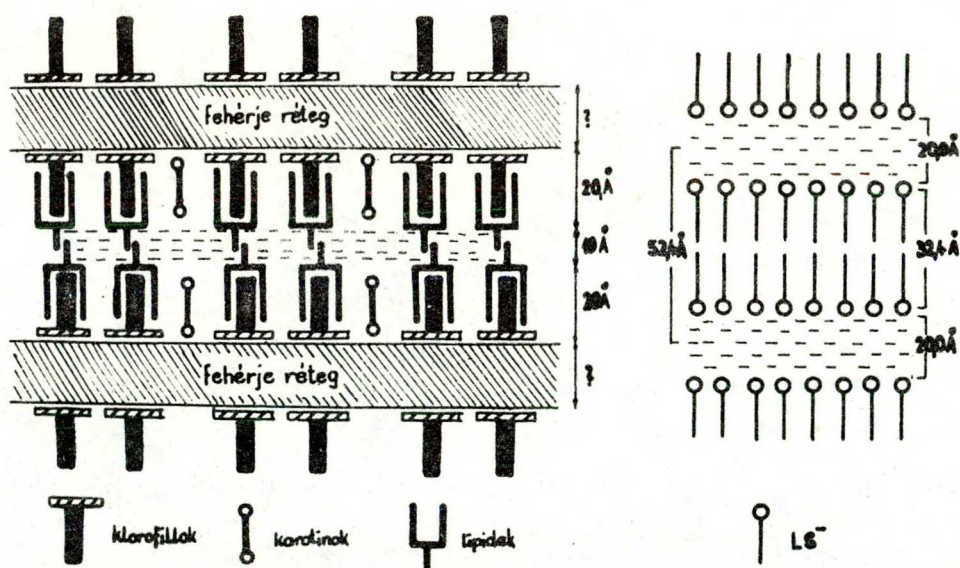
4. A VIZSGÁLT RENDSZEREK

a./ A festékek és a detergens tulajdonságai

Vizsgálatainkban a modell-rendszer alapját képező micellák létrehozására anionos detergenst, a nátrium-lauryl szulfátot /NaLS vagy SLS/ használtuk:



A detergens vízben oldva negatív LS^- és pozitív Na^+ ionokra disszociál. A cmc-nél a rendszerben kialakuló micellák szerkezetét a 4. ábra mutatja. HARKINS és mun-



4. ábra

katársai /63/ szerint a micellák négy, vagy valamivel több, az ábrán bemutatott kettősréteg vastagságúak. A kialakuló lamelláris szerkezet ad alapot arra, hogy ezen detergens-oldatokat a kloroplaszthoz hasonló rendszerek modellezésére használhassuk. Ha ugyanis a micellákat tartalmazó oldatba megfelelő festékeket viszünk, akkor azok a micellákban egyenletes eloszlásban abszorbeálódnak. Alkalmasan megválasztott festék-koncentráció esetén a micellákban abszorbeált festékek nagyságrendileg olyan távolságokban helyezkednek el, amely összemérhető az in vivo rendszerekben levő pigmentek egymástól való átlagos távolságával /64/.

A 4. ábrán a micella-szerkezet mellett összehasonlításként bemutatjuk az in vivo kloroplaszt lamelláinak általánosan elfogadott sematikus szerkezetét /65/. Az ábra igen szemléletesen mutatja az in vivo rendszer és az általunk alkalmazott modell-rendszer szerkezete közötti hasonlóságot, és méretbeli jó egyezést.

CORRIN és HARKINS /66/ azt találták, hogy az anionos tenzidek csak a kationos festékeket /pl. pinacianol, Rhodamin 6G/ szolubilizálják, ezért vizsgálatainkhoz pozitív iont adó festékeket használtunk.

SINGHAL és munkatársai /67/, valamint HEVESI és munkatársai /68/, /69/ az energiavándorlás tanulmányozásá-

ra SIS, tionin és metilénkék összetételű modell-rendszerként használtak. BÁLINT /70/ és LEHOCZKI /71/ Rhodamin 6G és tionin ekvimoláris oldatait tartalmazó modell-rendszereken végzett vizsgálatainak kiterjesztése céljából célszerűnek látszott olyan rendszerben tanulmányozni az energiavándorlást, mely rendszer mindhárom festéket tartalmazza. Ezen festékek alkalmazását indokolja az is, hogy ezek ún. vitális festékek, melyeket igen gyakran használnak fel biológiai vizsgálatokban. Másrészt, mint az 5. és 15. ábrákon látható, ezen festékek abszorpciós és emissziós spektruma abban a szinképtartományban van, amelyben a fotoszintetizáló pigmenteké, és a spektrumok átfedése is jó közelítéssel olyan mértékű, mint a klorofillok, ill. a járulékos pigmentek esetén.

b./ Az oldatok előállítása

Vizsgálataink során a detergens nátrium-lauryl szulfát /Fluka-AG.pract./ koncentrációját 0 és $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l között változtattuk. Oldószerként vezetőképeségi vizet használtunk.

A vizsgált festékeket (Rhodamin 6G /Rh 6G; R/ tionin /Th, T/ és metilénkék /MB, M/) alkoholos oldatból való többszöri átkristályosítással az abszorpciós

spektrum állandóságáig tisztítottuk. Az oldatok készítésénél mindig betartottuk a következő sorrendet: a Rhodamin 6G, a tionin, a metilénkék, majd az SIS törzsoldatából az adott végkoncentrációhoz szükséges mennyiséget pipettáztunk a mérőlombikba, s ezután vezetőképességi vízzel jelíg töltöttük a lombikokat. Az oldatokat sötét helyen, állandó 25°C -os hőmérsékleten tartottuk, s elkészítésük után 48 órán belül elvégeztük a méréseket.

A detergens koncentrációja minden egyes festékkoncentráció esetén 0 ; $2 \cdot 10^{-3}$; $2,5 \cdot 10^{-3}$; $3 \cdot 10^{-3}$; $3,5 \cdot 10^{-3}$; $4 \cdot 10^{-3}$; $6 \cdot 10^{-3}$ és $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l volt. A festékek koncentrációját pedig $2 \cdot 10^{-6}$; $5 \cdot 10^{-6}$; $1 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$ és $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l értékeken keresztül változtattuk úgy, hogy a rendszerben található 3 festék mindegyikére nézve ez volt a végkoncentráció, vagyis ekvimoláris oldatokat használtunk. Ily módon 48 rendszer tulajdonságait vizsgáltuk meg.

5. KISÉRLETI MÓDSZEREK

a./ Az abszorpció szinképek meghatározása

Az oldatok fényelnyelő képessége a hullámhossztól függő $k(\lambda)$ abszorpció együtthatóval jellemezhető. Ha egy oldaton keresztül haladó párhuzamos monokromatikus fénysugár, amelynek vákuumbeli hullámhossza λ , az igen kicsiny Δl szakaszon való áthaladás során intenzitásának $k(\lambda) \cdot \Delta l$ részét veszíti el az abszorpció következtében, akkor a kilépő intenzitás

$$I = I_0 \cdot e^{-k(\lambda) \Delta l} \quad , \quad /5,1/$$

ahol I_0 a Δl rétegbe belépő fény intenzitása. A $k(\lambda)$ helyett gyakran a moláris dekadikus extinkciós koeficiensst, $\epsilon(\lambda)$ -t használják, amelynek ismeretében $k(\lambda)$ kiszámítható a

$$k(\lambda) = 2,3026 \cdot \epsilon(\lambda) \cdot c_M \quad /5,2/$$

egyenlet alapján, ahol c_M az oldat moláris koncentrációja. Az abszorpció méréshez egy CF-4DR típusu Optica Milano síkrácsos, kétsugaras, regisztráló spektrofotométert /72/ használtunk. A csatlakozó regisztráló egység egy Specdomax C típusu kompenzográf volt. Fényforrásként a készülékhez tartozó wolframlámpát alkalmaztuk.

Az abszorpciós spektrumokat a 400-750 nm spektrumtartományban vettük fel. A hőmérséklet állandó értéken való tartása érdekében méréseinkhez temperálható küvetta-tartót és termosztátot alkalmaztunk. Az oldatok rétegvastagságát a mérések pontossága érdekében 0,01-5 cm között változtattuk.

b./ A lumineszcencia spektrumok meghatározása

A fluoreszcencia /vagy lumineszcencia/ spektrum a gerjesztett oldat valamely igen kicsiny, de a látható-fény hullámhossza köbénél jóval nagyobb dV térfogatelemből kisugárzott fluoreszcencia teljesítmény normált, dV alakjától és nagyságától független, $f_q(\lambda)$ spektrális eloszlás függvénye /73/. Közvetlen méréssel, az abszorpciós és lumineszcencia spektrumok átfedése, ill. az emiatt létrejövő reabszorpció következtében, csak az un. külső fluoreszcencia spektrum határozható meg; s ebből számítás útján nyerhető a valódi /belső/ fluoreszcencia spektrum /25/.

A mért lumineszcencia intenzitás $I_f(\lambda')$ és a mérőberendezés $Q(\lambda)$ relatív spektrális érzékenysége ismeretében az $f_q^*(\lambda')$ külső fluoreszcencia spektrum az

$$f_q^*(\lambda') = \text{konst } Q(\lambda) I_f(\lambda') \quad /5,3/$$

összefüggés alapján határozható meg /74/. Monokromatikus gerjesztés, és a vizsgálataink során alkalmazott elsőlapon történő megfigyelés esetén a reabszorpció hatását a /25/-ben részletezett számítás alapján egy, a hullámhossztól függő

$$\frac{\alpha + \beta}{1 - e^{-(\alpha + \beta)}}$$

szorzófaktor segítségével vettük figyelembe; ahol $\alpha = k(\lambda) \cdot l$ és $\beta = k(\lambda') \cdot l$. Ezekben $k(\lambda)$ a gerjesztő fény λ hullámhosszához, $k(\lambda')$ pedig a fluoreszcencia fény λ' hullámhosszához tartozó, /5,2/-ben már definiált, abszorpciós együtthatókat, l a vizsgált lumineszkáló oldat rétegvastagságát jelenti. A valódi, a reabszorpcióra korrigált fluoreszcencia spektrum az

$$f_q(\lambda') = \text{konst} \cdot f_q^*(\lambda') \frac{\alpha + \beta}{1 - e^{-(\alpha + \beta)}} \cdot \frac{1}{\alpha} \quad /5,4/$$

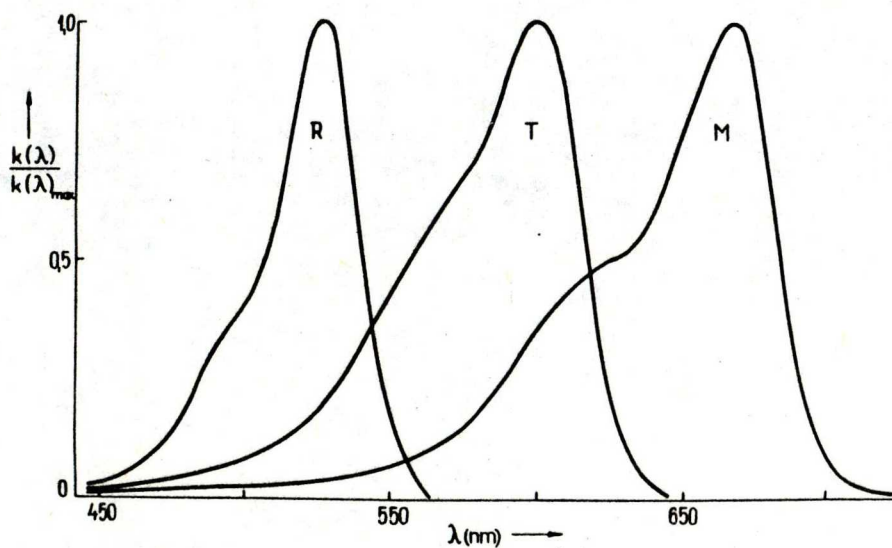
összefüggés alapján számítható ki. /A konstans értéke a spektrofotométer adataitól és optikai elrendezésétől függ, de független a hullámhossztól./ Adott gerjesztő hullámhossz esetén $\frac{1}{\alpha}$ belefoglalható a konstansba. Vizsgálatainknál a szekunder fluoreszcencia hatása a donor molekulákra vonatkozó $k(\lambda)_{\max} \cdot l < 0,5$ feltétel betartása miatt 1-2 %-nál kisebb, tehát a mérési hiba határán belül van, így ennek számítás útján való figyelembevée-

telétől eltekintettünk /75/.

A fluoreszcencia szinképek felvétele egy DFSZ-12 típusu spektrofotométerrel történt. Ez a készülék a látható szinképtartományban /3600 Å - 8000 Å/ a gyengén világító anyagok lumineszcencia spektrumának felvételére igen alkalmas. A mérőberendezés alapegységeinek és tartozékainak elvi rajza a 6. ábrán látható. A gerjesztő fényforrás egy HBO 500 Osram típusu higanylámpa volt. A monokromatikus gerjesztést egy SPM-1 típusu prizmás monokromátor biztosította. A monokromatikus fényt tükör /T/ és lencse /L/ segítségével képeztük le a küvetta /K/ elülső felületére. A lumineszcencia fény tükör segítségével jutott be a DFSZ-12 spektrofotométerbe, amely egy kettős monokromátor; diszperziós rendszere két azonos reflexiós rácsot tartalmaz, amelyek egy közös középpont körül állandó szögsebességgel forgathatók. A készülék olyan felépítésű, hogy a centrális fénysugár mindkét rácsra egyenlő szög alatt esik be. A kettős bontás következtében a kilépő fény nagy mértékben monokromatikus. A lumineszcencia fény detektálása egy EMI 9558 típusu fotoelektronsokszorozóval történt, míg a keletkezett fotoáram regisztrálására egy EPP-09 ME típusu regisztráló berendezést használtunk.

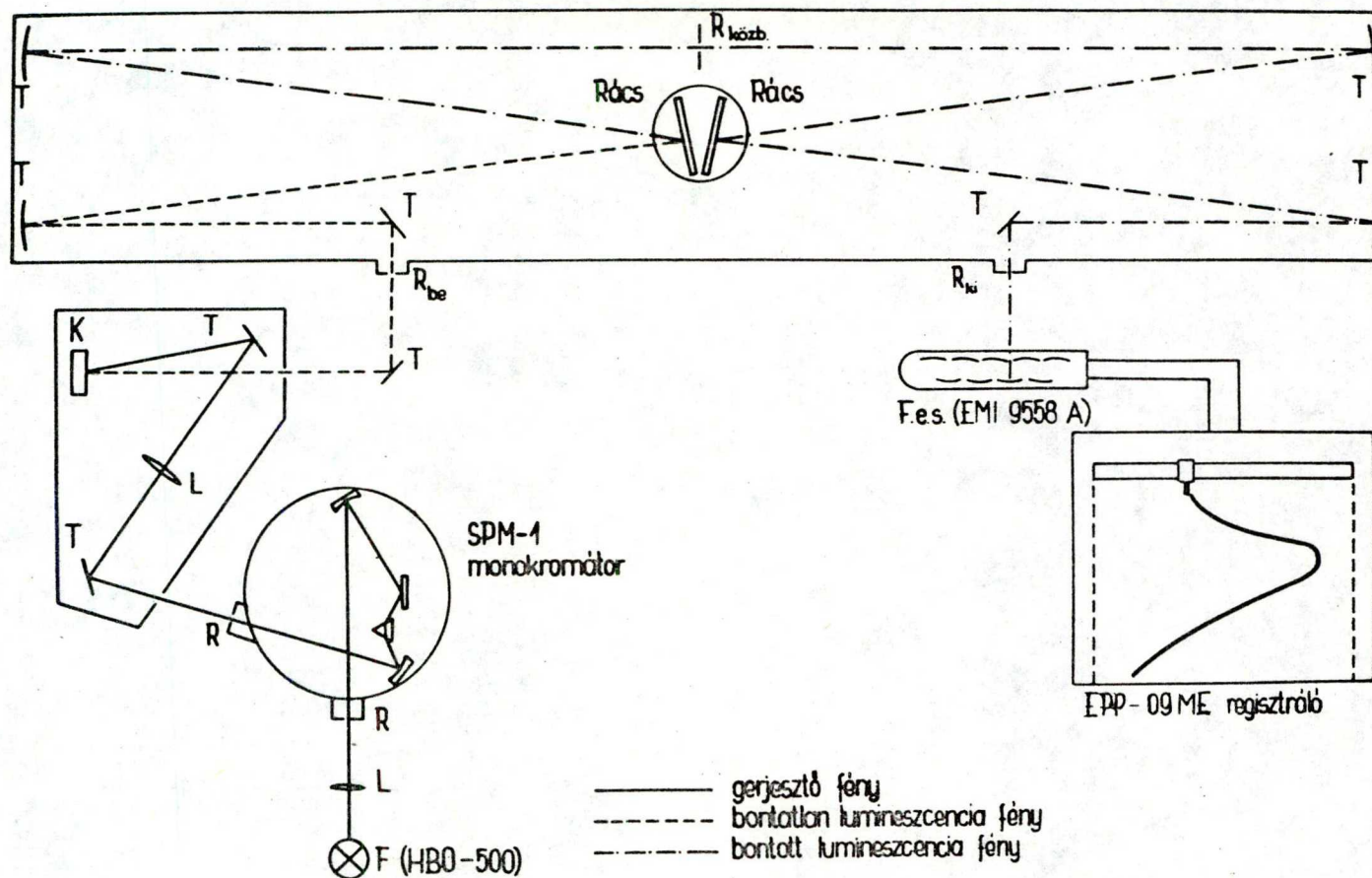
A fluoreszcencia intenzitás mérésekor standard összehasonlítóként uránüveget alkalmaztunk. Az olda-

tok rétegvastagsága minden esetben 1 cm volt. Termosztát és temperálható küvettatartó biztosította méréseink során az oldatok állandó, 25°C-os hőmérsékletét.



5. ábra

DFSZ-12 spektrofotométer



6. ábra

6. DETERGENS OLDATOK OPTIKAI TULAJDONSÁGAI

Ebben a fejezetben röviden összefoglaljuk a különböző közleményekben megjelent azon eredményeket, amelyek az általunk vizsgált festékek egy-, ill. két-komponensű detergens tartalmu oldataira vonatkoznak.

A. Egy lumineszkáló festéket tartalmazó /egykomponensű/detergens oldatok optikai tulajdonságai

Az itt ismertetésre kerülő eredmények olyan detergens koncentráció tartományu oldatokra vonatkoznak, amelyekben a detergens micellákat képez. Az alkalmazott SIS detergens kritikus micella koncentrációja vizes oldatban, vezetőképességi mérések alapján /67/, /70/, /76/ $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l. A különböző festékanyagok jelenlétében a micellaképződés a tiszta detergens oldaténál alacsonyabb detergens koncentrációnál kezdődik meg /61/, /76/ az indukált micellaképződés jelensége miatt.

a./ A Rhodamin 6G tartalmu detergens oldatok tulajdonságait vizsgálva LEHOCZKI /76/ azt találta, hogy a Rh 6G monomer formájának abszorpciós maximuma, amely vizes oldatban 528 nm-nél van az SIS oldatba való bevitelével 6 nm-rel a hosszabb hullámhosszak felé tolódik el,

s az eltolódás mértéke független a detergens koncentrációjától. Kimutatta azt is, hogy az abszorpciós spektrum alakját nem befolyásolja a detergens koncentráció. A cmc alatti SLS koncentrációknál megjelenik ugyan 500 nm körül egy kicsiny "váll", amely azonban a micellák kialakulása után eltűnik. Ennek oka az, hogy vizes oldatban és kis detergens koncentrációknál az oldatban festék-detergens komplexek vannak jelen, amelyek az SLS koncentráció növelésével feloldódnak. A festék vizes oldatában festék dimerek is találhatóak /bár kis mennyiségben/, amire az utal, hogy $k(\lambda)_{\max}$ cmc feletti detergens koncentrációknál mért értéke nagyobb, mint a vizes oldatban mért érték. A Rh 6G detergens rendszerek abszorpciós szinképében tehát nem figyelhető meg lényeges változás az SLS bevitelének hatására, vagyis a festék és a detergens között nem lép fel erős kölcsönhatás /70/, /71/.

Ugyancsak ez a következtetés szűrhető le a fluoreszcencia mérések eredményei alapján. A fluoreszcencia spektrum maximumhelye a vizes oldatéhoz viszonyítva 5 nm-rel a nagyobb hullámhosszak felé tolódik el a detergens jelenlétében, de a sugárzás spektrális eloszlása független a detergens koncentrációjától. A fluoreszcencia intenzitás viszont oly módon függ az SLS koncentrációjától, hogy a cmc alatti detergens koncentrációk esetén a vizes oldatban mért intenzi-

táshoz képest igen kis intenzitás mérhető, a cmc feletti koncentráció tartományban viszont az intenzitás megnő, s gyakorlatilag független a detergens koncentrációjától.

b./ Tionin tartalmu detergens oldatok abszorpció szinképében irodalmi adatok /69/, /70/, /77/, /79/ alapján a következő változások jönnek létre a festék, ill. a detergens koncentráció megváltozásának hatására:

i./ A festék monomerekre jellemző 600 nm-es maximum α -sáv/ detergens bevitelének hatására a vizes oldathoz képest 3-5 nm-rel a hosszabb hullámhosszak felé tolódik. Intenzitása kis detergens koncentrációknál a vizes oldatban mért intenzitáshoz képest erősen lecsökken, majd a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő, s a nagyobb detergens koncentrációknál már meghaladja a vizes oldatban mért értéket.

ii./ 565 nm-nél megfigyelhető egy, a tionin dimerektől származó maximum, a β -sáv. Mig a dimerizációs sávot a vizes festékolatokban jól látható "váll" jelzi a spektrumban, addig a $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l SIS koncentrációju oldatokban a

dimer sáv alig észrevehető. A detergens koncentráció növekedésével a β -sáv egyre kifejezettebbé válik, de a cmc feletti SLS koncentrációknál lényeges változást nem mutat.

iii./ Kis detergens koncentrációknál az abszorpciós spektrumban egy rövidhullámu sáv γ -sáv /465 nm/ jelenik meg, amely a rendszerben kialakuló festék-detergens sók keletkezésének tulajdonítható. Ezek a cmc feletti detergens koncentrációknál feloldódnak, s a festék beépül a micellákba.

iiii./ A 640 nm-nél megjelenő hosszuhullámu abszorpciós sáv, a δ -sáv, magasabbrendű festék-aggregátumok kialakulásával magyarázható, amelyek főleg kis detergens és nagyobb festék koncentráció esetén jönnek létre, s csak a cmc-t meghaladó detergens mennyiség jelenlétében oldódnak fel /61/.

A tionin fluoreszcencia intenzitása a cmc-nél kisebb detergens koncentrációknál a nem-fluoreszkáló festék-detergens komplexek és festék dimerek jelenléte miatt kicsi, de nagy detergens koncentrációknál a fluoreszkáló festék-monomerek relativ mennyiségének növekedése következtében a fluoreszcencia intenzitás a vizet oldatban mért érték fölé nő.

c./ Metilénkéket tartalmazó vizes oldatokban a festék-monomerektől származó abszorpciós maximum / α -maximum/



665 nm-nél található. A detergens bevitelének hatására ez az α -maximum 3-4 nm-rel eltolódik a rövidebb hullámhosszak felé. Intenzitása kis mennyiségű detergens jelenlétében erősen lecsökken a vizes oldatban mért értékhez képest, de a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő, s a $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációju oldatokban már meghaladja a vizes oldatban mért $k(\lambda)$ értéket.

A metilénkék dimerek jelenlétére utaló β -sáv 615 nm körül jelenik meg, s a tionin oldatok β -sávjához viszonyítva jóval erőteljesebb, ami arra utal, hogy a metilénkék sokkal hajlamosabb a dimerizációra, mint a tionin. A β -sáv intenzitása nagy mértékben függ a festék és a detergens koncentrációjától. Nagy festék-koncentrációju, kis detergens tartalmu oldatokban $/2-3 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS/ igen határozott a β -maximum, s értéke meghaladja az α -maximum értékét $/79/$. Ennek alapján megállapítható, hogy a β -sáv megjelenését nemcsak dimerizáció okozza, hanem festék-detergens komplexek létrejötte is. Ezen komplexek a detergens koncentráció növelésével feloldódnak, csökken a β -sáv intenzitása, s a cmc fölötti detergens koncentrációknál a metilénkék oldatok spektrumában az α - és β -sáv intenzitásviszonya már a vizes festékolatokéhoz hasonló.

A metilénkék vizes oldatának fluoreszcencia maximuma 685 nm-nél van és a maximum helyét detergens jelenléte sem változtatja meg. A metilénkék oldatok lumineszcencia intenzitása kis mennyiségű detergens jelenlétében erősen lecsökken a vizes oldatban mért intenzitáshoz viszonyítva, majd a rendszer emisszióképessége fokozatosan nő a detergens koncentráció növekedésével, s nagyobb detergens koncentrációknál $/4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ felett/ meghaladja a vizes oldatban mért értéket. Az $f_q(\lambda)_{\text{max}}$ ezen magasabb értékei a vizes oldatban jelenlévő festék aggregátumok szolubilizációjának tulajdoníthatók.

B. Két lumineszkáló festéket tartalmazó /két komponensű/ detergens oldatok optikai tulajdonságai

A micellákat és szerves festékeket tartalmazó modell-rendszerek tulajdonságainak felderítése a rendszerben végbemenő energiaátadási folyamatok megismerésére ad lehetőséget. A legegyszerűbb ilyen modell a két lumineszkáló festéket tartalmazó detergens oldat, melynek tulajdonságait vizsgálva felvilágosítás nyerhető arra vonatkozólag, hogy milyen tényezők befolyásolják az energiaátadást. Az előzőekben ismertetett három festék közül két-két festék keverékoldatának

optikai tulajdonságait vizsgálták /67/, /68/, /70/, /71/, /76/, /79/.

a./ Rhodamin 6G-t és tionint tartalmazó detergens oldatok optikai tulajdonságainak változásairól a /70/, /71/, /76/ munkák alapján a következő megállapítások tehetők:

i./ A rendszerben nem érvényesül az abszorpciós együtthatók közötti $k(\lambda) = k(\lambda)_A + k(\lambda)_D$ additív összefüggés, ami arra utal, hogy a donor és az akceptor molekulák között valamilyen, a keverék dimérek keletkezéséhez vezető, kémiai jellegű kölcsönhatás lép fel.

ii./ A keverékoldatok abszorpciós koeficienseiben nagyrészt ugyanazok a változások következnek be a detergens koncentráció növelése hatására, mint az egyes festékeket tartalmazó festék-detergens rendszerekben. Ugyanakkor kifejezettebben jelentkeznek a tionin és a detergens koncentrációjától függő abszorpciós változások. Nagyobb tionin koncentrációknál $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l, $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l a festékek teljes feloldódása csak nagy mennyiségű micellát tartalmazó oldatokban történik meg. A keverékoldatok abszorpciós spektrumának bonyolult szerkezete és a Rh 6G, valamint a Th abszorpciós sávjának erős átfedése miatt a tionin dimér sáv-

jának változása nem követhető nyomon.

A Rh 6G+Th rendszer fluoreszcencia spektrumai-
ban a detergens koncentráció függvényében változik
a donor /Rh 6G/ és az akceptor /Th/ fluoreszcencia
intenzitása, amiből az energiaátadás gyakoriságára
lehet következtetni. Mérési eredmények /70/, /76/
szerint a Rh 6G + Th keverékoldataiban az energia-
átadást nagy mértékben befolyásolja az oldatban le-
vő festékek és a detergens állapota. A cmc alatti
detergens koncentrációknál az energiaátvitelre alkal-
mas monomer festékmolekulák száma kicsi, valamint a
rendszernek nincs meghatározott szerkezete, így kicsi
az energiaátadás valószínűsége. A micellák kialakulá-
sával azonban a festék dimerek és komplex sók felol-
dódnak, a festék monomerek beépülnek a micellákba, s
létrejöhet az energiaátadás szempontjából ideális tá-
volság a festékmolekulák között. Ez az ideális távol-
ság Rh 6G és Th esetén 24-40 Å, amikor is egy micellá-
ba 12-20 festékmolekula épül be /76/.

b./ Tionint és metilénkéket tartalmazó detergens rend-
szerek optikai tulajdonságai.

E rendszerben mind a két festék /67/, mind a fes-
tékek és a detergens között /61/ kémiai kölcsönhatás
lép fel, emiatt a két festék keverékoldatának abszorpció-
s tulajdonságai jelentős eltérést mutatnak az egy-

komponensű oldatok abszorpciós tulajdonságaihoz képest. A MB monomer sávjának helye csökkenő detergens koncentrációval egyre inkább a rövidebb hullámhosszak felé tolódik el, s az eltolódás $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentráció esetén 15 nm a vizes oldathoz viszonyítva. E jelenség azzal magyarázható, hogy a MB α -sávját részben fedi a Th 640 nm körüli δ -sávja, amelynek intenzitása éppen a kis detergens koncentrációknál jelentős. A MB α -sávjának intenzitása is lecsökken kis detergens koncentrációknál, s ugyanígy a tionin α -maximuma is csaknem teljesen hiányzik.

A Th + MB + detergens rendszerben megfigyelhető a szenzibilizált fluoreszcencia jelensége, mely a fluoreszcencia spektrumok alapján nyomon követhető. A vizes oldatban ugyanis a Th fluoreszcencia sávjának intenzitása jóval nagyobb, mint a MB-é; detergens bevitelével viszont ez az arány megfordul, s $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál a MB fluoreszcencia intenzitása több, mint ötszöröse lesz a Th-énak /79/. A két festék fluoreszcencia intenzitásának hányadosa függ a detergens koncentrációtól, s minden festék koncentráció esetén meghatározható egy optimális detergens koncentráció, amelynél a Th lumineszcenciája csaknem teljesen ki-

oltódik, a metilénkéké pedig erőteljesen megnő. Ez azt bizonyítja, hogy az energiaátadás gyakorisága függ a rendszer strukturájának rendezettségétől.

C./ Többkomponensű oldatok optikai tulajdonságai

Több lumineszkáló komponenset tartalmazó oldatok optikai tulajdonságairól igen kevés irodalmi anyag áll rendelkezésre. Az e témakörben megjelent cikkek nagy része elméleti jellegű, kevés kísérleti anyagot tartalmaz. KETSKEMÉTY /80/ három lumineszkáló festéket tartalmazó oldatokban lejátszódó energiaátadásra vonatkozó elmélete olyan rendszerekre érvényes, amelyekben a komponensek között kémiai kölcsönhatás nem lép fel. E feltétel miatt ez az elmélet az általunk vizsgált rendszerre nem érvényes.

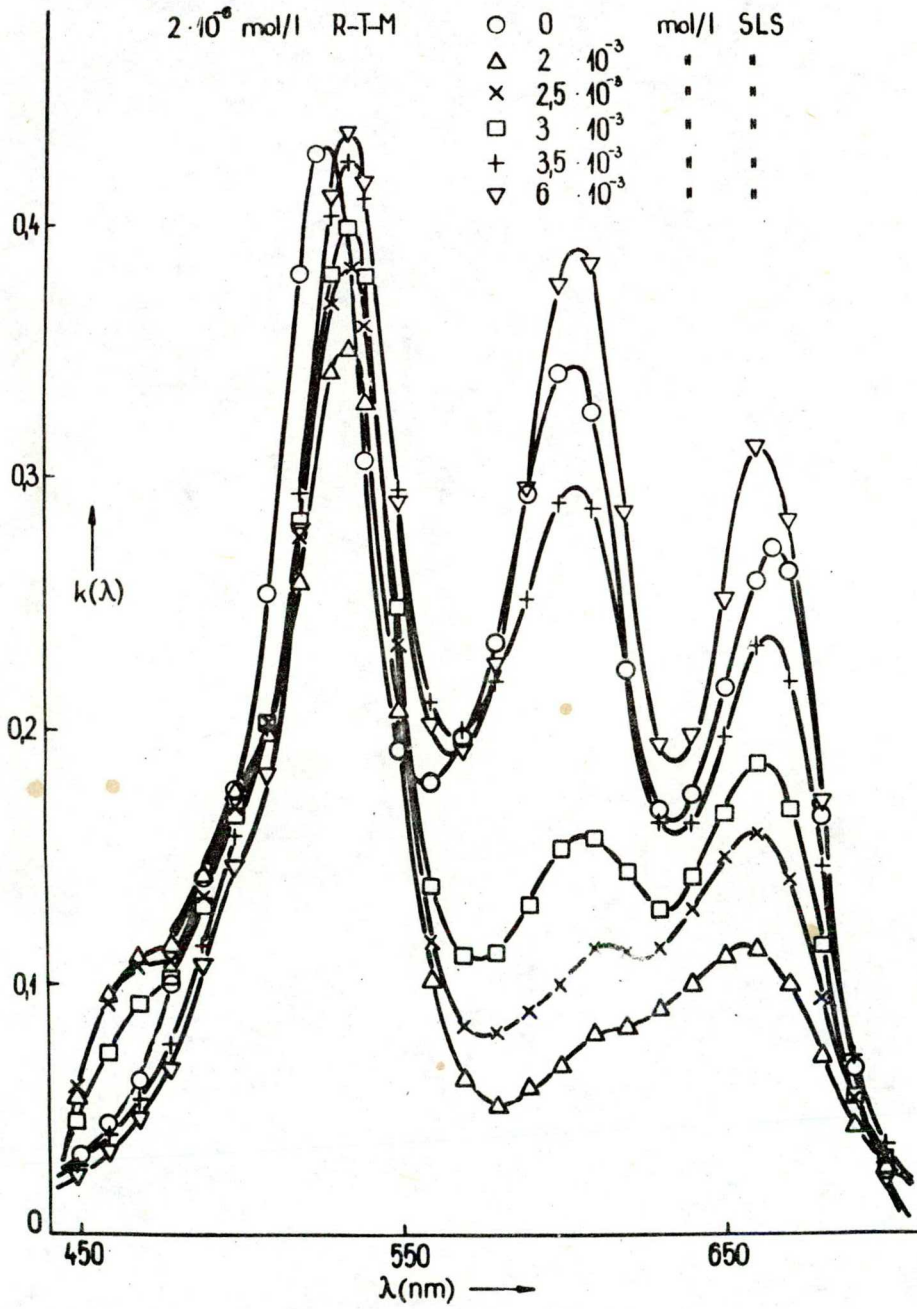
Az irodalmi adatok más része olyan többkomponensű rendszerekre vonatkozik, amelyek csak egy lumineszkáló komponenset tartalmaznak /80/.

7. KISÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

A. A többkomponensű festék-detergens rendszerek abszorpciós tulajdonságai

A vizsgált festék-detergens oldatok abszorpciós spektrumairól megállapítható, hogy mind a detergens, mind pedig a festék koncentráció változása jelentősen befolyásolja a rendszerek abszorpcióképességét. Méréseink szerint ezen rendszereknél nem érvényes az abszorpció additivitása, azaz a keverékoldat abszorpciós szinképe nem állítható elő a komponensek abszorpciós szinképeinek összegéből. Ez azt jelenti, hogy az egyes festék komponensek között kémiai kölcsönhatás áll fenn. Másrészt a festékek és a detergens is kölcsönhatásba lépnek, amit a detergenst tartalmazó oldatok abszorpciós szinképeinek a vizes oldatok abszorpciós spektrumaihoz viszonyított szembetűnő deformálódása bizonyít.

A vizsgált keverékoldatok azonos koncentrációban tartalmazták a három festéket /ekvimoláris keverékoldat/, a festékek koncentrációja 6, a detergens koncentrációja 8 különböző értéken keresztül változott. A vizsgált 48 rendszerénél kapott mérési



7. ábra

eredményeinket a 7., 8. és a 9. ábrán illusztráljuk. Az egyes ábrákon egy adott festékkoncentrációju keverékoldat abszorpciós szinképének detergens koncentrációval való változását tüntettük fel; a jobb áttekinthetőség érdekében csak 6 detergens koncentrációnál.

A 7. ábrán a $2 \cdot 10^{-6}$ mol/l festékkoncentrációju oldatok abszorpciós szinképének változása látható a detergens koncentráció függvényében. Az egyes festékekre jellemző fő- és mellékmaximumok a detergens bevitelének hatására a következő változásokat mutatják.

A Rhodamin 6G abszorpciós maximuma vizes oldatban 528 nm-nél található. Detergens bevitelének hatására az abszorpciós maximum 6 nm-rel a hosszabb hullámhosszak felé tolódott el. Ezen eltolódás mértéke azonban független a detergens koncentrációjától. A megfigyelt abszorpciós sáv a Rh 6G monomer formájának felel meg. A detergens koncentráció növelése lényegesen nem befolyásolja az abszorpciós spektrum alakját. A legkisebb, a $2,0$ és a $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l SIS koncentrációknál egy egészen kicsiny "váll" jelenik meg a spektrum 500 nm körüli tartományában, amely azonban fokozatosan eltűnik a detergens koncentráció növelésével.

I. táblázat

A Rh 6G α -sávjának $k(\lambda)_{\max}$ értékei keverék
oldatban

$\frac{c}{c_{\text{SIS}} \cdot 10^3}$ (m/l)	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,435	1,092	2,247	4,589	10,550	20,200
2	0,362	0,837	1,602	3,110	7,450	12,450
2,5	0,390	0,904	1,760	3,430	8,227	14,670
3	0,412	0,968	1,885	3,640	8,900	16,750
3,5	0,427	1,015	2,010	3,910	9,300	17,800
4	0,437	1,083	2,120	3,950	9,780	19,130
6	0,437	1,088	2,195	4,380	10,550	20,400
8	0,438	1,097	2,225	4,470	10,700	20,400

Az intenzitásviszonyokat tekintve /ld. I. táblázat/ a Rh 6G $k(\lambda)_{\max}$ értéke kis detergens koncentrációknál a vizes oldatban mért érték alá csökken, majd a cmc felett $/6,0 \text{ és } 8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l SLS/}$ túlhaladja a 0 mol/l SLS-nél mért értéket. Ezen változás arra utal, hogy a vizes oldatban, ha jelentéktelen mennyiségben is, festék dimerek voltak jelen.

A fenti adatok alapján megállapítható, hogy a Rh 6G és az SLS között nincs olyan erős kölcsönhatás, amely határozottan jelentkezne az abszorpció szinképben. A dimerizáció mértéke is igen kicsi, ami egybeesik az irodalmi adatokkal, ugyanis a Rh 6G jelentős dimerizációs folyamata vizes oldatban 10^{-4} - 10^{-3} mol/l koncentrációnál kezdődik /70/, /76/, /78/.

A tionin fő abszorpció maximumának $/\alpha$ -maximum/ helye vizes oldatban 600 nm-nél van. Ez a festék-monomerekre jellemző maximum detergens bevitelének hatására a hosszabb hullámhosszak felé tolódik el 3-5 nm-rel. Kis detergens koncentrációknál $/2 \text{ és } 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l SLS/}$ a Th α -maximumának helyzete a keverékoldatban nem határozható meg pontosan a MB dimer sávjának átfedése miatt.

II. táblázat

A tionin α -sávjának $k(\lambda)_{\max}$ értékei keverék
oldatban

$c_{\text{SIS}} \cdot 10^3$ (m/l)	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,344	0,864	1,796	3,510	8,100	14,300
2	0,113	0,223	0,300	0,550	1,300	5,000
2,5	0,185	0,190	0,370	0,580	1,350	3,700
3	0,232	0,275	0,510	0,790	1,500	3,100
3,5	0,314	0,450	0,790	1,100	2,200	3,300
4	0,360	0,858	1,277	1,630	3,200	3,900
6	0,388	0,971	1,911	3,580	7,450	8,000
8	0,394	0,986	1,975	3,800	8,850	15,900

A tionin α -maximumának intenzitásváltozása-
it tekintve /ld. II. táblázat/, jól látható, hogy
értéke kis detergens koncentrációk esetén erősen
lecsökken, majd a detergens koncentráció növelésé-
vel fokozatosan növekszik, és a $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l SIS
tartalmu oldatban értéke már meghaladja a vizes ol-
datban mért maximum értékét. Ez a változás azzal
magyarázható, hogy kis detergens koncentrációknál
a festék a detergenssel vízben oldhatatlan komplex
sókat képez, amelyek ebben a tartományban nem ab-
szorbeáló. A detergens koncentráció növelésével -
a detergens szolubilizáló hatására - ezen sók oldó-
dása megindul és az abszorpció értéke újra növek-
szik /61/.

● A tionint és detergenst tartalmazó egykomponen-
sű rendszerekben a tionin dimerekre jellemző β -sáv
/565 nm/ jelenléte vagy hiánya vizsgált keverékol-
dataink esetén nem állapítható meg a Rh 6G és a Th
abszorpciós spektrumának jelentős átfedése miatt.
Éppen ez okozza azt, hogy a Rh 6G abszorpciós spekt-
ruma az 560 nm körüli hullámhossz tartományban nagy
mértékben eltér a tiszta Rh 6G $k(\lambda)$ értékeitől je-
lezvén azt, hogy a tionin rövidhullámu abszorpciós
koefficiensei ebben a tartományban megnövelik a Rh 6G
 $k(\lambda)$ értékeit.

A tionin oldatokban kismennyiségű SIS hozzáadására megjelenik egy rövidhullámu abszorpciós sáv / γ -sáv/ 465 nm-nél. MUKARJEE és munkatársai /61/ szerint ez a rendszerben kialakuló, vízben gyengén oldódó festék-detergens komplex sók keletkezésének tulajdonítható. A detergens koncentráció növelésével ezek a komplexek oldódni kezdenek, s nagyobb SIS koncentrációknál a Th γ -sávja eltűnik. /Ld. III. táblázat adatait./

A tionin hosszuhullámu 640 nm-es δ -sávja, mely a magasabbrendű festék aggregátumok /polimerek/ megjelenésére utal, nem látható határozott maximum alakjában a keverékoldatok spektrumában. Jelenlétére azonban következtethetünk a MB α -maximumának kis detergens koncentrációknál jelentkező határozott eltolódásából /erről a későbbiekben lesz szó/.

A tioninra jellemző abszorpciós maximumok három komponensű keverékoldatokban tapasztalt változásai jó egyezést mutatnak az egy-, ill. két komponensű rendszerekben létrejövő változásokkal /70/, /71/, /76/, /77/, /79/.

A metilénkék abszorpciós maximumainak változásairól a következő megállapítások tehetők keverékoldatok esetén. A MB monomer sávja / α -sáv/ vizes

III. táblázat

A tionin γ -sávjának $k(\lambda)_{\max}$ értékei keverék
oldatban

$\frac{c_{\text{SIS}} \cdot 10^3}{c} \quad (m/l)$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,066	0,174	0,373	0,860	1,890	3,750
2	0,111	0,334	0,692	1,430	3,800	5,200
2,5	0,107	0,312	0,655	1,370	3,800	6,050
3	0,093	0,291	0,605	1,290	3,650	6,250
3,5	0,051	0,208	0,514	1,140	3,060	6,250
4	0,049	0,118	0,350	0,880	2,920	6,200
6	0,049	0,110	0,252	0,460	1,400	5,200
8	0,044	0,115	0,243	0,490	1,230	2,500

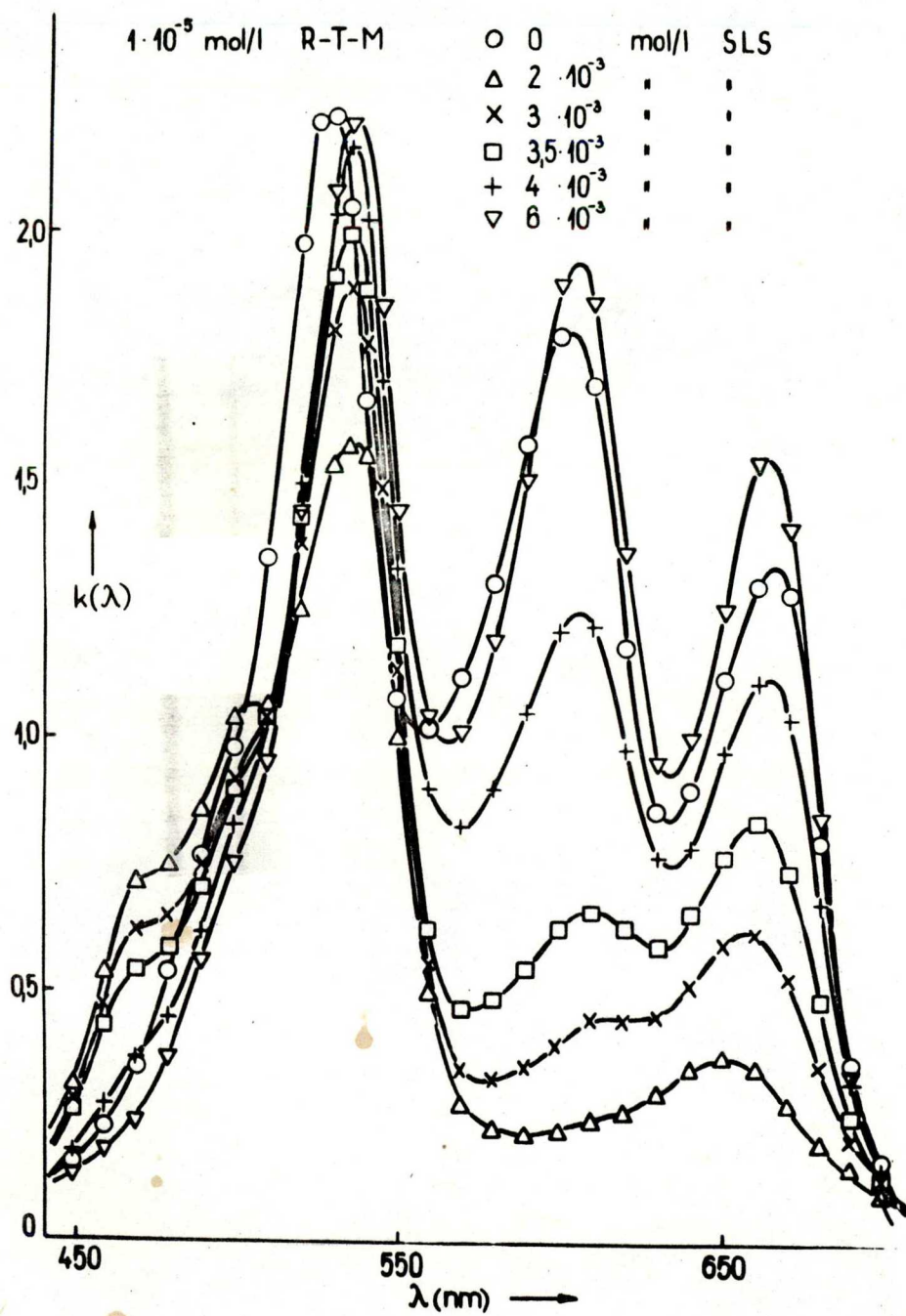
oldatokban 665 nm-nél van. Kis mennyiségű, $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens bevitelének hatására a maximum helye a rövidebb hullámhosszak felé tolódik el. Az eltolódás mértéke a festék koncentrációjától függően /10-20 nm/ változik. A detergens koncentráció növelésével a rövidebb hullámhosszak felé való eltolódás mértéke csökken a cmc eléréséig, a cmc felett $/6 \cdot 10^{-3}$ mol/l SIS/ az eltolódás mértéke ismét nő /ld. IV. táblázat adatait/. A kis detergens koncentrációknál fellépő, egy komponensű rendszerekben nem tapasztalható változás valószínűleg azzal magyarázható, hogy a MB α -sávját részben átfedi a Th 640 nm körüli δ -sávjá, amelynek intenzitása kis detergens koncentrációknál jelentős. Ezt az elképzelést az is alátámasztja, hogy a kis detergens koncentrációju oldatokban a MB α -maximuma intenzívebb, mint a Th α -maximuma, holott vizes oldatban intenzitásviszonyuk éppen fordított. A két sáv intenzitása a cmc körüli detergens koncentrációnál kerül egyensúlyba, olyan SIS koncentrációnál, ahol a Th δ -sávjának intenzitása már erősen lecsökken.

A MB dimerek jelenlétére utaló 615 nm-es β -sáv nem figyelhető meg a keverékoldatokban. Jelenlétére csak abból következtethetünk, hogy azon kis, cmc alatti detergens koncentrációknál /2; 2,5; $3 \cdot 10^{-3}$

IV. táblázat

A keverékoldatok abszorpciós spektrumaiban 665 nm
körül található maximum értéke és helye

$\frac{c_{\text{SIS}} \cdot 10^3}{c \text{ (m/l)}}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	$\frac{0,275}{665,5}$	$\frac{0,667}{665,0}$	$\frac{1,341}{664,0}$	$\frac{2,520}{665,0}$	$\frac{5,170}{665,0}$	$\frac{8,500}{666,0}$
2	$\frac{0,116}{655,5}$	$\frac{0,235}{649,0}$	$\frac{0,460}{649,0}$	$\frac{0,820}{648,0}$	$\frac{1,750}{645,5}$	$\frac{4,800}{650,0}$
2,5	$\frac{0,159}{658,5}$	$\frac{0,275}{654,5}$	$\frac{0,575}{654,0}$	$\frac{0,820}{651,0}$	$\frac{1,880}{646,0}$	$\frac{4,200}{650,0}$
3	$\frac{0,188}{659,5}$	$\frac{0,367}{657,0}$	$\frac{0,740}{656,0}$	$\frac{1,120}{654,5}$	$\frac{2,120}{649,0}$	$\frac{4,200}{650,0}$
3,5	$\frac{0,238}{663,0}$	$\frac{0,480}{660,0}$	$\frac{0,950}{658,5}$	$\frac{1,490}{658,5}$	$\frac{3,070}{655,5}$	$\frac{4,300}{650,0}$
4	$\frac{0,290}{662,0}$	$\frac{0,681}{662,0}$	$\frac{1,134}{662,0}$	$\frac{1,830}{660,0}$	$\frac{4,250}{660,0}$	$\frac{5,050}{655,0}$
6	$\frac{0,318}{661,0}$	$\frac{0,785}{661,5}$	$\frac{1,541}{662,0}$	$\frac{2,860}{662,0}$	$\frac{6,190}{662,0}$	$\frac{9,400}{661,5}$
8	$\frac{0,317}{661,0}$	$\frac{0,795}{661,5}$	$\frac{1,605}{662,0}$	$\frac{3,020}{662,0}$	$\frac{7,120}{662,0}$	$\frac{12,800}{662,5}$



8. ábra



9. ábra

mol/l SIS/, ahol a MB β -sávjának maximuma a legkifejezettebb egykomponensű oldatoknál, keverékoldatainkban a Th α -sávjának helye a hosszabb hullámhosszak /610 nm/ felé tolódott el. /A három komponensű keverékoldatokban kis, $2-2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l SIS koncentrációnál 500 nm körül fellépő "váll", amely nagyobb detergens koncentrációknál nem található meg, valószínűleg a metilénkék és a detergens által alkotott komplex jelenlétére utal, mely komplex az SIS koncentráció növelésével feloldódik./ /Az V. táblázatban foglaltuk össze az 500 nm-es maximum intenzitás értékeit./ Az előzőekben tett megállapítások egy adott festék koncentrációra $2 \cdot 10^{-6}$ mol/l/ vonatkoztak. A festék koncentráció növelésével /8. és 9. ábra/ létrejövő változások a spektrumban a következőkben foglalhatók össze:

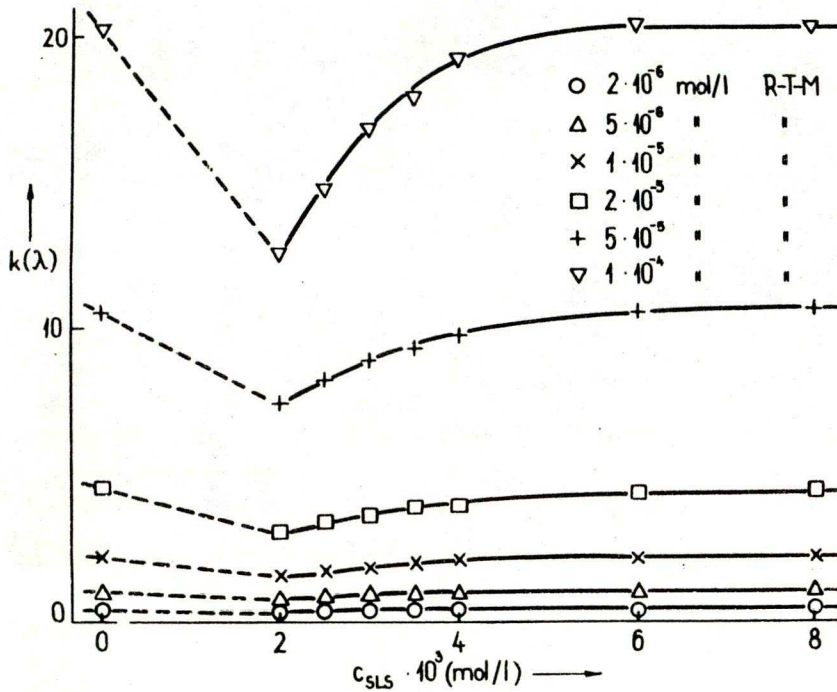
A Rh 6G abszorpciós maximumának detergens koncentrációval való változása minden egyes festék koncentrációnál azonos menetet mutat, melyet a 10. ábrán tüntettünk fel.

Kis mennyiségű detergens bevitelével a maximum intenzitása a vizes oldatban mért érték alá csökken, majd a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő, s minden vizsgált festék koncentrációnál a

V. táblázat

A keverékoldatok abszorpciós spektrumaiban 500 nm
körül található maximum értéke

$c_{SIS} \cdot 10^3$ (m/l)	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,181	0,477	1,032	2,260	5,500	11,450
2	0,174	0,488	1,025	2,270	6,680	11,440
2,5	0,159	0,465	0,947	2,010	6,300	12,600
3	0,156	0,431	0,902	1,850	5,550	12,600
3,5	0,152	0,411	0,875	1,750	4,700	11,650
4	0,150	0,396	0,830	1,700	4,700	11,170
6	0,150	0,371	0,760	1,480	3,970	9,400
8	0,147	0,369	0,755	1,530	3,830	8,150

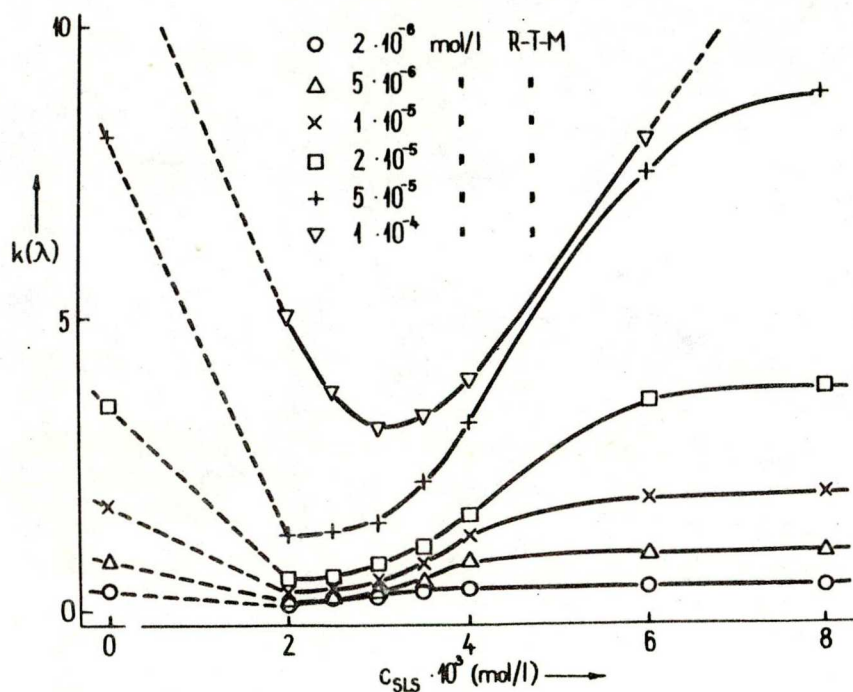


10. ábra

cmc fölötti detergens koncentrációknál $/6,0$ és $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l/ a vizes oldatban mért érték fölé növekszik.

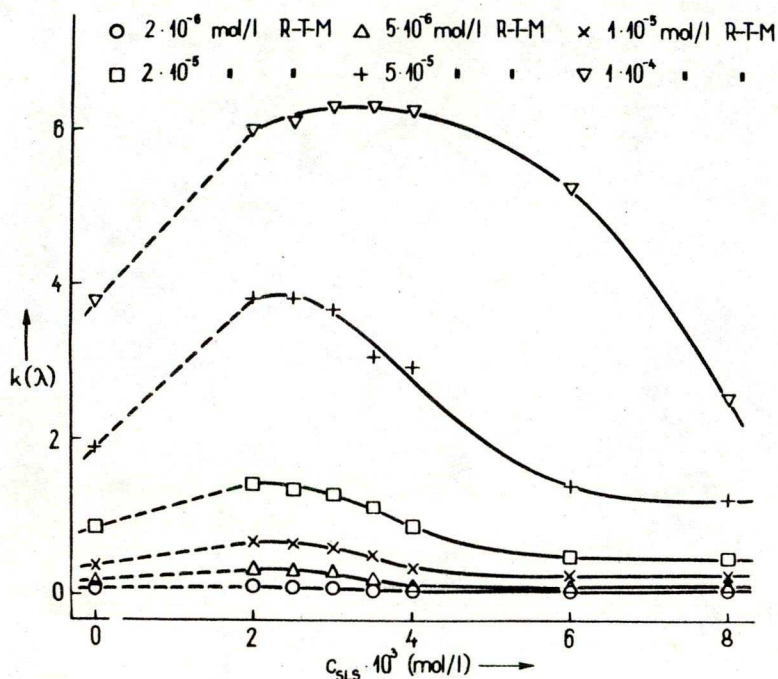
A tionin monomerekre jellemző 600 nm körüli maximum festék koncentráció növelésével létrejövő változása már nem ilyen egyértelmű.

A 11. ábrán látható a tionin α -maximума intenzitásának változása a festék és a detergens koncentráció függvényében. A detergens bevitele által okozott intenzitás-csökkenés, majd a detergens koncentráció növelésével létrejövő intenzitás növekedés jól nyomon követhető az ábrán. Megfigyelhető, hogy minél



11. ábra

nagyobb a festék koncentráció, annál nagyobb detergens koncentrációnál kezd növekedni az α -sáv intenzitása, vagyis adott detergens koncentrációnál egyre több kevésbé abszorbeáló festék aggregátum, ill. festék-detergens komplex jön létre a rendszerben. Ezt a megállapítást támasztja alá a tionin γ -sávjának /465 nm/ festék és detergens koncentrációtól való függése is, melyet a 12. ábrán tüntettünk fel. A Th γ -sávjának megjelenése a rendszerben kialakuló, vízben oldhatatlan festék-detergens sók jelenlétének tulajdonítható. Értéke a kis detergens koncent-



12. ábra

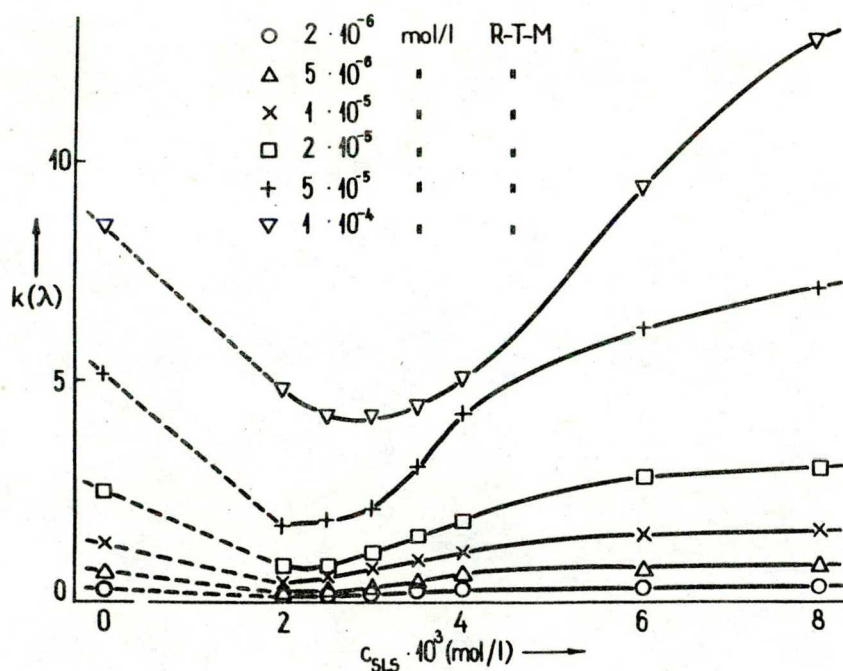
rációknál a legnagyobb, a cmc fölötti SLS koncentrációknál gyakorlatilag eltűnik. Összehasonlítva a 11. ábra görbéinek minimumait a 12. ábra görbéinek maximumaival, megállapítható, hogy e két érték a megfelelő festék koncentrációknál ugyanazon detergens koncentrációnál található, bizonyítván azt, hogy a γ -sáv intenzitásának növekedése az α -sáv intenzitása rovására jött létre, vagyis a festék monomerek valóban komplexet képeznek a jelenlévő detergenssel.

A 12. ábrán látható, hogy a festék detergens komplexek a detergens koncentráció növekedésével - a de-

tergens szolubilizáló hatására - fokozatosan feloldódnak, s a γ -sáv nagy $/6,0, 8 \cdot 10^{-3}$ mol/l/ SLS koncentrációnál gyakorlatilag eltűnik.

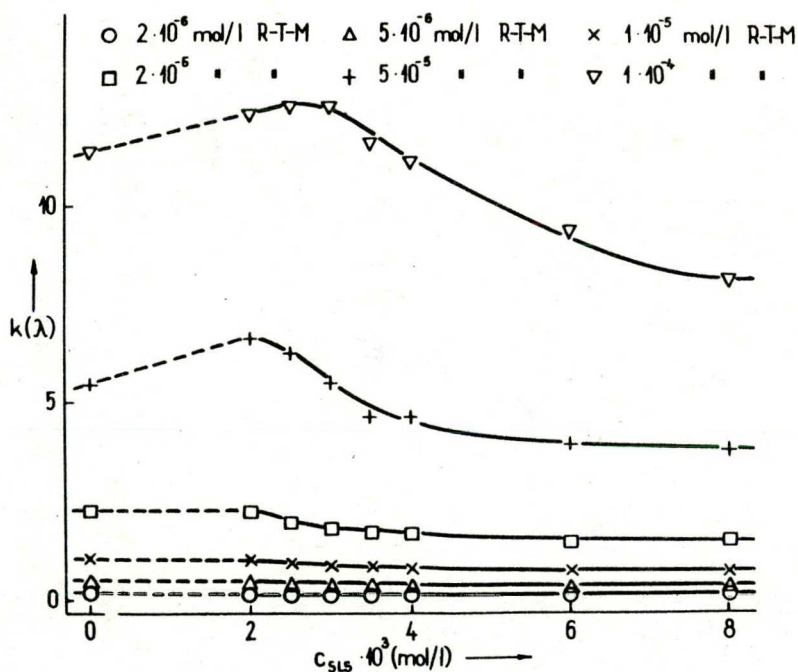
/A Th másik két $/\beta$ és δ / mellékmaximumának változása keverék oldatokban nem volt nyomon követhető - a festékek abszorpciós spektrumai átfedése miatt./

A metilénkék 665 nm körül található α -maximumának detergens és festék koncentrációtól függő változása - melyet a 13. ábrán tüntettünk fel - a tionin α -maximumához hasonló változást mutat. Kis mennyiségű detergens rendszerbe való bevitele egyértelműen csökkenti a sáv intenzitását, de a minimális in-



13. ábra

tenzitás a festék koncentráció növelésével egyre nagyobb detergens koncentrációknál található. Míg a $2 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentrációnál $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál található az α -sáv minimális intenzitása, addig a legnagyobb, $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l festék koncentrációnál ez az érték $3 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál a legkisebb. A változás oka itt is a metilénkék és a detergens által alkotott komplex sók létrejötte, amit bizonyít a MB-SLS komplexeknek tulajdonított 500 nm körüli maximum detergens és festék koncentráció függésében feltüntetett változása, amelyet a 14. ábrán mutatunk be. Az 500 nm-es



14. ábra

maximum intenzitása adott festékkoncentráció esetén éppen azon detergens koncentrációknál a legnagyobb, ahol a metilénkék α -sávja minimális intenzitású. A 665, ill. 500 nm-nél található maximumok változása alapján megállapítható, hogy a MB a nagyobb festék koncentrációju keverékoldatokban festék-detergens komplexeket képez, amelyek a detergens koncentráció növelésével - a detergens szolubilizáló hatása következtében - feloldódnak, s a metilénkék α -sávjának intenzitása újból megnő. A 13. ábrán látható, hogy nagy detergens koncentrációk $/6 \cdot 10^{-3}, 8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}/$ esetén a metilénkék monomerekre jellemző α -sáv intenzitása meghaladja a vizes oldatokban mért értéket. Ezt azzal lehet értelmezni, hogy 10^{-5} mol/l festék koncentrációtól kezdve a nagyobb festék koncentrációju vizes oldatokban nem abszorbeáló festék aggregátumok is jelen vannak, amelyek nagy detergens koncentrációknál szintén feloldódnak.

B. A többkomponensű festék-detergens rendszerek fluoreszcencia tulajdonságai

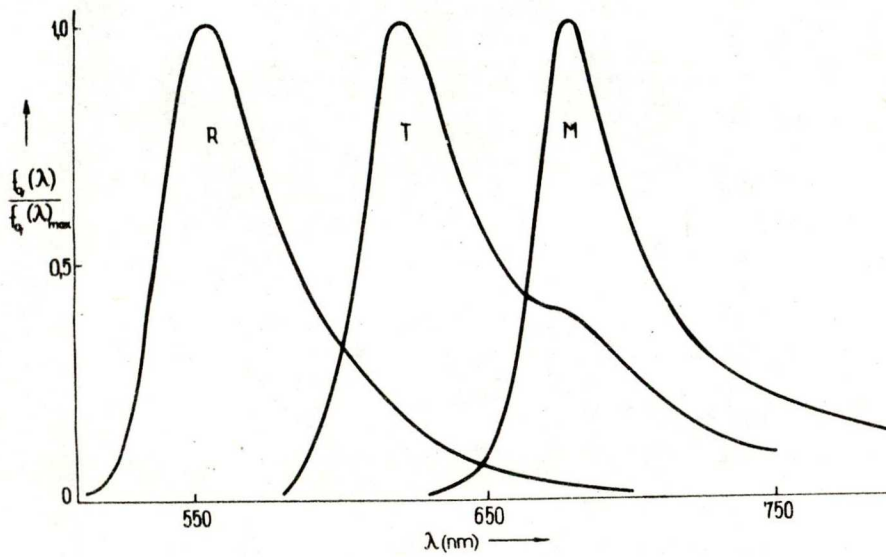
Az 5. ábrán a vizsgált három festék $k(\lambda)/k(\lambda)_{\max}$, a 15. ábrán pedig ugyanezen festékek $f_q(\lambda)/f_q(\lambda)_{\max}$ spektrumai vannak feltüntetve. A két ábrát összehasonlítva látható, hogy az induktív rezonanciás energiaátadás feltétele biztosított azáltal, hogy a donor /Rh 6G/ fluoreszcencia spektrumának és a közvetítő festék /Th/ abszorpciós spektrumának átfedése jelentős; ugyancsak jelentős az átfedés a Th emissziós és az akceptor /MB/ abszorpciós spektrumai között. Ezért a fényenergia abszorbeálása után a következő folyamatok játszódnak le: a Rhodamin 6G által elnyelt fényenergia molekulák közötti energiavándorlással - energetikai okok miatt - a nagyobb hullámhosszaknál abszorbeáló tioninra jut. Miután a Rh 6G gerjesztési energiáját átadja a Th-nak alapállapotba, a Th pedig gerjesztett állapotba jut. A Th a gerjesztési energia egy részét lumineszcencia fény alakjában kisugározza, más részét pedig energiamigrációval a MB-nek adja át, miközben a Th alapállapotba kerül, a MB pedig gerjesztődik. A MB a gerjesztési energiát részben kisugározza - ekkor figyelhető meg a MB szenzibilizált fluoreszcenciája - részben pedig sugárzás nélkül átadja környezetének. Ennek alapján a festékkeverék rendszerekben a donor fluoreszcencia intenzitásának csökkenéséből, ill. az akceptor fluoreszcencia inten-

zításának növekedéséből következtetni lehet az energiaátadás hatékonyságára - természetesen figyelembe véve a folyamatban résztvevő, az átadásban szerepet játszó harmadik festék fluoreszcenciájának változását is.

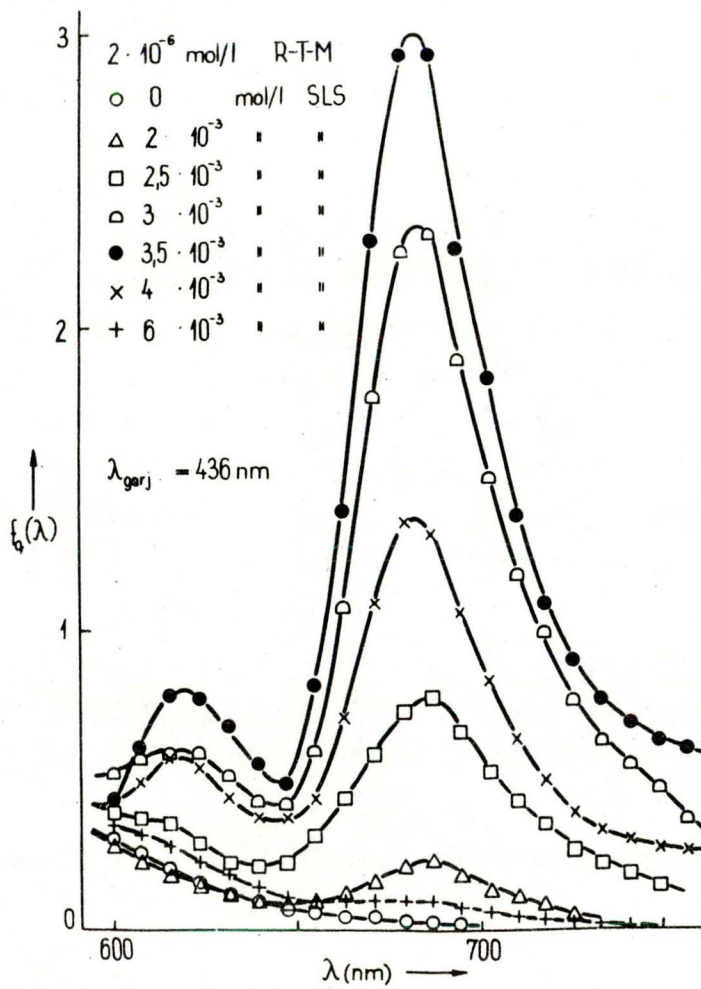
Vizsgálataink során a keverékoldatok fluoreszcencia spektrumainak felvételekor két különböző hullámhosszúságú, egyenlő intenzitású gerjesztőfényt alkalmaztunk, s mivel e két hullámhosszra nézve a komponensek abszorpcióképessége más és más, célszerű a kapott fluoreszcencia spektrumokat külön-külön vizsgálni.

a./ A 436 nm-es gerjesztéssel nyert fluoreszcencia spektrumok

A három festék abszorpcióképessége ezen hullámhossznál közel azonos, emiatt az egyes festékek emissziós maximumainak intenzitása - vizes oldatban, ahol nincs energiaátadás a komponensek között - a komponensek lumineszcencia hatásfokának megfelelően alakul, amely Rh 6G-re nézve 90 %, a tionin esetén 30 % körül van, míg MB esetén 15 %-nál kisebb. A VI. és a VII. táblázatban gyűjtöttük össze a Rh 6G emissziós maximumánál 1-re szorzott spektrumok tioninra, ill. MB-re vonatkozó $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeit. A fluoreszcencia



15. ábra



16. ábra

spektrumok tioninra jellemző maximumának helye keverékoldatok esetén vizes oldatban, ill. kis detergens koncentrációju oldatokban nem határozható meg /ld. 16., 17., 18., 19. ábrák/, ami azt jelenti, hogy ezen oldatoknál a Rh 6G által abszorbeált energia nem adódott át a Th-nak. A detergens koncentráció növelésével azonban minden festékkoncentráció esetén $3,5-4 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál megjelenik a tionin emissziós maximuma 620 nm körül, melynek helye független a festék és a detergens koncentrációtól. /A VI. táblázat is a 620 nm-nél leolvasott $f_q(\lambda)$ értékeket tartalmazza./ Ugyancsak nehezen határozható meg a MB fluoreszcencia maximumának helye a vizes keverékoldatokban - szintén amiatt, hogy ezen oldatokban nincs energiaátadás a MB-re. A detergens bevitelének hatására azonban a MB maximuma - ha kis intenzitással is - megjelenik 683 nm-nél, s a maximum helye gyakorlatilag független a festék, ill. a detergens koncentrációjától. /A VII. táblázatban a MB emissziós maximumát jellemző $f_q(\lambda)$ értékek is 683 nm-re vonatkoznak./

Az egyes festékkomponensek fluoreszcencia intenzitásának változását vizsgálva megállapítható, hogy a detergens koncentráció változtatásával mind a Th, mind a MB $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei változnak. A deter-

VI. táblázat

A tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei keverékoldatokban; $\lambda_g = 436 \text{ nm}$

$c_{\text{SLS}} \cdot 10^3 \text{ (m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	89,6	73,0	64,2	67,2	52,4	72,2
2,5	185,7	91,0	89,5	83,3	60,7	72,2
3	324,7	150,0	115,3	113,4	88,0	83,8
3,5	549,4	325,8	238,4	204,3	146,6	96,9
4	316,5	666,3	542,1	328,0	195,3	140,8
6	141,7	163,5	205,8	330,6	612,6	293,2
8	132,4	151,7	174,2	201,6	298,4	540,8

gens bevitelének hatására a Th fluoreszcencia intenzitásai csökkennek, majd a detergens koncentráció növelésével egy maximumon megy át értékük, mely maximum után az intenzitás hirtelen lecsökken. A Th $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei a vizes oldatban mért érték 5-6-szorosaira növekszenek a detergens koncentráció növelésével. A legnagyobb $f_q(\lambda)_{\max}$ értékekhez tartozó detergens koncentráció a festék koncentráció növelésével egyre nagyobb értékeket vesz fel /ld. VI. táblázat/. Nevezetesen $2 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentrációnál $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál éri el a Th lumineszcencia intenzitása a legnagyobb értéket, $5 \cdot 10^{-6}$; $1 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l festék koncentrációknál a maximális fluoreszcencia intenzitás $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál található; $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l, ill. $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l festék koncentrációnál pedig $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l, ill. $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál világít legjobban a Th.

A MB $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeinek változását a VII. táblázatban gyűjtöttük össze. Már a detergens bevitele is és koncentrációjának növelése igen nagy mértékben megnöveli a MB intenzitását keverékoldatokban. A legnagyobb $f_q(\lambda)_{\max}$ értékek a vizes oldatban mért érték 130-180-szorosát is eléri, majd a detergens koncentráció további növelésével hirtelen csökkenést mutatnak. A MB $f_q(\lambda)_{\max}$ -ának vizes oldathoz viszonyított

VII. táblázat

A metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei keverékoldatokban; $\lambda_g = 436 \text{ nm}$

$\frac{c_{\text{SLS}} \cdot 10^3}{c_{\text{m/l}}}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	100	100	100	100	100	100
2	948	343	158	333	175	144
2,5	3100	950	732	1066	484	456
3	9340	3283	2195	2667	1584	1212
3,5	14800	10400	6010	6267	3959	2052
4	5888	18266	13073	13000	5750	4360
6	400	527	756	3033	16250	11760
8	100	297	361	743	3375	18340

ilyen hatalmas mértékű növekedése - a MB szenzibilizált fluoreszcenciája - a rendszerben lejátszódó energiaátadási folyamat bizonyítéka. A mérési eredmények szerint az energiaátadás mértéke függ a rendszerben lévő festékek állapotától, és a rendszer szerkezetétől, rendezettségének mértékétől. Mindaddig, amíg nem alakulnak ki micellák a rendszerben $/3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentráció alatt/, a MB fluoreszcencia intenzitása csak fokozatosan nő. Ugrásszerű változás a fluoreszcencia $f_q(\lambda)_{\max}$ értékében akkor következik be, amikor a festékmolekulák közötti távolság az energiaátadás szempontjából optimális lesz. $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál a rendszerben a kisebb SLS koncentrációnál még jelenlévő nem fluoreszkáló komplexek és dimerek már feloldódnak, s ezekből a sókból képződő festék monomerek is beépülnek a micellákba, s így kialakulhat az energiaátadás szempontjából optimális távolság a festékmolekulák között. Egy adott festék koncentráción belül a detergens koncentráció további növelésével a micellák száma nő, a festékmolekulák - egyenletes eloszlást feltételezve - nagyobb távolságra kerülhetnek egymástól, s ez magyarázza a MB fluoreszcencia intenzitásának nagy mértékű csökkenését a nagy detergens koncentrációnál. A festék koncentráció növelésével az energiaátadás

szempontjából legoptimálisabb detergens koncentráció szintén az előbbiek miatt növekszik, ugyanis egyre több micella jelenlétére van szükség ahhoz, hogy a festékkoncentráció növekedése következtében megszorodott festékmolekulák egymástól optimális távolságra kerüljenek. Összehasonlítva a Th és a MB intenzitások különböző festék koncentrációknál mért maximális értékeihez tartozó detergens koncentrációkat, látható, hogy mindkét festék ugyanazon detergens koncentrációnál világít a legjobban, ami azt jelenti, hogy a Th által kisugárzott energia szintén a rendszerben lévő festékmolekulák távolságától függ.

Érdekes változást mutat a detergens koncentráció növelésének hatására a MB és a Th $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeinek hányadosa, mely hányadosokat a VIII. táblázatban foglaltuk össze. Minden vizes oldatban, a festék koncentrációtól függetlenül a Th emissziós intenzitása többszöröse a MB-ének. A detergens koncentráció növelésével ez az arány fokozatosan a MB javára változik meg.

$2 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentráció esetén már $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens jelenlétében is megfordul az arány, és a MB intenzitása 1,5-szerese a Th intenzitásának. A detergens koncentráció növelésével

VIII. táblázat

A metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ -ának a tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ -ára vonatkoztatott relatív értékei; $\lambda_g = 436$ nm esetén

$c_{\text{SLS}} \cdot \frac{c}{10^3} \text{ (m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,137	0,169	0,216	0,161	0,168	0,131
2	1,450	0,792	0,533	0,800	0,560	0,261
2,5	2,290	1,760	1,760	2,060	1,340	0,826
3	3,950	3,690	4,110	3,790	3,020	1,890
3,5	3,700	5,380	5,440	4,950	4,530	2,770
4	2,560	4,620	5,200	6,390	4,930	4,050
6	0,390	0,543	0,793	1,480	4,440	5,250
8	0,104	0,330	0,447	0,593	1,890	4,440

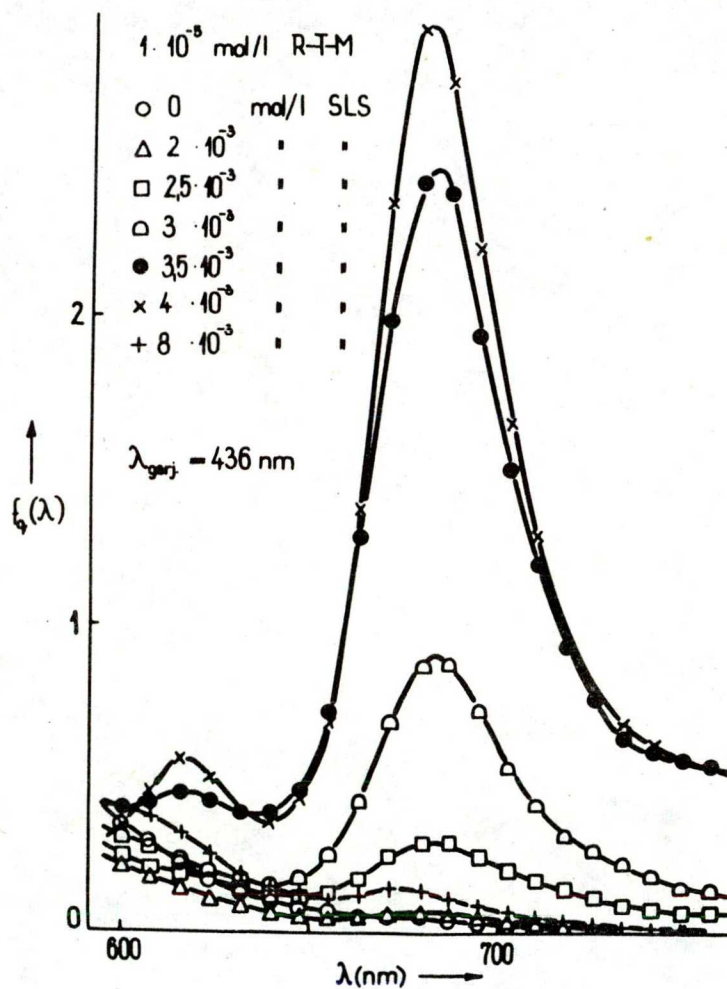
$3 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál a MB maximuma 4-szer intenzívebb, mint a Th-é. Tovább növelve a detergens koncentrációt, a MB egyre kevésbé világít, s $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál intenzitása a vizes oldatban mért arány alá csökken.

$2 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentrációnál a detergens koncentráció változtatásával kapott emissziós spektrumokat a 16. ábrán tüntettük fel. Mivel minden egyes spektrumot a Rh 6G emissziós maximumánál 1-re szoroztunk, egyetlen ábrán sem rajzoltuk fel a Rh 6G emissziós maximumait. /A $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációhoz tartozó $f_q(\lambda)$ értékek léptékét a többihez viszonyítva 80 %-ára csökkentettük a jobb ábrázolhatóság érdekében.

$5 \cdot 10^{-6}$ és $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l festék koncentráció esetén a MB intenzitása $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS tartalmu oldatban még kisebb, mint a Th-é, de az arány a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő és $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál a MB maximuma már 5-ször nagyobb intenzitású, mint a Th-é. Nagy detergens koncentrációknál a MB $f_q(\lambda)$ értéke a Th-éhoz viszonyítva hirtelen lecsökken.

Az $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l festék koncentrációnál mért

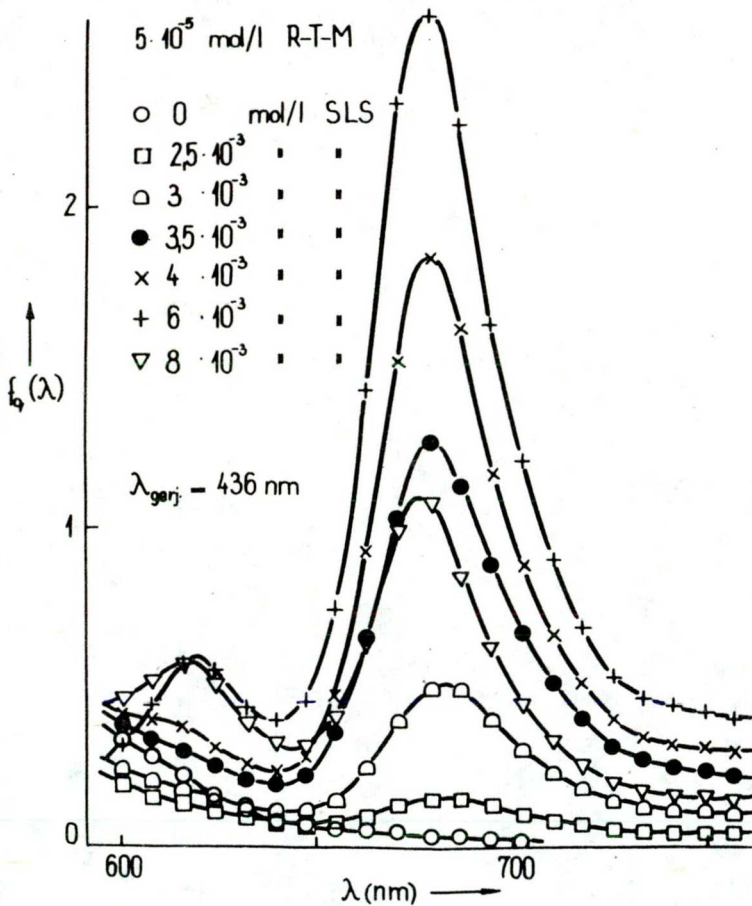
emissziós spektrumok a 17. ábrán láthatók. /A $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációhoz tartozó görbe léptéke 0,55-szorosa a többi görbe léptékének./



17. ábra

$2 \cdot 10^{-5}$ és $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l festék koncentrációknál a detergens bevitele szintén jobban növeli a MB maximumának intenzitását, mint a Th-ét. E festék koncentrációknál $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál a legintenzívebb a MB fluoreszcencia maximuma a Th-éhoz vi-

szonyítva, s az előzőkhöz hasonlóan a detergens koncentráció növelésével itt is csökken a MB és Th $f_q(\lambda)_{\max}$ -ainak aránya. A 18. ábrán az $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l festék koncentrációnál mért emissziós spektrumokat tüntettük fel. /Az ábrán a $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációhoz tartozó görbe léptéke 0,5-szerese a többi görbe léptékének./



18. ábra

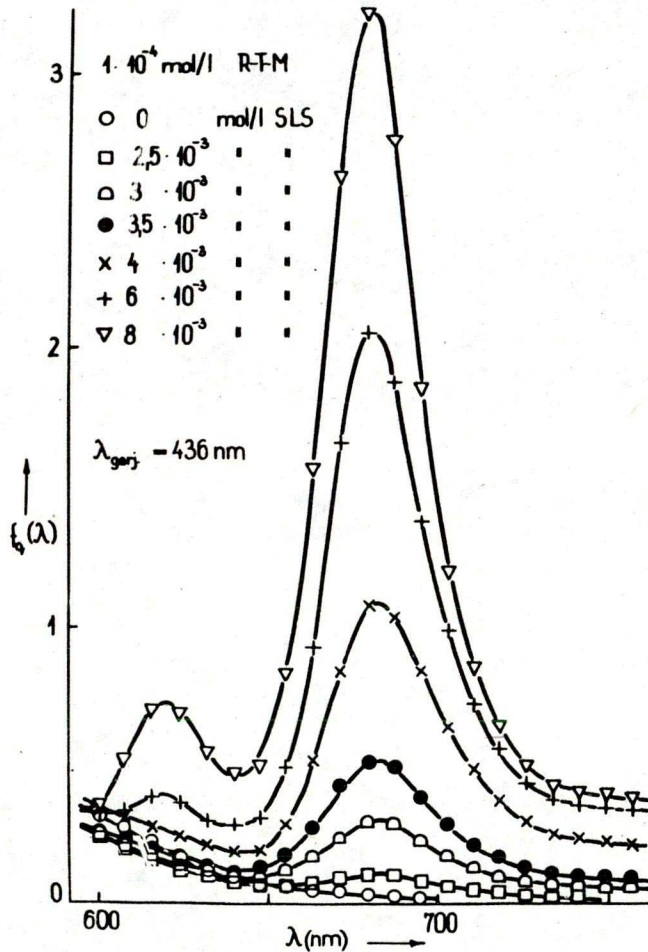
A legnagyobb, $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l festék koncentrációnál a MB fluoreszcencia maximumának intenzitása csak

a $3 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációtól kezdve nagyobb, mint a Th fluoreszcencia maximumának intenzitása, és $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál a legnagyobb a MB és Th $f_q(\lambda)$ maximumainak aránya.

Az $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l festék koncentrációnál mért fluoreszcencia spektrumokat a 19. ábrán tüntettük fel. /6 és $8 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációknál a görbék léptéke 0,7-szerese a többi görbe léptékének./

Az energiaátadás vizsgálata szempontjából nem elegendő a Th, ill. a MB fluoreszcencia maximumai változásainak követése, meg kell vizsgálnunk, hogyan alakul a Rh 6G emissziójának intenzitása a festék és detergens koncentráció függvényében. A IX. táblázatban foglaltuk össze a Rh 6G $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeit a különböző festék és detergens koncentrációknál. A detergens bevitelével a Rh 6G fluoreszcencia intenzitása minden festék koncentrációnál nagy mértékben /közel 50-ed részére/ lecsökken, a detergens koncentráció növelésével kis mértékben tovább csökken, majd hirtelen növekedést mutat. Ez a változás nem indokolható az abszorpció és együttható detergens bevitelének hatására létrejövő csökkenésével, ugyanis az I. táblázat adatai szerint a Rh 6G $k(\lambda)_{\max}$ -a kb. 20 %-kal csökken a detergens bevitelének hatására. A Rh 6G fluoreszcencia maximumának intenzitása a mérés-

si adatok szerint azon detergens koncentrációknál



19. ábra

mutat minimális értéket, ahol a tionin és a metilénkék fluoreszcenciája maximális, vagyis az optimális detergens koncentrációnál. /A 494 nm-es gerjesztés esetén a Rhodamin 6G fluoreszcencia intenzitása ugyanilyen változást mutatott./

IX. táblázat

A Rhodamin 6G $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei keverékoldatokban; $\lambda_g = 436 \text{ nm}$

$\frac{c_{\text{SLS}} \cdot 10^3}{(m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
2	1,65	1,72	2,49	2,18	1,74	3,79
2,5	0,89	1,14	1,41	1,36	1,05	2,03
3	0,55	0,65	0,91	0,95	0,68	1,16
3,5	0,84	0,45	0,70	0,80	0,61	0,87
4	2,94	0,53	0,55	0,51	0,88	0,99
6	45,20	29,20	22,40	6,97	0,66	1,70
8	51,60	45,70	44,10	35,10	6,24	2,59

Annak bizonyítására, hogy a Rhodamin 6G fluoreszcencia intenzitásának csökkenése és a metilénkék fluoreszcencia intenzitásának növekedése az energiaátadás következménye, és nem a rendszerbe bevitt, és egyre növekvő koncentrációban jelenlévő detergens által okozott változás, összehasonlítottuk a három festék egy komponensű oldataiban, ill. keverékoldataiban mért $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeit. Példaként a X. táblázatban az $5 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentrációju egy-, ill. három komponensű rendszerekben mért relatív $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeket foglaltuk össze, 100-nak véve a kioltatlan oldat emissziós maximumát. Más festék koncentrációk esetén is ugyanilyen változások tapasztalhatók. Az egy komponensű rendszerek fluoreszcencia intenzitásának értékei LEHOCZKI /76/ és RÓZSA /79/ méréseiből származnak.

Látható, hogy egy komponensű rendszerekben a Rhodamin 6G $f_q(\lambda)_{\max}$ értéke a detergens bevitelével jelentősen lecsökken a vizes oldatban mért értékekhez képest, de az SLS koncentráció növelésével fokozatosan nő, míg a vizes oldatban mért intenzitásának 90 %-át eléri. Három komponensű rendszerben a detergens bevitele és koncentrációjának növelése egyaránt csökkenti a Rhodamin 6G fluoreszcencia intenzitását, s csak $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentráció felett kezd növekedni a Rhodamin 6G $f_q(\lambda)_{\max}$

X. táblázat

A három vizsgált festék relatív $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei egy-,
ill. három komponensű oldatokban

c _{SLS} · 10 ³	Egy komponensű oldatok			Három komponensű oldatok		
	Rh 6G	Th	MB	Rh 6G	Th	MB
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	4,1	7,0	4,8	1,7	73,0	343,0
2,5	15,6	13,5	4,8	1,1	91,0	950,0
3	50,7	23,1	19,0	0,6	150,0	3283,0
3,5	86,7	39,0	76,2	0,4	325,0	10400,0
4	91,9	99,4	142,8	0,5	666,0	18266,0
6	90,4	159,6	200,0	29,2	163,0	527,0

értéke. Az $5 \cdot 10^{-6}$ mol/l festék koncentrációhoz tartozó $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l optimális detergens koncentrációnál a Rhodamin 6G $f_q(\lambda)_{\max}$ értéke egy komponensű oldatban a vizes oldat $f_q(\lambda)_{\max}$ -ának 91,9 %-a, míg három komponensű oldatban csak 0,53 %-a a vizes oldatban mért fluoreszcencia intenzitásnak. Ezek szerint három komponensű oldatban a Rhodamin 6G fluoreszcencia intenzitása az optimális detergens koncentrációju oldatban csaknem teljesen kioltódik.

A metilénkék egy-, ill. három komponensű rendszerekben mért $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei szembetűnő különbséget mutatnak. Egy komponensű rendszerben a detergens bevitele a vizes oldatban mért érték kb. 5 %-ára csökkenti a fluoreszcencia intenzitást, mely a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő. Három komponensű rendszerben a metilénkék fluoreszcencia intenzitása már a detergens bevitelének hatására is megnő a vizes oldatban mért értékhez viszonyítva, a detergens koncentráció növelésével fokozatosan nő az optimális detergens koncentrációig, majd e fölött, $6 \cdot 10^{-3}$ mol/l SLS koncentrációnál hirtelen lecsökken. A $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l optimális SLS koncentrációnál az egy komponensű oldat fluoreszcencia intenzitása közelítőleg 1,5-szerese a vizes oldaténak, míg három komponensű rendszerben a vizes oldatban mért $f_q(\lambda)$ ér-

ték 183-szorosa mérhető az optimális detergens koncentrációnál.

A tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ értéke mind az egy-, mind a három komponensű rendszerekben a detergens bevitelének hatására a vizes oldatban mért érték alá csökken, majd a detergens koncentráció növelésével fokozatosan a vizes oldatban mért érték fölé nő. Ez a növekedés három komponensű rendszerekben jóval nagyobb mértékű. Az optimális $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l detergens koncentrációnál a három komponensű oldatokban a tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ értéke közel 7-szerese a vizes oldatban mért értéknek, míg egy komponensű oldatokban a vizes oldattal közeli-tőleg azonos fluoreszcencia intenzitás mérhető ennél a detergens koncentrációnál.

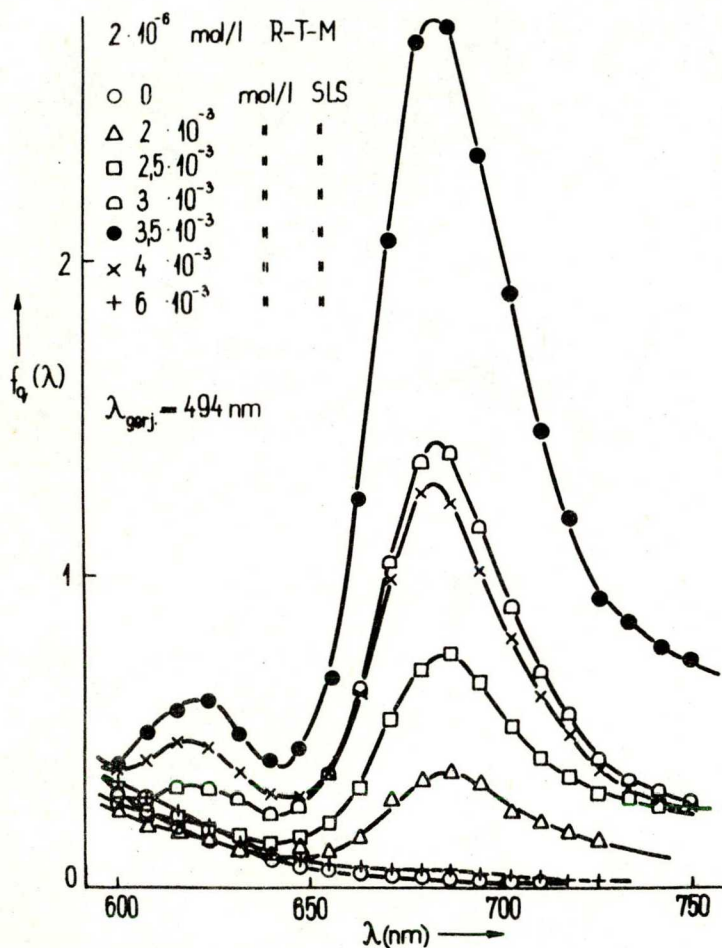
A három festék komponens fluoreszcencia intenzitásának keverékoldatokban tapasztalt változásai alapján megállapítható, hogy a Rhodamin 6G fluoreszcenciájának kioltása, és az ezzel párhuzamosan a metilénkék fluoreszcencia intenzitásában létrejövő nagy mértékű növekedés az energiaátadás következménye. Ez az energiaátadás már kis mennyiségű detergens bevitelének hatására is létrejön, azonban létrejöttének legnagyobb valószínűsége az optimális detergens koncentrációnál. A Rhodamin 6G gerjesztési energiája tehát sugárzás nélkül átadódik a metilénkének, miközben a tionin fluoreszcencia intenzitása is kis mértékben megnő.

b./ A 494 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén nyert fluoreszcencia szinképek

494 nm-nél a három festék abszorpcióképessége nem azonos, mint 436 nm-nél; a Rh 6G, Th és MB abszorpciós koeficienseinek aránya ennél a hullámhossznál 3:2:1. Ugyanakkor a Rh 6G $k(\lambda)$ értéke 494 nm-nél kb. 10-szerese a 436 nm-nél mért $k(\lambda)$ -nak.

A Rh 6G emissziós maximumánál normált /1-re szorzott/, különböző festék koncentrációknál mért fluoreszcencia szinképek a 20., 21., 22. és 23. ábrán láthatók. A $\lambda = 436$ nm-es gerjesztő hullámhossznál nyert fluoreszcencia spektrumokhoz hasonlóan a Th fluoreszcencia maximuma csak néhány detergens koncentrációnál határozható meg; ugyancsak nem mutat maximumot a MB fluoreszcenciája vizes oldatokban.

Egy adott festék koncentráció esetén vizsgálva a detergens koncentrációnak a fluoreszcencia spektrumokra gyakorolt hatását, megállapítható, hogy mind a Th, mind pedig a MB $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei a 436 nm-es gerjesztésnél tapasztalt változást mutatják. Nevezetesen azt, hogy a keverékoldatokban a detergens bevitelének hatására a Th fluoreszcencia intenzitása /620 nm-nél/ először csökken, majd



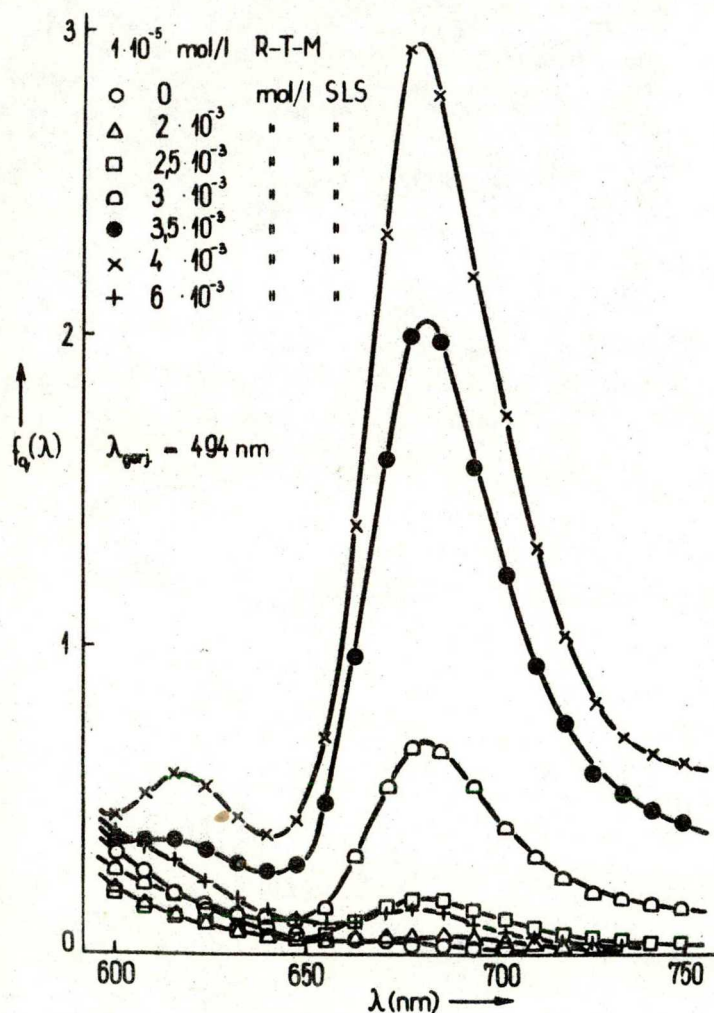
20. ábra

a detergens koncentráció növelésével maximumot ér el, s tovább növelve a detergens koncentrációt az $f_q(\lambda)$ újból csökken /ld. XI. táblázat/. A MB $f_q(\lambda)_{\text{max}}$ értékei már a detergens rendszerbe való bevitelének hatására is megnövekszenek, s a detergens koncentráció növelésével szintén maximumot mutatnak, majd a maximumhoz tartozó detergens koncentráció fölött a Th-hoz hasonló-

XI. táblázat

A tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei keverékoldatokban; $\lambda_g = 494 \text{ nm}$

$\frac{c}{c_{\text{SLS}} \cdot 10^3} \text{ (m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	97,0	64,7	64,5	68,8	72,2	72,9
2,5	123,5	75,3	66,9	95,4	76,1	76,2
3	194,1	98,3	100,0	132,9	92,2	86,2
3,5	352,9	229,4	218,6	191,3	142,2	114,4
4	285,3	350,0	343,0	237,0	167,2	151,9
6	130,6	132,4	177,3	228,3	355,6	215,5
8	126,5	129,4	139,5	164,7	223,9	359,1



21. ábra

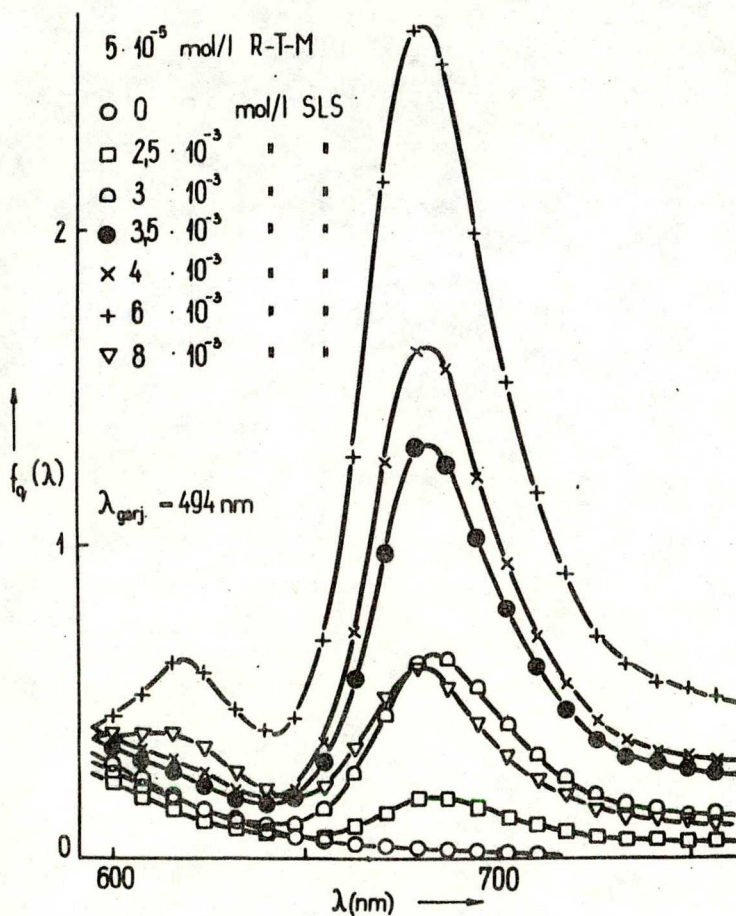
an lecsökkennek /ld. XII. táblázat/. A kétféle gerjesztő hullámhossz esetén - azonos festék koncentrációkat összehasonlítva - az optimális detergens koncentráció ugyanaz.

A két akceptor festékmolekula, a MB és a Th keverékkoldatokban különböző festék és detergens koncentrációknál mért $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeinek hánya-

XII. táblázat

A metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei keverékoldatokban; $\lambda_g = 494 \text{ nm}$

$c_{\text{SLS}} \cdot \frac{c}{10^3} \text{ (m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	100	100	100	100	100	100
2	1193	357	218	515	217	183
2,5	2419	1133	678	1820	673	522
3	4516	3500	2475	4705	2167	1583
3,5	8951	11238	7239	9075	4367	3652
4	4139	11843	10500	11150	5403	5265
6	193	419	539	2300	8810	8570
8	116	276	275	690	2010	12404



22. ábra

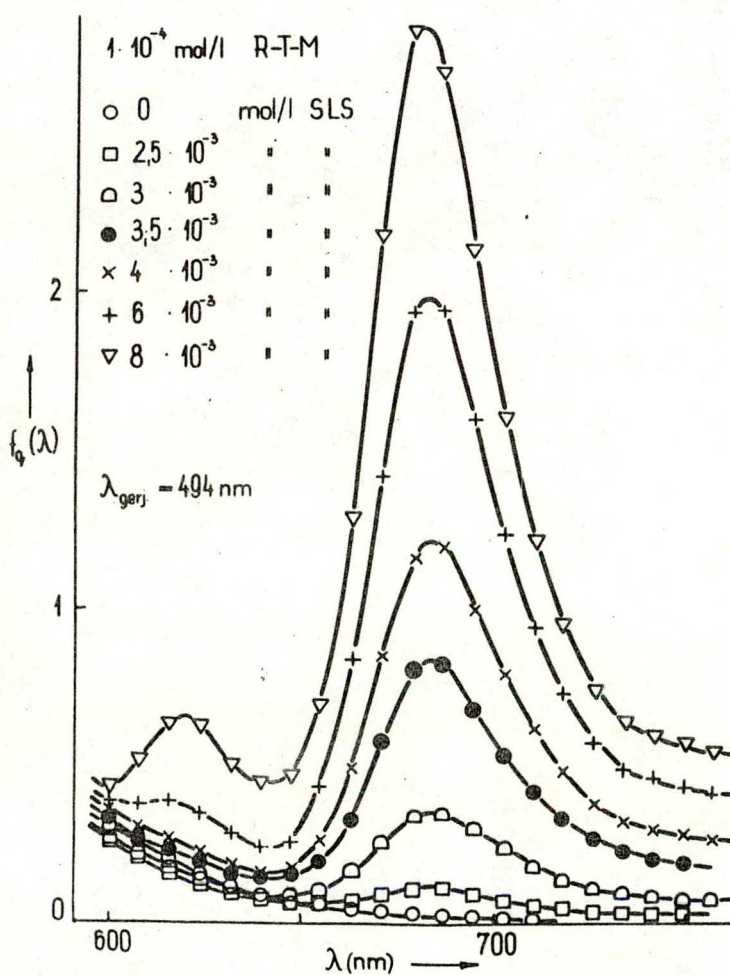
dosa /XIII. táblázat/ szintén ugyanazt a változást mutatja, mint a 436 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén. Adott festék koncentrációju oldatokban a detergens koncentráció növelésével a MB $f_q(\lambda)_{\max}$ -a a Th $f_q(\lambda)_{\max}$ -ához viszonyítva fokozatosan nő, majd hirtelen lecsökken. A hányados adott festék koncentráció esetén ugyanazon deter-

XIII. táblázat

A metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ -ának a tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ -ára vonatkoztatott relatív értékei; $\lambda_g = 494 \text{ nm}$

$\frac{c}{c_{\text{SLS}} \cdot 10^3} \text{ (m/l)}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	0,182	0,124	0,163	0,116	0,167	0,127
2	2,240	0,682	0,550	0,866	0,500	0,318
2,5	3,570	1,860	1,650	2,210	1,470	0,870
3	4,240	4,400	4,030	4,090	3,920	2,330
3,5	4,620	6,050	5,390	5,480	5,120	4,060
4	2,650	4,180	4,980	5,440	5,390	4,400
6	0,270	0,391	0,495	1,165	4,130	5,050
8	0,167	0,264	0,321	0,484	1,500	4,390

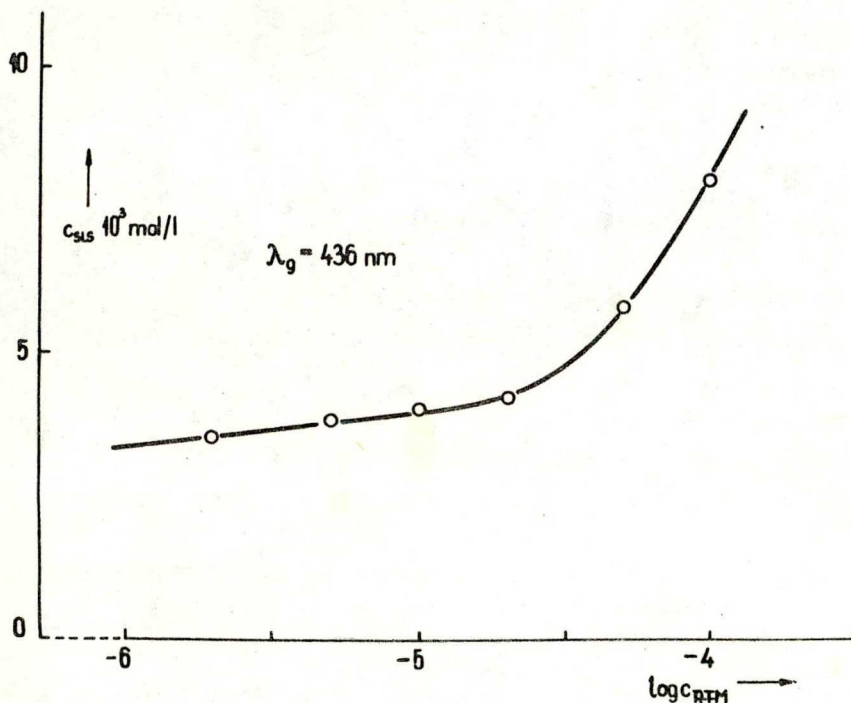
gens koncentrációknál éri el legnagyobb értékét, mint a 436 nm-es gerjesztés esetén, vagyis az optimális detergens koncentráció a festék koncentráció növelésével ugyanugy növekszik, mint $\lambda_g = 436$ nm esetén.



23. ábra

A 24. ábrán a festék koncentráció logaritmusának függvényében ábrázoltuk az optimális detergens koncentrációt, vagyis azt a detergens koncentrációt, amelynél a keverékoldat két akceptorának

fluoreszcencia intenzitása, valamint a metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeinek a tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeire vonatkoztatott hányadosa maximumot ér el. Az áb-



24. ábra

ra tanúsága szerint növekvő festék koncentrációval nő az optimális detergens koncentráció, bizonyítva azt, hogy az energiaátadás hatékonysága szempontjából jelentős szerepet játszik az egy-egy micellára jutó festékmolekulák száma, azaz a festékmolekulák egymástól való távolsága.

c./ A gerjesztő hullámhossz hatása a fluoreszcencia
spektrumokra

A két akceptor /tionin és metilénkék/ fluoreszcencia maximumai értékének változása adott festék koncentráció esetén a detergens koncentráció függvényében mindkét gerjesztő hullámhossznál ugyanolyan menetet mutatott. Az egyes festékek $f_q(\lambda)_{\max}$ -a, valamint a metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ -ának a tionin $f_q(\lambda)_{\max}$ -ra vonatkoztatott relatív értéke ugyanazon detergens koncentrációnál érte el maximális értékét adott festék koncentráció esetén, mindkét hullámhosszuságu gerjesztésnél. A Rhodamin 6G fluoreszcencia maximumának változása is független volt a gerjesztő hullámhossztól.

Meglepő eredményt ad azonban a metilénkék két gerjesztő hullámhossznál felvett $f_q(\lambda)_{\max}$ értékeinek összehasonlítása. Ezen értékeket a XIV. táblázatban foglaltuk össze. /A felső számok a 436 nm-es, az alsó számok a 494 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén mért értékeket jelentik./ A táblázat adatai szerint a két gerjesztő hullámhossz esetén a metilénkék fluoreszcencia maximumainak értéke adott festék koncentráció esetén a detergens koncentráció függvényében alig mutat eltérést mindaddig amíg a detergens koncentráció el nem éri az optimális detergens koncentrációt. Ettől kezdve a detergens koncentráció növe-

XIV. táblázat

A metilénkék $f_q(\lambda)_{\max}$ értékei 436, ill. 494 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén

$\frac{c}{c_{SLS} \cdot 10^3}$ (m/l)	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
0	$\frac{0,025}{0,031}$	$\frac{0,030}{0,021}$	$\frac{0,041}{0,028}$	$\frac{0,030}{0,020}$	$\frac{0,032}{0,030}$	$\frac{0,025}{0,023}$
2	$\frac{0,237}{0,370}$	$\frac{0,103}{0,075}$	$\frac{0,065}{0,061}$	$\frac{0,100}{0,103}$	$\frac{0,056}{0,065}$	$\frac{0,036}{0,042}$
2,5	$\frac{0,775}{0,750}$	$\frac{0,285}{0,238}$	$\frac{0,300}{0,190}$	$\frac{0,320}{0,364}$	$\frac{0,155}{0,202}$	$\frac{0,114}{0,120}$
3	$\frac{2,335}{1,400}$	$\frac{0,985}{0,735}$	$\frac{0,900}{0,693}$	$\frac{0,800}{0,941}$	$\frac{0,507}{0,650}$	$\frac{0,303}{0,364}$
3,5	$\frac{3,700}{2,775}$	$\frac{3,120}{2,360}$	$\frac{2,464}{2,027}$	$\frac{1,880}{1,815}$	$\frac{1,267}{1,310}$	$\frac{0,513}{0,840}$
4	$\frac{1,472}{1,283}$	$\frac{5,480}{2,487}$	$\frac{5,360}{2,940}$	$\frac{3,900}{2,230}$	$\frac{1,840}{1,621}$	$\frac{1,090}{1,211}$
6	$\frac{0,100}{0,060}$	$\frac{0,158}{0,088}$	$\frac{0,310}{0,151}$	$\frac{0,910}{0,460}$	$\frac{5,200}{2,643}$	$\frac{2,940}{1,971}$
8	$\frac{0,025}{0,036}$	$\frac{0,089}{0,058}$	$\frac{0,148}{0,077}$	$\frac{0,223}{0,138}$	$\frac{1,080}{0,603}$	$\frac{4,585}{2,853}$

lésével lényeges eltérések mutatkoznak; minden esetben a 436 nm-es gerjesztő hullámhossznál mért $f_q(\lambda)_{\max}$ értékek a nagyobbak. Ez az eredmény annál inkább meglepő, mivel a donor, a Rhodamin 6G abszorpció képessége 436 nm-nél kb. tizedrésze a 494 nm-nél mért $k(\lambda)$ értéknek, ugyanakkor fluoreszcencia maximumának intenzitása mindkét gerjesztő hullámhossz esetén azonos.

A jelenség azzal magyarázható, hogy a nagyobb energiát képviselő 436 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén a Rhodamin 6G magasabb energiaszintre gerjesztődik, mint a 494 nm-es gerjesztő hullámhossz esetén, s erről az energiaszintről nagyobb valószínűséggel adódik át a gerjesztési energia a tioninnak, ill. a metilénkének az energiaátadás során létrejövő kedvezőbb /nagyobb/ energiakülönbség miatt.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A három lumineszkáló festéket tartalmazó detergens oldatok vizsgálata során nyert eredményeink a következőkben foglalhatók össze:

a./ A három komponensű oldatok abszorpciós tulajdonságait jelentős mértékben befolyásolja mind a detergens, mind pedig a festékek koncentrációjának változása. A rendszer összetettsége miatt elsősorban az egyes festék monomerekre jellemző fő abszorpciós sávok változásaira vonunk le következtetéseket, míg a mellékmaximumok /detergens, ill. festék koncentráció változásának hatására létrejövő/ változását a három festék abszorpciós szinképének jelentős mértékű átfedése miatt nem lehetett egyértelműen figyelemmel kísélni. Összehasonlítva az egyes festékek egy komponensű vizes oldatainak abszorpciós spektrumaiból számított additív spektrumot a három komponensű vizes keverékoldat abszorpciós szinképével, megállapíthatjuk, hogy a vizsgált három komponensű rendszerekben még vizes oldatok esetén sem érvényes az abszorpciós együtthatók additivitása, amely részben a festékek egymás közötti kölcsönhatására, részben a detergens

és az egyes festékek között kialakuló, esetleg több festék és a detergens által alkotott komplex vegyületek létrejöttére utal, amelyek jól definiálható maximummal rendelkeznek a rendszerek abszorpciós spektrumában.

b./ A vizsgált keverékoldatok emissziós spektrumi sokkal nagyobb mértékben változtak a festék és detergens koncentrációjának változása hatására, mint az abszorpciós spektrumok. Megfigyeltük a szenzibilizált fluoreszcencia jelenségét, s az emissziós spektrumok változásai alapján megállapítottuk, hogy az energiaátadás gyakoriságának maximális értéke minden vizsgált festék koncentráció esetén a cmc feletti detergens koncentráció tartományba esik, de a maximális gyakoriságú energiaátadást biztosító detergens koncentráció, az ún. optimális detergens koncentráció a festék koncentráció növelésével nő. E megfigyelés azt bizonyítja, hogy a rezonanciás energiaátadás hatékonysága függ a rendszer strukturájának rendezettségi fokától, valamint az egy micellára jutó festékmolekulák számától, azaz a festékmolekulák egymástól való távolságától.

c./ Az energiaátadás gyakoriságának a gerjesztő hullámhossztól való függését vizsgálva megállapítottuk,

hogy a nagyobb energiájú gerjesztő fény hatására az energiaátadás gyakorisága nagyobb, melyet a kedvezőbb energetikai viszonyokkal lehet magyarázni.

Irodalomjegyzék

- /1/ Emerson, R., W. Arnold: J. Gen. Physiol., 16, 191
/1932/.
- /2/ Gaffron, H., K. Wohl: Naturwissensch., 24, 81 /1936/.
- /3/ Kok, B., W. Gott: Plant Physiol., 35, 802 /1960/.
- /4/ Clayton, R.K.: Photochem. Photobiol., 1, 201 /1962/.
- /5/ Emerson, R., C.M. Lewies: Amer. J. Botany, 30, 165
/1943/.
- /6/ Emerson, R.: Ann. Rev. Plant Physiol., 9, 1 /1958/.
- /7/ French, C.S., D.C. Fork: Tr. V. Mezsdunar. Biochim.
Kongr. Szimpoz. VI. Izd. AN SzSzSzR, Moszkva
/1962/.
- /8/ Myers, J., C.S. French: Plant Physiol., 35, 963 /1960/.
- /9/ Anderson, J.M., N.K. Boardman: Biochim. et Biophys.
Acta, 111, 403 /1966/.
- /10/ Boardman, N.K., J.M. Anderson: Nature, 203, 166
/1964/.
- /11/ Boardman, N.K.: Austr. J. Sci, 2, 36 /1969/.
- /12/ Csibiszov, A.K., A.V. Karjakin: Biofizika, 11, 991
/1966/.
- /13/ Cario, G., J. Franck: Z. Phys., 17, 202 /1923/.
- /14/ Terenin, A.N., A.V. Karjakin: Izveszt. Akad. Nauk
SzSzSzR, ser. Fiz., 15, 550 /1951/.
- /15/ Förster, Th.: Z. Elektrochem, 53, 93 /1949/.
- /16/ Förster, Th.: Z. Naturforsch., 4a, 321 /1949/.
- /17/ Galanin, M.D., V.L. Ljovsin: J. Exp. Th. Fiz., 21,
121 /1951/.

- /18/ Watson, A.F., R. Livingston: J. Chem. Physics,
18, 802 /1950/.
- /19/ Bowen, E.J., B. Brocklehurst: Trans. Faraday Soc.,
49, 1131 /1953/.
- /20/ Bowen, E.J., R. Livingston: J. Amer. Chem. Soc.,
76, 6300 /1954/.
- /21/ Bowen, E.J., B. Brocklehurst: Trans. Faraday Soc.,
51, 774 /1955/.
- /22/ Perrin, J.: 2 me conseil de chimie Solvay /Gauthier
and Villar, Paris, 1925/, p. 322.
- /23/ Perrin, J.: C.R. hebd. Séances Acad. Sci., 184,
1097 /1927/.
- /24/ Perrin, F.: Ann. Chim. Physique, 17, 283 /1932/.
- /25/ Förster, Th.: Fluoreszenz Organischer Verbindungen
/Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen, 1951/
p. 85.
- /26/ Förster, Th.: Ann. J. Physic., 2, 55 /1948/.
- /27/ Terenin, A.N., V.L. Ermolaev: Trans. Faraday Soc.,
52, 1042 /1956/.
- /28/ Galanin, J.: Exp. Th. Fiz., 28, 485 /1955/.
- /29/ Gaviola, E., P. Pringsheim: Z. Phys., 24, 24 /1924/.
- /30/ Lamola, A.A., N.J. Turro: Energy Transfer and
Organic Photochemistry /Interscience
Publishers, New York, London, Sidney, Toron-
to, 1969/.
- /31/ Tweet, A.G., W.D. Bellamy, G.L. Gaines, Jr.: J. Chem.
Phys., 41, 2068 /1964/.

- /32/ Cellarius, R.A.: Photochem. and Photobiol., 6,
91 /1967/.
- /33/ Duysens, L.N.M.: Doctoral thesis, Univ. Utrecht;
Utrecht, Netherlands p. 96 /1952/.
- /34/ Duysens, L.N.M.: Progr. Biophys. Mol. Biol. 14,
1-104 /1964/.
- /35/ Weber, G.: Comparativ Biochemistry of Photoreac-
tive Systems; 395-411 /Allen, M.B., Ed.,
Academic Press, N.Y.-London 437 pp 1960/.
- /36/ Pearlstein, R.M.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 52,
824 /1964/.
- /37/ Knox, R.S.: Physica, 39, 361 /1968/.
- /38/ Rabinowitch, E.: Tr. V. Mezsdunar, Biochim. Kongr.
Szimpoz VI. 21.o.; Izd. AN SzSzSzR,
Moszkva /1962/.
- /39/ Pearlstein, R.M.: in Energy Conversion by the
Photosynthetic Apparatus; Brookhaven
Symp. Biol. 19, 8 /1967/.
- /40/ Bay, Z., R.M. Pearlstein: Proc. Natl. Acad. Sci.
US., 50 1071 /1963/.
- /41/ Hoch, G., R.S. Knox: in Photophysiology 3, 225-51
Giese, A.C., Ed., Academic Press,
N.Y. /1968/.
- /42/ Robinson, G.W.: Ann. Rev. Phys. Chem., 15, 311
/1964/.
- /43/ Robinson, G.W.: in Energy Conversion by the Photo-
synthetic Apparatus; Brookhaven Symp.
Biol. 19, 16 /1967/.

- /44/ Olson, J.M., R.K. Clayton: Photochem. Photobiol.
5, 655 /1966/.
- /45/ Clayton, R.K., W.R. Sistrom: Photochem. Photobiol.
4, 661 /1966/.
- /46/ Ketskeméty, I.: Z. Naturforsch., 17a, 666 /1962/.
- /47/ Das, M., E. Rabinowitch, L. Szalay, G. Papageorgiou:
J. Phys. Chem., 71, 3543 /1967/.
- /48/ Duysens, L.N.M.: Biochim. et Biophys. Acta, 19, 1
/1956/.
- /49/ Rabinowitch, E., L. Szalay, M. Das, N.R. Murty,
C.N. Cederstrand, Govindjee: Brookhaven
Symp. Biol. 19, 1 /1967/.
- /50/ Gurinovics, G.P., A.N. Szevcsenko, K.N. Szolovjev:
Szpektroszkopija hlorofilla i rodosztvennüh
szoegyinenij /Izd. Nauka i Tehnika, Minszk,
1968/.
- /51/ Hartley, G.S.: "Aqueous Solutions of Paraffin Chain
Salts", Hermann, Paris /1936/.
- /52/ Hartley, G.S.: Kolloid Z. 88, 22 /1939/.
- /53/ Mysels, K.J., L.H. Princen: J. Phys. Chem. 63,
1696 /1959/.
- /54/ Mc. Bain, J.W.: "Colloid Science", Heath, Boston
/1950/.
- /55/ Mc. Bain, J.W.: Solubilization and other factors
in detergent action. In "Advances in
Colloid Science" /E.O. Kraemer, ed./ 1,
124 /1942/ Interscience, New York.

- /56/ Hess, K., W. Philippoff, H. Keiss: Kolloid Z.,
88, 40 /1939/.
- /57/ Gallot, B., A.E. Skoulios: Kolloid Z. Z. Polymere,
208, 37 /1966/.
- /58/ Winsor, P.A.: Chem. Rev., 68, 1 /1968/.
- /59/ Cellarius, R.A., D. Manzerall: Biochim. et
Biophys. Acta, 112, 235 /1966/.
- /60/ Corrin, M.L., H.B. Klevens, W.D. Harkins: J. Chem.
Phys., 14, 480 /1946/.
- /61/ Mukarjee, P., K.J. Mysels: J. Am. Chem. Soc., 77,
2937 /1955/.
- /62/ Klevens, H.B.: J. Chem. Phys., 51, 1143 /1947/
- /63/ Harkins, W.D., R.W. Mattoon, M.L. Corrin: J. Am.
Chem. Soc., 68, 220 /1946/.
- /64/ Stigler, D.: J. Phys. Chem., 68, 3603 /1964/.
- /65/ Frey-Wyssling, A., K. Mühlethaler: "Ultrastructural
Plant Cytology" Elsevier Publ. Comp. Amster-
dam - London - New York /1965/.
- /66/ Corrin, M.L., W.D. Harkins: J. Chem. Phys. 14,
641 /1946/.
- /67/ Singhal, G.S., E. Rabinowitch, J. Hevesi, V.
Srinivasan: Photochem. Photobiol., 11,
531 /1970/.
- /68/ Hevesi, J., E. Lehoczki, E. Bálint: Zs. Prikl.
Spektr., 13, 458 /1970/.
- /69/ Hevesi, J., E. Bálint, E. Lehoczki: Acta Phys.
Polonica, A38, 185 /1970/.

- /70/ Bálint, E., E. Lehoczki, J. Hevesi: Acta Phys. et Chem. Szeged, 17, 15 /1971/.
- /71/ Lehoczki, E., E. Bálint, J. Hevesi: Zs. Prikl. Spektr., 16, 97 /1972/.
- /72/ Mátrai, T.: Gyakorlati spektroszkópia /Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1963/.
- /73/ Ketskeméty, I.: "Az oldatok fluoreszcenciájának fizikai alapjai különös tekintettel a fluoreszcencia jellemzők meghatározására és az ezek közötti kapcsolatokra" Doktori értekezés, Szeged, 1963.
- /74/ Ketskeméty, I., J. Dombi, R. Horvai, J. Hevesi, L. Kozma: Acta Phys. et Chem. Szeged, 7, 17 /1961/.
- /75/ Budó, Á., I. Ketskeméty: Acta Phys. Hung., 7, 207 /1957/.
- /76/ Lehoczki, E.: Doktori disszertáció, Szeged, 1971.
- /77/ Hevesi, J., Zs. Rózsa: Acta Phys. et Chem. Szeged, 17, 17 /1971/.
- /78/ Terenin, A.N.: "Fotonika molekul kraszityelej", Izd. Nauka Leningrád /1967/.
- /79/ Rózsa, Zs.: Doktori disszertáció, Szeged /1973/.
- /80/ Ketskeméty, I., A.N. Sibisztij: Zs. Prikl. Spektr., 18, 843 /1973/.
- /81/ Bojarski, C.: Journal of Luminescence, 5, 413 /1972/.

Köszönettel tartozom Dr. Szalay László és Dr. Ketskeméty István tanszékvezető professzoroknak, hogy lehetőséget adtak ezen dolgozat elkészítéséhez szükséges mérések intézetükben való elvégzésére.

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Hevesi János docensnek a vizsgálatok és az eredmények kiértékelése során nyújtott sokoldalú segítségéért.

Köszönettel tartozom a technikai, illetve adminisztrációs munkatársaknak az értekezés formai kivitelezése alkalmával végzett gondos és lelkiismeretes munkájukért, különösen Barnáné, Földi Margit laboránsnak a méréseknél kifejtett hasznos közreműködéséért, valamint a számítások pontos elvégzéséért.

TARTALOMJEGYZÉK

Bevezetés

1. A fotoszintézis fotofizikai folyamatainak rövid összefoglalása	
a./ A fény abszorbeálása - a pigmentek szerepe az abszorpcióban	2
b./ A fotoszintetikus egység	4
c./ A fotoszintézis két pigment rendszere	4
d./ A gerjesztési energia vándorlása a fotoszintetizáló rendszerekben	6
2. A sugárzás nélküli energiaátadás	
a./ Az elektron gerjesztési energia átadására vonatkozó első megfigyelések	11
b./ Az induktív rezonanciás energiaátadás Förster-féle elmélete	14
c./ A Förster-féle elmélet alkalmazhatóságának feltételei	19
d./ A Förster-elmélet alkalmazása fotoszintetizáló rendszerekre	20
e./ Ketskemény-elmélete a dipólus-dipólus kölcsönhatás révén létrejövő energiaátadás gyakoriságáról	22

3. A fotoszintézis fizikai folyamatainak modellezése	
a./ A modell-rendszerekkel végzett vizsgálatok célja	26
b./ Ismertebb modell-rendszerek összetétele	27
c./ Detergens oldatok	29
4. A vizsgált rendszerek	
a./ A festékek és a detergens tulajdonságai	37
b./ Az oldatok előállítása	39
5. Kísérleti módszerek	
a./ Az abszorpciós szinképek meghatározása	41
b./ A lumineszcencia spektrumok meghatározása	42
6. Detergens oldatok optikai tulajdonságai	
A. Egy lumineszkáló festéket tartalmazó /egy komponensű/ detergens oldatok optikai tulajdonságai	46
B. Két lumineszkáló festéket tartalmazó /két komponensű/ detergens oldatok optikai tulajdonságai	51

C. Többkomponensű oldatok optikai tulajdonságai	55
7. Kísérleti eredmények és értékelésük	
A. A többkomponensű festék-detergens rendszerek abszorpciós tulajdonságai	56
B. A többkomponensű festék-detergens rendszerek fluoreszcencia tulajdonságai	77
8. Összefoglalás	109
Felhasznált irodalom	112

