BIMOLEKULÁRIS LIPID MEMBRÁNOK ELLENÁLLÁSA pH-FÜGGÉSÉNEK KISÉRLETI ÉS ELMÉLETI VIZSGÁLATA

egyetemi doktori dolgozat

B é r c z i A l a j o s
tudományos segédmunkatárs

MTA SZEGEDI BIOLÓGIAI KÖZPONTJA, BIOFIZIKAI INTÉZET

1977

B 1450

József Attila Tudományegyetem Központi Könyvtára
SZEGED

Feleségemnek,
aki a munkában mellettem állt, és

Noémi kislányomnak,
aki a fáradt percekben felviditott,

ajánlom.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ..... 1. old.

1.1. A pH jelentősége a biológiai folyamatokban ..... 3. old.

1.2. A pH hatása az elektrolit/lipid határfelületnél . 6. old.

2. KORÁBBI VIZSGÁLATOK BLM-EK VEZETŐKÉPESSÉGÉNEK pH-FÜGGÉSÉRE VONATKOZÓAN ..... 11. old.

3. ÖSSZESITÉS ÉS CÉLKITÜZÉS ..... 19. old.

4. KISÉRLETI RÉSZ ..... 21. old.

4.1. Anyagok ..... 21. old.

4.1.1. A membránképző oldat ..... 21. old.

4.1.2. A pufferrendszerek ..... 23. old.

4.2. A kisérleti eszközök és a mérés menete ..... 25. old.

5. EREDMÉNYEK ..... 28. old.

5.1. A feszültség-áramerősség karakterisztikák ..... 28. old.

5.2. A BLM-ellenállás áramerősség /feszültség/- és pH-függése ..... 3o. old.

5.3. Pufferkapacitás és ionerősség ..... 37. old.

5.4. Görbeillesztés és kiértékelés ..... 43. old.

6. DISZKUSSZIÓ ..... 45. old.

6.1. A BLM-en keresztüli töltéstranszport problémái . 45. old.

6.2. A töltéstranszport elemi lépései ..... 47. old.

6.2.1. Iontranszport a klasszikus fizika törvényei alapján ..... 47. old.

6.2.2. Transzport-lehetőségek a kvantummechanika törvényei alapján ..... 5o. old.

6.2.3. Kiegészitő megjegyzések ..... 51. old.

6.3. A BLM-ellenállás pH-függését leiró empirikus egyenlet ..... 53. old.

6.4. Mérési eredményeink a transzport mechanizmusok tükrében ..... 55. old.

6.4.1. Ionikus töltéstranszport modellek ..... 55. old.

6.4.1.1. A Debye-Hückel-Onsager elmélet alkalmazása ..... 56. old.

6.4.1.2. Az elektrodiffúziós elmélet alkalmazása ..... 59. old.

6.4.1.3. A Na^+ transzportjának lehetősége ..... 66. old.

6.4.2. Elektronikus töltéstranszport modellek; a BLM sajátvezetése ..... 66. old.

6.4.2.1. Elektronikus vezetés ..... 69. old.

6.4.2.2. Ionikus és elektronikus vezetés együtt ..... 73. old.

6.4.2.3. A pH-nak a BLM szerkezetét módositó hatása; "kooperetiv" modell ..... 76. old.

7. ÖSSZEFOGLALÁS ..... 81. old.

8. FÜGGELÉK ..... 84. old.

A/ A BLM-ben lévő ionok potenciális energiája ..... 84. old.

B/ Az elektrodiffúzió alapegyenlete a BLM-re alkalmazva ..... 89. old.

C/ Töltésinjekció a BLM-be ..... 91. old.

D/ A BLM ellenállása felületi töltések esetén ..... 93. old.

E/ Konstans-tér közelités ..... 96. old.

F/ Az empirikus egyenlet matematikai analizise ..... 99. old.

G/ A (20) egyenlet matematikai analizise ..... 1oo. old.

KÖSZÖNETNYILVÁNITÁS ..... 1o3. old.

IRODALOM ..... 1o4. old.

1. BEVEZETÉS

A biológiai membránokon keresztüli anyag- és iontranszport folyamatok vizsgálatai a biológiai kutatások tekintélyes részét alkotják. Az 196o-as évek elejéig a kutatók csak biomembránokon tanulmányozhatták ezeket a kérdéseket. Az elmúlt évtizedekben azonban a modellmembránokon végzett kutatások a biofizika egyik legdinamikusabban fejlődő területét hozták létre. Az utóbbi években egyre gyakrabban találkozunk az irodalomban bimolekuláris lipid membránokon /BLM-eken/, mint a biológiai membránok /sejthártya, tonoplaszt, stb./ egy lehetséges modelljén /61/ végzett fizikai, fizikai-kémiai vizsgálatokkal. BLM olyan molekulákból készithető, melyeknek egyik része hidrofil /vizoldékony/ jellegü, a másik része pedig hidrofób /vizben nem oldódó/ tulajdonságú. Ilyen molekulákból kettő molekula vastagságú /bimolekuláris/ réteg képződik két vizes fázis között úgy, hogy a molekulák hidrofil csoportja /esetleg csoportjai/ a két vizes fázis felé néznek és ezek között helyezkednek el a molekulák hidrofób tulajdonságú részei. A lipidek pontosan ilyen tipusú anyagok; belőlük 5o - 1oo Å vastagságú bimolekuláris réteg készithető, igy alkalmasak a hasonló vastagsággal rendelkező biomembránok modellezésére /45, 61/. A fentiekben leirt struktúrát a hozzá kötődött vizzel és a lipid molekulák között elhelyezkedő oldószer zárványokkal együtt nevezzük bimolekuláris lipid membránoknak, vagy röviden BLM-nek.

Elsősorban struktúrális viszonyok, valamint a kémiai összetétel alapján volt várható, hogy a BLM-ek alkalmasak lehetnek a biológiai membránok viselkedésének modellezésére. A későbbi vizsgálatok azonban azt is megmutatták, hogy a BLM-ek legfontosabb mechanikai, termodinamikai, optikai és elektromos paraméterei közel állhatnak a biomembránok megfelelő adataihoz /3o, 6o/. Ez az alapja annak a törekvésnek, hogy a BLM-eken végzett és végzendő fizikai és kémiai kisérletek során nyert törvényszerüségek révén közelebb jussunk a biomembránokon lejátszódó folyamatok jobb megértéséhez, a helyes ok-okozati kapcsolatok feltárásához.

Mind "in vivo" mind "in vitro" rendszereken végzett biofizikai, biokémiai, fizikai-kémiai mérések során gyakran találkozunk azzal a követelménnyel, hogy méréseinket vagy egy rögzitett pH-értéken, vagy éppen pH-függésben kell elvégeznünk. Ilyen esetekben - legtöbbször - pufferoldatokat alkalmazunk a kisérleteinkhez. A pufferoldat kiválasztásánál mindig döntő szempont az, hogy a pufferoldat komponensei ne okozzanak zavaró mellékhatásokat. Természetesen figyelemmel kell lennünk az oldatunk kémiai paramétereire /ionerősség, pufferkapacitás/ is. A BLM-ek transzportjelenségeinek pH-függésben történő vizsgálatánál további fontos szempont az, hogy a pufferoldat alkalmazása ne nyomja el a vizsgálni kivánt folyamatot.

A továbbiakban a biológiából kiragadott négy példán keresztül megpróbáljuk megvilágitani a pH-nak a biológiai rendsze-

rekben meglévő fontos szerepét és részletesen taglaljuk az elektrolit/lipid határfelületek pH-függő viselkedését. Egy rövid irodalmi áttekintés és a célkitüzés után leirjuk a kisérleti elrendezésünket, a méréseinknél használt müszereket és módszereket, majd a vizsgálataink során kapott kisérleti eredményeket. A diszkusszióban részletesen elemezzük a BLM-en keresztüli töltéstranszport problémáit és megadunk néhány új értelmezési lehetőséget a kapott eredmények magyarázatára. Az összefoglalást egy hosszabb függelék követi, melyben az elektrodiffúziós elmélet fontos végösszefüggéseit és azok rövid levezetését, valamint a dolgozatban előkerülő fontosabb, új egyenletek matematikai analizisét adjuk meg.

1.1. A pH jelentősége a biológiai folyamatokban

Az élő szervezetek 7o-9o %-a viz, igy nyugodtan mondhatjuk, hogy valamennyi biológiai folyamat kapcsolatban áll a vizzel, vagy annak disszociációs termékeivel. A kapcsolat három szinten is jelentkezik. A viz, mint oldószer, a tápanyagok szállitó közege; igy valamennyi sejttel, szervvel közvetlen kapcsolatban áll. Másrészt a viz szerkezeti elemként is szerepelhet; gondoljunk csak a viznek a fehérjék struktúrája kialakitásában és az ionok hidratációjában játszott szerepére. Végül, de nem utoljára, a viz maga is közvetlen résztvevője lehet az élő szervezetekben lejátszódó kémiai folyamatoknak /pl. fotoszintézis/.

Ezeken túlmenően a viz disszociációs termékei, a H^+ és az OH^--ok, igen fontos szerepet játszanak a vizes oldatokban lezajló szinte valamennyi fizikai-kémiai folyamatban. Ezen két ion különleges fizikai-kémiai tulajdonságaira már régen felfigyeltek; velük kapcsolatban még több probléma megoldatlan /pl. az elektrolitokban mérhető rendkivül magas ionmozgékonyságuk eredete /13, 14/ /. A biológiai jelenségek intenziv tanulmányozása során derült ki, hogy az élő szervezetekben lejátszódó folyamatok igen érzékenyek a környezet H^+ koncentrációjára, azaz a pH-ra /23, 26, 33/. Négy, önkényesen kiválasztott példán keresztül szeretnénk bemutatni a pH jelentőségét az élővilágban.

1. Különböző növények különböző "savanyúságú" talajban tudnak a legjobban fejlődni /26/. A gyökerek K^+ felvétele részben K^+/H^+ ioncsere formájában zajlik le; azaz a gyökérsejtek megsavanyitják a környezetüket. A savanyúbb talaj azonban növekedésre serkenti a növény gyökerét mindaddig, mig az magasabb pH-jú talajréteghez nem ér. Ekkor a növekedés lelassul, a tápanyagok felvétele pedig felgyorsul. Még pontosan nem tudjuk, hogy ezen folyamatok hogyan mennek végbe; jelenleg az egyes részfolyamatok leirásánál tartunk /11, 56/.

2. Jól mutatják a béka vázizomzatán vegzett ionpermeabilitási kisérletek azt, hogy a pH hatása mennyire különbözőképpen tükröződik az egyes ionok permeabilitási viszonyaiban /74/. A kisérletek során megvizsgált 17 anion a permeabilitásuk pH-függése szempontjából két teljesen ellentétesen viselkedő cso-

portba volt osztható. Az egyik csoportba tartozó anionok permeabilitása a pH csökkenésével mérséklődik, mig a másik csoportba tartozó anionok esetében nő. A szerzők ebből arra a következtetésre jutnak, hogy a két csoport tagjai nem azonos mechanizmus szerint transzportálódnak és a pH szabályozó szerepet tölthet be az aniontranszportban.

3. Ismeretes, hogy a kloroplaszt, a mitokondrium és egyes baktériummembrán rendszerek energiaátalakitóként működnek; eddig még pontosan nem tisztázott úton ATP-t szintetizálnak. A kisérleti adatok magyarázatára született elképzelések három nagy csoportban foglalhatók össze /56/:

- a kémiai intermedier hipotézis /195o-es évek/,
- a kemiozmotikus hipotézis /196o-as évek/,
- az elektro-mechanikai-kémiai hipotézis /197o-es évek/.

Ezen elméletek közül a kemiozmotikus hipotézis különösen fontos szerepet tulajdonit a pH-nak.

Általánosan elfogadott, hogy a foto- és oxidativ foszforiláció legelső, bennünket is érdeklő eseménye a töltésszétválás, melyet Williams szerint /72/ a következőképpen irhatunk fel:

$$h\nu \longrightarrow \oplus + e^- \qquad \text{/kloroplasztban/,}$$

$$H^- \longrightarrow H^+ + 2e^- \qquad \text{/mitokondriumban/.}$$

Ezt a töltésszétválást az energiatárolás első lépcsőfokának tekinthetjük. Kisérleti tény továbbá, hogy az ATP szintetizálódásakor ill. hidrolizisekor pH-változás figyelhető meg a membránok mindkét oldalán. A kemiozmotikus hipotézis ezen ese-

Attila József Tudományegyetem Központi Könyvtára SZEGED

ményeket a következő módon kapcsolja össze:

energia /töltésszétválás/,

⇓

pH-gradiens és elektromos potenciálkülönbség a membrán két oldala között,

⇓

ATP szintézise .

4. Az enzimatikus folyamatok csak igen szük pH tartományban zajlanak le olyan hatásfokkal, mint az élő szervezetekben. Ennek az okai, mai ismereteink szerint, részint a molekulák szerkezetének, részint azok felületi töltéssürüségének és töltéseloszlásának pH-függésére vezethetők vissza.

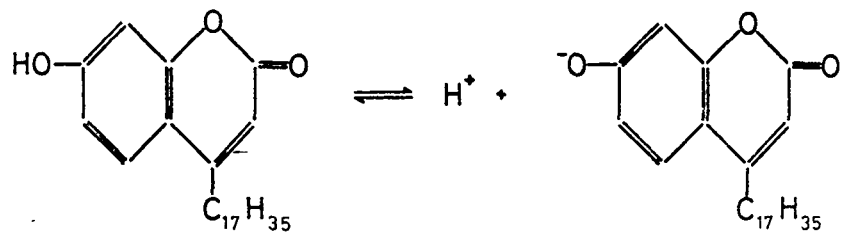
Talán sikerült érzékeltetnem, hogy az életjelenségek "normális" müködéséhez milyen sokrétüen kapcsolódik a környezetben lévő vizes közeg H^+ koncentrációja, hány helyen meghatározó szerepet játszhat az oldat pH-értéke.

1.2. A pH hatása az elektrolit/lipid határfelületnél

A biomembránokon és a modellmembránokon végzett kisérletekben döntő szerepük van a membrán közvetlen környezetében uralkodó kémiai viszonyoknak, mint pl. a koncentrációnak, a felületi töltéssürüségnek, az adszorpciónak, stb. Tudjuk, hogy a különböző tipusú adszorpciók következtében a határrétegben meglévő koncentráció- és potenciálviszonyok eltérhetnek az oldat

többi részén mérhetőktől. A pH membránjelenségekre gyakorolt hatásának tanulmányozásakor fontos annak a kérdésnek a tisztázása, van-e különbség a membránhoz közel eső oldatréteg és az oldat belsejében mérhető pH-értékek között; ha van, mekkora ez az eltérés és milyen okokra vezethető vissza.

Fromherz dipalmitoil-lecitin és metilpalmitát monorétegeken vizsgálta a felületi töltéseknek a monoréteg környezetében lévő oldat pH-jára gyakorolt hatását /15, 16, 17, 18/. Lipidoldékony pH-indikátorok /4-heptadecil-umbelliferon - 1. ábra/ fluoreszcencia intenzitásának mérésével kimutatta, hogy a lipidréteg felületi töltései nagymértékben befolyásolják a határ-



1. ábra

A 4-heptadecil-umbelliferon és annak disszociációja.

rétegben lévő vizes közeg H^+ koncentrációját. A pozitiv felületi töltések látszólag megnövelik, a negativ felületi töltések pedig lecsökkentik a környezetben a pH-t.

Tegyük fel, hogy biner elektrolitban mérünk, és vizsgáljuk meg a felületi potenciálnak ψ az oldat ionkoncentrációjától c és a felületi töltéssürüségtől σ való függését. A Gouy-Chapman elmélet alapján a fent emlitett mennyiségek között a következő összefüggés érvényes /18/:

$$\psi = \frac{2kT}{e_o} \operatorname{area\ sh} \sqrt{\frac{\sigma^2 e_o^2}{8 \varepsilon \varepsilon_o c k T}} \quad , \qquad (1)$$

ahol k a Boltzmann állandó, e_o az elektron töltése, T az abszolut hőmérséklet, ε_o a vákuum dielektromos állandója, ε az oldat relativ dielektromos állandója. Meg kell jegyeznünk, hogy bár az (1) egyenlet mind pozitiv mind negativ felületi töltések esetén - ha a töltéssürüségek azonosak és a többi mennyiségben változás nem történt - azonos abszolút értékü felületi potenciált ad, Fromherz mérései aszimmetriát mutatnak a különböző előjelü felületi töltések esetén. A szerző az aszimmetriát két dologra vezeti vissza:

- a lipidoldékony pH-indikátor molekulák által okozott felületi töltéssürüség-változásra,
- ill. a pozitiv és a negativ töltésü csoportok speciális - eddig még nem tisztázott - kölcsönhatásaira az oldatban lévő kationokkal és anionokkal.

A kialakuló felületi potenciál nagysága függ az ionkoncentrációtól is. Azonos felületi töltéssürüségü monorétegek esetén a ki-

alakuló felületi potenciál nagyobb ionkoncentrációknál kisebb. A határréteg pH-értékét Nelson és McQuarrie szerint /46/ a következő egyenlettel lehet megadni:

$$pH_h = pK + \lg\frac{\alpha}{1-\alpha} - 0{,}434\,\frac{e_0}{kT}\,\psi_h \quad , \qquad (2)$$

ahol pK a felületi disszociábilis csoportok disszociációállandójának negativ logaritmusa, α pedig ezen csoportok diszszociációfoka /feltéve, hogy ez minden csoportnál azonos/. Az (1) egyenlet szerint minél nagyobb a felületi töltéssürüség annál nagyobb az oldat belseje és a határréteg közötti potenciálkülönbség és igy annál nagyobb a pH-különbség is.

Nemcsak monorétegeken hanem bimolekuláris rétegeken is vizsgálták már a rétegek környezetében meglévő fizikai-kémiai viszonyoknak a BLM-et módositó hatását. Träuble és munkatársai elméletileg és kisérletileg meghatározták a BLM-ek szerkezetének az ionkoncentrációtól, a pH-tól és a felületi töltéssürüségtől való függését /65, 66/. Megállapitották, hogy a membránszerkezet változására jellemző "átalakulási hőmérséklet" /transition temperature from ordered state to fluid state/ a felületi töltéssürüség növekedésével csökken. Minthogy a pH növelésével nő a negativ felületi töltéssürüség - a felületi H^+-ok ledisszociálódása miatt - , érthető, hogy a pH növelésével csökken a BLM átalakulási hőmérséklete és ez elektrosztatikus kölcsönhatások miatt a stabilitásának csökkenését is jelenti. Az átalakulási hőmérséklet függ az oldat ionkoncentrációjától

is; egyvegyértékü kationokat tartalmazó elektrolitokban az ionerősség növelésével csökken, kétvegyértékü kationok esetén az átalakulási hőmérséklet nő.

Összegezve a fentieket azt mondhatjuk, hogy a pH és az ionerősség igen komplex módon befolyásolják a határfelület töltéssürüségét és ezen keresztül a határfelület olyan tulajdonságait is megváltoztatják, amelyek meghatározók lehetnek a membránok transzportfolyamataiban. Tény, hogy felületi töltésekkel rendelkező BLM-ek esetén a határrétegben uralkodó pH-érték nem egyezik meg az oldat belsejében mérhető pH-val. Az eltérés a BLM anyagának és az elektrolit kémiai paramétereinek ismeretében a fenti egyenletekkel kiszámitható.

2. KORÁBBI VIZSGÁLATOK BLM-EK VEZETŐKÉPESSÉGÉNEK pH-FÜGGÉSÉRE VONATKOZÓAN

A BLM-ek vezetőképességének pH-függésére vonatkozó korábbi vizsgálatok - a BLM összetételét illetően - három nagy csoportba oszthatók:

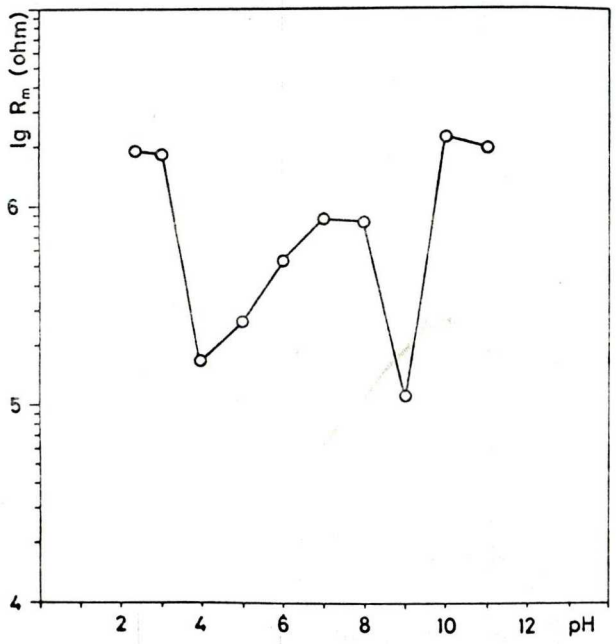
- a biológiai membránok extraktumaiból készült BLM-eken végzett mérések /6o, 61/,
- a módositott /pl. klorofil tartalmú, ionszelektiv, stb./ BLM-eken történt vizsgálatok /9, 34, 37, 38/,
- a módositatlan BLM-eken történt mérések /5o, 51, 52, 53, 55, 7o, 73/.

Az első két csoportba tartozó vizsgálatoknál a BLM igen sok komponenst tartalmazhat. Ezért azon dolgozatok, amelyekben a pH hatását vizsgálták vagy nem adtak kielégitő magyarázatot a kisérleti eredményekre, vagy kizárólag a módositó anyag pH-függő tulajdonságaira vezették vissza a megfigyelt vezetőképesség változásokat. Számos esetben ezek a magyarázatok kvantitativ alátámasztást is kaptak /37, 38, 61/.

Ahhoz, hogy összetettebb rendszerek esetén magyarázni tudjuk a pH-függő vezetési viszonyokat, mélyebben ismernünk kell a szerkezeti alapelem, a módositatlan BLM pH-függő tulajdonságait.

Nem módositott, különböző összetételü foszfolipid-koleszterin BLM-ek vezetőképességének pH-függését először Noguchi és

Koga /5o/ vizsgálta meg a $2 \leq pH \leq 12$ tartományban /2. ábra/. A kapott eredményekből arra a következtetésre jutottak, hogy az áramvezetés oka a H^+ és az OH^- -ok BLM-en keresztüli transzportja és a vezetőképesség pH-függésének oka ezen többségi töltéshordozók vizes oldat beli koncentrációinak és BLM-beli diffúzióállandóinak változásaival hozhatók kapcsolatba. Nem próbálták meg azonban ezen feltevésüket elméleti meggondolások-

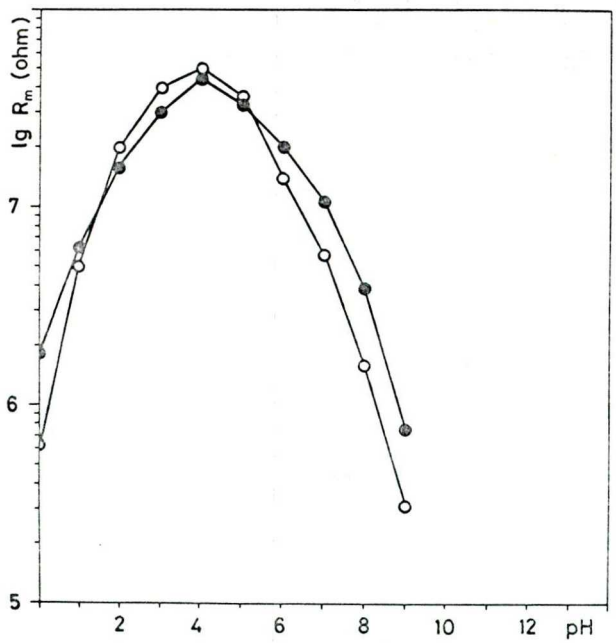


2. ábra

Lecitin-koleszterin BLM ellenállásának pH-függése Noguchi és Koga mérései alapján /5o/.

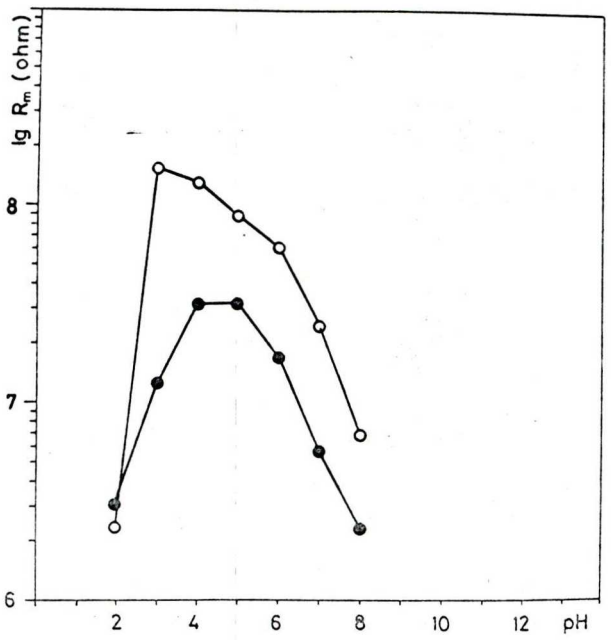
kal is meggyőzően alátámasztani, bár a membrántranszport elméletek a hatvanas évek végén már részben ismertek és kidolgozottak voltak.

Ohki és munkatársai igen részletesen tanulmányozták a tojás-lecitin-koleszterin, foszfatidil-szerin, fosztatidil-kolin és foszfatidil-etanolamin tartalmú BLM-ek elektromos paramétereit /egyenáramú ellenállás, kapacitás, stb./ az 1 és 9 közé eső pH tartományban /51, 52, 53/. Az általuk kapott eredményeket /3. és 4. ábra/ a BLM-et alkotó foszfolipid molekulák és a H^+ ill.



3. ábra

Lecitin-koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése két különböző lecitin-koleszterin aránynál /Ohki és Goldup /51/ alapján/.

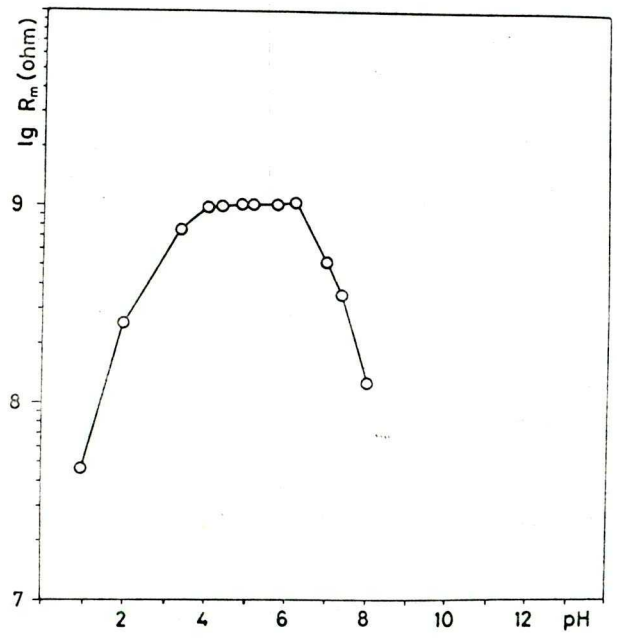


4. ábra

Foszfatidil-szerin BLM-ek ellenállásának pH-függése két különböző fürdetőoldatban /Papahadjopoulos és Ohki /52/ alapján/.

OH^- -ok elektrosztatikus kölcsönhatása eredményeként létrejövő töltött csoportok sürüségének és ezzel kapcsolatban a BLM struktúrájának a megváltozásával /csatornák nyilásával/ magyarázzák. Bár igen részletes kisérleti munkájuk alapján következtetéseik kézenfekvőek, joggal hiányolható, hogy mechanizmusukat részletes elméleti meggondolásokkal és számitásokkal nem támasztották alá.

Szintetikus foszfatidil-kolin tartalmú BLM-ek elektromos paramétereinek pH-függését mérték ki Redwood és munkatársai az $1 \leq pH \leq 8$ tartományban /55/. Megfigyeléseiket elemezve rámutattak arra, hogy az általuk kapott ellenállás-pH-függés /5. ábra/ nem tulajdonitható sem az esetleges töltött, membrán szennyeződések jelenlétének, sem pedig a foszfatidil-kolin molekula foszfát ill. kvaterner ammónium csoportjai tit-

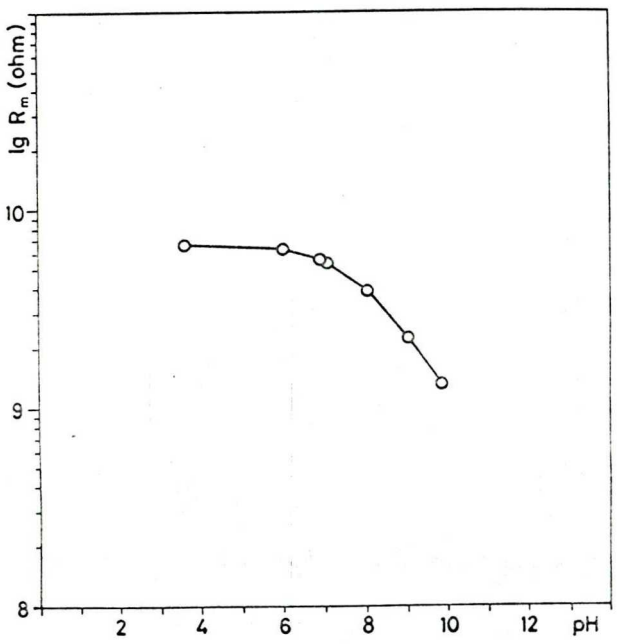


5. ábra

Szintetikus foszfatidil-kolin BLM ellenállásának pH-függése /Redwood és munkatársai /55/ alapján/.

rálásának. A pH-függő ellenállásváltozás eredetének kérdését lényegében nyitva hagyták.

Az utóbbi években Wei és Woo megvizsgálták oxidált koleszterin tartalmú BLM-ek elektromos ellenállásának pH-függését a 3,6 és 1o közötti pH-szakaszon /7o, 73/; méréseik eredményét a 6. ábrán mutatjuk be. Az ellenállásváltozás okát a BLM felületén lévő ún. felületi ioncsapdák számának pH-függésére,



6. ábra

Oxidált koleszterin tartalmú BLM ellenállásának pH-függése Wei és Woo mérései alapján /7o, 73/.

továbbá a felület közelében lévő anionok és kationok koncentrációinak változásaira vezették vissza. Kisérleteik leirására kvantitative is megfogalmazott elméletet javasoltak. Mind kisérleti vizsgálataik mind elméleti meggondolásaik azonban csak az enyhén savas, semleges és enyhén lúgos pH-kra vonatkoznak.

Az 1. táblázatban összefoglaltuk az eddig megvizsgált rendszereket, az irodalomban közölt mérési eredményeket, feltüntetve néhány, a dolgozatokban is közölt, fontos kisérleti körülményt.

Fontos megemlitenünk, hogy az eddigiekben csak egy-egy ionikus pufferoldatban vagy nem pufferezett közegben tanulmányozták a pH membránellenállást módositó hatását. A dolgozatokban közölt eredményekre vonatkozóan hibaszámitásokat ritkán találtunk, s az oldatok kémiai paramétereinek változása sincs figyelemmel kisérve. Az eddigi dolgozatok nagy része nem tartalmaz kvantitativ diszkussziót, ami pedig egy elmélet vagy hipotézis helyességét nagymértékben alátámaszthatja.

József Attila Tudományegyetem Központi Könyvtára SZEGED

1. táblázat

A membránképző oldatok összetétele	A fürdető oldatok összetétele	A vizsgált pH-tartomány	Irodalom
1.Lecitin-koleszterin tetradekán-kloroform-metanol keverékben	?	2 - 11	Noguchi,S. és Koga,S., /5o/
2.Lecitin-koleszterin n-dekánban	o,1 n NaCl + HCl ill. NaOH	o - 9	Ohki,S. és Goldup,A., /51/
3.Foszfatidil-szerin n-dekán-metanol keverékben	o,1 n NaCl + tris puffer	2 - 8	Papahadjopoulos,D. és Ohki,S., /53/
4.Foszfatidil-szerin n-dekán-metanol keverékben	o,1 n NaCl + EDTA + ?	2 - 8	Papahadjopoulos,D. és Ohki,S., /53/
5. 1,2-difitanoil-3-sn-foszfatidil-kolin n-dekánban	o,1 n KCl + ?	1 - 8	Redwood,W.R., Pfeiffer,F.R., Weisbach,J.A. és Thompson,T.E., /55/
6.Oxidált koleszterin n-oktánban	o,1 n KCl + HCl ill. KOH	3,6 - 1o	Wei,L.Y. és Woo,B.Y., /7o, 73/

3. ÖSSZESITÉS ÉS CÉLKITÜZÉS

Az eddig elmondottakból látható, hogy a BLM-ek elektromos paramétereinek pH-függésére szisztematikus vizsgálatokat még nem végeztek. Ahogy egyes biokémiai folyamatok pH-függő vizsgálatánál nem közömbös a pufferoldat összetétele, úgy a BLM transzportfolyamatainál is fontos annak ismerete, milyen változásokat okozhat maga a pufferoldat a BLM permeabilitási tulajdonságaiban, elektromos paramétereiben /mi ugyanis az esetek többségében ezen utóbbikat tudjuk mérni/. Ha a pH-n kivül a pufferoldat egyéb jellemzője /ionerősség, pufferkapacitás, stb./ nem befolyásolja a BLM transzportfolyamatait, akkor ennek az azonos pH-n de különböző pufferrendszerekben végzett mérési eredmények azonosságában kell megmutatkoznia. Amennyiben a kapott eredmények különbözőek, akkor a pH-n kivüli tényezők is befolyásolják a BLM-ek permeabilitását.

Az intézetünkben folyó munkákhoz szükségessé vált a nem módositott BLM-ek egyenáramú ellenállása pH-függésének ismerete. Az irodalomban erre vonatkozóan jól kidolgozott, általános érvényü elmélet és széles pH-tartományon végzett kisérletek adatai nem álltak rendelkezésünkre, igy célul tüztük ki a fenti probléma célirányos vizsgálatát. Elhatároztuk, hogy valamennyi mérésünket egyugyanazon BLM-tipuson, az oxidált koleszterin tartalmú modellmembránokon végezzük.

Mind ionikus mind amfoterionos pufferoldatban megmérjük a

módositatlan BLM-ek egyenáramú ellenállásának pH-függését a lehető legszélesebb pH-tartományban.

Valamennyi pufferoldatunknak meghatározzuk a kémiai paramétereit /pufferkapacitás, ionerősség - csak az ionikus puffereknél - / és a kapott eredményeket figyelembe vesszük az eredmények kiértékelésekor.

Részletesen megvizsgáljuk a BLM-en keresztüli töltéstranszport lehetőségét és az eddigi, az irodalomból jól ismert transzportelméletek következtetéseit megpróbáljuk alkalmazni a BLM-ellenállás pH-függésének magyarázatára.

Amennyiben az eddigi elméletek nem tudják értelmezni a kisérleti eredményeinket, megpróbálunk kvantitativ magyarázatot adni méréseink végeredményére.

4. KISÉRLETI RÉSZ

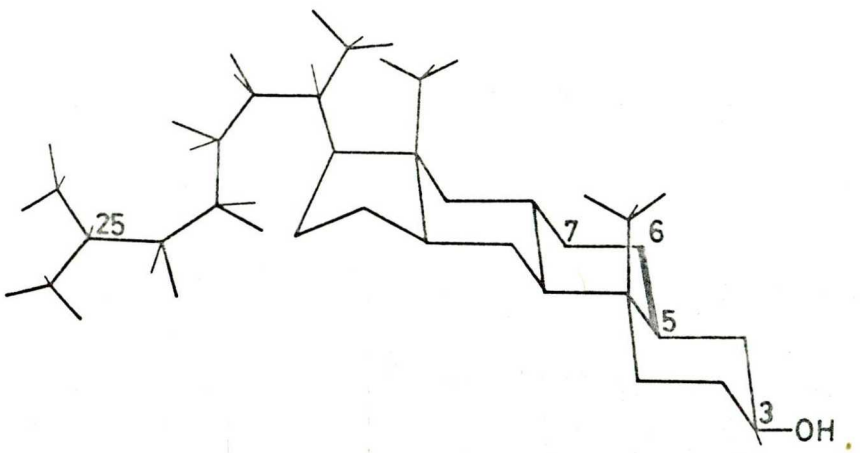
4.1. Anyagok

4.1.1. A membránképző oldat

Valamennyi mérésünket oxidált koleszterin tartalmú BLM-eken végeztük. A membránformáló oldatot Tien és munkatársai által leirt módon /59/, átkristályositott koleszterinből /Reanál, at./ készitettük el a következőképpen: a koleszterin 4 súlyszázalékos n-oktános oldatát forró homokfürdőbe helyeztük és az oldaton száraz O_2 gázt buborékoltattunk át 6-8 órán keresztül /9o $cm^3.perc^{-1}$ sebességgel/, miközben a hőmérsékletet az oktán forráspontján tartottuk /kb. 12o ^oC/. Az elpárolgott oldószer az edény felett lévő visszafolyó hütőben lecsapódott és visszacsepegett a reakciótérbe; igy az oldat koncentrációja az oxidálás alatt számottevően nem változott. 6 órai oxidálás után az oldatból mintát vettünk, szobahőmérsékletre hütöttük és BLM-készitéssel győződtünk meg arról, szükséges-e a további oxidálás vagy sem. Végeredményként tehát kb. 4 súlyszázalékos oxidált koleszterin tartalmú membránképző oldatot kaptunk.

Ismeretes, hogy a koleszterinből oxidálás során számos szteroid képződhet /1o/. Az oxidálás hatására elsősorban az 5-ös, a 6-os, a 7-es és a 25-ös számú szénatom környezetében jöhet

létre változás /a molekula szerkezeti képletét a 7. ábrán mutatjuk be/ - hidroxil- vagy karboxil csoport képződhet. Smith és munkatársai kétdimenziós rétegkromatográfiás eljárással az oxidálás során keletkezett négy fő oxidációs terméket azonositották és további 29 komponens jelenlétéről is beszámoltak /57/. Megismételve ezeket a vizsgáletokat 18 komponenst tudtunk szétválasztani az általunk oxidált oldatban, köztük a négy főkomponenst: a 7-keto-koleszterint, a 25-hidroxi-koleszterint, a 7-α-hidroxi-koleszterint és a 7-β-hidroxi-koleszterint. Meg kell jegyeznünk, hogy az igen erélyes



7.ábra

A koleszterin molekula szerkezeti képlete. Az oxidálás során elsősorban a számokkal jelzett szénatomok környezetében jöhetnek létre változások.

oxidálás után is nagymennyiségü koleszterin maradt az oldatunkban. Tien és munkatársai szerint /59/ az általuk leirt oxidálási eljárással készitett oxidált koleszterin oldatban az összes bemért koleszterin molekula maximum 5 %-a oxidálódik csak - azaz ennyi lehet a mintánk oxidált koleszterin tartalmának felső határa is. Ez egyben azt is jelenti, hogy a membránképző oldatunk mindig oxidált koleszterin + koleszterin keverékoldat. Az oxidált koleszterin BLM-en tehát mindig az összes oxidációs terméket és a koleszterint magát is tartalmazó membránképző oldatból készitett BLM-et értjük. Elképzelhető, hogy az oxidációs termékek, a HDTAB-hez hasonlóan /61/, csupán felületaktiv anyagokként funkcionálnak az oxidált koleszterin BLM-ekben.

4.1.2. A pufferrendszerek

Az oxidált koleszterin BLM-ek elektromos ellenállásának pH-függését különböző összetételü pufferoldatokban vizsgáltuk. Az alkalmazott pufferrendszerek összetételét és müködési tartományát a 2. táblázatban adjuk meg. A kivánt pH-értékeket a két törzyoldat megfelelő arányú keverésével állithatjuk elő. Valamennyi oldatot tridesztillált vizben készitettünk el, a beállitott pH-értékeket a BLM-eken történt mérések előtt és után is OP 8o7-1/A üvegelektródával ellátott OP 2o4/1 tipusú pH-mérővel /Radelkis/ ellenőriztük. A MES:MES-Na, a TES:TES-Na és a MES:tris pufferek Calbiochem /USA/ vegyszerek felhasználásával

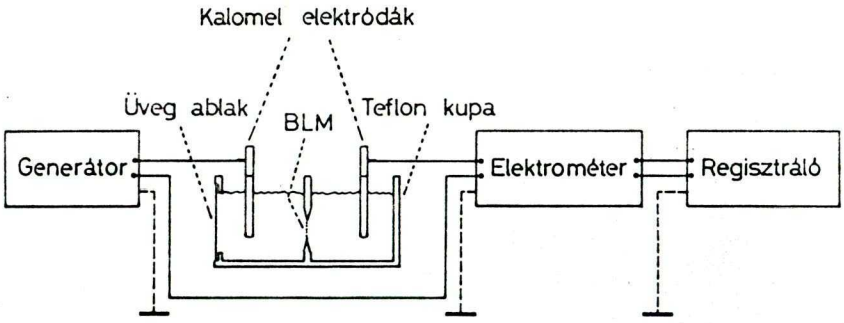
2. táblázat

A pufferoldatok nevei	A törzsoldatok összetétele	A beállito oldatok összetétele	A pufferoldattal átfogott pH-tartomány
univerzális puffer /47/	$2{,}86 \times 10^{-2}$ M citromsav $2{,}86 \times 10^{-2}$ M monokálium-szulfát $2{,}86 \times 10^{-2}$ M bórsav $2{,}86 \times 10^{-2}$ M dietil-barbitursav	2×10^{-1} M karbonátmentes NaOH	2,6 - 10,3
Britten-Robinson-féle puffer /2/	4×10^{-2} M ecetsav 4×10^{-2} M foszforsav 4×10^{-2} M bórsav	2×10^{-1} M karbonátmentes NaOH	2 - 12
tris puffer	1×10^{-1} M tris	1 M HCl ill. 1 M NaOH	1 - 13
MES:MES-Na puffer	1×10^{-1} M MES	1×10^{-1} M MES-Na	3,5 - 7,5
TES:TES-Na puffer	1×10^{-1} M TES	1×10^{-1} M TES-Na	4,5 - 9,75
MES:tris puffer	1×10^{-1} M MES	1×10^{-1} M tris	3,3 - 9,35

készültek, a többi pufferoldatot at. és a.lt. tisztaságú Reanal vegyszerekből - minden további tisztitás nélkül - készitettük. A BLM-eken történt méréseknél felhasznált pufferoldatok sohasem voltak 72 óránál régebbiek.

4.2. A kisérleti eszközök és a mérés menete

A méréseink során alkalmazott elrendezést a 8. ábra szemlélteti. A BLM-eket egy teflon falú, kétszer lo ml térfogatú edény közepén, a két térrészt elválasztó teflon falon lévő 2 mm átmérőjü nyiláson egy lo μl-es, adagolós mikropipetta /Hamilton



8. ábra

A méréseinknél használt kisérleti elrendezés sematikus rajza.

Co., Svájc/ segitségével készitettük el. A membrán levékonyodását egy sztereomikroszkópon /SM XXa, Zeiss, NDK/ keresztül figyeltük meg. A membránokra kivülről ráadott feszültséget egy házi gyártmányú generátor szolgáltatta, amelynek segitségével mind sztatikus mind dinamikus feszültség-áram karakterisztikák felvehetők; mi csak sztatikus karakterisztikákat mértünk /azaz beállitottuk a generátoron a kivánt feszültséget és az árammérő müszerünkön leolvastuk a rendszerben folyó egyensúlyi áramerősséget/. A rendszerünkben folyó áramot egy Keithley 61o CR tipusú elektrométer erősitővel mértük /USA/, esetenként pedig egy Beckman lo" Recorder /USA/ segitségével rögzitettük. Valamennyi mérésünket szobahőmérsékleten végeztük.

A mérések menete a következő volt. A kivánt pH-jú pufferoldatban elkészitettük a BLM-et. A BLM-ek levékonyodási ideje erősen függött az oldat pH-értékétől. Alacsony /$pH \leq 5$/ és magas /$pH \geq 11$/ pH-kon a levékonyodási idő meglehetősen rövid volt /közelitőleg 3o s/, enyhén savas, semleges és enyhén lúgos pH-kon /$5 < pH < 11$/ ez az idő 2-6 percre nőtt. A kialakult BLM "pereme" /= border; a teflon falon vágott lyuk szélén lévő, a teflon fal felé fokozatosan vastagodó, membránképző oldatot tartalmazó rész, amely a bimolekuláris sik membránt körgyürüként övezi és "rögziti" a teflon falhoz/ valamennyi esetben azonos volt, azaz nem függött az alkalmazott pufferoldat anyagától, a pH-tól és a levékonyodási időtől sem. Mechanikai szempontból a savas pH-kon kialakult BLM rideg volt,

könnyen elpattant; magas pH-kon "nyúlós" BLM alakult ki, mely lassan szétkúszott a teflon falon és a BLM óriási, félgömb alakú kupolává alakult a lyuk felett. Ezen problémák ellenére a BLM a levékonyodás utáni első 2-5 percben még nem mutatta a fenti torzulásokat; ebben az időintervallumban történtek a mérések.

Az egyensúlyi feszültség-áramerásség /U-I/ karakterisztikákat 3o mV-ig 5 mV-onként, utána lo mV-os lépésekben vettük fel. A méréseket az univerzális pufferoldat és a TES:TES-Na pufferrendszer esetén vagy az "elszakadási potenciál"-ig /break-down potential/ vagy loo mV-ig végeztük. A többi puffer esetén csak 3o mV-ig mértünk. A kapott eredményeket egy Wang 6oo tipusú kalkulátorral /Hawlett Pacard, USA/ dolgoztuk fel /számtani átlag számolás, standard deviáció meghatározás, görbeillesztés, stb./.

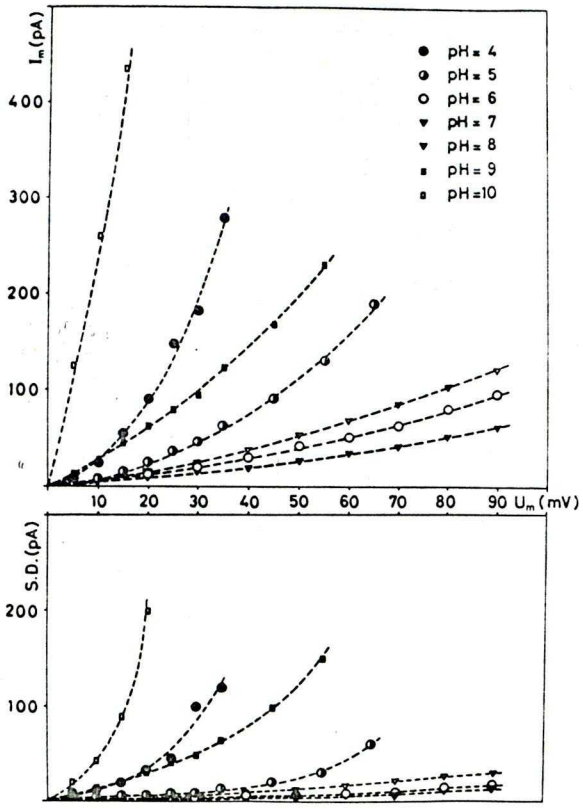
5. EREDMÉNYEK

Mind az ionikus mind az amfoterionos pufferoldatok esetén kiválasztottunk egy-egy puffert /amelyben a BLM-ek a legstabilabbaknak bizonyultak/ és ezen pufferrendszereknél nemcsak a BLM-ek ellenállásának pH-függését vizsgáltuk meg, hanem az elszakadási potenciálig felvettük az U-I karakterisztikákat. Tettük mindezt azért, mert

- fő célul a BLM-ellenállás pH-függésének tanulmányozását tüztük ki,
- a többi, hasonló tipusú pufferoldat esetén is a kiválasztott pufferoldatokban mért feszültség-áramerősség karakterisztikákkal megegyező lefutású U-I görbéket kaptunk a o-3o mV-os szakaszon,
- a BLM-ek valamennyi pufferoldatban - különösen a lúgos pH-kon - igen instabilak voltak.

5.1. A feszültség-áramerősség karakterisztikák

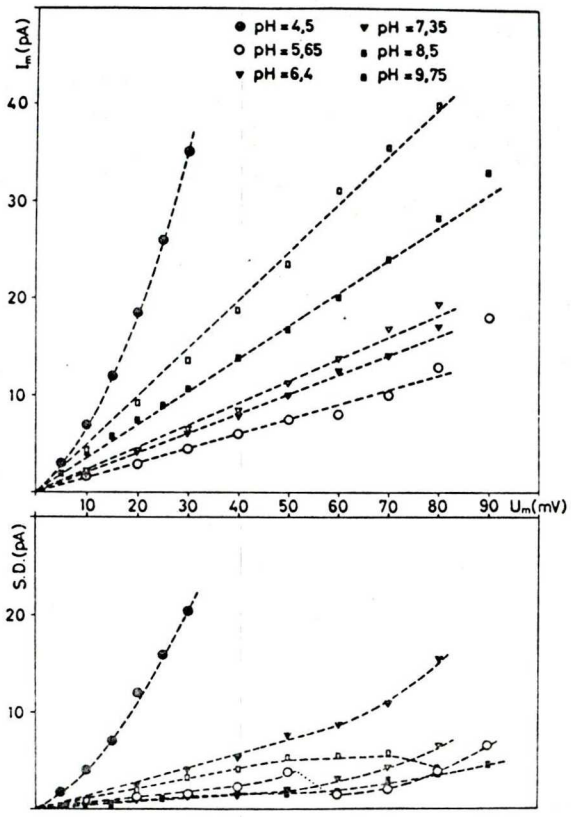
A 9. ábrán az univerzális pufferoldatban felvett U-I karakterisztikák láthatók /az ábra felső részén/ az egyes mérési pontokhoz tartozó standard deviációkkal /az ábra alsó része/. Jól megfigyelhető, hogy alacsony feszültségek esetén sem változik lineárisan az áramerősség a feszültséggel; Ohm törvénye az általunk vizsgált feszültségeken nem érvényes.



9. ábra

Az univerzális pufferoldatban mért U-I karakterisztikák /az ábra felső része/ az egyes mérési pontokhoz tartozó standard deviációkkal /az ábra alsó része/.

A TES:TES-Na pufferrendszerben a különböző pH-értékeken mért feszültség-áramerősség karakterisztikákat a lo. ábrán szemlélhetjük meg /az ábra felső része/. Ha figyelembe vesszük a standard deviáció értékeit az egyes feszültségeknél /a lo. ábra alsó része/, akkor a pH=4,52 -n mért értékek kivételével valamennyi pH-n a mérési eredmények egy egyenes men-



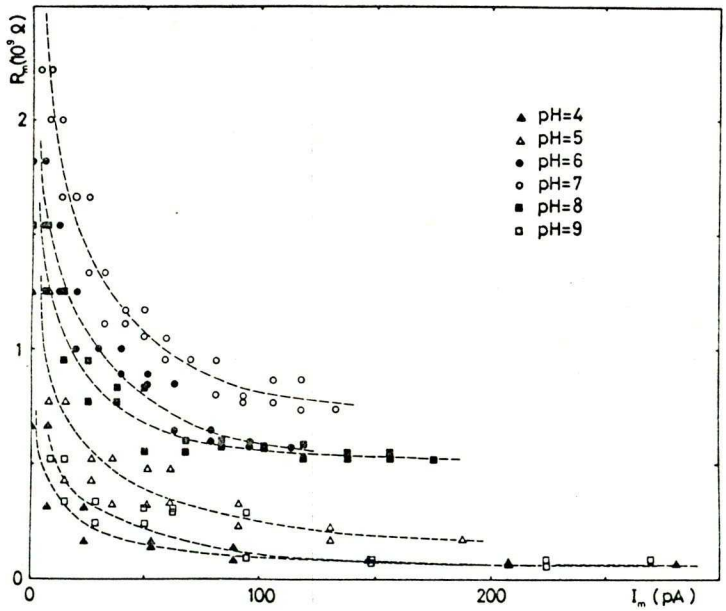
1o. ábra

A TES:TES-Na pufferrendszerben mért feszültség-áramerősség karakterisztikák /az ábra felső része/ az egyes mérési pontokhoz tartozó standard deviációkkal /az ábra alsó része/.

tén helyezkednek el.

5.2. A BLM-ellenállás áramerősség /feszültség/- és pH-függése

Meghatároztuk az univerzális pufferoldatban lévő BLM-ek differenciális ellenállásának áramerősség függését /11. ábra/ a 9 . ábra felső részén látható U-I karakterisztikák grafikus differenciálásával. Látható, hogy a különböző pH-értékeken azonos lefutású görbéket kapunk, s magas áramerősségeknél az el-

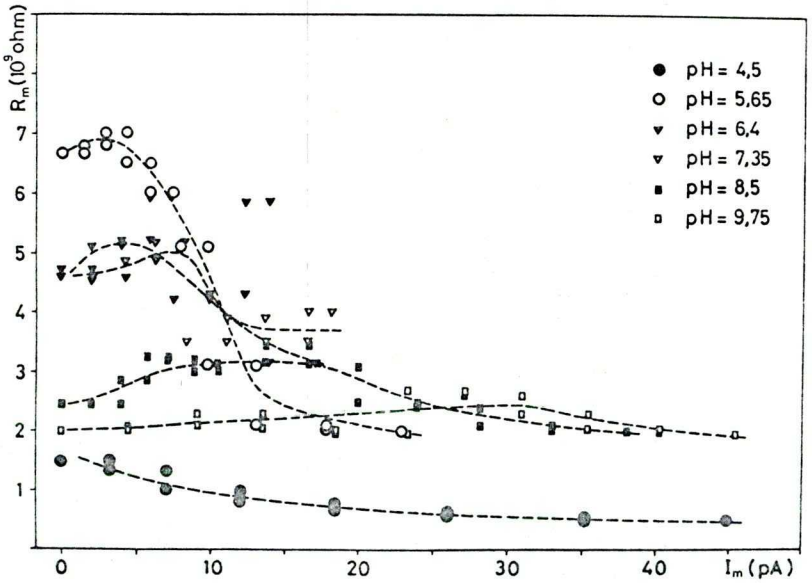


11. ábra

A BLM-ek differenciális ellenállásának áramerősség függése az univerzális pufferoldatban.

lenállás egy konstans értékhez tart.

A TES:TES-Na pufferrendszerben lévő BLM-ek differenciális ellenállásának áramerősség függését a különböző pH-értékeken a 12. ábrán mutatjuk be. Valamennyi pH-nál /kivéve a pH=4,52/ a differenciális ellenállás értéke egy maximumon megy keresztül /a differenciális ellenállás kiszámitásához a mérési eredmények átlagát használtuk fel és nem vettük figyelembe a standard deviációkat !/. A maximumok helye a nagyobb áramerősségek felé tolódik el a pH növekedésével, miközben a maximumok értéke fokozatosan csökken. Magas áramerősségeken itt is egy ál-

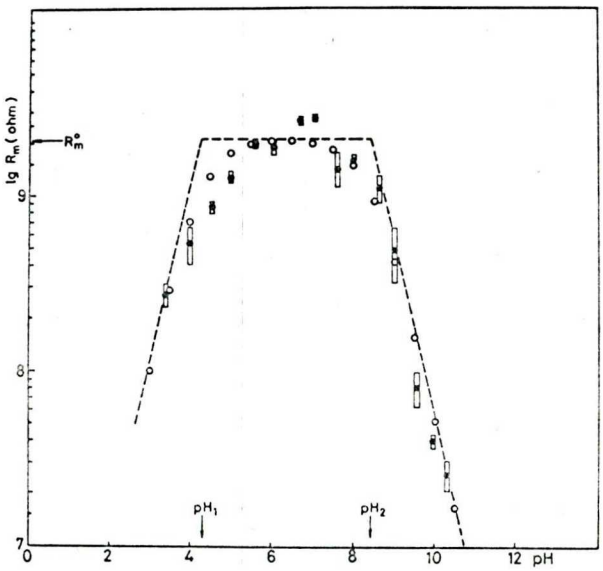


12. ábra

A BLM-ek differenciális ellenállásának áramerősség függése a TES:TES-Na pufferoldatban.

landó mennyiséghez tart az ellenállás értéke.

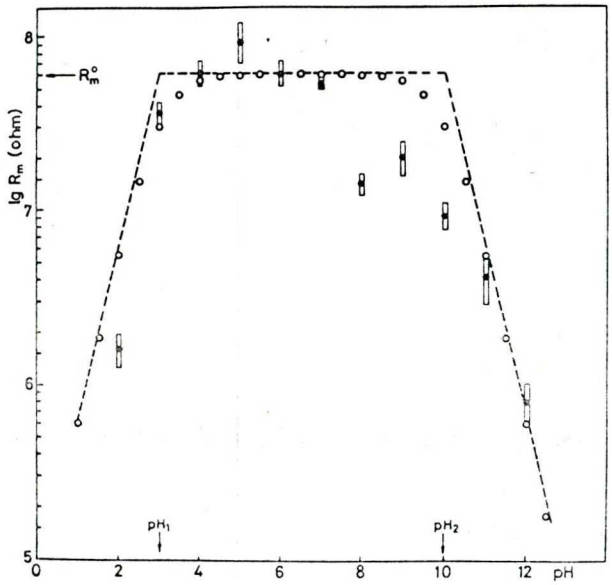
A 13., 14. és 15. ábrákon az univerzális puffer, a Britten-Robinson-féle puffer és a tris puffer esetén mért BLM-ellenállás /U_m=1o mV-on/ pH-függése látható. Valamennyi esetben a BLM-ek ellenállása mind az alacsony mind a magas pH-tartományon csökken, mig a semleges pH környezetében - a pufferoldat



13. ábra

Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése az univerzális pufferoldatban /U_m=1o mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a (10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ----- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

összetételétől függően - hosszabb-rövidebb szakaszon állandónak mondható. A maximális ellenállásértéket R_m^o-lal, az ellenállásesökkenés helyeit pH_1-gyel ill. pH_2-vel jelöltük. Látható, hogy ezen paraméterek értékei a különböző pufferrendszereknél különbözőek, kvalitative azonban valamennyi görbe hasonló alakú. Az utóbbi három ábrán bemutatott eredmények, mint emlitet-



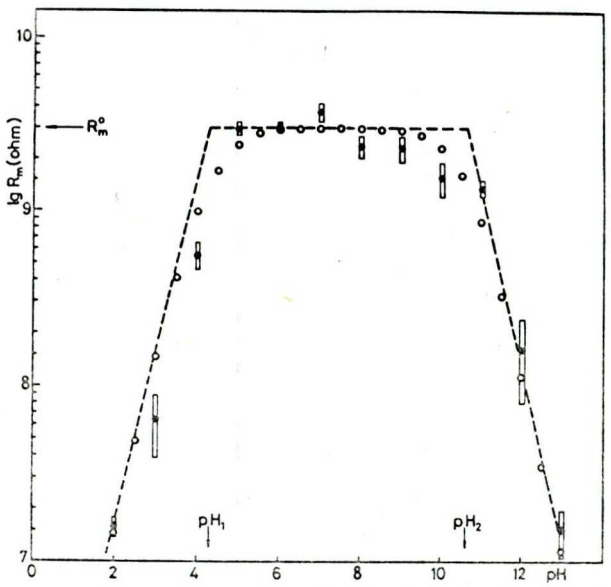
14. ábra

Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése a Britten-Robinson-féle pufferoldatban /U_m=lo mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a (10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ---- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

József Attila Tudományegyetem Könyvtára SZEGED

tük, ionikus pufferoldatok esetén adódtak; felvetődik a kérdés, milyen eredményeket kapnánk amfoterionos pufferrendszerek esetében.

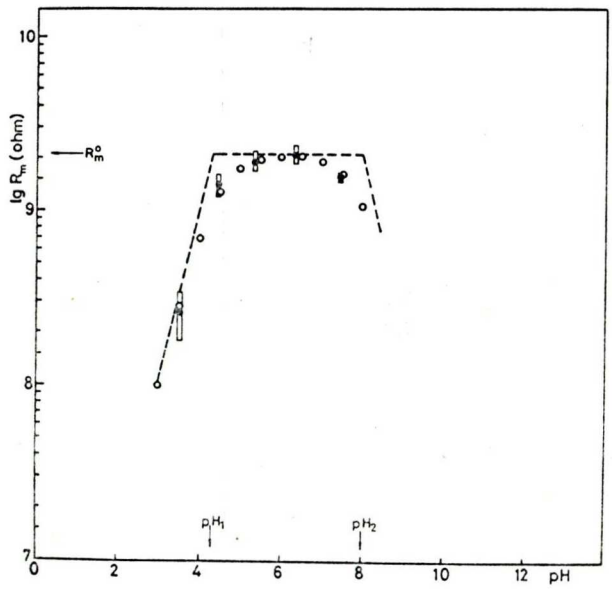
A kérdés megválaszolásához megvizsgáltuk a BLM-ellenállás pH-függését néhány amfoterionos pufferben is. Ezen pufferoldatokkal azonban csak szükebb pH-intervallumot tudtunk átfogni



15. ábra

Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése a tris pufferoldatban /U_m=10 mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a (10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ----- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

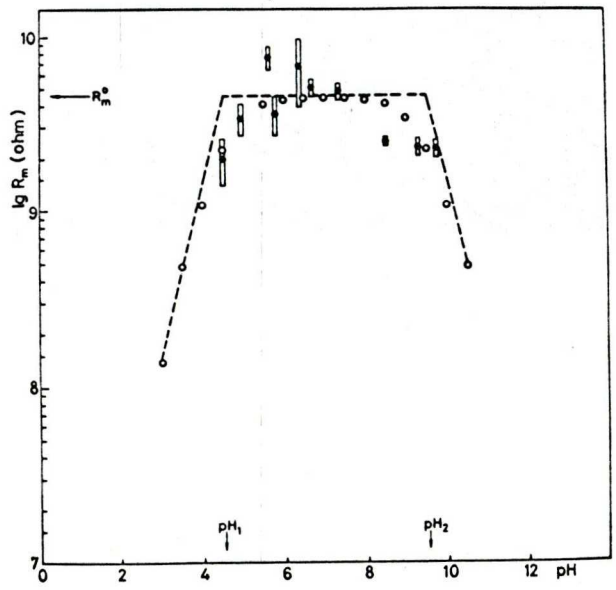
mint az ionikusokkal. Minthogy ezek a tartományok csak az enyhén savas és az enyhén lúgos pH-kat tartalmazzák a semleges pH-n kivül, a magasabb és az alacsonyabb pH-értékeken tapasztalt BLM-ellenállás csökkenése talán egyedül a MES:MES-Na pufferrendszer esetén érezhető /16. ábra/, feltételezhető a TES: TES-Na pufferoldatnál /17. ábra/ és alig vehető ki az ionikus



16. ábra

Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése a MES: MES-Na pufferoldatban /U_m=lo mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a (10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ----- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

és amfoterionos keverék puffernél, a MES:tris pufferrendszernél /18. ábra/. Ennek ellenére úgy véljük, hogy az amfoterionos pufferoldatokban a BLM-ellenállás pH-függésére kapott eredmények hasonlóak az ionikus puffereknél tapasztaltakéhoz.

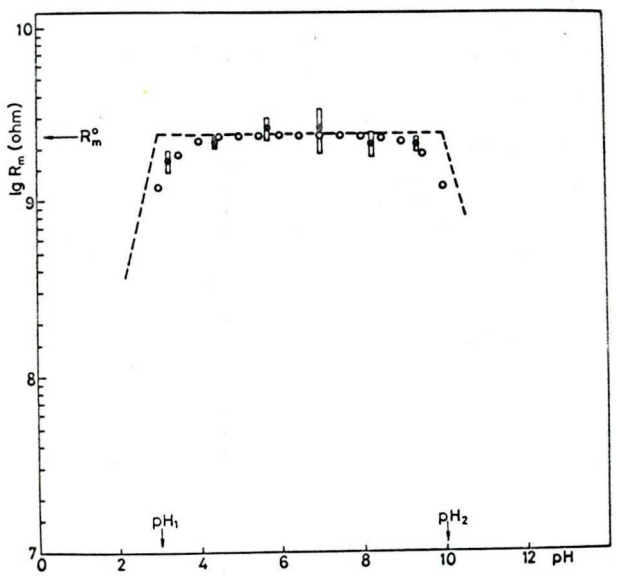


17. ábra

Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése a TES:TES-Na pufferoldatban /U_m=1o mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a(10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ----- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

5.3. Pufferkapacitás és ionerősség

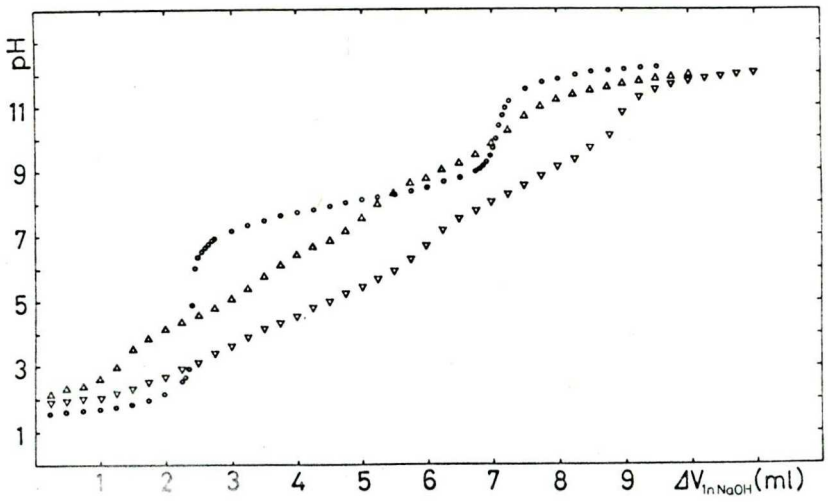
A pufferoldatok pufferkapacitását 1 n NaOH illetve 1 n HCl oldatok segitségével határoztuk meg. Az ionikus pufferek esetén /univerzális puffer, Britten-Robinson-féle puffer, tris puffer/ elkészitettük a vizsgálni kivánt legalacsonyabb pH-jú



18. ábra

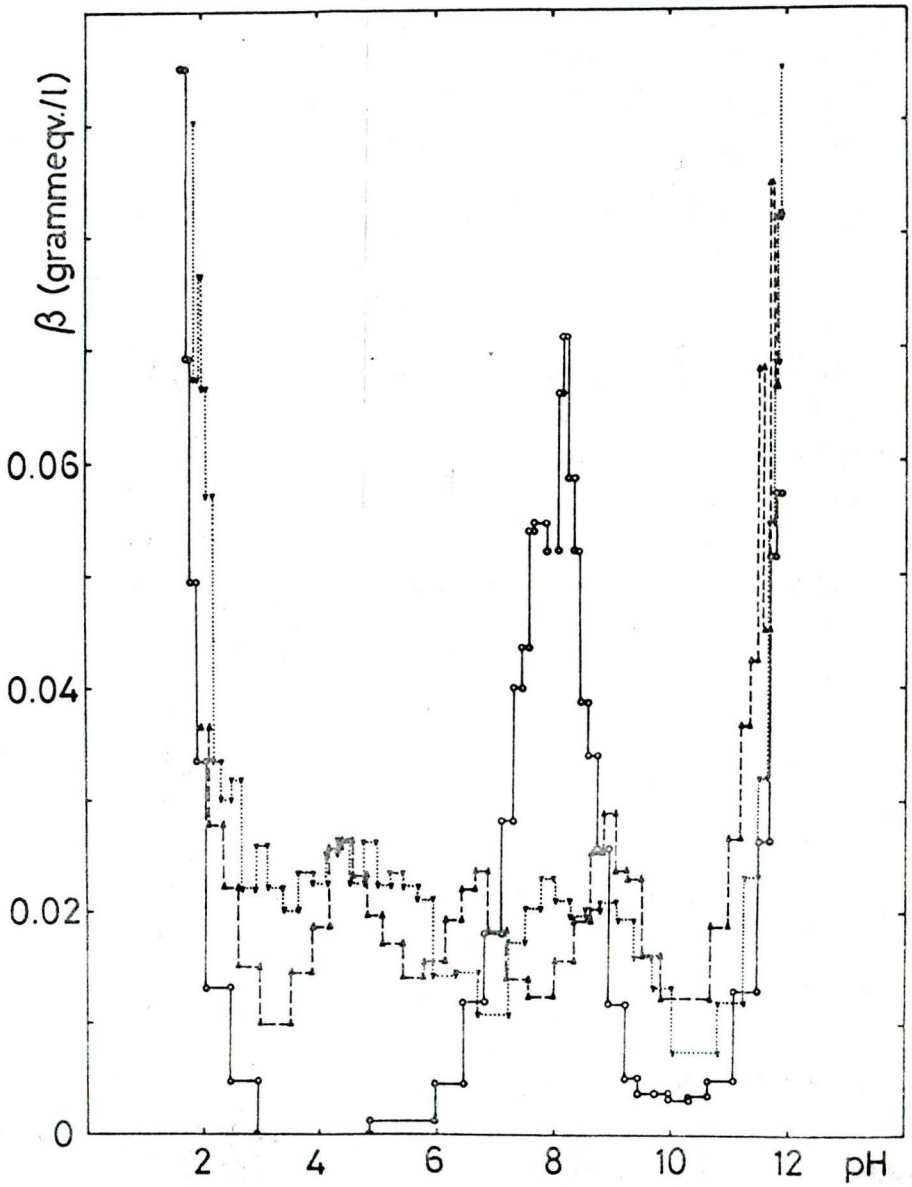
Az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függése a MES: tris keverék pufferoldatban /U_m=1o mV/ a mérési eredmények számtani átlagának /•/ és a standard deviációknak / ▯ / a feltüntetésével. A o-ök az ábrán megadott paraméterek segitségével a (10) egyenlet alapján kiszámitott értékek, a ----- vonal az elméleti görbe három aszimptótája.

oldatot és az 1 n NaOH oldat hozzácsepegtetésével felvettük ezen pufferek titrálási görbéit /19. ábra/, majd ezek grafikus differenciálásával meghatároztuk a pufferkapacitásokat /2o. ábra/. Amfoterionos pufferrendszereknél /MES:MES-Na puffer, TES:TES-Na puffer/ és a vegyes pufferoldatnál /MES:tris puffer/, minden egyes általunk megvizsgált pH-értéken, a pufferkapacitás definiciója alapján számitottuk ki a kivánt adatokat /3/;



19. ábra

Az univerzális puffer /▽/, a Britten-Robinson-féle puffer /△/ és a tris puffer /○/ titrálási görbéi.

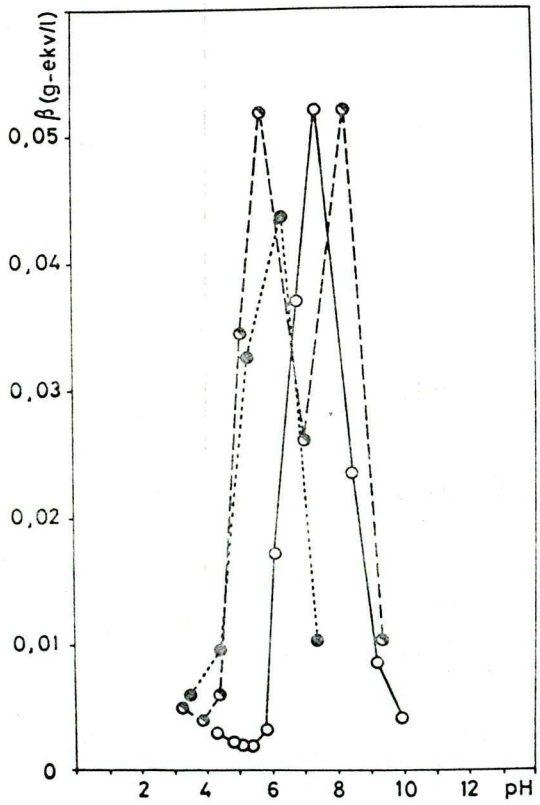


2o. ábra

Az univerzális puffer /—▽/, a Britten-Robinson-féle puffer /--▲/ és a tris puffer /o—/ pufferkapacitásának pH-függése az általunk vizsgált pH-tartományban.

$$\beta = \frac{V_o}{V} c_o f_o \frac{1}{\Delta pH} \quad , \qquad (3)$$

ahol β a pufferkapacitás, V a vizsgált pufferoldat térfogata, ΔpH az oldathoz hozzáadott V_o térfogatú, c_o koncentrációjú és f_o faktorú erős sav vagy bázis hatására létrejött pH-változás. A mérések és a számitások után kapott eredményeket a 21. ábra szemlélteti.



21.ábra

A MES:MES-Na puffer /o·····/, a TES:TES-Na puffer /o—/ és a MES: tris puffer /o- -/ pufferkapacitásának pH-függése az általunk vizsgált pH-tartományban.

A pufferkapacitásra kapott kisérleti eredményeket, a /3/ irodalom alapján, elméleti számitásokkal is ellenőriztük.

Az ionikus pufferoldatok ionerősségének meghatározása elméleti úton történt. Az általunk használt pufferoldatokban olyan molekulák voltak, amelyek esetében a disszociációk során mindig egy H^+ szakadt le a molekulákról. A számitásainkhoz tehát szükségünk volt a pufferoldatokat alkotó anyagok disszociációállandóira és aktivitási együtthatóira; ezeket az adatokat a /21, 24, 25/ irodalmakból vettük. A számitásainknál használt egyenletekhez könnyen eljutunk az alapegyenletből,

$$J = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 \quad , \qquad (4)$$

ahol J az ionerősség, c_i és z_i az i-dik ion koncentrációja és vegyértéke, ha feltesszük, hogy n -féle anyagot tartalmaz a pufferoldatunk és mindegyik anyag $k^{(i)}$ darab /$i = 1, 2, \ldots, n$/ disszociációállandóval rendelkezik. Felhasználva, hogy a bemért összionkoncentráció minden egyes anyagra nézve állandó, az ionerősség pH-függésére az alábbi egyenletet kapjuk:

$$J = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{n} \sum_{\ell=1}^{k^{(i)}} c_\ell^{(i)} \left\{ z_\ell^{(i)} \right\}^2 \quad , \qquad (5)$$

ahol

$$c_\ell^{(i)} = \frac{c^{(i)} - \sum_{s=0}^{\ell-1} c_s^{(i)}}{1 + \sum_{t=1}^{k^{(i)}-\ell} \prod_{\rho=1}^{t} \gamma_0^{(i)} \left\{ \gamma_t^{(i)} \right\}^{-1} \left\{ \gamma_{H^+} \right\}^{-t} K_{d,\ell+\rho}^{(i)} 10^{t \cdot pH}} \quad , \qquad (6)$$

amelyben

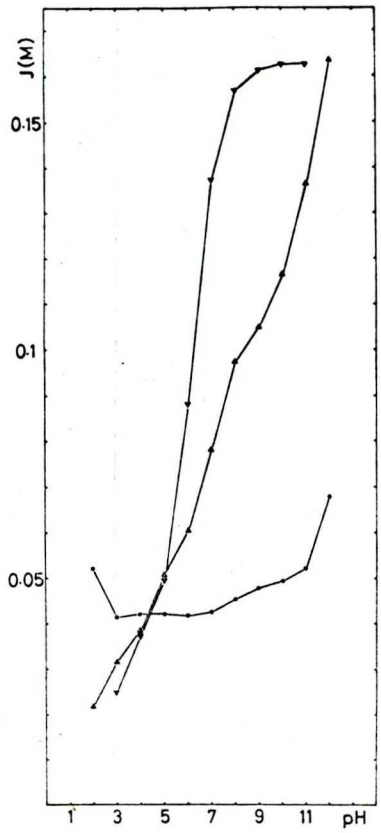
$$K_{d,\ell}^{(i)} = \frac{\gamma_{H^+} c_{H^+} \gamma_{\ell}^{(i)} c_{\ell}^{(i)}}{\gamma_{\ell-1}^{(i)} c_{\ell-1}^{(i)}} \quad . \qquad (7)$$

A fenti egyenletekben $K_{d,\ell}^{(i)}$ az i-dik anyag ℓ-dik disszociációállandója, c_{H^+} és γ_{H^+} a H^+ koncentrációja és aktivitási együtthatója, $c_{\ell}^{(i)}$, $\gamma_{\ell}^{(i)}$ és $z_{\ell}^{(i)}$ az i-dik anyag ℓ-dik disszociációja során keletkezett anion koncentrációja, aktivitási együtthatója és vegyértéke, $c^{(i)}$ az i-dik anyag bemért összkoncentrációja. A számitások eredményét a 22. ábrán mutatjuk be. Látható, hogy az ionerősség az univerzális puffer és a Britten-Robinson-féle puffer esetén kb. egy nagyságrendel nő mig a pH értéke lo-zel változik. Ugyanezen a pH-szakaszon a tris puffer ionerőssége állandónak mondható.

Amfoterionos pufferrendszerek esetén ehhez hasonló számitásokat nem tudtunk végezni, mivel nem álltak rendelkezésünkre az egyes anyagok különböző H^+-affinitású csoportjainak disszociációállandói, csupán az anyagok pK értékeit ismertők; ez pedig, mint az ismeretes, csak a két különböző H^+-affinitású csoport disszociációállandóinak szorzetát határozza meg amfoterionok esetén a következő egyenlet szerint:

$$pK = -\lg \sqrt{K_{d,1} \cdot K_{d,2}} \quad , \qquad (8)$$

ahol $K_{d,1}$ és $K_{d,2}$ a két ismeretlen disszociációállandó.



22. ábra

Az univerzális puffer /▽/, a Britten-Robinson-féle puffer /△/ és a tris puffer /○/ ionerősségének pH-függése.

5.4. Görbeillesztés és kiértékelés

A BLM-ek ellenállásának a pufferoldatok H^+ koncentrációitól való függését kétszer logaritmikus koordinátarendszerben ábrázoltuk. A kapott mérési pontokhoz a görbeillesztés úgy történt, hogy a diszkusszióban megadott empirikus egyenletbe behelyette-

sitettük a kisérleti eredmények alapján leolvasható pH_1, pH_2 és R_m^o értékeket és ezek nagyságát addig változtattuk, mig a számitott értékek és a mérési pontok közötti különbség minimális nem lett /azaz a változás már 1o %-on belül maradt/.

A mérési eredmények számtani átlagát /$\bar{x}$ / és a standard deviációkat /δ / a Wang 6oo tipusú kalkulátor egy beépitett programmja segitségével számitottuk ki az alábbi egyenletek felhasználásával:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{m} x_i}{m} \quad ,$$

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{m} x_i^2 - m\bar{x}^2}{m-1}} \quad ,$$

ahol m a mérések számát, x_i pedig az i-dik mérés eredményét jelenti.

6. DISZKUSSZIÓ

6.1. A BLM-en keresztüli töltéstranszport problémái

Ismeretes, hogy egy l hosszúságú, F keresztmetszetü anyag egyenáramú ellenállása /R/ a következő egyenlet segitségével adható meg

$$R = \frac{l}{F}\left[e_o \sum_{i=1}^{r} z_i \mu_i n_i\right]^{-1} \qquad (9)$$

ahol z_i, μ_i és n_i az i-dik féle töltéshordozó töltése, mozgékonysága és koncentrációja az adott anyagban, r pedig megmutatja, hányféle töltéshordozó van a rendszerben. Ha valamilyen külső hatás következtében megváltozik a rendszerünk ellenállása, a változás oka lehet

- a geometriának /l , F /,
- a töltéshordozók töltésének /z_i/,
- a töltéshordozók mozgási viszonyainak /μ_i/
- és a töltéshordozók koncentrációjának /n_i/ megváltozása.

Az elektroli/BLM/elektrolit rendszerben a BLM-nek van általában a legnagyobb egyenáramú ellenállása, igy az ilyen rendszerekben mérhető ellenállás-változás oka a BLM ellenállásának megváltozása. A BLM-eken történő elektromos méréseknél az egyenáramú ellenállást befolyásoló tényezők /perturbáló hatások/ a külső elektromos tér és az ionkoncentráció. Könnyü belátni, hogy ezek hatására nem következhetett be olyan mértékü geomet-

riai változás a BLM-ben, amelynek alapján meg lehetne magyarázni a több nagyságrendü ellenállás-változást. Tudjuk, hogy a BLM-ek környezetében uralkodó potenciálviszonyok nem elegendőek a töltéshordozók valencia-állapotának megváltoztatásához. A töltéshordozók mozgási viszonyai azonban valószinüleg megváltoznak, ha változtatjuk az ionkoncentrációt /a mi esetünkben most a H^+ ill. az OH^- koncentrációt/, hiszen ez szerkezeti változásokat is okozhat; ezen szerkezeti változások tükröződhetnek pl. a BLM-ek átmeneti hőmérsékletének pH-függésében. Ezen momentum igen érdekes lehet olyan membránok /a membrán és a BLM szavakat az elkövetkezendőkben szinonimákként használjuk/ esetén, ahol az áramvezetést az ún. kink-elmélet alapján /44, 62, 63, 64/ lehet értelmezni.

Az elektrolitok ionkoncentrációjának növekedésével párhuzamosan nő a BLM-ben lévő töltéshordozók /ha azok ionikusak/ koncentrációja is. Nem elképzelhetetlen, hogy az esetleges szerkezetváltozások következtében a töltéshordozók lokális koncentrációja a BLM-ben megnő. Egy további lehetséges ok a membránon belüli töltéshordozó koncentráció megváltozására az injektáló mechanizmusnak a megváltozása.

Azt mondhatjuk tehát, hogy az ellenállás-változás okát a töltéshordozók koncentráció- és mozgásviszonyainak megváltozásában érdemes keresni.

Ha a töltéshordozónk ion, hogyan juthat az be a BLM-be?

6.2. A töltéstranszport elemi lépései

Mint az irodalmi áttekintésben már láttuk, általánosan elfogadott az a feltevés, hogy a nem módositott BLM-ek egyenáramú ellenállásának pH-függésére kapott kisérleti eredmények a H^+ és az OH^- -ok együttes transzportjával megmagyarázhatók.

Nézzük meg pontosabban, milyen elemi mozzanatokat tartalmaz ez az elképzelés, egyáltalán milyen problémák merülnek fel az ionoknak vizes oldat/szénhidrogén határfelületen történő áthaladásakor.

6.2.1. Iontranszport a klasszikus fizika törvényei alapján

Ha ionikus vezetést tételezünk fel egy elektrolit/BLM/elektrolit rendszerben, akkor az ionoknak be kell jutniók a BLM-be, azaz egy szénhidrogén fázisba. A töltéstranszport ezen lépése során az ionok környezetében uralkodó dielektromos viszonyokban óriási változás következik be. Ha mind a vizes oldatot, melynek dielektromos állandója kb. 8o ε_o/ ε_o a vákuum dielektromos állandója/, mind a szénhidrogén fázist /ε =2,5 ε_o/ egy-egy végtelen, homogén, kontinuum közegnek tekintjük, akkor a Függelék A/ szerint egy r =1,5 Å sugarú ionnak /mint amilyen az OH^- és a H_3O^+ - a protonnak ez a leggyakoribb formája a vizes oldatokban/ 1,8 eV, azaz kb. 7o kT energia szükséges a határfelületen való átjutáshoz. Amennyiben az ionok energia szerinti el-

oszlását a Boltzmann statisztika irja le mindkét fázisban, akkor a két fázis közti ún. megoszlási hányados értéke /γ/

$$\gamma \approx 10^{-30} .$$

Ilyen kicsi megoszlási hányados segitségével - mint azt később részletesen is látni fogjuk - nem lehet megmagyarázni a mérések során kapott ellenállás-értékeket.

A BLM azonban nem tekinthető egy végtelen, homogén fázisnak, igy az előzőekben alkalmazott közelitést a reális viszonyoknak jobban megfelelővel kell felváltani. Läuger és munkatársai /36, 48/ az előzőekben alkalmazott, a Born féle elektrosztatikus energián alapuló elméletet azzal módositották, hogy figyelembe vették elméletükben az ún. tükörképerőket is /lásd a Függelék A/ fejezetet/, amelyek az ionok belépéséhez szükséges energiát /a továbbiakban belépési energia/ valamelyest csökkentik.

Parsegian /54/ részletesen megvizsgálta azokat a lehetőségeket, amelyek csökkenteni tudják a belépési energia nagyságát. Megállapitotta, hogy a BLM véges méreteinek figyelembe vétele csak kb 4 %-kal csökkenti az általunk az előzőekben 7o kT-re becsült belépési energiát. Parsegian eredménye jó egyezésben van Läugerék számitásaival.

Ha feltesszük, hogy a penetráló ion a BLM felületénél kölcsönhatásba lép egy olyan molekulával, amely átviszi őt a BLM egyik oldaláról a másikra, ott ledisszociálva erről a molekuláról az ion oldatba megy, mig a szállitó molekula visszamarad a BLM-ben /ez az ún. carrier mechanizmus/, akkor az energia-

csökkenés - Parsegian szerint /54/ - kb. 4o %-os, tehát már elég jelentős. A hordozó /carrier/ mechanizmussal a későbbiekben még foglalkozunk.

A legjelentősebb, kb. 85 %-os energia-csökkenést azonban akkor kapjuk, ha a töltéshordozók vizzel teli, hidrofil tulajdonságú pórusokon keresztül jutnak el a BLM egyik oldaláról a másikra. A pórusokon keresztüli diffúzió során az ionok megtarthatják elsődleges hidrátburkukat is, mivel a pórusok mérete ezt lehetővé teszi. Ez a megállapitás azért jelentős, mert az egyvegyértékü kationok hidratációs energiája 3-4 eV /Tredgold /67//; ekkora energia-befektetés szükséges ezen ionok dehidratálásához. Ez az energia szintén nem áll az ionok rendelkezésére az elektrolit/BLM határfelületnél.

Meg kell jegyeznünk, hogy, sajnos, a pórusok kialakulása során fellépő elektrosztatikus erőhatások nagymértékben csökkentik a BLM stabilitását.

Összefoglalva azt mondhatjuk tehát, hogy a klasszikus fizika törvényei alapján a membránokon keresztül kialakult pórusokban történő diffúziós töltéstranszport a legkedvezőbb energetikailag az iontranszport szempontjából. Jelentősen csökken még a belépési energia az ionok hordozó mechanizmussal történő töltéstranszportja során.

6.2.2. Transzport-lehetőségek a kvantummechanika törvényei alapján

Kétféle mechanizmus is ismeretes az elektronikus töltéshordozóknak /elektronoknak és lyukaknak/ szénhidrogén rendszerekben történő mozgására; a töltésugrás /vagy hopping/ és az alagút effektusos /vagy tunnelling/ mechanizmus /27/. Christov /7, 8/ megmutatta, hogy mobilis töltéshordozókat tartalmazó bármilyen redszer esetén egy több paramétertől függő kritikus hőmérséklet felett a hopping mechanizmussal, az alatt a tunnelling mechanizmussal történő töltéshordozó-mozgás a valószinübb. Christov számitásai alapján Gutmann megmutatta /22/, hogy a protonok tunnelling mechanizmussal történő mozgása csak igen speciális esetekben és igen rővid távolságokra lehetséges; ezzel szemben az elektronok tunnelling-gel történő mozgása a biológiai szervezetekben és a modellmembrán rendszerekben egyaránt valószinünek látszik. Minthogy a lyukak /"hiányelektronok"/ sok szempontból az elektronokhoz igen hasonlóan viselkednek, nem elképzelhetetlen ezen töltéshordozóknak a jelenléte és kvantummechanikai mozgása a bio- és modellmembrán rendszerekben.

A protonoknál nagyobb tömegü és a protonok méreteinél nagyságrendekkel nagyobb kiterjedésü ionoknál a kvantummechanikai mozgásokhoz igen nagy energiákra lenne szükség; a kationok és az anionok hopping vagy tunnelling mechanizmusú mozgása nem valószinü a biológiai és modellmembrán rendszerekben.

6.2.3. Kiegészitő megjegyzések

Tien szerint a módositatlan BLM-eknek a desztillált vizben mérhető kb. 10^{10} ohm.cm^2 nagyságrendü ellenállása a következőképpen magyarázható /61/. Ismeretes, hogy 35 °C-on 1000 ml n-hexadekán 6,4 x 10^{-2} g vizet képes feloldani. Ha feltesszük, hogy a viz disszociációállandója a BLM-ekben ugyanakkora mint a vizben, akkor a vizmolekulák disszociációjából keletkező H^+ és OH^- -ok résztvehetnek a BLM-eken keresztüli töltéstranszportban. Ezen elgondolás alapján számitott BLM-ellenállás értéke 10^{10} ohm.cm^2 nagyságrendünek adódik. Az eltávozott töltéshordozók pótlása újabb vizmolekulák disszociációjával, a vizmolekulák számának telitettségi értéken való tartása pedig egyszerü diffúzióval történik a membránokban.

Az a feltételezés, hogy a viz disszociációállandója a szénhidrogén környezetben /$\varepsilon \approx 2{,}5\varepsilon_0$/ ugyanakkora mint a vizes közegben /$\varepsilon \approx 80\varepsilon_0$/ alapvetően kérdéses. Hig oldatokra ugyanis a disszociációállandó értéke /K_d/

$$K_d = \frac{\alpha^2}{1-\alpha}\frac{1}{v} \quad ,$$

ahol v a higitás, α pedig az anyag disszociációfoka. A disszociációfok azonban függ a közegnek a disszociálandó molekulákra kifejtett elektrosztatikus hatásától, azaz a dielektromos állandótól. Ilyen szempontból pedig nem lehet azonosnak tekinteni a vizes oldatokat és a szénhidrogén fázisokat.

A differenciális ellenállás áramerősség-függése /11. és 12. ábra/ alapján látható, hogy méréseink során nem értünk el egy olyan állapotot, amelyben a feszültség növelésekor az áramerősség értéke nem változik. Ez alapján azt mondhatjuk, hogy - ha az elektromos töltéshordozók keletkezésétől eltekintünk - a töltéshordozók mozgását a diffúzió nem limitálta, a töltéshordozók mozgásában telitési jelenség nem következett be. Ha elektromos töltéshordozó forrásokat is megengedünk, akkor arra a következtetésre juthatunk, hogy a töltéshordozók forráserőssége nagyobb volt az általunk mért áramerősség értékeknél.

Röviden összefoglalva az eddig elmondottakat a következőket emelnénk ki.

- Az elektrolit/BLM/elektrolit rendszer egyenáramú ellenállása megváltozásának taglalásakor rámutattunk arra, hogy ez a változás legvalószinübben a BLM-en belüli elektromos töltéshordozók koncentrációinak, esetleg a töltéshordozók mozgási viszonyainak megváltozására vezethető vissza.
- Az ionok /a proton kivételével/ csak a klasszikus fizika törvényeinek megfelelően transzportálódhatnak. Ha a kapott kisérleti eredményeket ionok mozgásával akarjuk értelmezni, fel kell tételeznünk, hogy az ionoknak az elektrolitból a BLM-be való bejutásához szükséges belépési energiát valamilyen mechanizmus lecsökkenti. Megemlitettük, hogy a csökkenés a hidrofil tulajdonságú pórusokon keresztüli diffúzió esetén a legnagyobb,

és jelentős az ionok hordozó mechanizmussal történő transzportjánál.

- Az elektronikus töltéshordozók /elektronok és lyukak/ az ún. hopping- ill. tunnelling mechanizmus szerint is transzportálódhatnak mind a biológiai mind a modellmembrán rendszerekben. A protonok tunnelling-gel történő mozgása csak igen speciális esetekben és igen kis távolságokra valószinü.

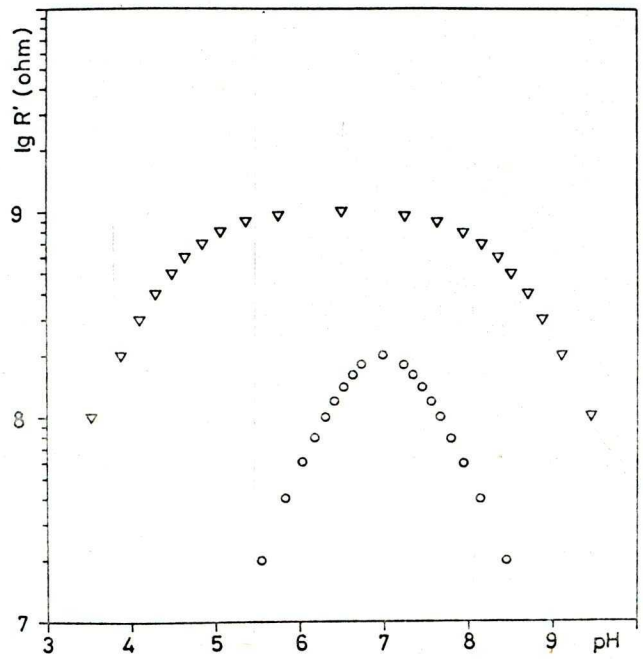
6.3. A BLM-ellenállás pH-függését leiró empirikus egyenlet

Ha jól megfigyeljük a BLM-ek ellenállásának pH-függésére kapott kisérleti eredményeket, akkor észrevehetjük, hogy a mérési adatok alapján felrajzolt görbék egy, a semleges pH-hoz közeli pH-értékre nézve közel szimmetrikusak. Ebből arra következtethetünk, hogy a H^+ és az OH^- -oknak igen hasonló szerepet kell játszaniók a BLM-ellenállás kialakitásában. Ez matematikailag azt jelenti, hogy a BLM-ellenállás pH-függését leiró egyenletben teljesen egyenrangú szerpet kell kapnia a pH-nak és a "pOH"-nak. A kisérleti eredmények leirására -néhány próbálkozás után - a következő empirikus egyenletet kaptuk:

$$\lg R_m = \lg R_m^o - \lg\left(1 + 10^{\rho H_1 - \rho H} + 10^{\rho H - \rho H_2}\right), \qquad (10)$$

ahol pH_1, pH_2 és R_m^o a 13. - 18. ábrákon megadott paraméterek. A 23. ábrán a (10) empirikus egyenlet segitségével kiszámitott tipikus $\lg R_m$-pH görbéket mutatunk be.

A következő fejezetekben megnézzük, milyen összefüggések adódnak a nem módositott BLM-ek ellenállásának pH-függésére az eddig kidolgozott transzportelméletek alapján.



23. ábra

A BLM-ellenállás logaritmusának pH-függése a (10) empirikus egyenlet alapján. A kiszámitásnál használt paraméterek értékei:

▽ - pH_1=4,5 , pH_2=8,5 és R_m^o=10^9 ohm;

○ - pH_1=5 , pH_2=5 és R_m^o=2 x 10^8 ohm.

6.4. Mérési eredményeink a transzport mechanizmusok tükrében

Töltéshordozók modellmembránokon keresztüli passziv transzportjának értelmezésére több elméletet is kidolgoztak már. Ezen elméletek két nagy csoportba sorolhatók; az egyik csoportba tartozó elméletek szerint ionikus a másikba tartozók szerint elektronikus jellegü töltéshordozók közvetitik az áramot a BLM két oldala között

6.4.1. Ionikus töltéstranszport modellek

Az ionikus töltéstranszport modellek további két nagy csoportba oszthatók; 1. az ún. hordozó /carrier/ mechanizmusok és 2. az elektrodiffúziós mechanizmusok.

A hordozó mechanizmus szerint a töltéstranszportot közvetitő ionok valamilyen "másik", a BLM-ben jól oldódó molekula segitségével lépik át az elektrolit/BLM határfelületet, ill. az az ún. hordozó molekulák vagy a membránokban hordozóknak tekinthető diszlokációk közremüködésével jutnak át a BLM egyik oldaláról a másikra /6, 9, 12, 28, 35, 4o, 41, 42, 43/. Valamennyi hordozó mechanizmusú elmélet olyan végeredményre jut, hogy - konstans hordozó molekula ill. diszlokáció koncentrációt feltételezve a BLM-ekben - a membránok ellenállásának az oldatok azon ionkoncentrációjától való függése, amelyek a töltéstransz-

portban résztvesznek, egy minimummal rendelkező görbe. A hordozó mechanizmusú elméletek alapján tehát az oxidált koleszterin BLM-ek ellenállásának pH-függését értelmezni nem tudjuk, mivel az elméletek a kisérleti eredményekkel ellentétes végkövetkeztetésre jutnak.

Az elektrodiffúziós elméletekben a töltéshordozók kizárólag az elektrokémiai potenciálkülönbség hatására mozognak mind az elektrolitokban mind a BLM-ekben /2o, 36, 43, 49, 75, 76/. Ezek az elméletek a BLM-ellenállás pH-függésére a kisérleti eredményekkel elég jó összhangban lévő végformulákat szolgáltatnak.

A következő fejezetben megvizsgáljuk a Debye-Hückel-Onsager elmélet alkalmazhatóságának lehetőségét a BLM-ek iontranszportja esetén, majd részletesen tárgyaljuk az ún. elektrodiffúziós elméletet.

6.4.1.1. A Debye-Hückel-Onsager elmélet alkalmazása

Tudjuk, hogy a BLM-ek és az elektrolitok közötti ionmegoszlási hányadosok értéke igen kicsi. Ennek következtében a BLM-ekben lévő mobilis ionkoncentrációk alacsonyak. Jogosan vetődik fel a kérdés, vajon a BLM-ek ionvezetés szempontjából hig elektrolitoknak tekinthetők-e, érvényes-e a Debye-Hückel-Onsager elmélet /a továbbiákban DHO elmélet; /14// a BLM-ek iontranszportjára is.

A kérdés megválaszolását a kisérleti eredményein tükrében adjuk meg. Emlitettük, hogy a BLM-ek ellenállásának pH-függé-

sét a H^+ és az OH^- -ok együttes transzportjával próbálták magyarázni. Nézzük meg, a DHO elmélet alapján milyen végeredményre jutunk, ha ebből a feltevésből indulunk ki.

Tegyük fel, hogy az elektrolitból a BLM-be csak a H^+ és az OH^- -ok tudnak "beoldódni". A DHO elmélet szerint ezen ionok ekvivalens vezetőképessége $/\Lambda_{c_i}/$ adott külső ionkoncentráción $/ c_i /$ a következő egyenletekkel adható meg /14/:

$$\Lambda_{c_{H^+}} = \Lambda_{o1} - L_1 \sqrt{c_{H^+} \gamma_{H^+}} \quad , \qquad (11)$$

$$\Lambda_{c_{OH^-}} = \Lambda_{o2} - L_2 \sqrt{c_{OH^-} \gamma_{OH^-}} \quad , \qquad (12)$$

ahol Λ_{o1} és Λ_{o2} a H^+ és az OH^- -ok végtelen higitásakor a BLM-fázisban mérhető ekvivalens vezetőképességek, L_1 és L_2 az elméletből adódó állandók, γ_{H^+} és γ_{OH^-} a H^+ és az OH^- -ok megoszlási hányadosai. Minthogy az ekvivalens vezetőképesség a fajlagos vezetőképesség $/\varkappa/$ és az ionkoncentráció hányadosa, a BLM ellenállására a következő egyenlet adódik:

$$R_m = \frac{1}{F(\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2})} \left\{ 1 - \frac{L_1 \gamma_{H^+}^{\frac{3}{2}} 10^{-\frac{3}{2}pH}}{\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2}} - \frac{L_2 \gamma_{OH^-}^{\frac{3}{2}} K_v^{\frac{3}{2}} 10^{\frac{3}{2}pH}}{\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2}} \right\}^{-1} , \qquad (13)$$

amelynek a logaritmált alakja:

$$\lg R_m = \lg C_1 - \lg \left(1 - A_1 10^{-\frac{3}{2}pH} - B_1 K_v^{\frac{3}{2}} 10^{\frac{3}{2}pH} \right) , \qquad (14)$$

ahol

$$C_1 = \frac{1}{F(\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2})} , \quad A_1 = \frac{L_1 \gamma_{H^+}^{\frac{3}{2}}}{\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2}} , \quad B_1 = \frac{L_2 \gamma_{OH^-}^{\frac{3}{2}}}{\varkappa_{o1} + \varkappa_{o2}} ,$$

továbbá l és F a BLM vastagsága és felülete, $\varkappa_{o1}$ és $\varkappa_{o2}$ a BLM fajlagos vezetőképessége a H^+ és az OH^- -okra, $c_{H^+}=1o^{-pH}$, $c_{H^+} \cdot c_{OH^-}=K_v$.

A (14) egyenlet matematikai analizise alapján a következőket mondhatjuk. A (14) egyenlettel leirt görbe nincs a $-\infty < pH < \infty$ tengely valamennyi értékén értelmezve. Az $1 > 4A_1B_1K_v^{3/2}$ egyelőtlenség teljesülése esetén - ez az egyenlőtlenség valószinüleg mindig teljesül az elektrolitok esetén - a függvénynek két szakadási helye van és a szakadási helyek között egy minimummal rendelkezik. A (14) egyenlet alapján felrajzolható görbe tehát a semleges pH körüli pH-tartományban egy minimumot ad a lgR_m-pH sikban, ami a kisérleti eredményekkel ellentétben áll.

Más BLM-eken és más fürdetőoldatokban végzett mérésekből is tudjuk, hogy az ionkoncentráció növekedése a nem módositott BLM-ek vezetőképességének növekedéséhez vezet /4, 61/, amely tapasztalat szintén ellentétben áll a DHO elmélet alapján mondható következtetésekkel.

Felvetődik a kérdés, mi az oka annak, hogy a BLM-eken keresztüli iontranszportra nem érvényes a DHO elmélet, illetve annak vegkövetkeztetései. Tudjuk, hogy a BLM-ek dielektromos állandója és a BLM-ekben lévő ionkoncentrációk sokkal kisebbek, mint az elektrolitok megfelelő adatai. A BLM-ek vastagsága nagyságrendekkel kisebb mint a felsorolt adatok segitségével a BLM fázisra kiszámitható ún. Debye-hossz, vagy ionatmoszféra sugár. Ilyen körülmények között természetesen ki sem tud ala-

kulni az az ionatmoszféra, amely aztán gátolná az őt létrehozó ion mozgását. Ez az ionatmoszféra sarkalatos szerepet játszik a DHO elméletben. Mindez azt jelenti, hogy a BLM-ek esetén nem teljesülnek a DHO elmélet alapfeltevései, azaz a BLM-ek nem is tekinthetők hig elektrolitoknak. Valószinüleg nem közömbös az a tényező sem, hogy a BLM-ek belsejében az elektromos térerősség nagyságrendekkel nagyobb lehet az elektrolitokban szokásosan uralkodó térerősségeknél.

6.4.1.2. Az elektrodiffúziós elmélet alkalmazása

Tegyük fel - az előzőekhez hasonlóan - , hogy a BLM-en keresztüli áramvezetést a H^+ /ill. H_3O^+/ és az OH^- -ok okozzák. A további, az elektrodiffúzios elmélet keretei közt teendő meggondolásainkhoz feltesszük /36, 69/, hogy

- csak a H^+ ill. az OH^- -ok képesek a BLM-be behatolni és azon keresztülhaladni,
- a két ion transzportja egymástól teljesen függetlenül zajlik le, azaz a köztük meglévő valamennyi kölcsönhatástól eltekintünk, az egyenleteinkben az egymás kölcsönhatására utaló csatoló tagok nem szerepelnek,
- a BLM-et körülvevő elektrolitok összionkoncentrációja elég magas ahhoz, hogy az általunk vizsgált feszültségen /U_m= =1o mV/ az ioninjekció hatását /lásd a Függelék C/-t/ elhanyagolhassuk,
- a BLM-ben az ionkoncentrációk olyan alacsonyak, hogy az ún.

konstans-tér-közelitést lehet alkalmazni /lásd a Függelék E/ fejezetet/

- az ionok lipid/vizes fázis közötti megoszlási hányadosai és BLM-beli diffúzióállandói csak a membrán anyagától függenek.

Legyen a BLM vastagsága l, felülete F, a külső feszültségforrásból a BLM-re adott potenciálkülönbség U. Az elektrodiffúziós elmélet szerint /36/ az ionok az elektrokémiai potenciálkülönbség hatására elmozdulnak; az i-dik töltéshordizó mozgásából származó áramerősség a következő egyenlettel adható meg:

$$I_i = \frac{z_i e_o c_i D_i F}{kT} \left[\frac{kT}{c_i} \frac{dc_i}{dx} + z_i e_o \frac{d\psi}{dx} \right] , \qquad (15)$$

ahol az i index a H^+ és az OH^- -okat jelenti, z_i, c_i és D_i az i-dik ion vegyértéke, koncentrációja és diffúzióállandója a BLM-ben, e_o az elemi töltés, k a Boltzmann állandó, T az abszolut hőmérséklet, ψ a potenciálfüggvény a BLM-ben. A konstans-tér-közelités azt jelenti /2o/, hogy a feszültség egyenletesen esik a BLM-ben, azaz az elektromos térerősség a BLM-ben állandó;

$$\frac{d\psi}{dx} = \frac{U}{l} . \qquad (16)$$

Figyelembe véve a (16) egyenletet az i-dik töltéshordozó-fajta mozgásából származó áramerősség értéke a (15) egyenlet integrálása után;

$$I_i = \frac{z_i^2 e_o^2 D_i F}{l\,k\,T} U \frac{c_i' - c_i'' \exp\left(-\frac{z_i e_o}{kT} U\right)}{1 - \exp\left(-\frac{z_i e_o}{kT} U\right)} \quad , \qquad (17)$$

ahol c_i' és c_i'' a BLM két oldalán, de már a BLM-ben vett ionkoncentrációkat jelentik. Szimmetrikus elektrolitrendszer esetén

$$c_i' = c_i'' = c_i^m = \gamma_i c_i^o \quad , \qquad (18)$$

ahol γ_i és c_i^o az i-dik ionfajta megoszlási hányadosa és a vizes oldat beli összionkoncentrációja. Ezeket az értékeket behelyettesitve a (17) egyenletbe, összegezve a két ionfajta /a H^+ és az OH^-/ mozgásából származó áramerősségeket, majd véve a feszültség és az áramerősség hányadosát, a membrán-ellenállás kifejezésére a következő egyenletet kapjuk:

$$R_m = \frac{l\,k\,T}{e_o^2 F} \left[\sum_i z_i^2 D_i \gamma_i c_i^o \right]^{-1} \quad . \qquad (19)$$

Minthogy a H^+ és az OH^- -ok esetén $z_i^2 = 1$, továbbá $c^o_{H^+} \cdot c^o_{OH^-} = K_v$ és $c^o_{H^+} = 10^{-pH}$, az ellenállás pH-függését leiró egyenlet logaritmált alakja

$$\lg R_m = \lg C_2 - \lg \left[A_2 10^{-pH} + B_2 K_v 10^{pH} \right] \quad , \qquad (20)$$

ahol

$$C_2 = \frac{l\,k\,T}{e_o^2 F} \quad ,$$

$$A_2 = D_{H^+} \gamma_{H^+} \quad ,$$

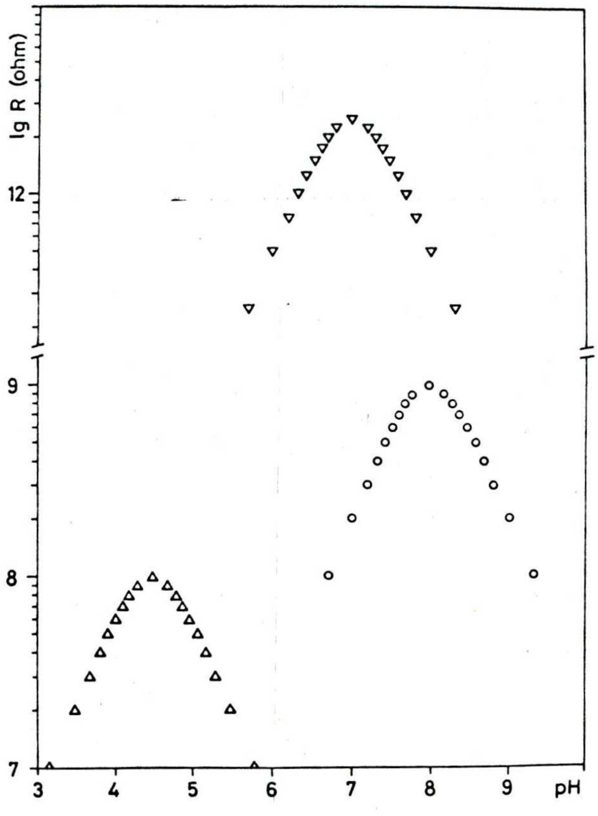
$$B_2 = D_{OH^-} \gamma_{OH^-} \quad .$$

A (20) egyenlet matematikai analizise /lásd a Függelék G/ fejezetet/ alapján a következőket mondhatjuk:

1. A (20) egyenlet a lgR_m-pH sikban fekvő, folytonos, szimmetrikus, egy darab maximummal rendelkező görbét ir le, amely az alacsony és a magas pH-kon aszimptotikusan közeledik egy +1 ill. egy -1 meredekségü egyeneshez /24. ábra/.
2. Minthogy l és F függetlenek a pH-tól, a görbe helyét kizárólag a $D_i \gamma_i$ szorzatok határozzák meg /lásd a 24. ábrát/. Mivel feltettük, hogy a D_i és a γ_i csak a membrán anyagától függ, valamennyi pufferoldat esetén, az egy és ugyanazon összetételü BLM-en történt méréseknek teljesen azonos lgR_m-pH görbéket kellett volna adniók - amennyiben az elektrodiffúziós elmélet irja le helyesen az ionok transzportját. Az eddig bemutatott 13. - 18. ábrákon látott görbékről ez nem mondható el; különösen nagy különbségek adódtak a semleges pH körüli "plató" hosszaiban, ami a kisérletek alapján pufferfüggőnek is tünt.
3. Amennyiben a BLM geometriai adatai pH-függetlenek , akkor a

$$\frac{lkT}{e_o^2 F}$$

kifejezés kizárólag állandókat tartalmaz és értéke /lásd a Függelék G/-t / $2{,}5 \times 10^{14}$ $VA^{-1}m^{-1}s^{-1}$. A kisérleti eredmények alapján megrajzolt ábrákon és a 3. táblázatban egyaránt megadott pH_1, pH_2 és R_m^o kisérleti paraméterek segitségével ki tudjuk fejezni az A_2 és B_2 elméleti konstansokat a követ-



24. ábra

A(20) egyenlet alapján, különböző paraméterek segitségével kiszámitott lgR_m-pH görbék. Az egyes görbékhez tartozó paraméterek értékei: △ - $R_{m,max}=1o^8$ ohm, $A_2=6,56 \times 1o^{-12}$ cm^2s^{-1}, $B_2=6,56 \times 1o^{-7}$ cm^2s^{-1}; ○ - $R_{m,max}=1o^9$ ohm, $A_2=2,o8 \times 1o^{-1o}$ cm^2s^{-1}, $B_2=2,o8 \times 1o^{-12}$ cm^2s^{-1}; ▽ - $R_{m,max}=2,5 \times 1o^{12}$ ohm, $A_2=B_2=2,o8 \times 1o^{-12}$ cm^2s^{-1}.

SZEGED

3. táblázat

A pufferoldatok nevei	A pufferoldatok müködési tartománya	R_m^o /ohm/	pH_1	pH_2
1. univerzális	3,4 - lo,3	2,1 x lo^9	4,3	8,4
2. Britten-Robinson	2 - 12	6 x lo^7	3	lo
3. tris	1 - 13	3 x lo^9	4,3	lo,6
4. MES:MES-Na	3,5 - 7,5	2,1 x lo^9	4,3	8
5. TES:TES-Na	4,5 - 9,75	4,6 x lo^9	4,5/?/	9,5/?/
6. MES:tris	3,3 - 9,35	2,4 x lo^9	3/?/	lo/?/

A /?/-ek arra utalnak, hogy ezekben az esetekben a kisérleti eredmények nem voltak elegendőek ahhoz, hogy a pH_1 és pH_2 értékeket pontosan meghatározzuk.

kező egyenletek segitségével:

$$\lg A_2 = \lg C_2 - \lg 2R_m^o + 0{,}5\left[pH_1 + pH_2\right] \quad , \qquad (21)$$

$$\lg B_2 = \lg C_2 - \lg 2R_m^o - 0{,}5\left[pH_1 + pH_2\right] - \lg K_v \quad . \qquad (22)$$

Ha a kisérleti paraméterek /pH_1, pH_2 és R_m^o/ behelyettesitjük a fenti egyenletekbe, akkor a $D_i\gamma_i$ szorzatokra /A_2 és B_2/ 10^{-9} - - 10^{-11} cm^2s^{-1} nagyságú értékeket kapunk. A D_i -k az eddig végzett mérések szerint /19/ mind alkáli kationokra mind halogén anionokra 10^{-6} cm^2s^{-1} nagyságrendünek adódott. Feltételezve, hogy a H^+ és az OH^- -okra is hasonló értékeket kapnánk, a szorzatok ismeretében a γ_i -kre becslést adhatunk; ez 10^{-3}-10^{-5} értékeknek adódik. Parsegian szerint /54/, amennyiben az ionok pórusokon keresztül transzportálódnak, a belépési energia az eredeti 15 %-át tszi ki, igy az ionok elektrolit/BLM közötti korábban 10^{-3o} körüli értékre becsült megoszlási hányadosai 10^{-6}-ra csökkennek. Ezen utóbbi mennyiség valamivel kisebb a mérési eredményeinkből megadott értékkorlátoknál.

Az elmondottak és a 24. ábra alapján úgy tünik, hogy a H^+ és az OH^- -ok együttes transzportjával a kisérleti eredményeket kvantitative maradéktalanul megmagyarázni nem lehet. A kapott összefüggések jól irják le a BLM-ek ellenállásának pH-függését a savas és a lúgos pH-értékeken, de nem tudnak választ adni arra, mi okozza azt, hogy a semleges pH-érték körüli hosszabb-rövidebb pH-szakaszon a BLM ellenállása gyakorlatilag állandónak tekinthető és a kisérletek alapján pufferoldattól való függést is mutat.

6.4.1.3. A Na^+ transzportjának lehetősége

A 2. táblázatban megadtuk az általunk használt pufferrendszerek pontos összetételét. Jól látható, hogy az oldatok, bizonyos pH-érték felett, már nemcsak egyvegyértékü ionokat hanem kétsőt háromvegyértékü anionokat is tartalmaznak. Valamennyi esetben azonban csak a H^+ és az OH^- -ok a közösek. A MES:tris pufferoldat kivételével mindegyik pufferrendszerünk tartalmazza a Na^+-t. Mivel a Na^+ koncentrációja nagyságrendekkel magasabb a semleges pH körüli pH-tartományban, felmerülhet a kérdés, nem vesz-e részt a Na^+ is a töltéstranszportban és a kisérletek során adódott "plató" nem az ő vezetésének tulajdonitható-e.

A kérdésre a választ Na^+ izotópos mérések elvégzése után lehetne megadni. Mivel ilyen mérések nem állanak rendelkezésünkre csak feltételesen helyezkedhetünk nemleges válaszra, amelynek hátterében az áll, hogy desztillált vizben és igen kis koncentrációjú elektrolitokban is hasonló nagyságrendü ellenállást tudunk kimérni oxidált koleszterin BLM-eken mint a Na^+ iont kb. 10^{-1} M-nyi mennyiségben tartalmazó , általunk felhasznált pufferoldatokban.

6.4.2. Elektronikus töltéstranszport modellek; a BLM sajátvezetése

Mig az ionikus töltéstranszportra már számos, általánosnak tekinthető modellt kidolgoztak, addig az elektronikus töltés-

transzport elképzelések vagy egy-egy konkrét rendszerhez /pl. a BLM-ellenállás I_2 és I^- -ok jelenlétekor /3o// kapcsolódnak vagy a szilárdtest fizika alapegyenleteit próbálják meg alkalmazni a mikroszkópikus méretü membránok esetén is /71/. Az utóbbi időben egyre gyakrabban lehet találkozni az irodalomban olyan kisérletekkel, amelyek - főleg lipid többszörös rétegeken /multilayer-eken/ végzett mérések alapján - azt próbálják bebizonyitani, hogy az ilyen lipid rétegekben elektronikus jellegü áramvezetés zajlik le /39, 71/. Uj szempontok figyelembevételével egy általánosnak tekinthető, egyenlőre azonban még fenomenológikus elméletet dolgoztak ki Karvaly és munkatársai /29, 3o, 31, 32, 58/, amelyben az elektronikus töltéshordozók keletkezésének és terjedésének a mechanizmusát is megadják. Elképzelésük szerint a BLM-et alkotó molekulák exciton állapotainak kölcsönhatása során elektronikus töltéshordozók /elektronok vagy lyukak/ keletkezhetnek, amelyek aztán az ún. hopping mechanizmussal mozognának a BLM-eken keresztül. Az elmélet kvantitativ megfogalmazása most van kidolgozás alatt. Ugy gondoljuk, hogy - elsősorban a nem módositott - BLM-ek esetén is jelentős szerepet kaphat az elektronikus töltéshordozók transzportja, hiszen a membránok felületénél vagy a határréteg közvetlen környezetében lejátszódó elektrokémiai, esetleg katalitikus reakciók végtermékeként ilyen jellegü töltéshordozók megjelenhetnek.

A 13. - 18. ábrákon látható, hogy a BLM-ek ellenállása a sem-

leges pH körüli pH-tartományban /a Britten-Robinson-féle puf-feroldatban mért értékek kivételével/ valamennyi esetben 10^9 ohm nagyságrendü. Hasonló, vagy egy-két nagyságrenddel alacsonyabb ellenállást kapunk igen hig elektrolitokban és desztillált vizben is /4, 61/ vagy más összetételü BLM-ek ellenállásának pH-függésére is a maximumérték közelében /55, 7o, 73/. Ezen ellenállásértékekből számitott vezetőképességi adatok /10^{-12}-10^{-14} $ohm^{-1}cm^{-1}$/ gyakorlatilag megegyeznek a szénhidrogének saját /intrinsic/ vezetőképességeivel /1/. Megalapozottnak latszik tehát az a feltevés, hogy a semleges pH körüli pH-tartományban a BLM-ek ellenállása az ő ún. saját ellenállása, azaz az áramvezetés elektronikus töltéshordozók mozgásának tulajdonitható. A töltéshordozók keletkezésére és terjedési mechanizmusára vonatkozóan jelenleg az előbbiekben ismertetett elképzelés az egyetlen a BLM-irodalomban /excitonállapotok kölcsönhatásából keletkezett elektronikus töltéshordozók hopping mechanizmus szerint mozognak a BLM-ekben/. A savas és a lúgos pH-tartományokon mért ellenállásértékek magyarázatára több lehetőség is adódik:

- Feltesszük, hogy az egész pH-intervallumban ugyanolyan tipusú töltésmozgás van a BLM-en keresztül mint a semleges pH környezetében, és az elektronikus töltéshordozók termelődését a pH befolyásolja.
- Feltesszük, hogy a BLM-eken keresztüli töltésmozgás a savas pH-tartományban a H^+ -ok, a lúgos pH-értékeken az OH^- -ok

transzportjával, az elektrodiffúziós elméletnél megismert módon, irható le, a semleges pH környezetében pedig a BLM sajátvezetése a domináló.

- Feltesszük, hogy a pH-nak szerkezetet módositó hatása van, s extrém alacsony és magas pH-értékeken a BLM - nem szükségképpen szelektiv - ionvezetővé válik, mig a semleges pH környezetében a BLM elektronikus vezetése érvényesül.

Látni fogjuk, hogy elvileg mindhárom fenti folyamat számitásba jöhet, de a rendelkezésre álló kisérleti adatok alapján nem lehet eldönteni, hogy a vázolt esetek közül ténylegesen melyik valósul meg.

6.4.2.1. Elektronikus vezetés

Ebben a fejezetben az előbb megadott három vezetési modell közül az elsővel foglalkozunk, azaz feltesszük, hogy az egész pH-tartományon elektronikus vezetés uralkodik a BLM-ben. A kisérleti görbék szimmetria tulajdonságai azt a lehetőséget sugallják, hogy a H^+ és az OH^- -oknak egészen hasonló szerepet kell játszaniók a BLM-en belüli elektronikus töltéshordozók koncentrációinak kialakitásában. Ezen gondolat alapján a töltéshordozók keletkezési mechanizmusát a következőképpen képzeljük el.

Tegyük fel, hogy a viz disszociációs termékei /a H^+ és az OH^- -ok/ katalizálják azt a reakciót - vagy annak a reakció-

sorozatnak az egyik lépését - amely az elektronikus töltéshordozókat "termeli" a BLM mindkét határfelületénél. Ilyen, ún. sav-bázis katalizis esetén, a töltéshordozók keletkezését leíró egyenletek a következők lesznek:

$$\frac{dn'}{dt} = k_o' c^{*'} \left[1 + \frac{k_1'}{k_o'} 10^{-pH'} + \frac{k_2'}{k_o'} K_v 10^{pH'} \right] , \qquad (23)$$

$$\frac{dn''}{dt} = k_o'' c^{*''} \left[1 + \frac{k_1''}{k_o''} 10^{-pH''} + \frac{k_2''}{k_o''} K_v 10^{pH''} \right] , \qquad (24)$$

ahol n' és n'' a BLM két oldalán katalitikus úton keletkezett töltéshordozók koncentrációja, k_o' és k_o'' a nem katalizált, k_1' és k_1'' a H^+ -ok által katalizált és végül a k_2' és a k_2'' az OH^- -ok által katalizált reakciók sebességi állandói, $c^{*'}$ és $c^{*''}$ azon molekulák koncentrációi a BLM két határfelületénél, amelyek a töltéshordozók megjelenéséért felelősek, pH' és pH'' a membrán két oldalán lévő vizes oldatok pH-értékei.

Tudjuk, hogy a katalizált folyamatok egyensúlyi állandója megegyezik a nem katalizált folyamat egyensúlyi állandójával. Tegyük fel azonban, hogy a reagáló anyagok közül az egyik - pl. az, amelyikből a töltéshordozók keletkeznek - mindig túlsúlyban van jelen a reakciótérben. Ekkor elképzelhető, hogy a katalizált reakció a töltéshordozók termelése irányába eltolódik. Ilyen esetekben a határfelületek mitegy "elemeknek", töltéshordozó forrásoknak tekinthetők.

Feszültséget kapcsolva a rendszerre megváltoznak a potenciálviszonyok a határfelületeknél is. Minthogy a reakciók sebes-

ségi állandói feszültségfüggőek /lásd a Függelék B/-t /, a potenciálviszonyok megváltozása következtében az egyik oldalon gyorsulni, a másik oldalon lassulni fog a töltéshordozók termelődése; a (23),(24) egyenletek a következőképpen módosulnak:

$$\frac{dn'}{dt} = k_o' c^{*'} \left[1 + \frac{k_1'}{k_o'} 10^{-pH'} + \frac{k_2'}{k_o''} K_v 10^{pH'} \right] \exp\left[\frac{a U_h' e_o}{kT} \right] , \qquad (25)$$

$$\frac{dn''}{dt} = k_o'' c^{*''} \left[1 + \frac{k_1''}{k_o''} 10^{-pH''} + \frac{k_2''}{k_o''} K_v 10^{pH''} \right] \exp\left[- \frac{b U_h'' e_o}{kT} \right] , \qquad (26)$$

ahol $U_h' + U_h'' + U_m = U$, U a BLM-re adott teljes külső, U_m a BLM belsejében, U_h' és U_h'' a BLM határfelületeinél fellépő feszültségeséseket jelenti, a és b arányossági tényezők.

A kisérleteink során szimmetrikus rendszerekkel foglalkoztunk, azaz a BLM-ek mindkét oldalán azonos volt a pufferoldatok összetétele és pH-értéke. Ezt figyelembe véve a fenti két egyenletünk jelentősen egyszerüsödik;

$$\frac{dn}{dt} = k_o c^* \left[1 + \frac{k_1}{k_o} 10^{-pH} + \frac{k_2}{k_o} K_v 10^{pH} \right] \exp\left[\frac{a U_h' e_o}{kT} \right] , \qquad (27)$$

$$\frac{dn}{dt} = k_o c^* \left[1 + \frac{k_1}{k_o} 10^{-pH} + \frac{k_2}{k_o} K_v 10^{pH} \right] \exp\left[- \frac{b U_h'' e_o}{kT} \right] , \qquad (28)$$

ahol $k_o' = k_o'' = k_o$, $k_1' = k_1'' = k_1$, $k_2' = k_2'' = k_2$, $pH' = pH'' = pH$, $c^{*'} = c^{*''} = c^*$. Az ellenállás meghatározása a klasszikus elektrodinamika szerint a következő módon történik. A BLM F felületén dt idő alatt áthaladó töltéshordozók száma /dQ /:

$$dQ = z e_o \left[\lambda_s' F \frac{dn'}{dt} - \lambda_s'' F \frac{dn''}{dt} \right] dt , \qquad (29)$$

ahol λ' és λ'' arányossági tényezők, amelyek megmutatják, hogy a BLM két oldalán keletkezett töltéshordozók hány százaléka vesz részt a vezetésben, a BLM felületeinél a sav-bázis katalizissel keletkezett töltéshordozók által elfoglalt térfogatokat jelöli az $s'F'$ és az $s''F''$. Minthogy az áramerősség

$$I = \frac{dQ}{dt} \quad , \tag{30'}$$

a BLM ellenállásának az oldat pH-értékétől való függését leiró egyenlet:

$$\lg R_m = \lg \frac{U_m}{z e_o F k_o c^* \left[\lambda' s' \cdot \exp\left\{\frac{a e_o}{kT} U_h'\right\} - \lambda'' s'' \exp\left\{-\frac{b e_o}{kT} U_h''\right\}\right]} - \lg\left[1 + \frac{k_1}{k_o} 10^{-pH} + \frac{k_2}{k_o} K_v 10^{pH}\right] \cdot (31)$$

Ez a kifejezés formailag teljesen megegyezik a korábbi empirikus egyenletünkkel /(10) egyenlet/. Az empirikus egyenlet tehát egy ilyen sav-bázis katalizis lépését magába foglaló töltéshordozó keletkezési mechanizmussal tartalommal tölthető meg.

Az előbbiekben bemutatott elmélet képes ugyan kvantitative is helyesen leirni a kisérleti eredményeket, azonban számos újabb problémát is felvet. Nem tudjuk, hogy a rendszerünk mely elemei vesznek részt a töltéshordozók generálásában. A hipotetikus, sav-bázis katalizált reakcióban keletkezett töltéshordozók személyi adatai /töltés, tömeg, stb./ szintén ismeretlenek. Minthogy elektronikus töltéshordozóról van szó, a

kérdés tisztázására Hall-effektus méréseket kellene végezni BLM-en, ami szinte megoldhatatlannak látszik. A fenti elmélet nem ad még magyarázatot az elektronikus töltéshordozók "halá-láról" sem, azaz nem tudjuk mi történik velük a BLM-en való keresztülhaladás után.

Jogosan vetődik fel az a kérdés is, ha a töltéshordozók termelését a H^+ és az OH^- -ok katalizálják és a BLM összetétele nem változik a különböző pufferoldatokban végzett mérések során, akkor miért különböznek a kisérleti paraméterek /pH_1, pH_2, R_m^o/ értékei egymástól. A kérdésre kvantitativ magyarázatot adni nem tudunk, de úgy gondoljuk, hogy a pufferrendszerek kémiai összetételének különbözősége befolyásolhatja mind az aktuálisan kialakuló BLM-szerkezetet, mind a katalizis körülményeit és ezek a perturbáló hatások a mérések során kapott kisérleti paraméterek különbözőségében jelentkezhetnek.

A felvetett kérdések tisztázása az elkövetkezendő évek feladata.

6.4.2.2. Ionikus és elektronikus vezetés együtt

Tegyük fel, hogy a BLM-ekben a semleges pH körüli pH-tartományon az elektronokus töltéshordozók mozgása közvetiti az áramot a két elektrolit/BLM határfelület között /sajátvezetés/. Legyen a BLM sajátvezetéséből származó ellenállása /R_s/ a pH-tól független. Tegyük fel továbbá, hogy az alacsony pH-kon a H^+ -ok a lúgos pH-kon az OH^- -ok közvetitik az áramot a BLM-en

keresztül és mozgásukat az elektrodiffúziós elmélet irja le; azaz a két ion mozgásakor a BLM ellenállása /R_i/ a (19) egyenlettel adható meg. Feltéve, hogy a két különböző tipusú töltéshordozó mozgása nem befolyásolja egymás transzportját, az eredő ellenállásra a következő kifejezés adódik:

$$R_m = \frac{R_i R_s}{R_i + R_s} \quad . \tag{32}$$

Behelyettesitve az R_i helyébe a (19) egyenletet és az egyenlet mindkét oldalát logaritmálva kapjuk:

$$\lg R_m = \lg C_4 - \lg\left[1 + A_4 10^{-pH} + B_4 K_v 10^{pH}\right] \quad , \tag{33}$$

ahol

$$C_4 = R_s \approx R_m^o \quad ,$$

$$A_4 = R_s \frac{e_o^2 F}{lkT} D_{H^+} \gamma_{H^+} = 10^{pH_1} \quad ,$$

$$B_4 = R_s \frac{e_o^2 F}{lkT} D_{OH^-} \gamma_{OH^-} = 10^{-pH_2} \cdot K_v^{-1} \quad .$$

A (33) egyenlet teljesen megegyezik az empirikus egyenlettel. A kisérleti paraméterek /pH_1, pH_2, R_m^o/ és az utóbbi egyenletben szereplő A_4, B_4 és C_4 együtthatók között a fenti összefüggések állnak fent.

Ezen egyenletek segitségével meghatároztuk a $D_i \gamma_i$ szorzatokat és a kapott eredményeket a 4. táblázatban foglaltuk össze. Feltéve, hogy a $D_i \approx 10^{-6}$ $cm^2 s^{-1}$, a γ_i -kre 10^{-6}-10^{-9} közti értékeket kapunk, amelyek már valamivel kisebbek a Parsegian által feltételezett energiacsökkenés alapján számitható elméleti 10^{-6} értéknél.

A különböző pufferrendszerek esetén mért eltérő hosszúságú és R_m^o értékü "plató"-kat most is a különböző kémiai összetételü pufferoldatok ionjainak a BLM-szerkezetet ill. a vezetési körülményeket befolyásoló másodlagos hatásaival tudjuk magyarázni.

4. táblázat

A pufferoldatok nevei	A $D_{H^+} \gamma_{H^+}$ szorzatok /$cm^2 s^{-1}$/	A $D_{OH^-} \gamma_{OH^-}$ szorzatok /$cm^2 s^{-1}$/
1. univerzális	$3{,}95 \times 10^{-14}$	$7{,}89 \times 10^{-13}$
2. Britten-Robinson-féle	$6{,}94 \times 10^{-13}$	$6{,}94 \times 10^{-12}$
3. tris	$2{,}77 \times 10^{-14}$	$3{,}48 \times 10^{-15}$
4. MES:MES-Na	$3{,}95 \times 10^{-14}$	$1{,}98 \times 10^{-12}$
5. TES:TES-Na	$2{,}86 \times 10^{-14}$	$2{,}86 \times 10^{-13}$
6. MES:tris	$1{,}73 \times 10^{-15}$	$1{,}73 \times 10^{-14}$

6.4.2.3. A pH-nak a BLM szerkezetét módositó hatása; "kooperativ" modell

Ujabban többen posztulálták, hogy a BLM-szerkezet kialakulásában az elektrosztatikus, kolloidális és hidrofób kölcsönhatások mellett fontos szerepet játszanak a H-hidak is. Manapság az is többé-kevésbé bizonyitott, hogy a BLM-ekben transzmembrán helyzetü, hidrofil tulajdonságú pórusok lehetnek. Ezek a pórusok dinamikus képződmények, azaz nem egy adott helyhez rögzitettek és nem kitüntetett lipidekből képződnek, hanem folyamatosan keletkeznek és megszünnek. A pórusok felületegységre eső átlagos számát a BLM-ek határfelületeinél uralkodó mindenkori fizikai és kémiai kölcsönhatási viszonyok határozzák meg. Ha ezek a viszonyok megváltoznak, megváltozhat a BLM szerkezete is és igy változások következhetnek be a pórusok átlagos számában is. Ezen mozzanatokra alapult a harmadik elképzelésünk, amely szerint a pH-nak a BLM-ek elektromos ellenállását módositó hatása a - nem szükségképpen szelektiv - ionvezetés létrejöttében nyilvánul meg. Konkrétabban, alacsony és magas pH - a BLM-eket kifeszitő H-hid rendszeren keresztül - megváltoztatja, pontosabban lazitja az eredeti BLM-szerkezetet; abban szupramolekuláris szerkezeti átalakulást okoz.

Az alapfeltevésünk kvantitativ megfogalmazása hasonlit a sav-bázis katalizises töltéshordozó termelési elméletnél megadotthoz. Tegyük fel, hogy a viz disszociációs termékei /a H^+

és az OH^- -ok/ - sav-bázis katalizis révén /68/ - megbontják, fellazitják a BLM-szerkezet rögzitésében szerepet játszó H-hidakat. Ezáltal olyan szerkezeti átrendeződés jöhet létre, amely lehetőséget ad a BLM-en keresztüli pórusok egyre növekvő számban való kialakulására, minthogy az egy lipid molekulára eső H-kötések száma fokozatosan csökken. Ha a H-hidak feltörése sav-bázis katalizis útján történik és ez a "reakció" a sebesség meghatározó a szerkezetátalakulási folyamatban, akkor a pórusok felületegységre jutó átlagos számának növekedését egy, a (23) egyenlethez hasonló kifejezéssel lehet leirni;

$$p = \eta_o c_m \left[1 + \frac{\eta_1}{\eta_o} c_{H^+} + \frac{\eta_2}{\eta_o} c_{OH^-} \right] , \qquad (34)$$

ahol p a pórusok átlagos száma, η_o a termikus energiákon állandóan meglévő pórusok átlagos számát meghatározó együttható, η_1 és η_2 a H^+ és az OH^- -ok szerkezetlazitó hatásának következtében létrejövő pórusok számát meghatározó állandók, c_m a BLM-et alkotó lipid molekulák felületi koncentrációja, c_{H^+} és c_{OH^-} a vizes oldatban, a BLM határfelületeinél mérhető H^+ és OH^- koncentrációk. Feltéve, hogy 1. valamennyi pórusban azonosak az ionok mozgási körülményei; 2. egy pórusban egyidejüleg csak egy ion tartózkodhat és 3. a pórusokon keresztül a vizes oldat bármelyik ionja mozoghat, a BLM ellenállását - konstans feszültségen - lényegében a pórusok száma fogja meghatározni; azaz

$$R_m = \frac{\Theta}{\eta_o c_m}\left[1 + \frac{\eta_1}{\eta_o} c_{H^+} + \frac{\eta_2}{\eta_o} c_{OH^-}\right]^{-1} , \qquad (35)$$

ahol Θ egy, a geometriát és a kölcsönhatási viszonyokat is tartalmazó arányossági tényező. Ha feltesszük, hogy a semleges pH körüli tartományban a pórusokon keresztüli transzporttal párhuzamosan elektronikus jellegü vezetés is szerepet kaphat, akkor a (35) egyenlet egy kissé módosul, de a logaritmált alakja - a (35) -ével formailag megegyezően - a következő lesz:

$$\lg R_m = \lg C_5 - \lg\left[1 + A_5 10^{-pH} + B_5 K_v 10^{pH}\right] , \qquad (36)$$

ahol

$$c_{H^+} = 10^{-pH} , \quad c_{H^+} \cdot c_{OH^-} = K_v ,$$

$$C_5 = \frac{R_s}{\frac{R_s}{\Theta}\eta_o c_m + 1} ,$$

$$A_5 = \frac{\frac{R_s}{\Theta}\eta_{H^+} c_m}{\frac{R_s}{\Theta}\eta_o c_m + 1} ,$$

$$B_5 = \frac{\frac{R_s}{\Theta}\eta_{OH^-} c_m}{\frac{R_s}{\Theta}\eta_o c_m + 1} .$$

A (36) egyenlet az empirikus, (10) egyenlettel teljesen azonos alakú. A (36) egyenletben szereplő A_5, B_5 és C_5 együtthatók tartalmazzák az η_o és Θ mennyiségeket. Ez a két mennyiség az, amely a semleges pH környezetében meghatározza a BLM-en keresztüli pórusok átlagos számát. Ezen pórusok kialakitásában tehát az egész rendszer /a BLM és az elektroli+/ valamennyi al-

kotórésze /molekulája ill. ionja/ résztvehet. Ez alapján érthető, miért eltérőek a különböző pufferrendszerek esetén mért "plató"-hosszak és -értékek. A(36) egyenletben ez a két tényező az, amelyek segitségével kvantitative is figyelembe vehetők a különböző pufferoldatok eltérő kémiai összetételeinek a BLM szerkezet kialakitásában megmutatkozó másodlagos hatásai.

Látszólag ezen utóbbi elmélet, végső eredményét tekintve, abban különbözik az előbbi fejezetben leirt mechanizmustól, hogy 1/ itt nem csak a H^+ és az OH^- -oknak van lehetőségük a BLM-en keresztüli transzportra, hanem az elektrolitokban jelen lévő más, esetleg valamennyi ionnak /pl. a Na^+-nak is/; 2/ a pH - a szerkezetmódositó hatáson keresztül - a transzportviszonyok /membránon belüli töltéshordozó-koncentráció és -mozgékonyság/ megváltozását eredményezi. Ismervén a H^+ és az OH^- -ok anomálisan nagy mozgékonyságát vizes oldatokban, nem kizárt, hogy a kialakuló pórusokon keresztüli töltéstranszportban ezek az ionok döntő módon fognak résztvenni.

A két utóbbi elmélet szemléletmódja azonban gyökeresen különbözik egymástól. Az előző fejezetben leirt elméletben a H^+ és az OH^- -ok individuálisan teremtik meg az áthaladásuk lehetőségét. A jelen fejezetben ismertetett elméletben az összes ion és lipid molekula kölcsönhatása és az ezáltal indukált kooperativ fázisátmenet /32/ hozza létre a pórusokat, amelyeken keresztül aztán az ionok valamelyike vagy éppen mindegyike transzportálódhat. A két szemlélet között minőségi különbség van, ez

tette szükségessé mindkét leirásmód tárgyalását. Az utóbbi azonban sokkal teljesebb képet ad a kisérleti tapasztalatokról, igy - a többi ismertetett modellek figyelembevételével - hajlunk előnybe részesitésére.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az irodalomban talált mérési eredmények alapján nem tudtunk megfelelő pufferoldatot találni a nem módositott oxidált koleszterin BLM-eken végzett méréseinkhez. Nem volt tisztázott a pufferrendszereknek a BLM-ekre gyakorolt hatásmechanizmusa sem. Mivel az oxidált koleszterin BLM-eken végzett kisérleteinket ki szerettük volna terjeszteni a pH-függéses vizsgálatok irányába, szükségessé vált a nem módositott BLM-ek pH-függő viselkedésének tanulmányozása. Ennek első lépéseként a BLM-ellenállás pH-függésének tisztázását tüztük ki célul.

1. Megvizsgáltuk az oxidált koleszterin BLM-ek egyenáramú ellenállásának pH-függését alacsony feszültségeken /$U_m \leq 30$ mV/ különböző ionikus /univerzális, Britten-Robinson-féle, tris/, amfoterionos /MES:MES-Na, TES:TES-Na/ és "vegyes" /MES:tris/ pufferrendszerekben az elkészithető legszélesebb pH-tartományban.
2. Meghatároztuk a méréseinkhez alkalmazott pufferoldatok pufferkapacitását és kiszámitottuk az ionikus puffereink ionerősségének pH-függését is az általunk vizsgált pH-szakaszon.
3. Kiválasztottunk egy ionikus /univerzális/ és egy amfoterionos /TES:TES-Na/ puffert és ezekben a pufferrendszerekben felvettük a BLM-ek feszültség-áramerősség karakterisztikáit 100 mV-ig, vagy az elszakadási potenciálig. A kapott U-I karakterisztikák grafikus differenciálásával meghatároztuk a

BLM-ek differenciális ellenállásának áramerősség-függését az általunk mért pH-értékeken.

A mérési eredmények és az azokkal kapcsolatos matematikai analizis alapján megállapitottuk:

- A vizsgált feszültség- /áram-/ tartományban diffúziólimitáció nem lépett fel,
- Részletesen megvizsgáltuk a BLM-eken keresztüli töltéstranszport problémáit és arra a következtetésre jutottunk, hogy
  a/ ionikus töltéstranszport esetén az elektrolit/BLM határfelületeknél a termikus energiákhoz képest egy-két nagyságrendel nagyobb energiákre lenne szükségük az ionoknak ahhoz, hogy az elektrolitból a BLM-be bejuthassanak; póruson keresztüli töltésmozgáskor ez az energia kb. a hetedére csökken, mig az ún. hordozó mechanizmus szerinti töltéstranszport esetén kb. a harmadára,
  b/ elektronikus töltéshordozóknak a BLM-ek határfelületeinél való keletkezése és a BLM-en keresztüli kvantummechanikai mozgása az eddigi kisérleti eredmények alapján - legalábbis nem módositott BLM-ek esetében - valószinünek látszik.
- A nem módositott BLM-ekre nem lehet alkalmazni a Debye-Hückel-Onsager elmélet eredményeit; a BLM-ek nem tekinthetők - még alacsony ionvezetés esetén sem - hig elektrolitoknak.
- A kutatók többsége által elfogadott H^+ és OH^- -ok együttes transzportjával - melynek részletes elméleti vizsgálatát az elektrodiffúziós elmélet alapján tettünk meg - a jelen-

séget kielégitően megmagyarázni nem lehet. Általában az eddig kidolgozott ionikus töltéstranszport modellek segitségével csak a teljes, általunk vizsgált pH-tartománynak egy-egy szakaszán tudjuk a kisérleti eredményeket részben kielégitően magyarázni.

- A BLM-ek elektronikus /saját-/ vezetésének figyelembe vételével a kisérleti eredmények az egész pH-szakaszon kvantitative is értelmezhetők. Megadtunk három kvantitativ értelmezési módot is, de az ún. kooperativ modell tekinthető a legteljesebbnek, a BLM-ekről eddig beszerezhető ismeretanyag birtokában a legvalószinübbnek.

Ugy gondoljuk, hogy mind a sav-bázis katalizisnek mind az ún. kooperativ jelenségeknek a BLM-ek hatásmechanizmusa tanulmányozásába történő bevezetése új szemléletmód kialakulását eredményezheti a membrántranszport folyamatok diszkuttálása szempontjából. A BLM-eken végzett pH-függéses folyamatok vizsgálata mindenképpen a membránok környezetében lejátszódó biofizikai és biokémiai folyamatok jobb megértéséhez vezethet.

8. FÜGGELÉK

A/ A BLM-ben lévő ionok potenciális energiája

Ismeretes az tény, hogy ahhoz, hogy egy ion a vizes oldatból /dielektromos állandója $\varepsilon\varepsilon_o$/ be tudjon jutni a BLM szénhidrogén fázisába /dielektromos állandója $\varepsilon_m\varepsilon_o$/, a dielektromos állandók nagy különbsége miatt egy meghatározott energiával kell rendelkeznie. Ez az energia, első közelitésben, a két fázis közötti ún. Born-féle potenciális energia különbségével adható meg /5, 48/, amely kT egységekben kifejezve;

$$w = \frac{z^2 e_o^2}{2\varepsilon_o r kT}\left\{\frac{1}{\varepsilon_m} - \frac{1}{\varepsilon}\right\} \quad ,$$

ahol r a BLM-be belépő ion sugara, z ezen ion vegyértéke, e_o az elemi töltés, kT $\approx$o,o25 eV szobahőmérsékleten. Ha $z = 1$, akkor ez az energia

$$w = \frac{1{,}8\ \text{eV}}{kT} \approx 70 \quad ,$$

ahol $r = 1{,}5$ Å, $e_o = 1{,}6 \cdot 10^{-19}$ As, $\varepsilon_o = (36\pi)^{-1} 10^{-9}$ $AsV^{-1}m^{-1}$. A vizes oldat és a szénhidrogén fázis közti megoszlási hányados a koncentrációk hányadosaként értelmezett mennyiség. Amennyiben az ionok energia szerint eloszlása a Boltzmann statisztikát követi mindkét fázisban, a megoszlási hányados / γ / értéke

$$\gamma = \frac{c_m}{c} \approx 10^{-30} \quad ,$$

ahol c_m és c az adott ionkoncentrációk a BLM-ben és a vizes ol-

datban.

A fenti elmélet alapján minden ion egy w magasságú és BLM-nyi szélességü potenciálhegyet érez a BLM helyén. A Born-féle energia kifejezés azonban nem irja le pontosan az energia viszonyokat a BLM-ek esetében, mivel annak levezetésekor a két fázist /a vizes oldatot és a BLM-et/ végtelen kiterjedésü, homogén, kontinuum közegeknek tekintették; a kifejezés módositásra szorul.

Az elektrosztatikában ismeretes az a tény, hogy a töltések az elektromos megosztás folytán, a dielektromos állandó viszonyoknak megfelelően vonzzák vagy taszitják a környezetükben lévő semleges vagy töltött testeket, erőhatást gyakorolnak a makroszkópikus felületekre. Azok az ionok tehát, amelyek két közeg határfelületéhez közelednek, taszitják vagy vonzzák a határfelületet, s ennek reakciójaként saját maguk is taszitódnak ill. vonzódnak ahhoz. Ezt a jelenséget az ún. tükörképerők /image force/ segitségével lehet kvantitative is leirni.

Ha az ionunk a vizes oldat felől közeledik az elektrolit/BLM határfelülethez, vagy a vizes oldatban távolodik attól, akkor csak egy határfelületet "lát". Ha azonban a BLM belsejében mozog egy ion, akkor mindkét határfelület reakcióját "érzi".

Legyen a BLM vastagsága l , a baloldali határfelület az $x=0$, a jobboldali az $x=l$ sik. Tartózkodjon egy ion a baloldali határfalülettől x távolságban a vizes oldatban és mozogjon a BLM felé / az $|x|<l$ esettel foglalkozunk most/. Ekkor

a ze_o töltésü ionunk egy ϑze_o nagyságú ún. tükörtöltést érez a BLM-fázisban a határfelülettől x távolságban. A köztük ható tükörképerő nagysága:

$$P(x) = -\frac{\vartheta z^2 e_o^2}{\varepsilon\varepsilon_o (2x)^2} \quad ,$$

ahol

$$\vartheta = \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + \varepsilon_m} \quad ,$$

igy a potenciális energia kT egységekben kifejezve:

$$w(x) = -\frac{\vartheta z^2 e_o^2}{4\varepsilon\varepsilon_o kT} \cdot \frac{1}{x} \quad , \qquad (x < 0 - r) \cdot \qquad (A1)$$

Analóg módon adódik a potenciális energia kifejezése a BLM másik oldalán is;

$$w(x) = \frac{\vartheta z^2 e_o^2}{4\varepsilon\varepsilon_o kT} \frac{1}{x - l} \quad , \quad (x > l + r) \cdot \qquad (A2)$$

Ha azonban az ionunk a BLM-ben van a baloldali határfelülettől x távolságra, akkor a töltések egy végtelen sokaságát kell feltételezni az $x_i = 2il \pm x$ helyeken ahhoz, hogy a határfeltételek teljesüljenek /36, 48/. A különböző helyeken feltételezett tükörtöltések nagyságai:

$$Q_{-i} = ze_o \vartheta^{2i}, \qquad x_{-i} = -2il + x \ , \qquad (i = 1,2,\ldots) \ ,$$

$$Q_i = ze_o \vartheta^{2i}, \qquad x_i = 2il + x \ , \qquad (i = 1,2,\ldots) \ ,$$

$$Q'_{-i} = -ze_o \vartheta^{2i+1}, \qquad x'_{-i} = -2il - x \ , \qquad (i = 0,1,\ldots) \ ,$$

$$Q'_i = -ze_o \vartheta^{2i-1}, \qquad x'_i = 2il - x \ , \qquad (i = 1,2,\ldots) \ .$$

Minthogy a Q_{-i} és a Q_i tükörtöltések a BLM-ben lévő töltés

körül szimmetrikusan helyezkednek el, erőhatásaik eredője nulla lesz; eszerint a ze_o töltésre ható erők eredője:

$$P(x) = -\frac{\vartheta z^2 e_o^2}{4\varepsilon_m \varepsilon_o}\left\{\frac{1}{x^2}+\frac{1}{l^2}\sum_{i=1}^{\infty}\left[\frac{\vartheta^{2i}}{\left(i+\frac{x}{l}\right)^2}-\frac{\vartheta^{2i-2}}{\left(i-\frac{x}{l}\right)^2}\right]\right\} \quad ,$$

és ebből a potenciális enrgia kifejezés /az integrálás elvégzése után/:

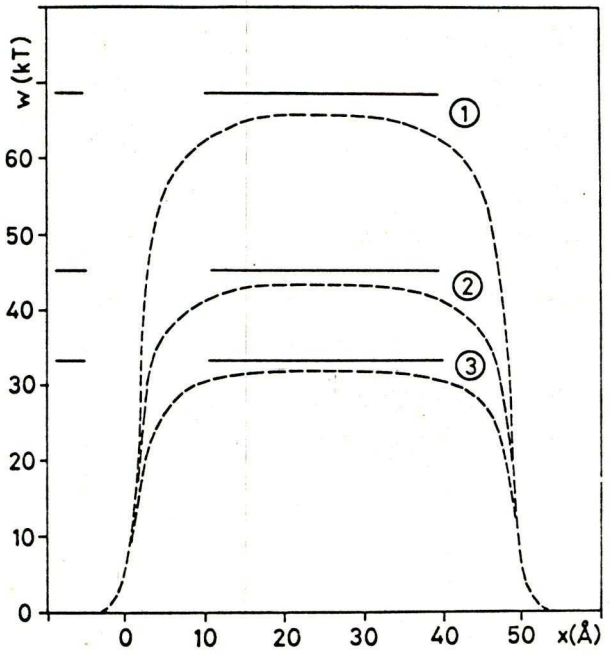
$$w(x) = w(r)+\frac{\vartheta z^2 e_o^2}{4\varepsilon_m \varepsilon_o kT}\left\{\frac{1}{r}-\frac{1}{x}+\frac{1}{l}\left[S\left(\frac{r}{l}\right)-S\left(\frac{x}{l}\right)\right]+\frac{1}{\vartheta^2 l}\left[S\left(-\frac{r}{l}\right)-S\left(-\frac{x}{l}\right)\right]\right\} \quad , \qquad (A3)$$

ahol

$$w(r) = \frac{z^2 e_o^2}{2\varepsilon_o r kT}\left\{\frac{1}{\varepsilon_m}-\frac{1}{\varepsilon}\right\}-\frac{\vartheta z^2 e_o^2}{4\varepsilon_m \varepsilon_o r kT} \, ,$$

$$S\left(\frac{y}{l}\right) = \sum_{i=1}^{\infty}\frac{\vartheta^{2i}}{i+y} \quad , \qquad (r < x < l-r) \, .$$

A BLM-ben és a BLM közvetlen környezetében lévő ion potenciális energiáját az (A1), (A2) és az (A3) egyenletek irják le. A $-r < x < r$ és az $l-r < x < l+r$ szakaszokon a potenciális energia függvényt alkalmas kifejezések, pl. polinómok, segitségével kell a megfelelő potenciál függvényekhez illeszteni. A 25. ábrán bemutatjuk, mekkora energia csökkenést jelent a tükörképerők figyelembe vétele a Born-féle potenciális energia közelitéshez képest egy 5o Å vastagságú BLM esetén.



25. ábra

Különböző dielektromos állandójú BLM-ek potenciális energiaprofilja a Born-egyenlet /——/ és az (A1) , (A2) , (A3) egyenletek /-----/ alapján /48/. Az egyenletekben szereplő paraméterek : z=1, r=2Å, l=5oÅ, a viz relativ dielektromos állandója 78,5, T=298 ^{o}K, a BLM anyagának relativ dielektromos állandói: (1) - 2; (2) - 3; (3) - 4. A potenciális energia kT egységekben van kifejezve.

B/ Az elektrodiffúzió alapegyenlete a BLM-re alkalmazva

Az elektrolitokban az elektromos áram mind a diffúzió mind a migráció utján terjed tova. Ilyen esetekben az áramerősséget az elektrokémiai potenciál gradiense határozza meg, azaz /egyetlen ionra felirva/:

$$I = - \frac{z e_o c D F}{kT} \cdot \mathrm{grad} \left\{ \mu^\circ + kT \cdot \ln c + z e_o \psi \right\} , \qquad (B1)$$

ahol I az áramerősség, z az ion vegyértéke, c az ion koncentrációja, e_o az elemi töltés, D az ion diffúzióállandója, F az a felület, amelyen keresztül az I áram folyik, k a Boltzmann állandó, T az abszolut hőmérséklet, ψ a potenciálfüggvény, μ° a standard kémiai potenciál. A fenti kifejezés nem veszi figyelembe az ionok közötti kölcsönhatásokat, igy csak alacsony ionkoncentrációkon érvényes /feltettük, hogy ilyenkor az ionok aktivitása megegyezik a koncentrációval/. A BLM-ben a standard kémiai potenciál - sok esetben - nem tekinthető konstansnak, hanem a hely függvénye. Válasszuk le a μ° -ból a helyfüggő tagot /W/;

$$\mu^\circ - \mu_o^\circ + W ,$$

és a kapott összefüggést helyettesitsük be a (B1) egyenletbe. Szoritkozzunk a továbbiakban a gradiens azon komponensére, amelynek irányában az áram folyik. Ekkor az áramerősségre vonatkozó egyenletünk igy alakul:

$$I = - \frac{z e_o c D F}{kT} \left\{ \frac{kT}{c} \frac{dc}{dx} + z e_o \frac{d\psi}{dx} + \frac{dW}{dx} \right\} . \qquad (B2)$$

Ez az egyenlet az ún. általánositott Nernst-Planck egyenlet. Jól látható, hogy amennyiben W független a helytől a zárójelben álló kifejezés utolsó tagja nulla, igy a szokásos Nernst-Planck egyenletet kapjuk vissza.

Az általánositott Nernst-Planck egyenlet megoldásához vezessük be a következő dimenzió nélküli mennyiségeket:

$$\varphi = \frac{e_0 \Psi}{kT} , \qquad \omega = \frac{W}{kT} .$$

Legyen az X tengely kezdőpontja a BLM baloldali határfelülete. Legyenek továbbá érvényesek az alábbi peremfeltételek:

$$c(0) = c' \equiv c(-\infty) , \qquad \omega(l) = \omega(\infty) \equiv 0 ,$$

$$c(l) = c'' \equiv c(\infty) , \qquad \varphi(0) = \varphi(-\infty) \equiv 0 ,$$

$$\omega(0) = \omega(-\infty) \equiv 0 , \qquad \varphi(l) = \varphi(\infty) \equiv u = \frac{e_0 U}{kT} ,$$

ahol U a BLM-re adott külső feszültség. Ha feltesszük, hogy az ionok diffúzióállandója a BLM-ben nem függ a helytől, akkor egyensúlyi állapot esetén a (B2) egyenlet megoldása:

$$c(x) = \exp\{-z\varphi(x) - \omega(x)\} \left[c' + \{c'' \cdot \exp(zu) - c'\} \frac{\int_0^x \exp\{z\varphi(x) + \omega(x)\} dx}{\int_0^l \exp\{z\varphi(x) + \omega(x)\} dx} \right] , \quad (B3)$$

$$I = -z e_0 DF \frac{c'' \cdot \exp(zu) - c'}{\int_0^l \exp\{z\varphi(x) + \omega(x)\} dx} . \quad (B4)$$

Jól látható, hogy az áramerősség feszültség-függése nem lineáris még szimmetrikus elektrolit/BLM/elektrolit rendszreben sem.

Ahhoz, hogy az áramerősség koncentráció-függését tanulmá-

nyozhassuk, oldjuk meg az alapegyenletünket más úton. Osszunk végig $-ze_0cDF$ -vel és integráljunk a BLM két határfelülete között;

$$-\frac{I}{ze_0DF}\int_0^l \frac{1}{c}dx = \ln\frac{c(l)}{c(o)} + z\{\varphi(l)-\varphi(o)\} + \omega(l)-\omega(o) \quad . \qquad (B5)$$

A $\varphi(x)$ -kre és $\omega(x)$ -kra a peremfeltételek adottak. A határfelületeknél mérhető koncentrációk megadhatók a következő módon:

$$c(l) = c\cdot\exp\{-z[\varphi(l)-u]\} \quad ,$$

$$c(o) = c\cdot\exp\{-z\varphi(o)\} \quad .$$

Ezeket behelyettesitve a (B5) egyenletbe az áramerősségre a következő egyenletet kapjuk:

$$I = -\frac{z^2e_0^2DF}{kT}\,U\left\{\int_0^l \frac{1}{c(x)}dx\right\}^{-1} \quad .$$

Az áramerősség nem lineáris függvénye a koncentrációnak, de a feszültségnek sem /mivel $c(x)$ is függ a feszültségtől/. A BLM-ellenállás koncentráció-függése ezek után:

$$R = \frac{kT}{z^2e_0^2DF}\cdot\int_0^l \frac{1}{c(x)}dx \quad .$$

C/ Töltésinjekció a BLM-be

Kapcsoljunk feszültséget a membránra. Ekkor a potenciálesés egy része a vizes oldatban, a BLM-hez közvetlen közel lévő ún. Gouy-Chapman rétegben következik be . Emiatt a rétegben lévő

ionok eloszlása megváltozik; a BLM egyik oldalán a pozitiv, a másikon a negativ ionok lesznek túlsúlyban. A feszültség növelésével ez a túlsúly fokozatosan növekedni fog. Minthogy a vizes oldat és a BLM közti megoszlási hányados állandó, a feszültség növelésével töltések injektálódnak a BLM-be. Ezt a jelenséget nevezik töltés- vagy ioninjekciónak /69/.

Az ioninjekció hatását figyelembe véve a membrán-ellenállás a következőképpen alakul. Tegyük fel, hogy csak egy ion /töltése z-1 / tud a BLM-be behatolni. Legyen a megoszlási hányados kicsi, hogy az ún. konstans-tér közelitést /lásd Függelék E/-t / alkalmazhassuk. A dimenzió nélküli potenciálok között a következő összefüggések állnak fenn:

$$\varphi_o = 0{,}5\,(u - u_m) \ ,$$

$$\frac{d\varphi_m}{dx} = \frac{u}{l} \ ,$$

ahol φ_o a BLM felületi potenciálja, u_m a membrán belsejében eső feszültség, u a BLM-re adott külső potenciálkülönbség. Legyen továbbá a standard kémiai potenciál a BLM-ben konstans; igy az áramerősségre vonetkozó alapegyenletünk a következő:

$$I = - c_o D F \left\{ \frac{dc}{dx} + c \frac{d\varphi}{dx} \right\} \ .$$

Felhasználva a potenciálokra megadott összefüggéseket és a BLM belsejében, a határfelület közvetlen környezetében uralkodó ionkoncentrációt meghatározó

$$c(o) = \gamma \cdot c \cdot \exp\{-\varphi_o\}$$

peremfeltételt; továbbá figyalambe véve azt, hogy a BLM két oldalán azonos a fürdetőoldatok összetétele, az áramerősségre a közetkező kifejezést kapjuk:

$$I = -\frac{e_o \gamma c DF}{l} u_m \frac{\sinh\{0{,}5\,u\}}{\sinh\{0{,}5\,u_m\}} \quad ,$$

ahonnan a membrán ellenállása:

$$R = \frac{lkT}{e_o^2 \gamma c DF} \cdot \frac{u}{u_m} \cdot \frac{\sinh\{0\,5\,u_m\}}{\sinh\{0\,5\,u\}} \quad .$$

Láthatóan az áramerősség feszültség-függése nem lineáris, a nonlinearitás mértéke a koncentráció csökkenésével nő és egy határértékhez tart. Magas ionkoncentrációknál az $u_m \approx u$, igy az ioninjekció BLM-ellenállást perturbáló hatásától magas koncentrációk és alacsony feszültségek esetén el lehet tekinteni.

D/ A BLM ellenállása felületi töltések esetén

A felületi töltésekkel rendelkező membránok esetén még akkor is létezik elektromos potenciálkülönbség a membrán felülete és az oldatfázis belseje között, ha a BLM-re nem kapcsoltunk külső feszültséget. A BLM felületi töltései vonzzák az oldatban lévő ellentétes töltésü ionokat és taszitják az azonos töltésüeket.

Legyen a baloldali határfelületen a felületi töltéssürüség σ' , a jobboldalin σ'' . A határfelületeken a következő egyenleteknek kell teljesülniők:

$$\varepsilon \left.\frac{d\varphi}{dx}\right|_{x=0} = \varepsilon_m \left.\frac{d\varphi_m}{dx}\right|_{x=0} + \frac{4\pi e_0}{kT}\,\sigma' \,, \qquad (D1)$$

$$\varepsilon \left.\frac{d\varphi}{dx}\right|_{x=l} = \varepsilon_m \left.\frac{d\varphi_m}{dx}\right|_{x=l} - \frac{4\pi e_0}{kT}\,\sigma'' \,. \qquad (D2)$$

A potenciáleloszlást meghatározó egyenletek a Poisson-Boltzmann egyenletek, melyeknek megoldása az elektrolit/BLM/elektrolit rendszerre /36/:

$$\varphi(x) = \begin{cases} 2\ln \dfrac{1 + tgh\left(\frac{\varphi'}{4}\right)\exp\{\kappa_D x\}}{1 - tgh\left(\frac{\varphi'}{4}\right)\exp\{\kappa_D x\}} \,, & (-\infty < x \leq 0) \,, \\ \varphi' + (\varphi'' - \varphi')\dfrac{x}{l} \,, & (0 \leq x \leq l) \,, \\ 2\ln \dfrac{1 + tgh\left(\frac{\varphi''-u}{4}\right)\exp -\kappa_D(x-l)}{1 - tgh\left(\frac{\varphi''-u}{4}\right)\exp -\kappa_D(x-l)} \,, & (l \leq x < \infty) \,. \end{cases}$$

ahol φ' és φ'' a bal- ill. a jobboldali határfelületi potenciálok, κ_D a Debye hossz reciproka a vizes oldatban, l a BLM vastagsága. A kapott kifejezéseket behelyettesitve a (D1),(D2) egyenletekbe a határfelületi potenciálokra a következő transzcendens egyenleteket kapjuk

$$\frac{\varepsilon_m}{2\varepsilon\kappa_D l}(\varphi'' - \varphi') = \sinh\frac{\varphi'}{2} - \frac{\sigma'}{\sigma_0} \,,$$

$$\frac{\varepsilon_m}{2\varepsilon\varepsilon_0\varkappa_D l}(\varphi''-\varphi') = -\sinh\frac{\varphi''-u}{2} + \frac{\sigma''}{\sigma_0} \quad ,$$

ahol $\sigma_0=\varepsilon\varepsilon_0\varkappa_D kT(2\pi e_0)^{-1}$. Az egyenletek numerikusan megoldhatók, igy a felületi töltéssürüségek ismeretében a felületi potenciálok értékei meghatározhatók.

Nézzük meg, hogyan alakul a BLM feszültség-áramerősség karakterisztikája és ellenállása, ha a membrán felületi töltésekkel rendelkezik. Legyen a BLM-be behatolni képes ion töltése z , vizes oldat beli koncentrációja c , a megoszlási hányadosa γ . A körülményeket olyannak választva, hogy a konstans-tér közelitést alkalmazhassuk, az áramerősség feszültségfüggésére a következő egyenlet adódik:

$$I = \frac{z^2 e_0 \gamma c DF}{l} \cdot \frac{\varphi'' - \varphi'}{\exp\{z\varphi''\}-\exp\{z\varphi'\}}\left(1-\exp\{zu\}\right) \quad ,$$

ahonnan a BLM ellenállása:

$$R = \frac{lkT}{z^2 e_0^2 \gamma c DF} \cdot \frac{\exp\{z\varphi''\}-\exp\{z\varphi'\}}{\varphi''-\varphi'} \cdot \frac{u}{1-\exp\{zu\}} \quad .$$

Könnyen belátható, hogy $\varphi''-\varphi' \equiv 0$ esetén a fenti egyenletek átmennek a felületi töltések nélküli esetnek megfelelő formulákba.

Amennyiben $\sigma''=\sigma' \equiv \sigma$, azaz a BLM két felülete azonos felületi töltéssürüséggel rendelkezik, az áramerősségre és az ellen-

állásra adódó kifejezések csak egy konstans szórzóban különböznek az ioninjekciónál kapott végformuláktól;

$$I = \frac{z^2 e_o \gamma c\, DF}{l} \cdot u_m \exp\{z\varphi_o\} \frac{1 - \exp\{zu\}}{1 - \exp\{zu_m\}} \quad ,$$

$$R = \frac{l k T}{z^2 e_o^2 \gamma c\, DF} \cdot \frac{u}{u_m} \cdot \exp\{-z\varphi_o\} \frac{1 - \exp\{zu_m\}}{1 - \exp\{zu\}} \quad ,$$

ahol

$$\varphi_o = 2 \ln\left\{\frac{\sigma}{\sigma_o} + \sqrt{\left(\frac{\sigma}{\sigma_o}\right)^2 + 1}\right\} \quad .$$

E/ Konstans-tér közelités

Az ionok transzportjára vonatkozó egyenletek a Nernst-Planck egyenletek és a Poisson-egyenlet;

$$I_i = -\frac{z_i e_o c_i D_i F}{kT} \left\{\frac{kT}{c_i} \cdot \frac{dc_i}{dx} + z_i e_o \frac{d\psi}{dx}\right\} \quad , \qquad (i = 1,2,\ldots,N) \, ,$$

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = -\frac{4\pi}{\varepsilon\varepsilon_o} \cdot \varrho(x) = -\frac{4\pi}{\varepsilon\varepsilon_o} e_o \cdot \sum_{i=1}^{N} z_i c_i \quad ,$$

ahol $\varrho(x)$ az x irányú lineáris töltéssürüséget jelenti. Az N darab parciális áramerősség egyenlet és az elektromos potenciáleloszlást meghatározó egyenlet elvileg lehetővé teszi az N darab koncentráció függvénynek és az elektromos potenciáleloszlást leiró függvénynek a meghatározását. A fenti egyenletrendszernek teljesen általános megoldását nem ismerjük.

Planck vette észre először /1890-ben/, hogy az elektroneutralitás feltételezésével /azaz a $\varrho(x)=0$ feltétellel/ az egyenletrendszer megoldása egyszerűbbé válik. Az N darab parciális áramerősség egyenlet mellett az $(N+1)$. egyenlet az elektroneutralitást kifejező

$$e_0 \sum_{i=1}^{N} z_i c_i = 0$$

egyenlet . Ebből az egyenletből fejezzük ki pl. az N -dik koncentrációt, mint a többi koncentráció függvényét,

$$c_N = \frac{-1}{z_N} \sum_{i=1}^{N-1} z_i c_i \quad ,$$

és helyettesitsük ezt be az N-dik parciális áramerősség egyenletbe;

$$I_N = - \frac{z_N e_0 D_N F}{kT} \left\{ \left(\frac{-1}{z_N} \right) \sum_{i=1}^{N-1} z_i \frac{dc_i}{dx} + z_N e_0 \left(\frac{-1}{z_N} \right) \sum_{i=1}^{N-1} z_i c_i \frac{d\psi}{dx} \right\} .$$

Igy a N darab parciális áramerősség egyenletben $N-1$ darab koncentráció függvény és egy darab potenciáleloszlás függvény vár meghatározásra. A kezdeti feltételek ismeretében a feladat már megoldható.

Az egyenletek Planck-féle megoldása azonban nem alkalmazható a BLM-ekre, mivel a BLM-ekben a Debye hossz nagyságrendekkel nagyobb a BLM vastagságánál; ilyen körülmények között az elektroneutralitás feltétele nem teljesül /43/.

Az eredeti probléma egy másik, közelitő megoldása az ún. konstans-tér közelités /constant field approximation/. Ebben

az esetben is a Poisson egyenlet alakja

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = 0$$

lesz, de feltesszük, hogy a feszültségesés a BLM-ben egyenletes, azaz a potenciál függvény első deriváltja állandó:

$$\frac{d\psi}{dx} = \text{áll.}$$

Ennek következtében az N darab parciális áramerősség függvényben csak $N-1$ darab ismeretlen függvény szerepel; az egyenletrendszerünk túldeterminált lett, általánosan nem megoldhatóvá vált. A közelitést mégis gyakran használják a következő esetekben

- felteszik, hogy csak egyetlen ion tud beoldódni a vizes oldatban lévő ionok közül a BLM-be /ha több, akkor ezek egymástól függetlenül vesznek részt a transzportfolyamatban/,
- az ion vagy ionok BLM-beli koncentrációi nem mérhetők össze a vizes oldat beli koncentrációikkal,
- a vizes oldat összionkoncentrációja olyan magas, hogy a Gouy-Chapman réteg vastagsága elhanyagolható, igy az ioninjekció hatása kiküszöbölhető; a BLM-re adott külső feszültség teljes egészében a BLM-ben esik.

Ha ezek a feltételek teljesülnek, a konstans-tér közelités segitségével, konkrét esetekben meg lehet határozni a feszültség-áramerősség karakterisztikákat, az ionok BLM-en belüli koncentráció-profilját, a BLM-ellenállás feszültség- és koncentráció

függését. Az utóbbi közelitést alkalmaztuk a Függelék C/ és a Függelék D/ fejezetekben is.

F/ Az empirikus egyenlet matematikai analizise

Láttuk, hogy a BLM-ellenállás pH-függését leiró empirikus egyenlet /(10) egyenlet/ alakja a következő volt:

$$\lg R_m = \lg C_o - \lg\left\{1 + A_o 10^{-\rho H} + B_o K_v 10^{\rho H}\right\} , \qquad (F1)$$

ahol

$$C_o = R_m^o ,$$

$$A_o = 10^{\rho H_1} ,$$

$$B_o = 10^{-\rho H_2} K_v^{-1} .$$

A (F1) egyenlet első deriváltja:

$$\frac{A_o 10^{-\rho H} - B_o K_v 10^{\rho H}}{1 + A_o 10^{-\rho H} + B_o K_v 10^{\rho H}} .$$

A (F1) egyenlet szélső értékének helye:

$$pH_o = \frac{1}{2} \lg \frac{A_o}{B_o K_v} .$$

A (F1) egyenlet második deriváltja:

$$- \frac{A_o 10^{-\rho H} + B_o K_v 10^{\rho H} + 4 A_o B_o K_v}{\left(1 + A_o 10^{-\rho H} + B_o K_v 10^{\rho H}\right)^2} \ln 10 .$$

Mivel a második derivált valamennyi pH-értéken negativ, a pH_o helyen a (F1) egyenletnek maximuma van és a maximum értéke:

$$\lg R_{m,max} = \lg C_o - \lg\left\{1 + 2\sqrt{A_o B_o K_v}\right\} .$$

A (F1) egyenlet szimmetrikus a pH_o értékre, azaz

$$\lg R_m\left(pH' = pH_o - \widetilde{pH}\right) = \lg R_m\left(pH'' = pH_o + \widetilde{pH}\right) .$$

A F1 egyenlettel megadott függvénynek nemcsak a helyét, hanem az alakját is meghatározzák az A_o, B_o és C_o paraméterek. Ez azt jelenti, hogy a pH_o-tól jobbra és balra fekvő azon pH-értékek különbsége /ΔpH/, amelyeknél a

$$R_m = \alpha R_m^o \quad , \qquad \alpha \leq 1 ,$$

egyenlőség teljesül, a következő kifejezéssel adható meg:

$$\Delta pH = \lg \frac{(1+\alpha) + 2\sqrt{A_o B_o K_v} + \sqrt{(1+\alpha^2) 4 A_o B_o K_v + (1-\alpha) 4\sqrt{A_o B_o K_v} + (1-\alpha)^2}}{(1+\alpha) + 2\sqrt{A_o B_o K_v} - \sqrt{(1+\alpha^2) 4 A_o B_o K_v + (1-\alpha) 4\sqrt{A_o B_o K_v} + (1-\alpha)^2}} .$$

Az első derivált határértékei a $+\infty$ -ben és a $-\infty$ -ben:

$$+1 \qquad \text{és} \qquad -1 .$$

A fentiek alapján látható, hogy az empirikus egyenlet egy folytonos, egy maximummal rendelkező, szimmetrikus görbét ir le a $\lg R_m$-pH sikban; a görbe aszimptotikusan közeledik az alacsony pH-kon egy +1, a magas pH-kon egy -1 meredekségü egyeneshez.

G/ A (20) egyenlet matematikai analizise

A membrán ellenállásának pH-függését az elektrodiffúziós elmélet kereteiben leiró egyenlet /(20) egyenlet/ a következő alakú volt:

$$\lg R_m - \lg C_2 - \lg\left\{A_2 10^{-pH} + B_2 K_v 10^{pH}\right\} , \qquad (G1)$$

ahol $$C_2 = \frac{lkT}{e_o^2 F} ,$$

$$A_2 = D_{H^+}\gamma_{H^+} ,$$

$$B_2 = D_{OH^-}\gamma_{OH^+} .$$

A (G1) egyenlet első deriváltja:

$$\frac{A_2 10^{-pH} - B_2 K_v 10^{pH}}{A_2 10^{-pH} + B_2 K_v 10^{pH}} .$$

A (G1) egyenlet szélső értékének helye:

$$pH_o = \frac{1}{2} \lg \frac{A_2}{B_2 K_v} .$$

A (G1) egyenlet második deriváltja:

$$- \frac{4 A_2 B_2 K_v \ln 10}{(A_2 10^{-pH} + B_2 K_v 10^{pH})^2} .$$

Mivel a második derivált valamennyi pH-értéken negativ, a (G1) egyenletnek maximuma van a pH_o helyen és a maximum értéke:

$$\lg R_{m,max} = \lg C_2 - \lg 2\sqrt{A_2 B_2 K_v} .$$

A (G1) egyenlet szimmetrikus a pH_o értékre, azaz

$$\lg R_m (pH' = pH_o - \widetilde{pH}) = \lg R_m (pH'' = pH_o + \widetilde{pH}) .$$

Az A_2, B_2 és C_2 paraméterek csak a görbe helyét határozzák meg a $\lg R_m$-pH sikban, a (G1) egyenlettel megadott görbe alakja független ezektől a paraméterektől. Ez azt jelenti, hogy a pH_o-tól jobbra és balra fekvő azon pH-értékek különbsége / Δ pH/, amelyekre a

$$R_m = \alpha R_m^o$$

egyenlőség teljesül, a következő kifejezéssel adható meg:

$$\Delta pH = \lg \frac{1 + \sqrt{1 - \alpha^2}}{1 - \sqrt{1 - \alpha^2}} .$$

A 13. - 18. ábrákon láttuk, hogy a kisérleti eredmények alapján felrajzolható $\lg R_m$-pH görbék három paraméterrel voltak jellemezhetők: pH_1, pH_2 és R_m^o. A (G1) egyenletben szintén három paraméter található: A_2, B_2 és C_2 . A C_2 értékét kiszámithatjuk, ha feltesszük, hogy a BLM geometriája a mérések alatt állandó; ekkor

$$C_2 = 2{,}5 \cdot 10^{44}\ VA^{-1}m^{-1}s^{-1},$$

ahol

$$l = 5 \times 10^{-9}\ m,$$
$$kT = 4 \times 10^{-21}\ VAs,$$
$$F = \pi \times 10^{-6}\ m^2,$$
$$e_o = 1{,}6 \times 10^{-19}\ As.$$

A kisérleti paraméterek és az elméleti paraméterek között az alábbi két összefüggést lehet megadni:

$$pH_o = \frac{1}{2}\lg\frac{A_2}{B_2K_v} = \frac{1}{2}(pH_1 + pH_2) \quad ,$$

$$\lg R_{m,max} = \lg C_2 - \lg 2\sqrt{A_2B_2K_v} = \lg R_m^o \quad .$$

Az egyenletekből ki lehet fejezni az A_2 és a B_2 értékét a kisérleti paraméterek és a C_2 konstans segitségével;

$$\lg A_2 = \lg\frac{C_2}{2R_m^o} + \frac{1}{2}(pH_1 + pH_2) \quad ,$$

$$\lg B_2 = \lg\frac{C_2}{2R_m^o} - \frac{1}{2}(pH_1 + pH_2) - \lg K_v \quad .$$

A kapott egyenleteket a 6.4.1.2. fejezetben használtuk fel.

KÖSZÖNETNYILVÁNITÁS

A dolgozat az MTA Szegedi Biológiai Központja Biofizikai Intézetében készült. Szeretnék köszönetet mondani ezúton is Dr. KESZTHELYI LAJOS igazgatónak, a fizikai tudományok doktorának a dolgozat megirását biztositó messzemenő támogatásáért. Köszönetem fejezem ki Dr. KARVALY BÉLA témavezetőmnek, a biológiai tudományok kandidátusának, a membrán-transzport csoport vezetőjének a kisérleti munkák elvégzését ösztönző, a dolgozat megirását hasznos tanácsaival elősegitő támogatását. Megköszönöm Dr. SZUNDI ISTVÁN tudományos munkatársnak a dolgozat megirásával és az eredmények kiértékelésével kapcsolatban tett hasznos tanácsait.

Ezúton mondok köszönetet KÓNYA LÁSZLÓNÉ Dr. vegyészmérnöknek és HEGEDÜS ISTVÁNNÉ vegyésztechnikusnak az oldatok elkészitésében és azok vizsgálatában nyújtott segitségükért. Köszönettel tartozom NAGY SÁNDORNÉ-nak a dolgozat ábráinak gondos elkészitéséért.

Megköszönöm az intézet valamennyi munkatársának munkámmal kapcsolatos észrevételeit, ötleteit és tanácsait.

IRODALOM

1. Adamczewski,I.; Ionization, Conductivity and Breakdown in Dielectric Liquids, Taylor and Francis LTD., London, 1969.
2. Analitikai Zsebkönyv, Müszaki Könyvkiadó, Budapest, 197o.
3. Bates,R.G.; Determination of pH: Theory and Practice, John Wiley and Sons, New York, 1964. /orosz fordításban: Opregyelényije pH: teorija i praktika, Himija, Leningrád, 1972./
4. Blaskó,K., Erdei,L.; MTA Biol. Oszt. Közl., 19/1976/2o1.
5. Born,M.; Z. Physik., 1/192o/45.
6. Chizmadzev,Yu.A., Markin,V.S., Kuklin,R.N.; Biofizika, XVI/1971/23o.
7. Christov,St.G.; Ann. d. Physik. /Leipzig/, VII-12/1963/2o.
8. Christov,St.G.; Ann. d. Physik. /Leipzig/, VII-15/1965/87.
9. Ciani,S.M., Eisenman,G., Laprade,R., Szabo,G.; Membranes, Vol. 2., Lipid Bilayers and Antibiotics, ed. Eisenman,G., Marcel Dekker, New York, 1973.
1o. Cook,R.P.; Cholesterol; Chemistry, Biochemistry, and Pathology, Academic Press, New York, 1958.
11. Dilley,R.A., Giaquinta,R.T.; Current Topics in Membranes and Transport, Vol. 7., ed. Bronner,F., Kleinzeller,A., Academic Press, New York, 1975.
12. Eisenman,G,, Ciani,S.M., Szabo,G.; Fed. Proc., 27/1968/1289.

13. Erdey-Grúz,T.; Transzportfolyamatok vizes oldatokban, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1971.

14. Erdey-Grúz,T.; Elméleti fizikai-kémia, III., Tankönyvkiadó, Budapest, 1962.

15. Fromherz,P.; Biochim. Biophys. Acta, 225/1971/382.

16. Fromherz,P.; Biochim. Biophys. Acta, 323/1973/326.

17. Fromherz,P.; Chem. Phys. Letters, 26/1974/221.

18. Fromherz,P., Masters,B.; Biochim. Biophys. Acta, 356 /1974/27o.

19. Gary-Bobo,C.M.; Biophysics of Membrane Transport, School Proceedings, Part 2, Wroclaw. 1977.

2o. Goldman,D.E.; J. Gen. Physiol., 27/1943/37.

21. Gueffroy,D.E.; A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems, CALBIOCHEM, California, 1975.

22. Gutmann,F.; Nature, 219/1968/1359.

23. Hammett,L.P.; Physical Organic Chemistry; Reaction Rates, Equilibria, and Mechanisms, 2nd. ed., McGraw-Hill Kogakusha, Tokio, 197o.

24. Handbook of Chemistry and Physics, 52nd ed., The Chemical Rubber Co., Cleveland, 1971.

25. Handbook of Biochemistry selected data for Molecular Biology, The Chemical Rubber Co., Cleveland, 1968.

26. Haraszty,Á., Hortobágyi,T., Kiss,I., Suba,J.; Növénytan 1, Növényszervezettan és növényélettan, Tankönyvkiadó, Budapest, 1973.

27. Hedvig,P.; Elektromos vezetés és polarizáció müanyagokban, Müszaki Könyvkiadó, Budapest, 1969.

28. Hladky,S.B., Gordon,L.G.M., Haydon,D.A.; Ann. Rev. Phys. Chem., 25/1974/11.

29. Karvaly,B.; Fizikai Szemle, 24/1974/336.

3o. Karvaly,B.; Vizsgálatok mesterséges bimolekuláris lipid membránokon különös tekintettel az elektronvezetés mechanizmusára, Kandidátusi értekezés, Szeged, 1974.

31. Karvaly,B.; Bioelectrochem. Bioenerg., 3/1976/545.

32. Karvaly,B.; Electrical Phenomena at the Biological Membrane Level, Elsevier, Amsterdam, 1977.

33. Keleti,T.; Enzimkinetika, MBT, Budapest, 197o.

34. McLaughlin,S.G.A., Szabo,G., Eisenman,G., Ciani,S.M.; Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 67/197o/1268.

35. Läuger,P.; Biochim. Biophys. Acta, 311/1973/423.

36. Läuger,P., Neumcke,B.; Membranes, Vol. 2., Lipid Bilayers and Antibiotics, ed. Eisenman,G,, Marcel Dekker, New York, 1973.

37. Liberman,E.A., Topaly,V.P.; Biochim. Biophys. Acta, 163 /1968/125.

38. Liberman,E.A., Topaly,V.P., Silberstein,A.Y.; Biochim. Biophys. Acta, 196/197o/221.

39. Lundström,I., Stenberg,M.; Chem. Phys. Lipids, 12/1974/287.

4o. Markin,V.Sz., Kristalik,L.I., Liberman,E.A., Topaly,V.P.; Biofizika, XIV/1969/256.

41. Markin,V.Sz., Grigoryev,P.A., Ermishkin,L.N.; Biofizika, XVI/1971/1oll.

42. Markin,V.Sz., Liberman,E.A.; Dokladü AN SzSzSzR, 2o1 /1971/975.

43. Markin,V.Sz., Chizmadzev,Yu.A.; Inducirovannüj ionnüj transzport, Nauka, Moszkva, 1974.

44. Marsh,D.; J.Membr. Biol., 18/1974/145.

45. Mueller,P., Rudin,O.D., Tien,H.T., Wescott,W.C.; J. Phys. Chem., 67/1963/534.

46. Nelson,A.P., McQuarrie,D.A.; J. Theor. Biol., 55/1975/13.

47. Németh,B.; Kémiai táblázatok, Müszaki Könyvkiadó, Budapest, 1971.

48. Neumcke,B., Läuger,P.; Biophys. J., 9/1969/116o.

49. Neumcke,B.; Biophysik, 6/197o/231.

5o. Noguchi,S., Koga,S.; J. Gen. Appl. Microbiol., 15/1969/41.

51. Ohki,S., Goldup,A.; Nature, 217/1968/458.

52. Ohki,S.; Biochim. Biophys. Acta, 282/1972/55.

53. Papahadjopoulos,D., Ohki,S.; Liquid Chrystals and Ordered Fluids, ed. Johnson,J.F., Porter,R.S., Plenum Press, New York, 197o.

54. Parsegian,A.; Nature, 221/1969/844.

55. Redwood,W.R., Pfeiffer,F.R., Weisbach,J.A., Thompson,T.E.; Biochim. Biophys. Acta, 233/1971/1.

56. McRobbie,E.A.C.,; Current Topics in Membranes and Transport, Vol. 7., ed. Bronner,F., Kleinzeller,A., Academic Press, New York, 1975.

57. Smith,L.L., Matthews,W.S., Price,J.C., Bachmann,R.C., Raynolds,B.; J. Chromatogr., 27/1967/187.

58. Szundi,I., Karvaly,B., Nagy,K.; MTA Biol. Oszt. Közl., 19 /1976/139.

59. Tien,H.T., Carbone,S., Dawidowich,E.A.; Nature, 212 /1966/ 718.

6o. Tien,H.T.; The Chemistry of Biosurfaces, Vol. 1., ed. Hair, M.L., Marcel Dekker, New York, 1971.

61. Tien,H.T.; Bilayer Lipid Membranes /BLM/: Theory and Practice, Marcel Dekker, New York, 1974.

62. Träuble,H., Haynes,D.H.; Chem. Phys. Lipids, 7/1971/324.

63. Träuble,H.; J. Membr. Biol., 4/1971/193.

64. Träuble,H.; Biomembranes, Vol. 3., ed. Krauzer,F., Slegers, J.F.G., Plenum Press, New York, 1972.

65. Träuble,H., Eibl,H.; Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 71 /1974/214.

66. Träuble,H., Teubner,M., Wooley,P., Eibl,H.; Biophys. Chem., 4/1976/319.

67. Tredgold,R.H.; Biochim. Biophys. Acta, 323/1973/143.

68. Vinogradov,S.N., Linnell,R.H.; Hydrogen Bonding, Van Nostrand Reinhold Co., Amsterdam, 1971.

69. Walz,D., Bamberg,E., Läuger,P.; Biophys. J., 9/1969/115o.

7o. Wei,L.Y., Woo,B.Y.; J. Biol. Phys., 1/1973/5o.

71. Wei,L.Y., Woo,B.Y.; Biophys. J., 13/1973/877.

72. Williems,R.J.P.; An. N. Y. Acad. Sci., 227/1974/98.

73. Woo,B.Y., Wei,L.Y.; J. Biol. Phys., 1/1973/36.

74. Woodbury,J.W., Miles,P.R.; J. Gen. Physiol., 62/1973/324.

75. Zelman,D.A.; J.Theor. Biol., 18/1968/396.

76. Zelman,A.; J. Theor. Biol., 37/1972/373.