

Bożena B. GŁADYSZEWSKA

**Badanie spontanicznych fluktuacji potencjałów
wewnątrzkomórkowych glonu *Nitellopsis obtusa***

Spontaneous Fluctuations of the Resting Potential in *Nitellopsis obtusa*

WSTĘP

Potencjał spoczynkowy komórki roślinnej to właściwie różnica potencjałów między wnętrzem komórki a otaczającym komórkę środowiskiem. Tę różnicę potencjałów V wyraża się wzorem Nernsta:

$$V = RT/wF \ln(c_i/c_o).$$

gdzie R — oznacza stałą gazową, T — temperaturę bezwzględną, w — wartościowość jonu o największym stężeniu (dla komórek *Nitellopsis obtusa* będzie to jon potasu), F — stałą Faradaya, natomiast c_i i c_o to stężenie jonów wewnątrz i na zewnątrz komórki.

Wydaje się udokumentowany pogląd, iż potencjał spoczynkowy powstaje w wyniku selektywnego przepuszczania jonów przez błonę komórkową. Ten potencjał powstaje w warunkach równowagi dynamicznej, w jakiej znajduje się komórka odekranowana od czynników zewnętrznych, takich jak światło, pole elektryczne i magnetyczne.

W komórce roślinnej zachodzą złożone procesy życiowe. Pozwala to przypuszczać, że potencjał spoczynkowy, mierzony zwykle za pomocą bezwładnych elektrometrów, może mieć niemierzalną w zwykłych eksperymentach składową fluktuacyjną dV :

$$V = V_0 + dV(t).$$

Właśnie ta składowa fluktuacyjna (szumowa) była obiektem naszych badań.

Wiele obiektów fizycznych generuje spontaniczne fluktuacje. Do najbardziej znanych fluktuacji możemy zaliczyć fluktuacje napięcia na końcówkach opornika (tzw. szumy termiczne), fluktuacje liczby termoelektronów emitowanych z katod lamp elektronowych (tzw. szum śrutowy). Właściwości tych fluktuacji są bardzo dobrze zbadane [1]. Widmo częstotliwościowe tych szumów ma równomierny przebieg w bardzo szerokim przedziale częstości: od kilkudziesięciu herców do około 10^{12} Hz w przypadku szumu termicznego. Szumy takie są zwane *białymi* ze względu na ten równomierny przebieg charakterystyk częstotliwościowych.

O wiele bardziej ciekawym jest szum powstający przy przepływie słabego prądu elektrycznego przez struktury ziarniste (np. przez oporniki węglowe, cienkie warstwy metaliczne) lub przez obszary, w których występują bariery potencjału. Ma to np. miejsce przy przepływie prądu przez złącza *p-n* w przyrządach półprzewodnikowych.

Szumy te mają w obszarze małych częstości natężenie większe niż towarzyszący szum cieplny — stąd ich nazwa: szum nadmiarowy, szum migotania, szum *różowy*, szum $1/f$. Tę ostatnią nazwę wprowadzono ze względu na często obserwowany przebieg mocy szumu w funkcji częstości [2].

Stwierdzono [3, 4, 5], że błony komórkowe generują fluktuacje potencjału komórkowego, związane z przenikaniem jonów przez błony. Dokładniejsze poznanie statystycznych właściwości tych fluktuacji jest przedmiotem opisu dokonanego w niniejszej publikacji.

FUNKCJE STATYSTYCZNE SŁUŻĄCE DO OPISU FLUKTUACJI (SZUMÓW)

W dalszym ciągu, w celu ukonkretnienia opisu, zajmiemy się fluktuacjami potencjału wewnątrzkomórkowego $dV(t)$. W większości badanych przypadków prawdopodobieństwo wystąpienia fluktuacji, prowadzące do chwilowego wzrostu wielkości V do wartości $V + dV$, jest równe prawdopodobieństwu zmniejszenia V do wartości $V - dV$. W tej sytuacji średnia amplituda szumu zawsze równa się zeru: $\langle dV \rangle = 0$ [6].

Z tego też powodu jako miarę wielkości fluktuacji stosuje się tzw. średni kwadrat amplitudy fluktuacji: $\langle dV^2 \rangle$ lub tzw. wartość skuteczną fluktuacji: $(\langle dV^2 \rangle)^{1/2}$.

Warto zwrócić uwagę, że wielkość $\langle dV^2 \rangle$ jest proporcjonalna do mocy fluktuacji elektrycznych.

Jedną z bardzo ważnych funkcji statystycznych, opisujących proces fluktuacji jest tzw. widmowa (spektralna) gęstość mocy szumu [6]:

$$W(f) = \lim_{\Delta f \rightarrow 0} (\langle dV^2 \rangle / \Delta f).$$

Funkcję tę wyznacza się eksperymentalnie przy pomocy wzmacniacza rezonansowego z bardzo wąskim rezonansem o szerokości Δf , przestrajającym wzdłuż osi częstotliwości f .

Można również wyznaczyć funkcję autokorelacji [6], którą definiuje się jako średnią wartość iloczynu fluktuacji $dV(t)$ w danym momencie i fluktuacji opóźnionej o wartość τ :

$$C(\tau) = \langle dV(t) \cdot dV(t + \tau) \rangle.$$

Obie funkcje, tzn. funkcja spektralna $W(f)$ i autokorelacji $C(\tau)$ są związane ze sobą poprzez transformatę Fouriera:

$$W(f) = \int_0^{\infty} C(\tau) \cos(\omega\tau) d\tau, \quad \omega = 2\pi f.$$

Dlatego wyznacza się eksperymentalnie tylko jedną z tych funkcji, w zależności od wyposażenia laboratorium badawczego.

Większość fluktuacji występujących w różnych obiektach fizycznych i biofizycznych podlega rozkładowi Gaussa. Istnieją nieliczne wyjątki, w których fluktuacje nie podlegają temu rozkładowi.

Dlatego warto skontrolować kształt tzw. rozkładu prawdopodobieństwa chwilowych wartości amplitud fluktuacji $A(dV)$. Ta ostatnia funkcja statystyczna podaje rozkład prawdopodobieństwa wystąpienia fluktuacji o danej wielkości dV :

$$A(dV) = \lim_{\Delta V \rightarrow 0} P[dV < dV(t) < dV + \Delta V] / \Delta V,$$

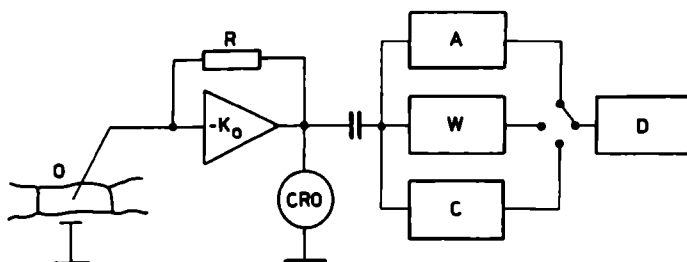
gdzie ΔV oznacza szerokość tzw. *okna* analizatora amplitudy.

WARUNKI EKSPERYMENTALNE

Komórki roślinne *Nitellopsis obtusa* umieszczono w uziemionym, metalowym, światłoszczelnym pudle. Stosowano zarówno elektrody platynowe, jak również cienkie, kapilarne, szklane elektrody cieczowe [7]. Te ostatnie wносиły większy poziom szumów własnych. Dlatego częściej stosowano elektrody platynowe.

W bezpośrednim sąsiedztwie komory metalowej znajdował się szerokopasmowy przedwzmacniacz o oporze wejściowym 100 M Ω . Zastosowane 100% ujemne sprzężenie zwrotne poszerzało pasmo wzmacnianych częstotliwości, dając

jednak w efekcie zmniejszenie współczynnika wzmocnienia przedwzmacniacza z wartości $K_0 = 10\,000$ do $K = 1$. Za pomocą oscylografu kontrolowano jakość kontaktu elektrody z komórką roślinną oraz mierzono średni, spoczynkowy potencjał komórkowy (zwykle ok. 80–100 mV). Za pomocą analizatora amplitudy A dokonywano kontrolnych badań rozkładu chwilowych wartości amplitud fluktuacji. Przechwytywany wzmacniacz rezonansowy W służył do badań spektralnej gęstości mocy fluktuacji, a układ C to korelator do badania funkcji autokorelacji. Dane z tych trzech układów mogły być rejestrowane za pomocą drukarki D .



Ryc. 1. Schemat układu pomiarowego. O — badany obiekt; CRO — oscylator kontrolny; A — analizator chwilowych wartości amplitud fluktuacji; W — analizator funkcji widmowej gęstości mocy; C — korelator; D — drukarka

Fig. 1. The block diagram of the measurement system. O — the sample; CRO — a control oscillograph; A — the analyser of amplitude distributions; W — the analyser of spectral density functions; C — correlator; D — printer

UZYSKANE REZULTATY

ROZKŁADY AMPLITUD FLUKTUACJI

We wszystkich badanych przypadkach okazało się, że funkcja statystyczna $A(dV)$, opisująca rozkłady chwilowych wartości amplitud fluktuacji, jest funkcją Gaussa. Połówkowa szerokość krzywej Gaussa, wielkość proporcjonalna do mocy składowej fluktuacyjnej, wzrastała w przypadku przepuszczania przez komórkę słabego prądu elektrycznego.

FUNKCJE AUTOKORELACJI

Z naszych pomiarów wynika, że funkcja autokorelacji ma przebieg $C(\tau)$ bardzo złożony, trudny do matematycznego opracowania. Próby wpisania

funkcji wykładniczej do punktów pomiarowych nie dały dobrego dopasowania komputerowego. Podobnie suma funkcji wykładniczych nie prowadziła do dostatecznie dobrego dopasowania.

Również trudności interpretacyjne tych złożonych funkcji autokorelacji skłoniły autorkę do skierowania swej uwagi na bardziej czytelne funkcje $W(f)$ spektralnej gęstości mocy fluktuacji.

SPEKTRALNA GĘSTOŚĆ MOCY

Funkcja spektralnej gęstości mocy spontanicznych fluktuacji potencjału posiadała dość złożoną postać. Na uzyskanych wykresach, wykonywanych zwykle w skali logarytmicznej, można wyróżnić trzy zakresy częstości, w których przebieg funkcji $W(f)$ odbywał się z różnymi nachyleniami wpisywanych prostych.

Pierwszy zakres, obejmujący częstości od 10 Hz do około 100 Hz, charakteryzuje się stałą wartością funkcji spektralnej gęstości:

$$W(f) = W_0.$$

Zakres drugi, od 100 do około 1000 Hz, jest obszarem pośrednim, natomiast powyżej 1 kHz mamy do czynienia z zakresem trzecim, z typową zależnością, jaka charakteryzuje szumy nadmiarowe:

$$W(f) = A/f^\beta$$

z parametrem $\beta \approx 1$ i stałą A .

Komputerowe próby znalezienia funkcji optymalnego dopasowania do całego eksperymentalnego przebiegu $W(f)$ doprowadziły do interesującej aproksymacji funkcją:

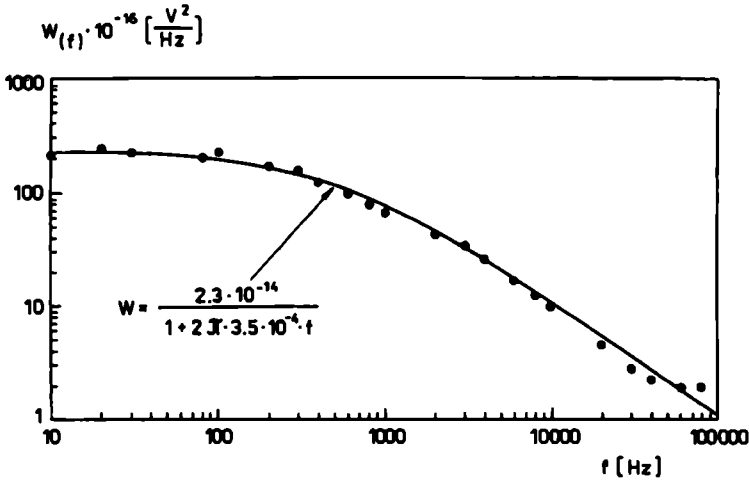
$$W(f) = W_0/(1 + a \cdot f),$$

gdzie W_0 i a są pewnymi stałymi dopasowania.

Przy przepływie przez błonę komórkową słabego prądu stałego i_0 , całkowita moc szumów wzrastała i dla całego, badanego zakresu częstości, od 10 Hz do 100 kHz, mogła być wyrażona wzorem:

$$W(f) = Bi_0^\alpha \cdot f^{-\beta} \quad (B \text{ — stała}),$$

z jedną, wspólną wartością parametru β dla całego, badanego zakresu częstości.



Ryc. 2. Funkcja widmowej gęstości mocy fluktuacji potencjału wewnątrz komórki glonu *Nitellopsis obtusa*. Wpisana krzywa ma następujące parametry $W_0 = 2,3 \cdot 10^{-14}$ V/Hz;
 $\tau_0 = 350 \mu s$

Fig. 2. Spectral density function for the fluctuations of the resting potential in *Nitellopsis obtusa*

Dla różnych egzemplarzy komórek nachylenie β widma zmieniało się w zakresie do 20%, natomiast parametr α pozostawał bliski wartości $\alpha \approx 2$ z dokładnością 10% dla kilku przebadanych komórek.

WNIOSKI

1. Badane widma komórek *Nitellopsis obtusa* są powtarzalne w ramach błędu pomiaru jedynie w przedziale kilkunastu minut. Jest zrozumiałe, że naturalne procesy zachodzące w komórce, w miarę upływu czasu będą zmieniały niektóre parametry widma. Z naszych pomiarów wynika, że zmienia się parametr W_0 , natomiast ogólny przebieg widma pozostaje nie zmieniony.

2. Rozkłady amplitudowe chwilowych wielkości fluktuacji są gaussowskie.

3. Przepuszczanie, wzdłuż komórki, prądu stałego o natężeniu i_0 do $2 \mu A$ powoduje zmianę widma na $W(f) = b/f$ z typową dla szumów nadmiarowych zależnością: $W = B \cdot i_0^2$.

4. Dla prądu $i_0 > 2 \mu A$ fluktuacje stają się statystycznym procesem niestacjonarnym, pojawiają się sporadyczne fluktuacje o bardzo dużej amplitudzie, powodujące uciążliwe dla pomiarów blokowanie się wzmacniaczy.

5. Nasze dalsze badania będą zmierzały do skonstruowania modelu wyjaśniającego mechanizm generacji fluktuacji o tak osobliwym przebiegu widma: $W(f) = W_0/(1+af)$. Już teraz można stwierdzić, że stała a ma charakter pewnej *stałej czasowej*, zatem w tej sytuacji właściwszy byłby zapis:

$$W(f) = W_0/(1 + \omega\tau_0), \quad \omega = 2\pi f, \quad \tau_0 = a.$$

Podobna postać widma jest spotykana w przypadku fluktuacji prądów w niektórych egzemplarzach elementów półprzewodnikowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Van der Ziel A., *Podstawy elektroniki ciała stałego*, WNT, Warszawa 1980.
- [2] Buckingham M. J., *Noise in Electronic Devices*, J. Wiley and Sons, New York 1983.
- [3] Tandon J. L., Bilger H. R., *J. Appl. Phys.*, 47, 4 (1976) 1697–1701.
- [4] Green M. E., Yafuso M., *J. Phys. Chem.*, 72 (1968) 4072–4078.
- [5] Schonfeld H., *Z. Naturforsch.*, 10a, 4 (1955) 291–300.
- [6] Bendat J. S., Piersol A. G., *Metody analizy i pomiaru sygnałów losowych*, PWN, Warszawa 1976.
- [7] Bulanda W., Gładyszewski L., J. Skierczyńska, *Ann. UMCS, AA*, XXVIII (1973) 169–176.

SUMMARY

Preliminary results on spontaneous fluctuations of resting potential in *Nitellopsis obtusa* are presented. Since the measurements have been performed using a new apparatus, the set-up is tested and described in detail. Basis statistical characteristics concerning spontaneous fluctuations as well as those concerning the fluctuations observed during low DC current are presented.