

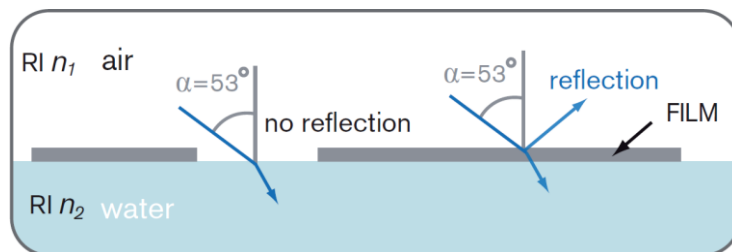
Sledovanie domén v molekulových 2D systémoch pomocou Brewsterovho mikroskopu

Teoretická časť

Brewsterov mikroskop (Brewster angle microscope - BAM) je určený pre zobrazovanie veľmi tenkých vrstiev na povrchoch kvapalín, najčastejšie Langmuirových vrstiev. Pri BAM sú mikroskop aj zdroj polarizovaného svetla nasmerované na povrch kvapaliny pod Brewsterovým uhlom pre danú kvapalinu takým spôsobom, že mikroskop môže zachytávať odraz svetla svetelného zdroju od hladiny. Pre Brewsterov uhol platí

$$\theta_B = \arctan\left(\frac{n_2}{n_1}\right), \quad (1)$$

kde θ_B je Brewsterov uhol a n_1 a n_2 sú indexy lomu vzduchu a kvapaliny. Keďže neexistuje odraz p-polarizovaného lúča (kde vektor elektrického poľa elektromagnetickej vlny leží v rovine dopadu a odrazu) od hladiny čistej kvapaliny pri dopade pod Brewsterovým uhlom, odraz svetla nastáva len v prípade nejakej zmeny vo vlastnosti rozhrania kvapalina-vzduch. Takouto zmenou môže byť napríklad prítomnosť molekúl tenkého filmu na povrchu kvapaliny. Kamera BAM teda pri správnom nastavení nesníma žiaden signál pre čistý povrch kvapaliny, zatiaľ čo v prítomnosti materiálu na povrchu je tento materiál snímaný ako svetlé miesto (Obr. 1). Táto metóda bola zavedená v roku 1991.



Obr. 1: Schematické znázornenie princípu BAM, $\alpha = 53^\circ$ je Brewsterov uhol pre rozhranie voda/vzduch.

BAM umožňuje vizualizáciu Langmuirových monovrstiev (Úloha č. 1. Lipidové membrány na vode) alebo adsorbovaných filmov na rozhraní vzduch-voda, napríklad v závislosti od fázy vrstvy. Používa sa pri charakterizácii Langmuirových vrstiev, alebo na indikáciu vhodného depozičného tlaku pre Langmuir-Blodgettovej (LB) depozíciu, napríklad pri LB depozícii nanočastíc [1]. Snímanie prebieha v reálnom čase, takže počas kompresie v LB vaničke poskytuje informáciu o homogenite vrstvy. Taktiež dáva možnosť pozorovať fázové zmeny, fázovú separáciu a rozmer a tvar domén pri jednotlivých úrovniach kompresie. Pomocou BAM môžeme sledovať v reálnom čase fotochemické reakcie, polymerizáciu a podobne. Dá sa použiť aj na monitorovanie a detekciu povrchovo aktívnych materiálov (napríklad adsorpciu proteínov).

Pri dopade p-polarizovaného svetla na čistý povrch vody teoreticky nedostávame žiaden odrazený signál. V skutočných prípadoch ale hovoríme, že intenzita odrazeného svetla pri Brewsterovom uhle dosahuje minimum. Pre čistú vodu je hodnota Brewsterovho uhla zhruba 53° . Prítomnosť soli môže túto hodnotu posunúť až o 2° .

Keďže BAM obraz je výsledkom zmeny indexu lomu systému a zvýšenia hustoty molekúl na rozhraní, zvyšovanie hustoty monovrstvy vedie k jasnejšiemu obrazu. Jasné oblasti na obraze BAM reprezentujú regióny s vysokou mierou medzimolekulárneho usporiadania v monovrstve a typicky sa označujú ako domény. Tmavšie oblasti predstavujú menej usporiadané a viac expandované fázy monovrstvy.

Experimentálna časť

Úloha

Pomocou Brewsterovho mikroskopu zobrazte a identifikujte jednotlivé fázy pri kompresii lipidu DPPC a kyseliny stearovej.

Prístroje a pomôcky

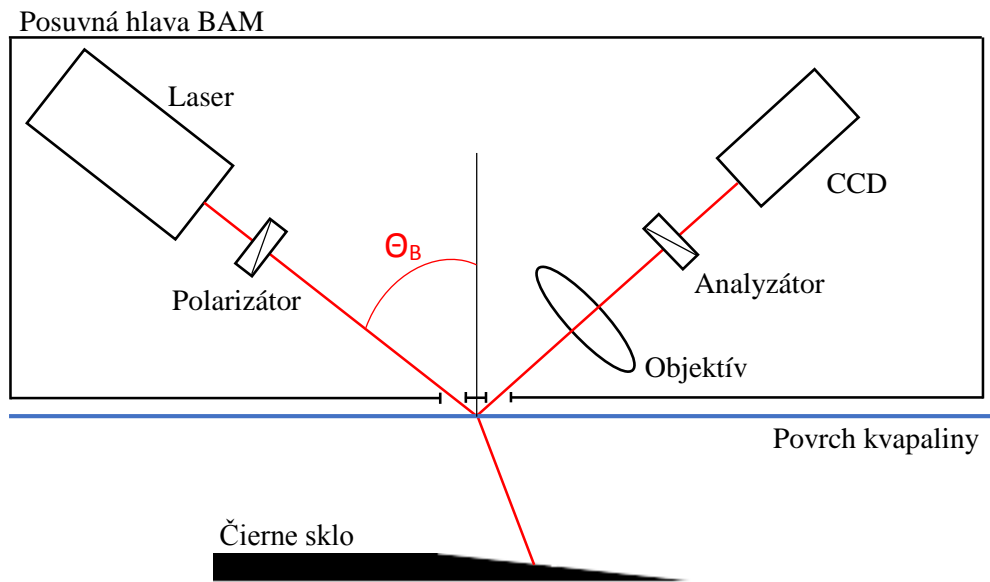
LB vanička, rukavice, Wilhelmov pásik, počítač, kadičky, odsávačka, striekačka s pevnou ihlou (typu Hamilton), Brewsterov mikroskop.

Chemikálie

Destilovaná voda, lipid - dipalmitoyl fosfatidylcholín DPPC, chloroform.

Popis a nastavenie BAM

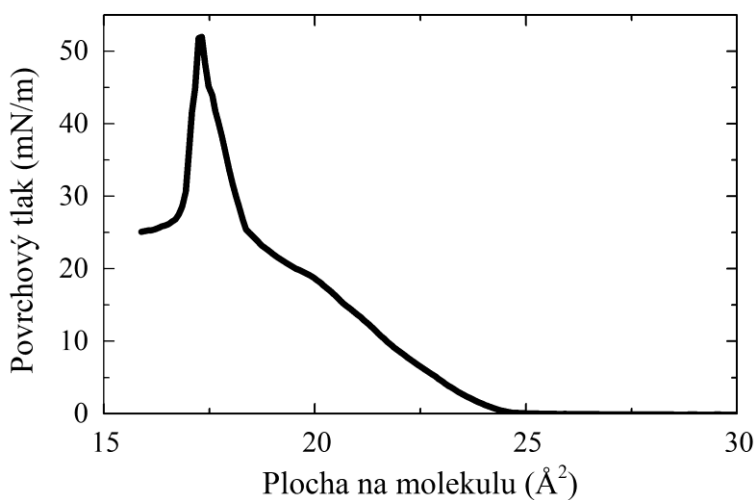
Na meranie je použitý Brewsterov mikroskop Nima microBAM [3] s fixovaným uhlom dopadu 53° . Meracia konfigurácia je schematicky znázornená na obr. 2. Zdroj dopadajúceho svetla je HeNe laser s výkonom 20mW a vlnovou dĺžkou 659 nm. Fixovaný polarizátor prepúšťa p-polarizovaný lúč. Rozlíšenie obrazu je $12 \mu\text{m}$ horizontálne v strede obrazu, veľkosť zobrazovanej plochy je $3600 \times 4000 \mu\text{m}$. Poloha USB kamery s rozlíšením 640×480 pixelov je fixne nastavená vo vnútri systému. Obraz sa zaostruje posunom hlavy BAM vo vertikálnom smere.



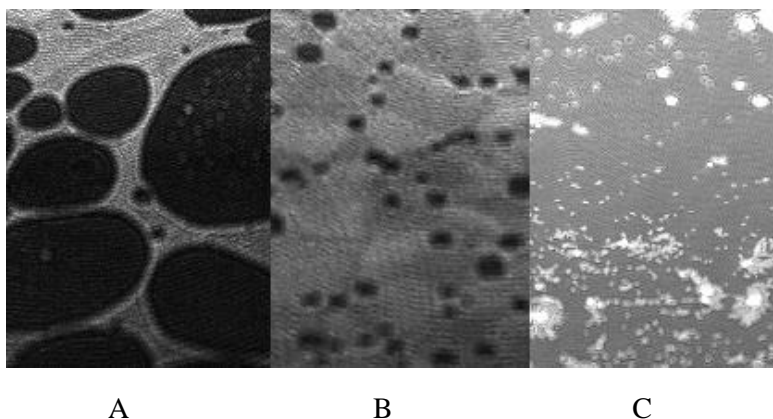
Obr. 2: Schematické znázornenie konfigurácie merania s BAM.

Pre meranie treba nastaviť meraciu hlavu BAM nad oblasť LB vaničky, ktorú chceme pozorovať (meranie na LB vaničke je popísané v úlohe č. 1). Umiestnime pod ňu antireflexné čierne sklo tak, aby sa jeho hranatý okraj nachádzal priamo pod vertikálnym zárezom na hlave BAM, takže jeho klinová časť bude priamo v dráhe lúča (klinová časť musí smerovať k telu mikroskopu). Čierne sklo absorbuje lúč, prechádzajúci do vnútra kvapaliny (viac ako 99%). Takýmto spôsobom zabráňuje tejto časti lúča, aby sa odrážala naspäť do detektora a zároveň obmedzí náhodnú difrakciu od okolia. Teraz je možné naplniť vaničku vodou. Spustíme ovládací program BAM a pomocou neho nastavíme naklonenie hlavy BAM do vodorovnej polohy. Skrutkou v stojane mikroskopu doladíme polohu hlavy tak, aby bola bublinka vo vodováhe v strede kruhu. Toto nastavenie je potrebné pre dosiahnutie správneho uhla dopadu lúča na hladinu. Po zapnutí lúča kľúčom otvoríme uzáver otočením gombíka na hlave. Mali by sme vidieť červený lúč. Spustíme software pre snímanie videa z CCD kamery. Nakoniec nastavíme správnu výšku hlavy BAM nad hladinou. Pri nej by mal byť celý obraz vyplnený signálom. Ak vidíme len výsek kruhovej oblasti, treba zmeniť nastavenie výšky.

Príklad zobrazenia monovrstvy kyseliny stearovej počas LB kompresie pomocou BAM [4]:



Obr. 3: LB izoterma kompresie kyseliny stearovej, $T = 23^\circ\text{C}$.



Obr. 4: Snímky BAM jednotlivých fáz pri kompresii kyseliny stearovej na vodnej hladine pre izotermu z obr. 3:

- A) kondenzovaná kvapalná fáza ($\pi = 15 \text{ mN/m}$) – čierna plocha je vodná hladina, začínajú sa vytvárať spojité štruktúry vznikajúcej monovrstvy; B) pevná fáza ($\pi = 35 \text{ mN/m}$) – súvislá monomolekulárna vrstva s niekoľkými defektami v podobe malých dier, ktoré predstavujú menej ako 5% plochy; C) stav po kolapse vrstvy (plocha $< 17 \text{ \AA/molekulu}$) – teste pred kolapsom zmiznú defekty a vrstva zaberá celý povrch hladiny. Pri malom zvýšení povrchového napätia vrstva kolabuje, monovrstva sa láme a jednotlivé kryhy sa začnú nakladať na seba.

Literatúra

- [1] https://en.wikipedia.org/wiki/Brewster_angle_microscope
- [2] Círák, J., Ottova, A.: Bioelektronika - Návod na cvičenia. Skriptá. 1984. SVŠT v Bratislave.
- [3] Nima microBAM - Operation manual.
- [4] Fodran, T.: Fyzikálne vlastnosti organických vrstiev. Bakalárska práca. 2016.