

metode određivanja veličine makromolekula

- raspršenje svjetlosti
- raspršenje röntgenskih zraka
- raspršenje neutrona
- različite mikroskopske tehnike (npr. Mikroskopija atomskih sila, *Atomic Force Microscopy*, AFM)

Raspršenje svjetlosti (Light scattering)



Tyndall 1869.



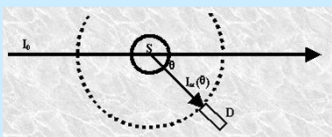
Rayleigh 1871.



Debye 1944.

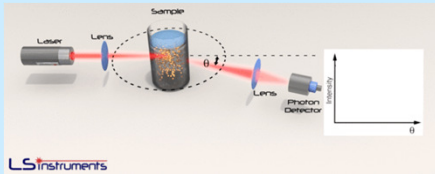
Raspršenje svjetlosti (Light scattering)

- Dinamičko raspršenje svjetlosti (**D**ynamic **L**ight **S**cattering, **DLS**)
- Statičko raspršenje svjetlosti (**S**tatic **L**ight **S**cattering, **SLS**)



Statičko raspršenje svjetlosti SLS

Statičko raspršenje svjetlosti (*Static Light Scattering, SLS*) – predstavlja mjerenje vremenski uprosječenog intenziteta raspršenog zračenja pri različitim kutevima)



Statičko raspršenje svjetlosti SLS

Primjene:

- procjena radijusa makromolekula putem određivanja tzv. radijusa vrtnje (ili radijusa giracije) R_g
- određivanje masenog prosjeka molarne mase M_w
- mjerenjem pri različitim koncentracijama moguće je odrediti i tzv. drugi virijalni koeficijent, A_2 , koji opisuje međudjelovanja između makromolekula i otapala

Statičko raspršenje svjetlosti SLS

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w}$$

Rayleigh-eva jednačica gdje je R_θ omjer intenziteta raspršene i upadne svjetlosti, a K optička konstanta

$$K = \frac{2\pi^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2$$

optička konstanta

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} + 2A_2c + \dots$$

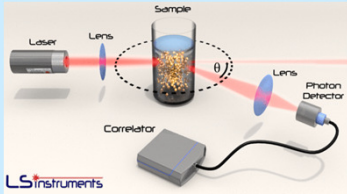
Rayleigh-eva jednačica za realne sustave

Za određivanje radijusa vrtnje koristi se tzv. Zimmov dijagram (*Zimm plot*) koji predstavlja grafički prikaz ovisnosti intenziteta raspršenog zračenja o koncentraciji makromolekula.

Dinamičko raspršenje svjetlosti DLS

Dinamičko raspršenje svjetlosti (*Dynamic Light Scattering*, DLS)

- mjerenje vremenski ovisne fluktuacije intenziteta raspršenog zračenja
- koristi se za određivanje hidrodinamičkog radijusa, R_H



Dinamičko raspršenje svjetlosti DLS

Hidrodinamički radijus, R_H , predstavlja radijus ekvivalentne čvrtse sfere koja difundira jednakom brzinom kao ispitivana molekula, a izračunava se iz izmjerenog difuzijskog koeficijenta putem Stokes-Einstenove jednačbe.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_H}$$

Stokes-Einsteinova jednačba

Small Angle X-ray Scattering (SAXS)

Raspršenje röntgenskih zraka pri malim kutevima



$$\langle F^2(h) \rangle = n^2 \exp(-h^2 R_0^2 / 3)$$

Guinierov prikaz

European Synchrotron
Radiation Facility (ESRF),
Grenoble, Francuska

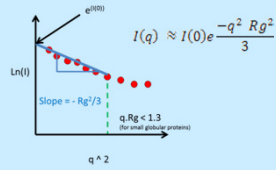
Small Angle X-ray Scattering (SAXS)
 Raspršenje röntgenskih zraka pri malim kutevima



European Synchrotron
 Radiation Facility (ESRF),
 Grenoble, Francuska

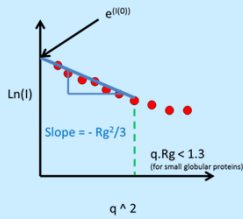
$$\langle F^2(h) \rangle = n^2 \exp(-h^2 R_0^2 / 3)$$

Guinier plot



Small Angle X-ray Scattering (SAXS)
 Raspršenje röntgenskih zraka pri malim kutevima

$$I(q) \approx I(0)e^{-\frac{q^2 R_g^2}{3}}$$



Small Angles Neutron Scattering (SANS)
 Raspršenje neurona pri malim kutevima



Institute ILL,
 Grenoble,
 France

Small Angles Neutron Scattering (SANS)
Raspršenje neutrona pri malim kutevima

