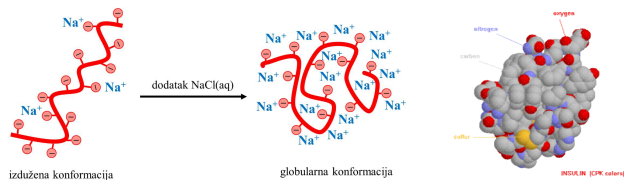
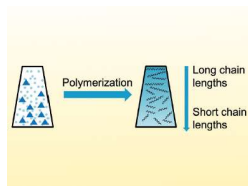


Karakterizacija makromolekula



Molarna masa

Prosjeck molarne mase

Kod makromolekula, a posebice polimera, molarna masa se izražava kao prosjek molarne mase svih lanaca u uzorku.

Postoji više različitih prosjeka molarne mase, a najčešće se koriste:

- brojčani prosjek molarne mase, $\overline{M}_n$
- maseni prosjek molarne mase, $\overline{M}_w$
- viskoznozni prosjek molarne mase, $\overline{M}_v$

Molarna masa

Kako izračunati razne prosjeke molarne mase?

brojčani prosjek molarne mase
$$\overline{M}_n = \frac{\sum_i N_i}{\sum_i N_i} M_i$$

maseni prosjek molarne mase
$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i}$$

pri čemu je:
 N_i ukupni broj molekula (lanaca) s molarnom masom M_i u uzorku

Molarna masa

Indeks polidisperznosti

Indeks uniformnosti

Disperznost molarne mase
(sinonimi)

Procjena raspodjele molarne mase;
 računa se kao omjer masenog i brojčanog prosjeka molarne mase:

$$\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$$

Eksperimentalne metode određivanja prosjeka molarne mase

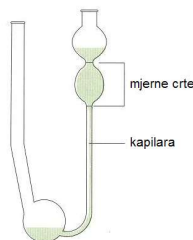
Tradicionalne metode:

- osmotski tlak i ostale metode bazirane na koligativnim svojstvima koriste se za određivanje brojčanog prosjeka molarne mase
- sedimentacija – za određivanje masenog prosjeka molarne mase
- viskoznost – za određivanje viskoznoznog prosjeka molarne mase

Također se koriste:

- kromatografija isključenja po veličini (*size exclusion chromatography*, SEC)
- statičko raspršenje zračenja

viskoznost



Ostwaldov viskozimetar

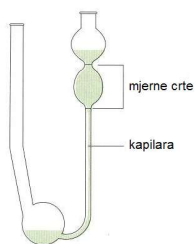
Postupak određivanja viskoznoznog prosjeka molarne mase: izmjeri se viskoznost otopine polimera (nekoliko masenih koncentracija) i viskoznost čistog otapala.

Odredi se relativna viskoznost za sve koncentracije polimera i iz relativne viskoznosti odredi se specifična viskoznost.

relativna viskoznost
$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0}$$

specifična viskoznost
$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \eta_r - 1$$

viskoznost



Ostwaldov viskozimetar

Iz specifične viskoznosti odredi se intrinzička viskoznost na način da se prikaže ovisnost specifične viskoznosti o masenoj koncentraciji polimera i iz tog prikaza odredi se intrinzička viskoznost kao vrijednost specifične viskoznosti pri koncentraciji polimera = 0.

Dobivena vrijednost intrinzičke viskoznosti uvrsti se u Mark-Hauwinkovu jednadžbu i uz poznate vrijednosti konstanti K i α , koje ovise o vrsti polimera i otapalu, odredi se viskoznozni prosjek molarne mase.

$$\text{intrinzična viskoznost} \quad [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c}$$

$$[\eta] = KM^\alpha$$

Mark- Houwinkova jednadžba

sedimentacija

Analitičku centrifugu osmislio Theodor (The) Svedberg (1884–1971).



Dobitnik Nobelove nagrade iz kemije 1926 „za rad u području disperznih sustava”.

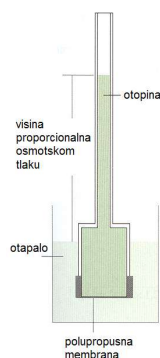
sedimentacija



ultracentrifuga

Iz eksperimenta se određuje sedimentacijski koeficijent pomoću kojega se dobiva maseni prosjek molarne mase.

osmotski tlak



Mjerenje osmotskog tlaka se koristi za određivanje brojčanog prosjeka molarne mase.

osmotski tlak

$$\Pi = c_B RT$$

$$\Pi = \frac{n_B RT}{V}$$

$$\frac{\Pi}{\gamma} = \frac{RT}{M}$$

$$\lim_{\gamma \rightarrow 0} \frac{\Pi}{\gamma} = \frac{RT}{M}$$

Postupak određivanja brojčanog prosjeka molarne mase iz mjerenja osmotskog tlaka sličan je određivanju viskoznoznog prosjeka molarne mase. Izmjeri se osmotski tlak za nekoliko otopina polimera različitih masenih koncentracija.

Prikaže se ovisnost omjera osmotskog tlaka i koncentracije o koncentraciji i iz tog prikaza odredi se vrijednost navedenog omjera pri koncentraciji = 0.

Uvrštavanjem u jednadžbu izračuna se brojčani prosjek molarne mase.

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.



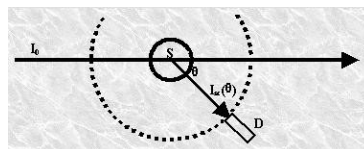
Rayleigh 1871.



Debye 1944.

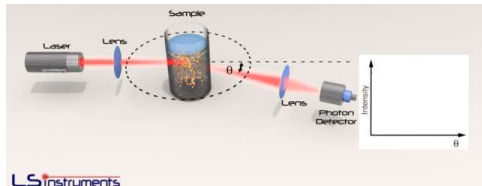
Raspršenje svjetlosti (Light scattering)

- 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) – mjerenje vremenski uprosječenog intenziteta raspršenog zračenja pri različitim kutovima



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 jednačba 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

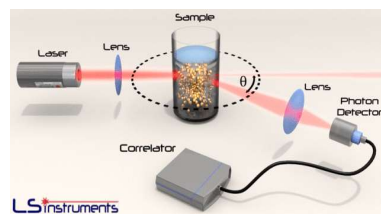
$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} + 2A_2c + \dots$$

Rayleigh-eva jednačba 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)
- naziva se još foton korelacijska spektroskopija (PCS) ili kvazi-elastično raspršenje svjetlosti (QELS)
- 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 čvrste sfere koja difundira jednakom brzinom kao ispitivana molekula, a izračunava se iz izmjerenog difuzijskog koeficijenta putem Stokes-Einsteinove jednadžbe.

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

Stokes-Einsteinova jednadžba

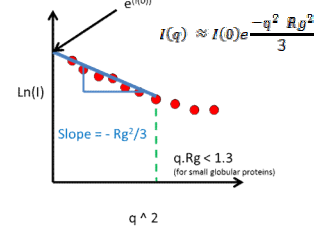
Small Angle X-ray Scattering (SAXS) Raspršenje röntgenskih zraka pri malim kutevima



European Synchrotron
Radiation Facility (ESRF),
Grenoble, Francuska

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

Guinierov prikaz



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



Institute ILL,
Grenoble,
France

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

