

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

Zrinka Gregurić

Diplomski rad

**DIELEKTRIČNA RELAKSACIJA
VODENIH OTOPINA
HIJALURONSKE KISELINE**

Zagreb, 2008.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

SMJER: PROF. FIZIKE

Zrinka Gregurić

Diplomski rad

**DIELEKTRIČNA RELAKSACIJA
VODENIH OTOPINA
HIJALURONSKE KISELINE**

Voditelj diplomskog rada: **Dr. sc. Silvia Tomić**

Suvoditelj diplomskog rada: **Dr. sc. Maja Planinić**

Ocjena diplomskog rada: _____

Povjerenstvo: 1. _____

2. _____

3. _____

Datum polaganja: _____

Zagreb, 2008.

Ovaj rad je izrađen u grupi dr.sc. Silvije Tomić na Institutu za fiziku u Zagrebu.

Ovim putem želim se zahvaliti dr.sc. Siliviji Tomić na odabiru teme i vođenju u izradi diplomskog rada te ostalim članovima grupe, dr.sc. Tomislavu Vuletiću na trudu i nesebičnoj pomoći u izradi diplomskog rada, dipl. ing. Tomislavu Iveku na pruženoj tehničkoj podršci koja je uvelike olakšala izradu ovog rada te mr.sc. Sanji Dolanski-Babić na pruženoj pomoći. Zahvaljujem se dr.sc. Maji Planinić na suvoditeljstvu diplomskog rada.

Na kraju se želim zahvaliti članovima moje obitelji, dečku te svim prijateljima na njihovoj podršci tokom studija.

Sadržaj

1	Uvod	1
2	Teorijski uvod	3
2.1	Elektrostatika i entropija: Poisson-Boltzmannova jednačba	3
2.1.1	Debye Hückelova aproksimacija	4
2.1.2	Bjerrumova dužina	5
2.1.3	Manning Oosawaina kondenzacija	6
2.2	Fundamentalne prostorne skale	7
2.2.1	Dužina tvrdokornosti	7
2.2.2	Razrijeđene polielektrolitske otopine	8
2.2.3	Polurazrijeđene polielektrolitske otopine	9
3	Niskofrekventna dielektrična spektroskopija	13
3.1	Mjerni postav	13
3.2	Utjecaj polarizacije elektroda na NFDS	15
3.3	Obrada podataka	17
3.3.1	Prilagodba rezultata	19
3.3.2	Oduzimanje pozadine: tehnički elementi	21
4	Materijali i mjerenje	23
4.1	Specifikacije uzorka hijaluronske kiseline	23
4.1.1	Kemijska struktura HA	23
4.1.2	Fundamentalne veličine vezane uz HA	24
4.2	Priprema uzorka	26
4.2.1	Protokoli pripreme	26
4.2.2	Dijaliza	27
4.2.3	Utjecaj dijalize na provodnost uzoraka	28
4.3	Rezultati NFDS mjerenja	29
4.3.1	Otopine Na-HA u čistoj vodi	29
4.3.2	Otopine Na-HA u 1mM NaCl	32
5	Analiza rezultata i diskusija	35
5.1	Analiza rezultata mjerenja dielektrične relaksacije otopina Na-HA u čistoj vodi	35
5.1.1	Visokofrekventni mod (<i>VF mod</i>)	35
5.1.2	Niskofrekventni mod (<i>NF mod</i>)	37
5.2	Analiza rezultata mjerenja dielektrične relaksacije otopina Na-HA u 1mM NaCl	39
6	Zaključak	41
A	Fizikalne veličine	43

Dodaci

B Metodički dio

45

Poglavlje 1

Uvod

Korištenje bioloških materijala u industriji visoke tehnologije, gdje do izražaja dolaze njihova fizikalna svojstva, izazvalo je veliki interes i brojna istraživanja o njima. Tako istraživanja fizikalnih svojstava bioloških materijala spadaju u ključna istraživanja današnjice.

DNA i ostali biološki aktivni polimeri kad se nalaze u vodenoj otopini, postanu nabijene molekule, polielektroliti. Upravo takvo ponašanje pokazuje hijaluronska kiselina koja je predmet ovog rada. Polielektroliti su polimeri čiji monomeri sadrže ionizabilne kemijske grupe, koje, kad se nalaze u polarnim otapalima, disociraju, tj. otpuštaju ione. Polielektroliti, dakle, disociraju na polimer na kojem se nalaze naboji, polion, te na ione suprotnog predznaka, protuione. Elektrostatsko međudjelovanje nabijenog poliona i protuionske atmosfere su jake, a kako su polioni relativno fleksibilni međudjelovanje ima veliki utjecaj na njihovo ponašanje i oblike, konformacije koje zauzimaju. Općenito, kompleksna međudjelovanja naboja u otopini utječu na uređenje i samoorganizaciju biomakromolekula, što omogućuje pravilno izvođenje bioloških procesa poput replikacije genoma, stvaranje proteina itd.

Proučavanjem dielektričnih svojstava otopina biomakromolekula možemo dobiti određene informacije o njihovoj strukturi, a poznato je da struktura biomakromolekula određuje njihovu funkciju. Stoga se u ovom diplomskom radu mjeri dielektrični odziv takvog polielektrolitskog sustava na vanjski podražaj, promjenjivo električno polje. Predmet istraživanja su vodene otopine natrijeve soli hijaluronske kiseline (Na-HA). Hijaluronska kiselina (HA) je važan biomaterijal, nalazi se u izvanstaničnim tekućinama sisavaca, gdje služi kao jedan od glavnih strukturnih elemenata. Sastavni je dio staklovine oka, pupčane vrpce, nosne hrskavice. HA je vrlo viskozna, nalazi se u zglobovima gdje vrši ulogu podmazivanja zgloba. Prisutna je i kod nižih organizama. Upravo njena polielektrolitska priroda daje raznolika svojstva i široki spektar uloga u organizmu. Ovaj rad strukturiran je tako da se opis prostornog uređenja iona i elektrolita u otopini kao posljedica elektrostatskog međudjelovanja i utjecaja toplinskog pobuđenja sustava proučava u poglavlju 2. Tu su prikazani i teorijski modeli koji opisuju utjecaj različitih koncentracija polielektrolita i protuiona na uređenje i strukturu polielektrolita u otopini. U poglavlju 3 opisan je eksperimentalni postav niskofrekventne dielektrične spektroskopije, metode mjerenja dielektrične funkcije uzorka te način prilagodbe mjerenih rezultata. Poglavlje 4 sadrži detaljan opis svojstava uzorka na kojem smo vršili mjerenja, protokole pripreme kojim su se izrađivale vodene otopine Na-HA te primarne rezultate mjerenja. Poglavlje 5 sadrži analizu podataka dobivenih mjerenjem te diskusiju dobivenih rezultata u svjetlu teorijskih

predviđanja.

Poglavlje 2

Teorijski uvod

U ovom poglavlju opisane su pojave u elektrolitima kao rezultat elektrostatskih međudjelovanja i toplinskih pobuđenja sustava. U potpoglavlju 2.1 analiziraju se, pomoću Poisson-Boltzmannove jednadžbe, pojave u elektrolitima i polielektrolitima, poglavito raspodjela naboja. Tu su opisane Debyeova dužina, Bjerrumova dužina te proces kondenzacije protuiona na poliiionu. Poglavlje 2.2 opisuje pojavu fundamentalnih prostornih skala kojima se opisuje polurazrijeđena otopina polielektrolita. Opisuje se dužina tvrdokornosti polimera i utjecaj koncentracije iona dodane soli na nju, te korelacijska dužina i veličina lanca kao funkcije koncentracije polimera i protuiona u otopini.

2.1 Elektrostatika i entropija: Poisson-Boltzmannova jednadžba

Distribucija iona u otopini odražava ravnotežu elektrostatskih međudjelovanja i toplinskog pobuđenja sustava. Kako bismo ilustrirali pojave u elektrolitima, uvjetovane tom ravnotežom postaviti ćemo Poisson-Boltzmann jednadžbu i izvesti neka njena rješenja. Poissonova jednadžba opisuje elektrostatske doprinose energiji sistema iona dok Boltzmannova raspodjela uvažava zakone klasične statističke fizike. Poissonovom jednadžbom opisana je ovisnost električnog potencijala φ o raspodjeli naboja $\rho(r)$

$$\nabla^2 \varphi(r) = -\frac{\rho(r)}{\varepsilon}, \quad (2.1)$$

gdje je ε dielektrična konstanta medija, jednaka je umnošku permitivnost vakuumu ε_0 i relativne dielektrične konstante ε_r koja ovisi o sustavu u kojem se nalazi. Zbog toga $\varepsilon = \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r$. Poissonova jednadžba je generalizacija Coulombovog potencijala gdje je raspodjela naboja proizvoljna. Naravno, za slučaj točkastog naboja Poissonova jednadžba svodi se na Coulombov potencijal. Koordinatu položaja r , uzimamo s obzirom na nabijeni objekt koji promatramo, a to može biti npr. ion (dimenzija $D=0$), polielektrolit ($D=1$), nabijena površina proteina ili membrana ($D=2$). Za svaki od ovih primjera koristi se odgovarajući koordinatni sustav u kojem se promatra problem. Raspodjelu naboja možemo izraziti na više načina pa tako i pomoću koncentracija različitih iona $\rho(r) = e(c(r)_+ + c(r)_-)$. Za proizvoljni broj vrsta iona valencije z_i i koncentracije c_i (broj iona po m^3) prethodna jednadžba prelazi u općeniti oblik

$$\rho(r) = e \sum_i z_i c_i(r), \quad (2.2)$$

gdje je e elementarni naboj. Veza lokalne koncentracije na položaju r i potencijalne energije $ez_i\varphi(r)$ u istoj točki ostvarena je Boltzmannovom raspodjelom koja ima oblik

$$c_i(r) = c_i(\infty) e^{-\frac{ez_i\varphi(r)}{k_B T}}, \quad (2.3)$$

gdje je k_B Boltzmannova konstanta, T temperatura, a $c_i(\infty)$ koncentracija iona na udaljenosti gdje elektrostatski potencijal φ jednak nuli, znači na velikoj udaljenosti od nabijenog sistema od interesa koji taj potencijal stvara. Povezivanjem jednadžbi 2.2 i 2.3 dobijemo

$$\rho(r) = e \sum_i z_i c_i(\infty) e^{-\frac{ez_i\varphi(r)}{k_B T}}. \quad (2.4)$$

Uvrštavanjem 2.4 u 2.1 dobijemo Poisson Boltzmannovu (PB)jednadžbu

$$\nabla^2 \varphi(r) = -\frac{e}{\varepsilon} \sum_i z_i c_i(\infty) e^{-\frac{ez_i\varphi(r)}{k_B T}}. \quad (2.5)$$

PB jednadžba je diferencijalna jednadžba drugog reda, a opisuje električni potencijal $\varphi(r)$ koji uzima u obzir zasjenjenje elektrostatskog međudjelovanja statistički raspodjeljenim ionima. Izračunavanjem potencijala prema relaciji 2.5 možemo izračunati raspodjelu naboja.

2.1.1 Debye Hückelova aproksimacija

Kada je elektrostatsko međudjelovanje slabije u usporedbi sa toplinskim pobuđenjima možemo uzeti $ez_i\varphi(r)/k_B T \ll 1$. Tada izraz $c_i(\infty)e^{-ez_i\varphi(r)/k_B T}$ možemo razviti u Taylorov red i dobijemo da je

$$\nabla^2 \varphi(r) = -\frac{e}{\varepsilon} \sum_i z_i c_i(\infty) \left(1 - \frac{ez_i\varphi(r)}{k_B T}\right). \quad (2.6)$$

Aproksimaciju $e^{-ez_i\varphi(r)/k_B T} = 1 - \frac{ez_i\varphi(r)}{k_B T}$ zovemo Debye Hückelovu (DH) aproksimacija. Kada je r jako velik možemo pretpostaviti da je elektrostatski potencijal na toj udaljenosti jednak nuli te vrijedi $\sum_i ez_i c_i(\infty) = 0$. Jed 2.6 se tada svodi na

$$\nabla^2 \varphi(r) = \frac{e^2}{\varepsilon k_B T} \sum_i z_i^2 c_i(\infty) \varphi(r). \quad (2.7)$$

Jednadžba 2.7 je linearizirana Poisson Boltzmannova jednadžba. Pojednostavimo ju supstitucijom faktora koji množi $\varphi(r)$ na desnoj strani:

$$\kappa^2 = \frac{e^2 \sum_i z_i^2 c_i(\infty)}{\varepsilon k_B T}, \quad (2.8)$$

$$\nabla^2 \varphi(r) = \kappa^2 \varphi(r). \quad (2.9)$$

Varijabla κ^{-1} ima dimenziju dužine i zove se Debyeova dužina. Debyeova dužina je fundamentalna skala za ionske otopine. Na udaljenostim kraćim od κ^{-1} elektrostatsko

međudjelovanje je jako, a na većim udaljenostima od Debyeve dužine međudjelovanje je jako oslabljeno jer dolazi do zasjenjenja ionima dodane soli, $\rho(r)$. Potencijal točkastog naboja pada eksponencijalno na udaljenostima većim od κ^{-1} , na udaljenosti κ^{-1} potencijal se smanji za $1/2.718$ od Coulombske vrijednosti. Zato κ^{-1} zovemo još i Debyeova dužina zasjenjenja.

Definirajmo ionsku jakost otopine I_s kao

$$I_s[1/m^3] = \frac{1}{2} \sum_i z_i^2 c_i(\infty)[1/m^3]. \quad (2.10)$$

Supstitucijom I_s u jednadžbi 2.8 dobivamo empirijski izraz za računanje Debyeve dužine

$$\kappa^{-1} = \zeta \frac{1}{\sqrt{I_s}}, \quad (2.11)$$

gdje je ζ konstanta proporcionalnosti i jednaka $\zeta = \sqrt{\frac{\epsilon k_B T}{e^2 N_A}}$. N_A je Avogadrova konstanta koja označava broj čestica po molu i iznosi $N_A = 6.022 \cdot 10^{23}/mol$. Nju je potrebno uvesti kako bi mogli baratati praktičnim mjerenim jedinicama za I_s : $mM = mol/m^3 = mmol/dm^3$. Za ione koji se nalaze u vodenim otopinama vrijedi da je $\epsilon = \epsilon_r \epsilon_0$, gdje je ϵ_r dielektrična konstanta vode $\epsilon_{H_2O} = 78.65$, ϵ_0 je permitivnost vakuuma, i iznosi $\epsilon_0 = 8.858 \cdot 10^{-12} Fm^{-1}$. Ako uzmemo $T = 300K$ za iznos sobne temperature, Boltzmannovu konstantu $k_B = 1.38 \cdot 10^{-23} JK^{-1}$ te elementarni naboj $e = 1.619 \cdot 10^{-19} C$ dobijemo da je

$$\kappa^{-1}[nm] = 10 \frac{1}{\sqrt{I_s[mM]}}. \quad (2.12)$$

Debyeova dužina ovisi samo o ionskoj jakosti sustava I_s , tj. o koncentraciji i valenciji iona dodane soli. Jed. 2.12 daje brojčanu vrijednost konstante te nam omogućuje određivanje Debyeve dužine za otopine različitih ionskih jakosti.

2.1.2 Bjerrumova dužina

Primijetimo i da se u izrazu 2.8 javlja još jedna prostorna skala:

$$\kappa^2 = \frac{2e^2 I_s}{\epsilon k_B T} = 8\pi l_B I_s, \quad (2.13)$$

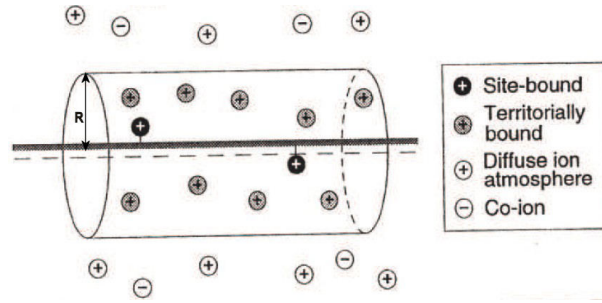
Dakle, l_B je Bjerrumova dužina, dana sa

$$l_B = e^2 / (4\pi \epsilon k_B T). \quad (2.14)$$

Ovdje je e elementarni naboj, $k_B T$ je toplinska energija. Bjerrumova dužina l_B jednaka je razmaku između naboja na kojem je energija elektrostatskog međudjelovanja $e^2 / (4\pi \epsilon l_B)$ jednaka toplinskoj energiji $k_B T$. Bjerrumova dužina je specifična za pojedino otapalo jer, između ostalih parametara, najviše ovisi o dielektričnoj konstanti otapala. U vodi na $25^\circ C$ je $l_B = 7.1 \text{ \AA}$. Smisao Bjerrumove dužine u elektrolitu jest da je to karakteristična udaljenost na kojoj dolazi do asocijacije/disocijacije iona i protuiona. Tj. za $r < l_B$ elektrostatsko privlačenje dvaju iona nadvlada termičku agitaciju i ioni disociraju, i obrnuto. Za multivalentne ione l_B raste kao umnožak valencija iona koji međudjeluju.

2.1.3 Manning Oosawaina kondenzacija

Dosadašnje razmatranje rješenja PB jednadžbe, kako bi se dobila raspodjela naboja i potencijal u otopini, je bilo pojednostavljeno, zbog relativno slabog polja točkastih naboja i protuiona. No, kada se u otopini nalazi polielektrolit, DH uvjet $k_B T \gg (e z_i \varphi(r))$ više nije zadovoljen, zbog relativno velike gustoće naboja, "fiksiranih" na molekuli polielektrolita. Dolazi do kondenzacije protuiona (Sl. 2.1), što znači da je dio protuiona privučen snažnim poljem linearne raspodjele naboja na polielektrolitu. Kondenziranim protuionima gibanje je ograničeno na određeni volumen koji se prostire duž polielektrolita, i ti jednoliko raspoređeni ioni, uzduž cijelog polimera smanjuju efektivnu linearnu gustoću naboja polielektrolita. Nekondenzirani dio protuiona, tzv. slobodni protuioni, se giba u otopini kao inače kod (poli)elektrolita kod kojih se ne javlja kondenzacija.



Slika 2.1: Prikaz položaja iona naspram polielektrolita u ovisnosti o "vrsti" iona. *Site-bound*: kemijski nedisocirani ioni; *territorially bound*: kondenzirani ioni; *diffuse ion*: slobodni protuioni, porijeklom intrinzični, sa polimera, ali i iz dodane soli; *Co-ion*: koioni iz dodane soli.

Ova fizikalna situacija može se opisati preko PB jednadžbe. Polielektrolitski lanac promatramo kao liniju naboja sa linearnom gustoćom e/b , gdje je b razmak između jediničnih naboja na polielektrolitu [2]. Elektrostatski potencijal te linije naboja iznosi:

$$\varphi(r) = \frac{e}{2\pi\epsilon b} \ln r, \quad (2.15)$$

r je udaljenost protuiona od lanca i vrijedi da je r mnogo manji od dužine lanca. Uočimo slabo logaritamsko opadanje potencijala. Takav potencijal polielektrolita slobodni ioni osjećaju na velikim udaljenostima, što onda vodi na kondenzaciju.

Broj protuiona u cilindru radiusa R (u blizini polielektrolita), Sl. 2.1, proporcionalan je particijskoj funkciji sistema koji čine protuioni i polielektroliti. U računanju te funkcije koristi se Boltzmannova raspodjela.

$$\Omega = \int_0^R e^{-e\varphi/k_B T} 2\pi r dr, \quad (2.16)$$

faktor $2\pi r$ dolazi od integracije koordinata o kojima u ovom slučaju ne ovisi energija sistema.

Uvrstimo 2.15 u 2.16

$$\Omega = \int_0^R r^{-\frac{e^2}{2\pi\epsilon b k_B T}} 2\pi r dr = 2\pi \int_0^R r^{1-\frac{e^2}{2\pi\epsilon b k_B T}} dr = 2\pi \int_0^R r^{1-2u} dr. \quad (2.17)$$

Vidimo da ovaj integral divergira u $r = 0$ ako je eksponent manji od -1 . Uočimo da se u članu koji definira taj eksponent

$$u = \frac{e^2}{4\pi\epsilon b k_B T}, \quad (2.18)$$

javlja omjer Bjerrumove dužine l_B i b , razmaka između jediničnih naboja na polielektrolitu.

$$u = \frac{l_B}{b}. \quad (2.19)$$

Dakle, za

$$u > 1, \quad (2.20)$$

javlja se divergencija u particijskoj funkciji, sustav ima visoku slobodnu energiju, te zbog toga dolazi do snažnog privlačenja protuiona sa polielektrolitom - kondenzacije. Protuioni okruže polielektrolit tako da zasjene njegov naboj i time efektivno smanje gustoću naboja, za faktor $r = 1 - 1/u$. Manning je predložio da se kondenzacija iona javlja sve dok u ne padne na vrijednost 1. Tj. efektivnim smanjenjem gustoće naboja povećava se efektivni razmak među nabojima do iznosa l_B (kad su u pitanju monovalentni ioni). Kondenzacija protuiona smanjuje linearnu gustoću naboja polielektrolita, ali ne ovisi o vrsti iona već o njegovom naboju i neovisna je o vrsti soli dodanoj u otopini. Kondenzacija je specifična za cilindrično simetrične sisteme, zbog njihove logaritamske ovisnosti potencijala. Udaljenost naboja u velikom broju polielektrolita je manja od $l_B = 7.1\text{Å}$ stoga je kondenzacija protuiona vrlo česta pojava. U slučaju DNA $b = 1.7\text{Å}$, $u = 4.2$.

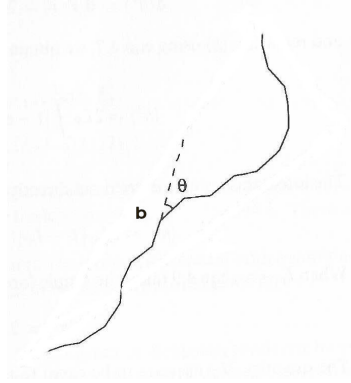
2.2 Fundamentalne prostorne skale

2.2.1 Dužina tvrdokornosti

Osim skala kao što su Bjerrumova dužina i Debyeova dužina, koje su svojstvo elektrolita općenito, kod polielektrolita nalazimo i druge fundamentalne skale. Kako su polielektroliti sastavljeni kao dugi lanci monomera do izražaja dolazi njihova krutost, tj. savitljivost. Mjera mehaničke savitljivosti polimera općenito je dužina tvrdokornosti L_p . Dužina tvrdokornosti je granica između krutog i savitljivog lanca, to je udaljenost (duž samog lanca) na kojoj pomaci dijela polimera više bitno ne utječu, dakle, nisu korelirani s pomakom udaljenog ostatka lanca, [1]. Drugim riječima, dužina tvrdokornosti se definira kao najmanja dužina nakon koje je izgubljena informacija o korelaciji usmjerenja dijelova polimera u smjeru tangente na polimer. Definirajmo kut θ između vektora tangente na polimer u ishodištu i tangente na polimer na udaljenosti L od ishodišta, Sl.2.2. Očekivana vrijednost kosinusa kuta pada eksponencijalno sa udaljenosti,

$$\langle \cos \theta \rangle = e^{-L/L_p} \quad (2.21)$$

Ako je polimer kraći od L_p polimer je krut te se ponaša kao štap, a ukoliko je veći od L_p polimer je savitljiv te se može opisati statistički poput nasumičnog hoda. Osnovni doprinos L_p je posljedica strukture samog polimera. No kod polielektrolita elektrostatsko međudjelovanje naboja samog polielektrolitskog lanca stvaraju dodatni doprinos krutosti. Opis su dali nezavisno Odijk [5] te zajedno Skolnick i Fixman. Prema toj teoriji L_p se



Slika 2.2: Polimer sastavljen od N monomera duljine b . θ je kut između tangenti dvaju monomera.

sastoji od dva doprinosa, strukturalni L_0 doprinos i doprinos dugodosežnih elektrostatskih međudjelovanja L_e

$$L_p = L_0 + L_e = L_0 + l_B / (2b\kappa)^2. \quad (2.22)$$

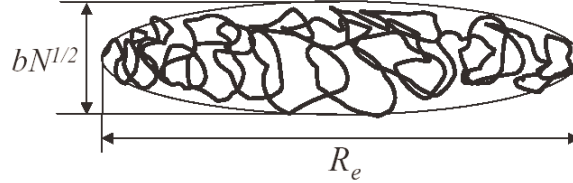
Primijetimo da elektrostatski doprinos bitno ovisi o ionskoj jakosti otopine u kojoj se polielektrolit nalazi. Ioni dodane soli visokih koncentracija zasjene naboje na polielektrolitu pa u izrazu za L_p ostaje samo strukturni doprinos L_0 , dok L_e pada s povećanjem I_s , tj. povećanjem koncentracije iona dodane soli povećava se fleksibilnost polielektrolita. U slučaju kada nema dodanih iona u otopini ovaj model se ne može primjeniti, jer u tom slučaju poliiioni međusobno stvaraju zasjenjenje. Ova tema je intenzivno eksperimentalno istraživana kod DNA. Tj. teorijski OSF model za dužinu tvrdokornosti DNA, $L_p[\text{Å}] = L_0 + 0.324I_s^{-1}[M]$ potvrđen je množinom različitih tehnika, u širokom rasponu dodane soli. [3].

2.2.2 Razrijeđene polielektrolitske otopine

Otopina polielektrolita sastoji se od nasumičnog rasporeda lanaca, a njihov međusobni odnos ovisi o njihovoj koncentraciji, kao i koncentraciji dodane soli. Pri niskoj koncentraciji polielektrolita lanci su međusobno udaljeni i ne preklapaju se. Takva otopina naziva se razrijeđena otopina. Slobodni lanac polielektrolita u razrijeđenoj vodenoj otopini (bez dodane soli), dakle u situaciji opisanoj PB jednadžbom može zauzeti vrlo veliki broj konformacija, tj. oblik lanca nije unaprijed definiran i mijenja se u vremenu. Zapravo, takav lanac može se pokušati opisati jedino na nivou veličine lanca, tj. dužine preko koje se lanac proteže u prostoru. Napomenimo da će takva srednja dužina lanca biti manja od dužine konture L samog polimera, tj. dužine koju bi polielektrolit imao u potpuno rastegnutom stanju, a koja je jednaka umnošku broja monomera N (stupanj polimerizacije) i duljine jednog monomera b , $L = bN$. U ovom, Floryevom modelu [1], [2] polimer bez međudjelovanja kratkog doseg se opisuje kao nasumični, savijeni lanac (coil) sa zahtjevom da njegova veličina R_e minimizira slobodnu energiju. Slobodna energija takvoga lanca podijeljena je u dva doprinosa. Prvi doprinos, strukturni, je elastični

$$E_{stru}(R_e) \approx k_B T \frac{R_e^2}{b^2 N}, \quad (2.23)$$

gdje su R_e i $bN^{1/2}$ dimenzije elipsoida prema slici 2.3. Uz pretpostavku zanemarivog međudjelovanja monomera, u strukturnom dijelu slobodne energije još je pretpostavljena uniformna koncentracija monomera u cijelom volumenu lanca. Kad ne bi bilo elektrostatskog djelovanja oblik bi zapravo bio sferičan $R_e = bN^{1/2}$. No, upravo elektrostatsko međudjelovanje izdužuje lanac u jednom smjeru te on poprima oblik elipsoida, kao na Slici 2.3.



Slika 2.3: Shematski prikaz polielektrolitskog lanca izduženog uslijed djelovanja elektrostatskog međudjelovanja.

Za elipsoid sa dimenzijama R_e i $bN^{1/2}$, količinom naboja efN , gdje je f udio nabijenih monomera i u našem slučaju je $f = 1$ te uniformnom distribucijom naboja, drugi, elektrostatski, doprinos slobodnoj energiji iznosi

$$\frac{E_{elektro}(R_e)}{k_B T} \approx \frac{l_B N^2}{R_e} \ln \left(\frac{R_e}{bN^{1/2}} \right). \quad (2.24)$$

Iz jednadžbi 2.23 i 2.24 vidimo da strukturni dio slobodne energije raste povećanjem dužine elipsoida R_e , a elektrostatski se smanjuje povećanjem vrijednosti R_e . Stoga očekujemo da će za neku vrijednost R_e ukupna slobodna energija koja je zbroj ta dva dijela imati minimum. To se događa za vrijednost dužine lanca

$$R_e^F \approx bNu^{1/3} [\ln(eNu^{2/3})]^{1/3}, \quad (2.25)$$

gdje je u definiran prema relaciji 2.19. Vidimo da je u razrijeđenoj otopini dužina lanca manja od dužine konture polielektrolita bN , no sličnog je reda veličine, a mogu biti čak i podjednake za polielektrolite sa velikom linearnom gustoćom naboja gdje je $u \approx 1$ (vidi Jed.2.18).

2.2.3 Polurazrijeđene polielektrolitske otopine

Koncentracija preklapanja

Ako je koncentracija polielektrolita mala s obzirom na volumen polielektrolita lanci su toliko udaljeni jedni od drugih da međusobno ne utječu jedni na druge, te svaki oko sebe ima svoj oblak protuiona. Međutim ako je koncentracija polielektrolita toliko velika da dolazi do preklapanja lanaca javljaju se nove prostorne skale, a otopina se naziva polurazrijeđenom. Koncentraciju na kojoj dolazi do preklapanja lanaca prvi je izveo de Gennes [4] za nenabijene polimere, a kasnije su je izveli Dobrynin i suradnici [1] za nabijene polimere-polielektrolite.

Do preklapanja lanaca dolazi ako je udaljenost među lancima usporediva s njihovom veličinom R_e^F , kao što je izvedeno u prethodnom potpoglavlju. Za lanac neuniformnog

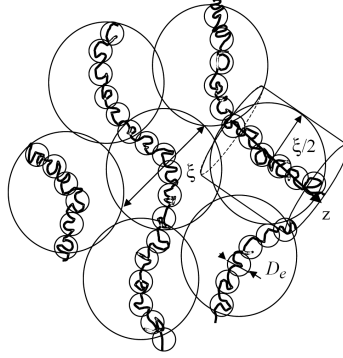
oblika u otopini dodane soli koncentracija preklapanja je dana sa

$$c^* \approx \frac{N}{(R_e^F)^3} \approx b^{-3} u^{-1} N^{-2} l n^{-1} (N/g_e), \quad (2.26)$$

gdje je $g_e = eu^{-2/3}$ broj monomera u elektrostatskom volumenu. Elektrostatski volumen zatvara onaj segment lanca na čiju strukturu ne utječe elektrostatsko međudjelovanje, dakle N/g_e je broj takvih segmenata lanca. Ovim izrazom je opisana situacija gdje se unutar volumena $(R_e^F)^3$ nalazi upravo jedan lanac sa N monomera, i jednostavno se izračuna odgovarajuća koncentracija c^* .

Korelacijska dužina i veličina lanca

Važna skala za otopine koncentracija većih od koncentracije preklapanja, $c > c^*$, je korelacijska dužina ξ . Tu dužinu možemo razumjeti kao prosječnu veličinu mreže polielektrolita u polurazrijeđenoj otopini. ξ dakle opisuje strukturu mnoštva polielektrolitskih lanaca koji se nalaze u otopini i određuje korelacijski volumen mreže polielektrolita Sl. 2.4.



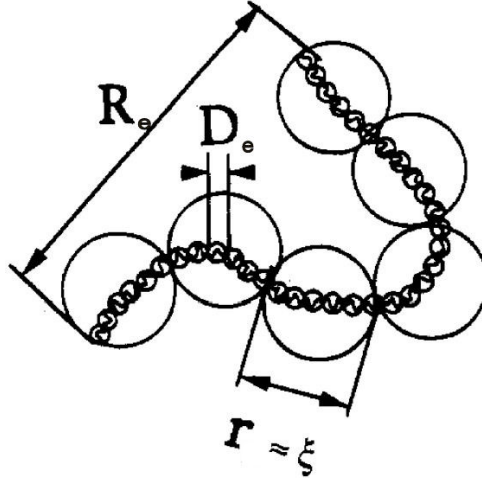
Slika 2.4: Shematski prikaz polurazrijeđene otopine polielektrolita

Korelacijsku dužinu prvi je uveo DeGennes za nenabijene polimere, a kasnije su za nabijene polimere u otopinama izvod dali Dobrynin i suradnici [4], [1]. DeGennes je do ξ došao pomoću pretpostavki da za dugačke lance, tj. za lance sa velikim brojem monomera N svojstva polurazrijeđene otopine polielektrolita ne ovise o stupnju polimerizacije, broju monomera N , sve dok je njihov broj znatno veći od broja monomera u korelacijskom volumenu. Druga je pretpostavka da je kod c^* , koncentracije preklapanja, korelacijska dužina usporediva sa veličinom lanca izračunatom za razrijeđene otopine, tj. s $\xi \sim R_e(c^*)$. Primijetimo da je veličina lanca u razrijeđenoj otopini proporcionalna s brojem monomera N , tj. $R_e(c^*) \sim Nb$. Na kraju pretpostavimo da u polurazrijeđenim otopinama vrijedi zakon skaliranja, tj. da ξ treba ovisiti o c s nekim eksponentom:

$$\xi(c) \sim R_e \left(\frac{c^*}{c} \right)^m. \quad (2.27)$$

Kako je $c^* \sim 1/N^2$, a $R_e \sim N$ vrijedi da je

$$\xi(c) \sim N \left(\frac{1}{N^2} \right)^m \left(\frac{1}{c} \right)^m. \quad (2.28)$$



Slika 2.5: Polielektrolitski lanac u polurazrijeđenoj otopini bez dodane soli. Lanac je slučajni hod korelacijskih volumena od kojih se svaki sastoji od niza elektrostatskih volumena veličine D_e .

Da bi uvjet, da ξ ne ovisi o stupnju polimerizacije N , bio zadovoljen, eksponent mora biti $m = 1/2$ pa tako dobivamo da je korelacijska dužina proporcionalna koncentraciji prema zakonu potencije

$$\xi \sim c^{-1/2}. \quad (2.29)$$

Veličina ξ opada s povećanjem koncentracije polielektrolita i to počevši od vrijednosti za veličinu lanca u razrijeđenoj otopini R_e do veličine jednog monomera za najveće koncentracije [4].

Broj monomera g koji se nalazi unutar korelacijskog volumena proporcionalan je s tim volumenom, a i s koncentracijom polielektrolita, tj. $g \sim c\xi^3$. Niz korelacijskih volumena definira konformaciju lanaca. Takav lanac sastoji se od N/g segmenata, a veličina takvog lanca je (Sl. 2.5)

$$R_e^2(c) \simeq \frac{N}{g}\xi^2. \quad (2.30)$$

Tako slijedi da je

$$R_e(c) \simeq N^{1/2}g^{-1/2}\xi. \quad (2.31)$$

Kako je $g \sim c\xi^3$ vrijedi da je

$$R_e(c) \simeq N^{1/2}c^{-1/2}\xi^{-3/2}\xi \simeq N^{1/2}c^{-1/2}\xi^{-1/2}, \quad (2.32)$$

Uvrštavanjem u Jed. 2.32 $\xi \sim c^{-1/2}$ dobijemo da je veličina lanca

$$R_e(c) \simeq N^{1/2}c^{-1/4}. \quad (2.33)$$

Vidimo da se lanac skuplja povećanjem koncentracije polimera.

Dok je DeGennes izveo ξ za polimere općenito, dotle su Dobrynin i suradnici [4], [1] krenuli od pretpostavke da je prosječni naboj korelacijskog volumena ξ^3 jednak nuli jer unutar njega nalazi jednak broj koiona i protuiona. Zbog te neutralnosti, međudjelovanje

između korelacijskih volumena ξ^3 može se zanemariti u nultoj aproksimaciji. Interpretacija dužine ξ je da je polielektrolit ukrućen elektrostatskim međudjelovanjem za volumene manje od ξ^3 , dok se za veće volumene ponaša kao nasumični hod niza korelacijskih volumena ξ^3 . Ovisnost dužina ξ o koncentraciji polielektrolita dobijemo ako volumene ξ^3 aproksimiramo ćelijom radiusa $\xi/2$ i dužine ξ za koju možemo pretpostaviti da je cilindrično simetrična s obzirom na lanac koji se nalazi na osi cilindra 2.4.

Dakle, ukupna energija po monomeru je

$$\frac{E_p}{k_B T} \approx \frac{l_B g}{D_e} \ln\left(\frac{\xi}{D_e}\right) - l_{BC} \xi^2 + \frac{D_e^2}{b^2 g^2} \quad (2.34)$$

gdje prvi član opisuje (po analogiji s Jed. 2.24) elektrostatsko međudjelovanje monomera s ostatkom lanca (odbojne je prirode, i zato povećava ukupnu energiju) unutar cilindra, a drugi član opisuje elektrostatsko međudjelovanje monomera s protuionima pozadine (privlače se pa taj doprinos smanjuje ukupnu energiju sustava). Treći član izveden je po analogiji sa Jed. 2.23 i predstavlja elastični doprinos od rastezanja lanca.

Ovaj izraz se minimizira po korelacijskoj dužini ξ i uz pretpostavku da je veličina elektrostatskog volumena proporcionalna s veličinom monomera i njihovim brojem ($D_e^2 \sim b^2 g$). U odnosu na DeGennesov rezultat ovaj izvod daje samo manje korekcije, tj. korelacijska dužina ξ polurazrijeđenog sustava je

$$\xi \sim c^{-1/2} \ln^{-1/6}\left(\frac{ec_b}{c}\right) \sim c^{-1/2}, \quad (2.35)$$

gdje je c_b koncentracija polielektrolita na kojoj se elektrostatski volumeni počinju preklapati. Fizikalni opis polurazrijeđene otopine elektrolita je jednostavan: na skalama manjim od dužine ξ polielektrolit je ukrućen elektrostatskim međudjelovanjem, a za skale veće od ξ ponaša se kao nekorelirani, Gaussov lanac, tj. nasumični hod nanizanih korelacijskih volumena ξ^3 , broj monomera g unutar ξ^3 je $g \approx c\xi^3$. Veličina takvog lanca dana je sa Jed. 2.33.

Zaključimo da u polurazrijeđenim otopinama veličina lanca ovisi i o koncentraciji polielektrolita, a ne samo o njegovoj dužini (broju monomera). Znači, međudjelovanja polielektrolitskih lanaca prisutna u polurazrijeđenim otopinama, generiraju dvije prostorne skale, koje karakteriziraju konformacije polielektrolita u otopini i samu strukturu otopine: veličinu lanca R i korelacijsku dužinu ξ .

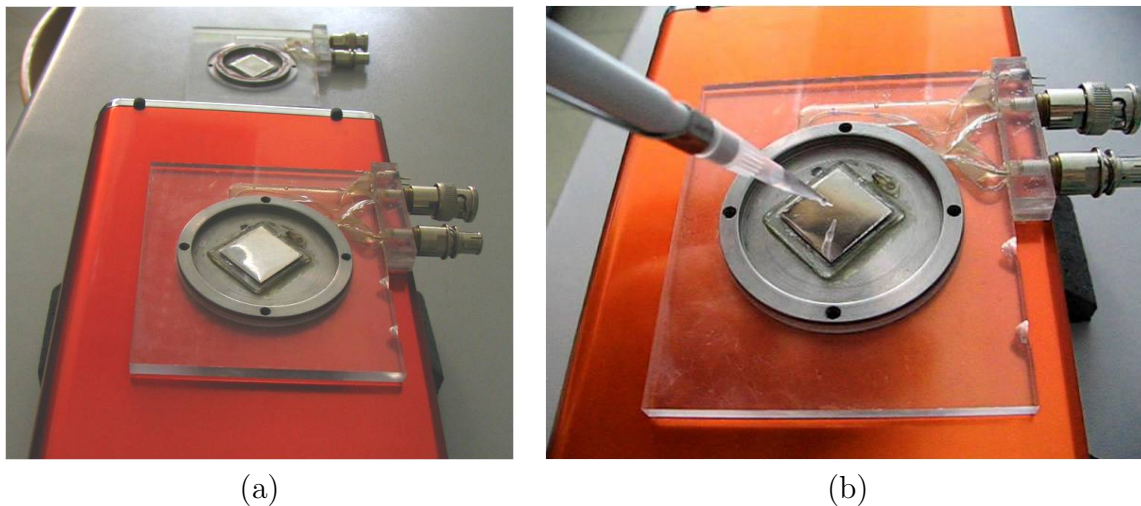
Poglavlje 3

Niskofrekventna dielektrična spektroskopija

3.1 Mjerni postav

Niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom (*NFDS*) dobivaju se podaci o kompleksnoj dielektričnoj funkciji materijala koji se istražuje. Mjerni postav kojim dobivamo te podatke sastoji se od mjerne komore te analizatora impedancije Agilent 4294A kojim se mjeri frekventna ovisnost vodljivosti i kapaciteta uzorka.

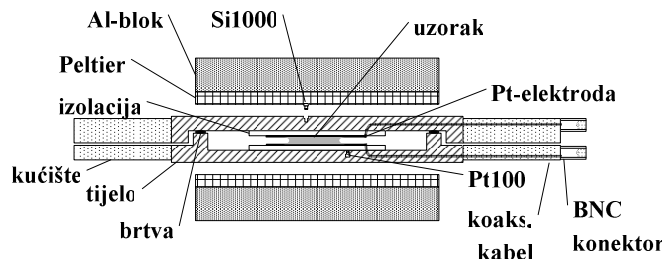
Komora Sl. 3.1(a) se sastoji od dvodjelnog čeličnog kućišta u kojem su smještene platinske elektrode koje služe kao električni kontakt s uzorkom Sl. 3.1(b).



Slika 3.1: (a) Rasklopljena mjerna komora, (b) stavljanje uzorka u komoru

Funkcija kućišta je zatvaranje uzorka u mali volumen tako da se smanji hlapljenje, električno oklopi elektrode i termički ih usidri u relativno velikoj masi kućišta, unutar kojeg je temperatura ujednačena. Za stabilizaciju temperature (u intervalu -10°C do $+60^{\circ}\text{C}$) koriste se Peltier elementi, silicijeve diode Si-1000 i Pt-100 termometar (Sl. 3.2). Peltierovi elementi su poluvodički elementi, služe kao toplinske pumpe, a nalaze se na vanjskoj strani kućišta. Ovisno o smjeru struje koja prolazi kroz njih griju ili hlade

kućište, pumpaju toplinu u komoru ili iz nje. Da bi Peltier elementi adekvatno pumpali toplinu, potreban im je vanjski spremnik topline velikog kapaciteta čija temperatura ne ovisi o pumpanju topline iz komore. U tu svrhu koriste se aluminijski blokovi pričvršćeni na Peltier elemente, stalnu temperaturu aluminijskih blokova omogućuje stalni protok vode.

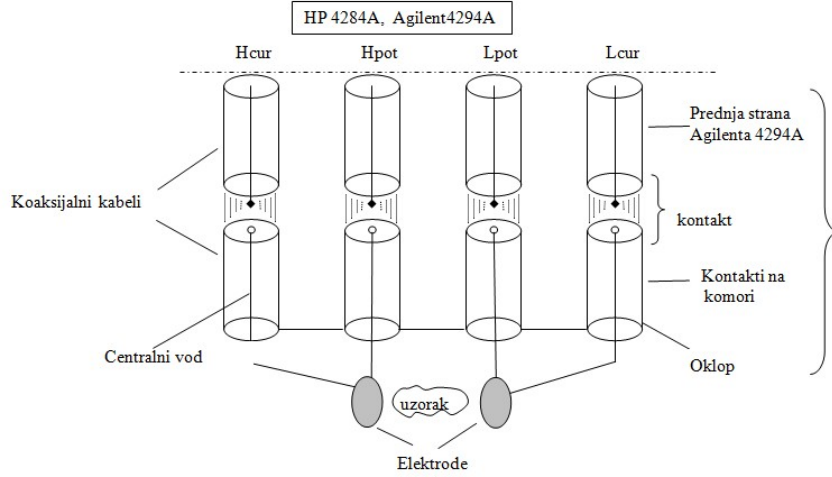


Slika 3.2: Prikaz komore za NFDS

Željena temperatura postavlja se potenciometrom na stabilizatoru temperature *MVTC* 402. Stabilizator uspoređuje napon na potenciometru s padom napona na Si-diodi, koja se nalazi na kućištu, a služi kao otporni termometar. Ovisno o predznaku razlike napona, *MVTC* 402 šalje struju grijanja ili hlađenja na Peltier elemente. Kontrola i mjerenje temperature unutar kućišta vrši se *Pt* – 100 termometrom koji se nalazi u blizini elektroda, Sl. 3.2. Raspon volumena uzorka koji se mjeri može biti u rasponu $50\text{--}200\mu\text{L}$, no uobičajeno se radi sa $100\mu\text{L}$. Mjerna komora omogućava mjerenje kompleksne vodljivosti s reproducibilnošću od 0.8% [12] u mjernom rasponu od $1.5\text{--}2000\mu\text{S}/\text{cm}$. Male ac amplitude od 50 mV su korištene za istraživanje odgovora $\text{Na}^+ - \text{HA}$ u linearnom režimu nakon što smo se uvjerali da su rezultati podjednaki za ac pobudu u rasponu od $20\text{--}500\text{ mV}$. Najniže ac amplitude su izbjegavane zbog prevelikog šuma i zbog toga potrebnog prevelikog (nepraktično dugotrajnog) usrednjavanja. Konstanta komore je $l/S = 0.1042 \pm 0.0008\text{ cm}^{-1}$ gdje je $S = 0.98\text{ cm}^2$ efektivna kontaktna površina elektrode koja odgovara uzorku volumena $100\mu\text{L}$ i $l = 0.1021 \pm 0.0001\text{ cm}$ je udaljenost među elektrodama. Konstanta komore određena je mjerenjem realnog dijela provodnosti na 100 kHz standardnih uzorka KCl-a od 0.01 i 0.0005 M (nabavljenih od tvrtke Mettler-Toledo). Dodatna provjera je bilo i mjerenje kapaciteta komore kada je prazna i kada sadrži kapljicu od $100\mu\text{L}$ čiste vode. Iz razlike kapaciteta i poznate vrijednosti dielektrične konstante čiste vode $\epsilon_{\text{H}_2\text{O}} = 78.65$ [8] dobiven je rezultat za konstantu komore koji odgovara gornjoj vrijednosti dobivenoj mjerenjem provodnosti.

Mjerno područje analizatora impedancije Agilent 4294A je $40\text{Hz}\text{--}110\text{MHz}$. Pri mjerenju pojedine točke koristi se uski filtar (oznaka $\text{BW}=5$) koji izdvaja samo trenutnu mjernu frekvenciju, nakon relativno dugog čekanja da se ustali sinusna modulacija na pojedinoj frekvenciji. Ovo je povoljnije od brzog mjerenja sa $\text{BW}=1$ i višestrukog usrednjavanja na jednoj točki, jer efektivno se dobiva manji šum. Svaki prolaz kroz frekventni raspon mjerenja (*sweep*) ponavlja se tri puta i ta se tri prolaza usrednje, kako bi se poništile eventualne varijacije temperature tokom mjerenja. Ukupno vrijeme mjerenja po gore opisanoj proceduri je 60 s [7]. Mjerne vrijednosti su vodljivost $G_{\text{exp}}(\omega)$ i kapacitet $C_{\text{exp}}(\omega)$, gdje je $\omega = 2\pi\nu$, kružna frekvencija. Komora je s 4 koaksijalna kabela BNC konektorima direktno spojena na Agilent 4294A, gdje su BNC konektori označeni L_{CUR} (strujni minus), L_{POT}

(naponski minus), H_{CUR} (strujni plus), H_{POT} (naponski plus). Povratna struja teče kroz vanjski vodič koaksijalnog kabela. Centralni vodovi BNC konektora provučeni su kroz tijelo komore i spojeni u parovima na Pt-elektrodi (L_{CUR} sa L_{POT} , te H_{CUR} sa H_{POT}), Sl.3.3 Kako su koaksijalni kablovi spojeni čim bliže Pt-elektrodi, ploče elektroda su jedini izvor dodatne impedancije [11, 12, 13].



Slika 3.3: Shematski prikaz spajanja elektroda komore i mjernog uređaja Agilenta 4294A pomoću četiri koaksijalna kabela. Prikazana shema omogućava uklanjanje svih parazitskih impedancija uzrokovanih kabelima i konektorima.

3.2 Utjecaj polarizacije elektroda na NFDS

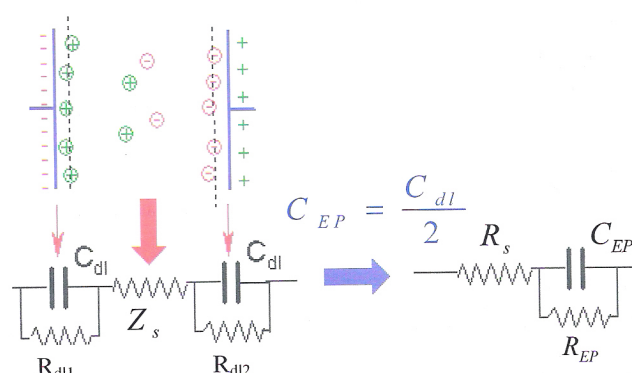
Na mjerenja NFDS vodljivih otopina utječe polarizacija elektroda. Polarizacija elektroda je učinak kod kojeg dolazi do nakupljanja naboja otopine u blizini elektroda. Takav električni dvosloj utječe na raspored ostalih naboja u otopini, a time utječe na svojstva uzorka. Polarizaciju elektroda možemo aproksimirati kao impedanciju površine serijski spojene s impedancijom uzorka Sl. 3.4, u takvom modelu su:

$$C = C_s + \frac{1}{\omega^2 R^2 C_{EP}}, \quad (3.1)$$

$$R = R_s + R_{EP} + R_s \omega^2 R^2 C^2, \quad (3.2)$$

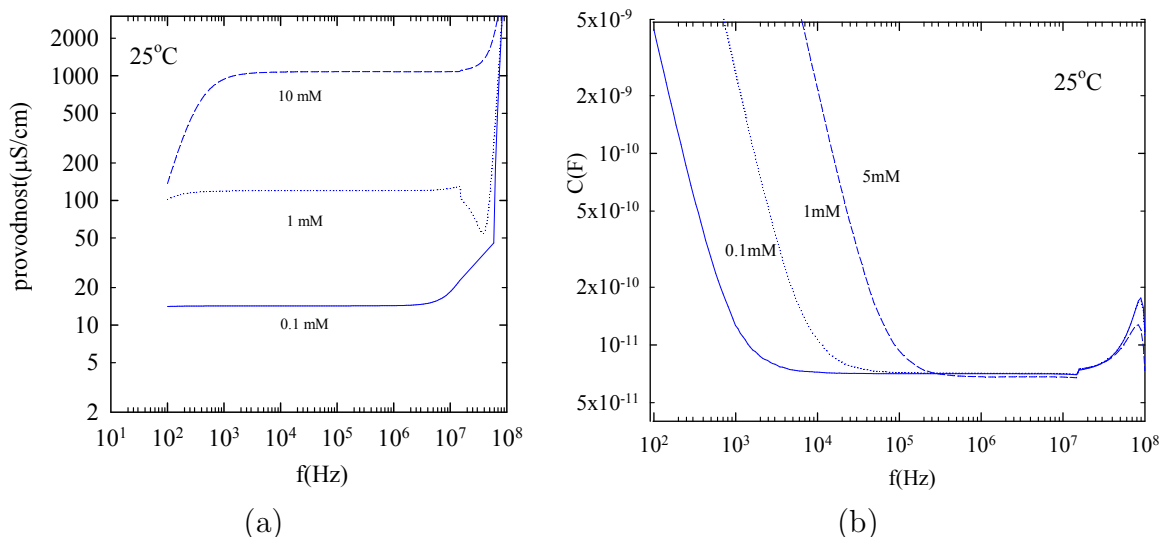
gdje su C_s i R_s kapacitet i otpor uzorka, a C_{EP} i R_{EP} kapacitet i otpor dvosloja.

Prema izrazu 3.1 vidimo da član polarizacije elektroda opada s povećanjem frekvencije. Naime, na nižim frekvencijama vrijeme relaksacije naboja otopine je sumjerljivo frekvenciji promjene napona na elektrodama pa se naboji stignu preraspodijeliti s promjenom napona. Povećanjem frekvencije promjene napona naboji nastoje promijeniti položaj sukladno naponu, ali ne uspijevaju u potpunosti. Daljnjim povećanjem frekvencije naboji ne stižu mjenjati položaj, titraju na mjestu. Iz tog je razloga polarizacija elektroda izraženija na niskim frekvencijama Sl. 3.5. Polarizacija elektroda ovisi o temperaturi, veličini razmaka među elektrodama, ovisi o svojstvima elektroda, koncentraciji



Slika 3.4: Električni krug za ćeliju koja se sastoji od dvije elektrode i otopine između elektroda. C_{dl} je kapacitet dvosloja, R_{dl} je otpor dvosloja. Kapacitet C_{dl} i otpor R_{dl} dvosloja mogu se prikazati kao kapacitet C_{EP} i otpor R_{EP} u paraleli. Otpor mjerene otopine označen je sa R_s . Ukupna impedancija sustava može se zapisati kao zbroj impedancija uzorka i dvosloja.

i vrsti iona. Na slici 3.5 (b) vidimo da na niskim frekvencijama postoji doprinos mjenom kapacitetu koji nestaje povećanjem frekvencije, također je vidljivo da taj doprinos raste s povećanjem koncentracije iona. Polarizacija je različita za otopine s čistom vodom, otopine s dodanom soli, ili za otopine polielektrolita s dodanom soli.



Slika 3.5: Frekventna ovisnost vodljivosti (a) i kapaciteta (b) različitih koncentracija vodenih otopina NaCl. Vidljivo je povećanje utjecaja elektroda na nižim frekvencijama usporedno s povećanjem ionske jakosti otopine.

Eliminacija polarizacija elektroda moguća je različitim metodama.

Jednu skupinu čine metode koje nastoje eliminirati ili smanjiti polarizaciju elektroda. U tu skupinu spada metoda četiri elektrode. Metoda četiri elektrode, uz postojeće dvije

elektrode, koristi dodatne dvije koje se nalaze u uzorku, a dovoljno su daleko od dvosloja tako da je polje homogeno. Dodatne elektrode moraju biti beskonačne impedancije tako da nema toka struje kroz njih pa se ni naboji ne mogu na njih nakupljati. Mjerenjem razlike napona na dodatnim elektrodama i struje koja teče vanjskim elektrodama dobiju se električni parametri uzorka, no ta metoda nije prilagođena za rad s analizatorima impedancije i ne može doći do MHz područja frekvencije. Druga metoda koristi povećanje efektivne površine elektrode da smanji utjecaj polarizacije. Kako je kapacitet općenito proporcionalan s površinom elektrode, točnije $C = \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{S}{l}$, povećanjem površine elektroda povećao bi se i C_{EP} , a time bi se smanjio doprinos polarizacije elektroda mjerenom kapacitetu, vidi Jed. 3.1. Efektivne površine elektroda mogu se značajno povećati depozicijom koloidne platine na platinske elektrode. Dobivaju se tzv. crne platinske elektrode.

Drugu skupinu čine metode koje nastoje korigirati mjereni spektar, a uzimaju u obzir impedanciju površine. U tu skupinu spada metoda oduzimanja koju koristimo u obradi podataka. Metodom oduzimanja pozadine mjerni uređaj, komoru, "kalibriramo" određivanjem vodljivosti referentne otopine. Tada od ukupne, mjerene, vodljivosti istraživanih uzorka oduzmemo vodljivost te referentne otopine. Pretpostavlja se da su učinci na elektrodama jednaki za referentnu otopinu i za uzorak i k tome aditivni, iako ne u potpunosti jer nije poznat točan mehanizam stvaranja polarizacije na elektrodama. Druga takva metoda je mjerenje otopine pri nekoliko različitih razmaka elektroda. Ova metoda koristi činjenicu da kapacitet uzorka C_S ovisi o razmaku elektroda, a impedancija polarizacije ne ovisi. Mjerenjem na više različitih razmaka elektroda možemo izračunati (dvije jednadžbe s dvije nepoznanice), i odvojiti doprinos polarizacije elektroda od mjerenja. Ponovimo, mehanizam nastanka polarizacije elektroda još nije u potpunosti poznat pa tako niti jedna metoda ne uklanja sav doprinos polarizacije. Jedan je od usputnih zadataka ovog rada bio unapređivanje tehničke spoznaje o mogućnostima proširenja frekventnog opsega mjerenja s našom komorom. Isprobana je metoda s promjenom razmaka elektroda no, za sad se čini da ne daje veći opseg od našeg dosadašnjeg pristupa. Kako ta metoda zahtijeva podvostručenje broja mjerenja, zasad ju ne planiramo uvesti.

3.3 Obrada podataka

Za fizikalni opis sustava koji mjerimo potrebno je povezati dielektričnu funkciju mjenog materijala s mjenom frekventnom ovisnošću admitancije. Admitancija se sastoji od realne i imaginarne komponente:

$$Y(\omega) = G(\omega) + iB(\omega), \quad (3.3)$$

$G(\omega)$ je realna komponenta admitancije ili vodljivost, a imaginarna $B(\omega)$ se obično iskazuje pomoću efektivnog kapaciteta $C(\omega) = B(\omega)/\omega$. Veza admitancije $Y(\omega)$ i kompleksne provodnosti materijala $\sigma(\omega)$ dana je izrazom

$$\sigma(\omega) = \frac{l}{S} Y(\omega), \quad (3.4)$$

gdje je l udaljenost između elektroda, a S površina elektroda. Kompleksna provodnost ima realni i imaginarni doprinos

$$\sigma(\omega) = \sigma_0(\omega) + i\omega\varepsilon_0\varepsilon_r(\omega) \quad (3.5)$$

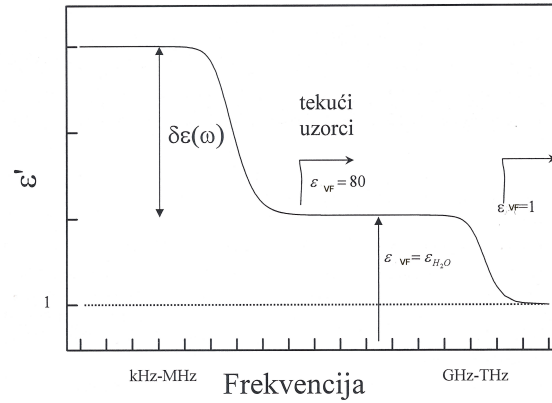
gdje je ε_0 je permitivnost vakuumu, a $\varepsilon_r(\omega)$ dielektrična konstanta materijala. Prethodna relacija izvedena je iz Maxwellovih jednadžbi [12]. Realni dio provodnosti predstavlja slobodne nosioce naboja u materijalu, a imaginarni polarizabilnost sistema.

Mjerenjem provodnosti sustava σ_{mj} osim vodljivosti uzorka $\sigma_{uz}(\omega)$, u našem slučaju iona i poliiona u otopini, mjerimo i doprinose uzrokovane parazitskom impedancijom mjernog postava σ_p , gdje bitan doprinos čini polarizacija elektroda. Ukupna provodnost sustava dana je izrazom

$$\sigma_{mj}(\omega) = \sigma_{uz}(\omega) + \sigma_p(\omega) = \sigma_p(\omega) + \sigma_0(\omega) + i\omega\varepsilon_0\varepsilon_{uz}(\omega) \quad (3.6)$$

Dielektrična funkcija uzorka $\varepsilon_{uz}(\omega)$ ima dva doprinosa, slika 3.6. Doprinos $\delta\varepsilon(\omega)$ dolazi od linearnog odziva sustava na frekventnu pobudu, a ε_{VF} dolazi od doprinosa na višim frekvencijama koje su izvan mjernog područja. Dakle,

$$\varepsilon_{uzs}(\omega) = \delta\varepsilon(\omega) + \varepsilon_{VF}. \quad (3.7)$$



Slika 3.6: Realni dio dielektrične funkcije uzorka $\varepsilon_{mj}(\omega)$ pokazuje puna crta. Vrijednost 1, doprinos vakuumu, $\varepsilon_0 = 8.858 \cdot 10^{-12} C^2 J^{-1} m^{-1}$ prikazuje točkasta crta. Prokazani su doprinosi dielektričnoj funkciji od istraživanog sistema $\delta\varepsilon(\omega)$ te doprinos pozadine, u ovom slučaju doprinos vode, a to je dielektrična konstanta vode $\varepsilon_{H_2O} = 80$. Vrijednost doprinosa pozadine ε_{VF} , može biti različita, ovisno o gornjoj granici frekventnog prozora.

Eliminaciju parazitskih doprinosa vršimo metodom oduzimanja. Mjerimo provodnost pozadine* σ_{poz} i to mjereći provodnost referentnog materijala, materijala poznate provodnosti.

$$\sigma_{poz}(\omega) = \sigma_p(\omega) + \sigma_{0poz}(\omega) + i\omega\varepsilon_0\varepsilon_{poz}(\omega) \quad (3.8)$$

Kako mjerimo odzive vodenih otopina različitih sistema, za mjerenje pozadine najčešće se koriste vodene otopine NaCl ili KCl pa je σ_{0poz} vodljivost iona tih jednostavnijih elektrolita, a $\varepsilon_{poz} = \varepsilon_{H_2O} \approx 80$. Također, prilikom određivanja pozadine treba zadovoljiti

*Pozadinu- čini svaki doprinos mjerenju koji dolazi od svih elemenata izvan samog sistema koji se istražuje.

uvjet da je $\sigma_{0poz}(\omega) = \sigma_0(\omega)$, tj. jednako provodnosti slobodnih iona uzorka koji mjerimo. Oduzimanjem mjerenja pozadine od mjerenja vodljivosti materijala dobijemo

$$\sigma_{mj}(\omega) - \sigma_{poz}(\omega) = i\omega\varepsilon_0 [\delta\varepsilon(\omega) + \varepsilon_{VF} - \varepsilon_{poz}(\omega)] \quad (3.9)$$

Kako su ε_{VF} i ε_{poz} približno jednake vrijednosti jer su obje vodene otopine vrijedi

$$\sigma_{mj}(\omega) - \sigma_{poz}(\omega) = i\omega\varepsilon_0\delta\varepsilon(\omega) \quad (3.10)$$

$\delta\varepsilon$ možemo zapisati kao $\delta\varepsilon = \delta\varepsilon' - i\delta\varepsilon''$ te možemo odrediti imaginarne i realne dijelove $\delta\varepsilon$

$$\delta\varepsilon'(\omega) = \frac{Im[\sigma_{mj}(\omega) - \sigma_{poz}(\omega)]}{\omega\varepsilon_0} \quad (3.11)$$

$$\delta\varepsilon''(\omega) = \frac{Re[\sigma_{mj}(\omega) - \sigma_{poz}(\omega)]}{\omega\varepsilon_0} \quad (3.12)$$

Provodnosti $\sigma_{mj}(\omega)$ i $\sigma_{poz}(\omega)$ računamo iz mjerenih admitancija $Y_{mj}(\omega)$ te $Y_{poz}(\omega)$ pomoću izraza 3.3. Realna komponenta je $G(\omega) = G_{mj} - G_{poz}$, a imaginarna komponenta je uz $B(\omega) = C(\omega)\omega$ jednaka $C(\omega) = C(\omega)_{mj} - C(\omega)_{poz}$. Sada iz 3.11 i 3.12 slijedi

$$\delta\varepsilon'(\omega) = \frac{l}{S} \frac{C(\omega)}{\varepsilon_0} \quad (3.13)$$

$$\delta\varepsilon''(\omega) = \frac{l}{S} \frac{G(\omega)}{\omega\varepsilon_0} \quad (3.14)$$

Primjer obrade podataka prikazan je na Sl.3.7 za otopine Na-HA u čistoj vodi.

3.3.1 Prilagodba rezultata

Na mjernu komoru narinut je izmjenični napon. Ioni otopine, koja se nalazi između elektroda, osjećaju električno polje elektroda te brze izmjene napona uzrokuju brzo oscilatorno mijenjanje položaja. Takav sustav možemo aproksimirati gušenim harmonijskim oscilatorom opisanim jednadžbom:

$$m^* \ddot{\mathbf{x}} + \gamma \dot{\mathbf{x}} + k\mathbf{x} = e\mathbf{E}_0 e^{i\omega t}, \quad (3.15)$$

gdje je m^* efektivna masa, γ konstanta gušenja jednaka $\gamma = \frac{m^*}{\tau}$, τ vremenska konstanta gušenja, k konstanta elastičnosti. Električno polje \mathbf{E} je harmonijsko polje amplitude \mathbf{E}_0 i kružne frekvencije ω . Prethodni izraz možemo zapisati u obliku

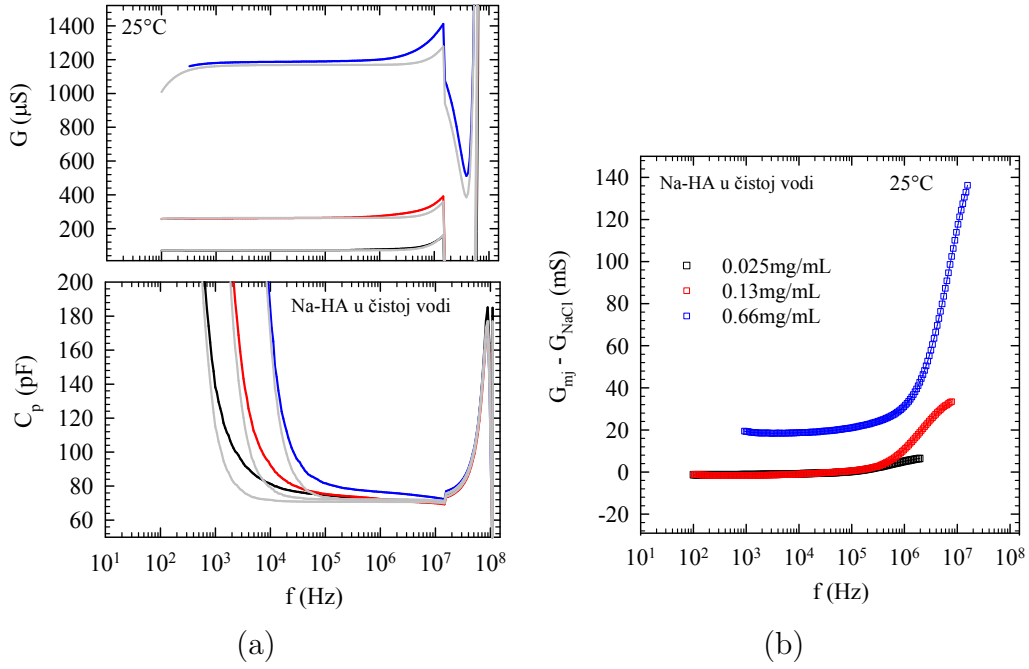
$$\ddot{\mathbf{x}} + \frac{1}{\tau} \dot{\mathbf{x}} + \omega_0^2 \mathbf{x} = \frac{e\mathbf{E}_0}{m^*} e^{i\omega t}. \quad (3.16)$$

Stacionarno rješenje tjeranog harmonijskog oscilatora frekvencije pobude ω je:

$$\mathbf{x}(\omega) = \mathbf{x}_0(\omega) e^{i\omega t}. \quad (3.17)$$

Uvrštavanjem ovog rješenja u prethodnu jednadžbu dobije se rješenje

$$\mathbf{x}(\omega) = \frac{e\mathbf{E}_0}{\omega^2 m^*} \frac{1}{(1 - \omega^2/\omega_0^2) + \frac{i\omega}{\omega_0^2 \tau}}. \quad (3.18)$$



Slika 3.7: (a) Frekventna ovisnost mjerenih vrijednosti vodljivosti G_{mj} i kapaciteta C_{mj} dani su linijama u boji za tri različite koncentracije. Sive linije predstavljaju vodljivost pozadine G_{poz} i kapacitet pozadine C_{poz} . Kao pozadina koristile su se vodene otopine NaCl (b) Frekventna ovisnost vodljivosti G dobivene oduzimanjem vodljivosti pozadine G_{poz} od mjerene vodljivosti G_{mj} .

Nadalje, odgovarajuća polarizacija materijala ovisi o gustoći naboja u materijalu prema izrazu

$$\mathbf{P}(\omega) = e\rho_0\mathbf{x}(\omega). \quad (3.19)$$

Ukupni dielektrični odgovor dolazi od odgovora na vanjsko električno polje $\mathbf{E}(\omega)$ te od polarizacije materijala $\mathbf{P}(\omega)$. Pomak je povezan s električnim poljem prema izrazu $\varepsilon(\omega) = \mathbf{D}(\omega)/(\varepsilon_0\mathbf{E}(\omega))$,

$$\mathbf{D}(\omega) = \varepsilon_0\mathbf{E}(\omega) + \mathbf{P}(\omega) \quad (3.20)$$

gdje je $\mathbf{D}(\omega)$ dielektrični pomak zbog vanjskog električnog polja. Uvrštavanjem u Jed.3.20 ovog izraza za $\varepsilon(\omega)$ dobijemo

$$\varepsilon(\omega) - 1 = \frac{\mathbf{P}(\omega)}{\varepsilon_0\mathbf{E}(\omega)} \quad (3.21)$$

Uvrštavanjem Jed 3.19 u Jed 3.21 dobijemo

$$\varepsilon(\omega) - 1 = \frac{e^2\rho_0}{\varepsilon_0\omega_0^2 m^*} \frac{1}{(1 - \omega^2/\omega_0^2) + \frac{i\omega}{\omega_0^2\tau}} \quad (3.22)$$

Dielektrična jakost sistema jednaka je pred faktoru u 3.22

$$\Delta\varepsilon = \frac{e^2\rho_0}{\varepsilon_0 m^* \omega_0^2}. \quad (3.23)$$

Kada je vanjsko pobuđenje sporije od vlastite frekvencije titranja $\omega \ll \omega_0$, u zagradi nazivnika Jed. 3.22 gubi se 2. član. Izvršimo supstituciju $\tau_0 = 1/(\omega_0^2\tau)$. Relaksacijska frekvencija ovog prigušenog titranja $1/\tau_0$ niža je od vlastite frekvencije titranja sustava ω_0 , $1/\tau_0 \ll \omega_0$. Jed 3.22 dobiva oblik Debyeve funkcije

$$\delta\varepsilon(\omega) = \frac{\Delta\varepsilon}{1 + i\omega\tau_0}. \quad (3.24)$$

Poopćena Debyeve funkcija, Cole-Cole (CC) funkcija, uključuje distribuciju relaksacijskih vremena oko srednjeg vremena relaksacije τ_0

$$\delta\varepsilon(\omega) = \frac{\Delta\varepsilon}{1 + (i\omega\tau_0)^{1-\alpha}}. \quad (3.25)$$

Parametar $0 < 1 - \alpha \leq 1$ opisuje širinu distribucije (što je $1 - \alpha$ manji, distribucija je šira). $\Delta\varepsilon$ opisuje jakost dielektrične relaksacije promatranog sustava. CC funkcija se rastavlja na svoju realnu i imaginarnu komponentu:

$$Re \left\{ \frac{\Delta\varepsilon}{1 + (i\omega\tau_0)^{1-\alpha}} \right\} = \Delta\varepsilon \frac{1 + (\omega\tau_0)^{1-\alpha} \cos[(1-\alpha)\pi/2]}{1 + 2(\omega\tau_0)^{1-\alpha} \cos[(1-\alpha)\pi/2] + (\omega\tau_0)^{2-2\alpha}}, \quad (3.26)$$

$$Im \left\{ \frac{\Delta\varepsilon}{1 + (i\omega\tau_0)^{1-\alpha}} \right\} = \Delta\varepsilon \frac{(\omega\tau_0)^{1-\alpha} \sin[(1-\alpha)\pi/2]}{1 + 2(\omega\tau_0)^{1-\alpha} \cos[(1-\alpha)\pi/2] + (\omega\tau_0)^{2-2\alpha}}. \quad (3.27)$$

3.3.2 Oduzimanje pozadine: tehnički elementi

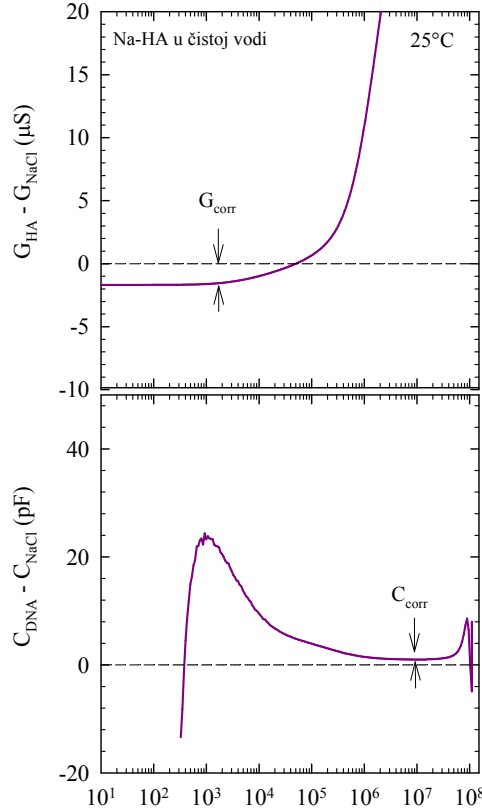
Prilikom mjerenja nije moguće oduzeti pozadinu savršeno jednake parazitske vodljivosti kao one kod uzoraka (vidi Jed. 3.11–3.12). Uvijek postoji dio vodljivosti G_{poz} i kapaciteta C_{poz} pozadine koji su neuklonjeni. Te varijable nazivamo G_{corr} i C_{corr} . Da bi uklonili G_{corr} njegovu vrijednost određujemo na nižim frekvencijama Sl. 3.8 a), na kojima je to glavni doprinos vodljivosti koji kasnije unosimo u model. Provjera izbora G_{corr} očituje se na obliku dobivene funkcije $\delta\varepsilon''(\omega)$, jer za dobar izbor funkcija ima zvonolik, simetričan oblik. Neuklonjeni C_{corr} Sl. 3.8 b) doprinosi dielektričnoj funkciji $\delta\varepsilon''(\omega)$ kao $b = \frac{l}{S} \frac{C_{corr}}{\varepsilon_0}$ i kao slobodni parametar ulazi u prilagodbu. Dielektrične funkcije Jed. 3.13, 3.14 uz korekcije iznose

$$\delta\varepsilon'(\omega) = \frac{l}{S} \frac{C(\omega)}{\varepsilon_0} \Rightarrow \frac{l}{S} \frac{C(\omega)}{\varepsilon_0} - b \quad (3.28)$$

$$\delta\varepsilon''(\omega) = \frac{l}{S} \frac{G(\omega)}{\omega\varepsilon_0} \Rightarrow \frac{l}{S} \frac{G(\omega) - G_{corr}}{\omega\varepsilon_0} \quad (3.29)$$

CC funkciju prilagođava se eksperimentalnim podacima korigiranim kao u ovim izrazima. Prilagodba CC funkcije mjerenjima izvodi se variranjem G_{corr} sve dok se ne dobije najbolje slaganje sa mjerenim podacima. Kada u mjerenjima postoje dva relaksacijska procesa, izrazi za realnu i imaginarnu CC funkciju imaju oblik

$$Re \left\{ \frac{\Delta\varepsilon_1}{1 + (i\omega\tau_1)^{1-\alpha_1}} \right\} + Re \left\{ \frac{\Delta\varepsilon_2}{1 + (i\omega\tau_2)^{1-\alpha_2}} \right\} + b = \frac{l}{S} \frac{C(\omega)}{\varepsilon_0}, \quad (3.30)$$



Slika 3.8: Frekventna ovisnost realnog dijela vodljivosti i kapaciteta uzorka nakon oduzimanja pozadine. Primjetimo da postoji neuklonjeni dio vodljivosti G_{corr} i kapaciteta C_{corr} .

$$Im \left\{ \frac{\Delta\varepsilon_1}{1 + (i\omega\tau_1)^{1-\alpha_1}} \right\} + Im \left\{ \frac{\Delta\varepsilon_2}{1 + (i\omega\tau_2)^{1-\alpha_2}} \right\} = \frac{l}{S} \frac{G(\omega)}{\omega\varepsilon_0} \Rightarrow \frac{l}{S} \frac{G(\omega) - G_{corr}}{\omega\varepsilon_0}. \quad (3.31)$$

Prilagodba u slučaju dva relaksacijska procesa vrši se u kompleksnoj ravnini što nam omogućava raspoznavanje dva moda koji se nalaze na bliskim frekvencijama, ako je dielektrična jakost $\Delta\varepsilon$ manja od omjera njihovih srednjih relaksacijskih vremena i ako su modovi uski. Ako je dielektrična jakost moda na niskim frekvencijama (*NF mod*) veća od moda na visokim frekvencijama (*VF mod*). *VF mod* možemo raspoznati ako vrijedi da je:

$$\frac{\Delta\varepsilon_{NF}}{\Delta\varepsilon_{VF}} < \frac{\tau_{0NF}}{\tau_{0VF}}. \quad (3.32)$$

Kada je *NF mod* manji od *VF moda* *NF mod* se može razaznati ako

$$\frac{\Delta\varepsilon_{VF}}{\Delta\varepsilon_{NF}} < \frac{\tau_{0NF}}{\tau_{0VF}}. \quad (3.33)$$

Smisao ovih granica dolazi od relaksacijske prirode modova koje mjerimo. Naime, relaksacijski modovi su vrlo široki, njihova krila zahvaćaju 2-3 dekade u frekvenciji. Dakle, ako se manji mod nalazi relativno blizu da bude zakriven krilom većeg moda neće biti razlučiv, ako nije dovoljno velik.

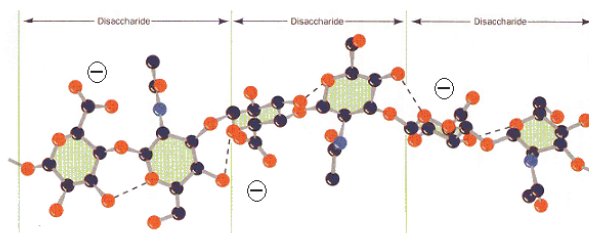
Poglavlje 4

Materijali i mjerenje

4.1 Specifikacije uzorka hijaluronske kiseline

4.1.1 Kemijska struktura HA

Hijaluronska kiselina (HA), Sl. 4.1i 4.2, također poznata kao hijaluronan ili hijaluronat [10], spada u glikoaminoglikane *



Slika 4.1: Slika prikazuje segment lanca hijaluronske kiseline duljine 3 monomera. Kemijski, jedan monomer je modificirani disaharid. Primijetimo da osim vodikovih veza-crtkano, samo jednostruke kovalentne veze povezuju monomere, stoga je ovo polielektrolit koji se odlikuje visokom fleksibilnošću. Karboksilne skupine, jedna po monomeru, koje otpuštaju protuione su označene sa (-). Duljina monomera je $\approx 1nm$. Crno - ugljik, crveno - kisik, plavo - dušik.[9]

HA je građena kao polisaharid, monomeri HA su povezani glikozidnom vezom koju možemo razumjeti kao polisaharidni analog peptidne veze iz proteina. Jedan monomer HA je građen od *D*-glukorne kiseline i *N*-acetil-*D*-glukozamina, dvaju derivata glukoze. HA može biti izrađena od 250 do 25 000 povezanih disaharida. Anionska priroda glukorne kiseline uvjetuje vezivanje HA većinom s kationima poput K^+ , Na^+ te Ca^{2+} , iz toga proizlazi polielektrolitska priroda HA.

Natrijeva sol hijaluronske kiseline Na-HA ekstrahirana iz *Streptococcus equi*., nabavljena od tvrtke BioChemika Fluka, bila je korištena za izradu otopina Na-HA u čistoj vodi i u 1mM NaCl.

Molarna masa jednog monomera Na-HA iznosi

$$M_r(\text{Na} - \text{HA}) = 14A_r(\text{C}) + 11A_r(\text{O}) + 20A_r(\text{H}) + 1A_r(\text{N}) + 1A_r(\text{Na}) \quad (4.1)$$

*Glikoaminoglikani su nerazgranati polisaharidni lanci sastavljenih od disaharida, kod kojih je jedan šećer aminošećer, a drugi je urična kiselina sa sulfatnim ili karbonatnim skupinama na šećerima.



Slika 4.2: Uzorak Na soli hijaluronske kiseline.

$$M_r(\text{Na} - \text{HA}) \approx 401 \text{ g/mol} \quad (4.2)$$

Prema tome masa jednog monomera Na-HA iznosi $m_m=401$ Da (Da označava unificiranu jedinicu atomske mase i iznosi $1.66 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$). Budući da Na-HA sadrži jedan ion natrija po monomeru tada je c_{int} istovremeno i molarna koncentracija monomera i Na^+ protuiona. Budući se u pripremi uzoraka koristimo masenim koncentracijama Na-HA, a u proučavanju fizikalnih svojstava molarnim koncentracijama protuiona i monomera upotrijebit ćemo molarnu masu $M_r(\text{Na} - \text{HA})$ kako bismo izveli relacije potrebne za pre-računavanje koncentracija.

$$c_{int}[\text{mM}] = c_{HA}[\text{mg/mL}] / 401 \text{ g/mol} \quad (4.3)$$

Što se može navesti i kao

$$c_{int}[\text{mM}] = c_{HA}[\text{mg/mL}] * 2.5 \mu\text{mol/mg} \quad (4.4)$$

4.1.2 Fundamentalne veličine vezane uz HA

Bjerrumova dužina vodenih otopina $l_B = 7.1 \text{ \AA}$ određena je prema relaciji 2.14. Duljina jednog monomera HA iznosi $b = 9.8 \text{ \AA}$. Prema relaciji 2.19 dobijemo da je $u = 0.72$, dakle, $u < 1$, a prema Manning-Oosawa teoriji to znači da se ne javlja kondenzacija protuiona.

Kako bismo mogli razmotriti fundamentalne prostorne skale naših uzoraka moramo odrediti jesu li naše otopine razrijeđene ili polurazrijeđene. Pri izračunu koncentracije preklapanja, tj. koncentracije između razrijeđenog i polurazrijeđenog stanja otopine Na-HA koristimo se pretpostavkom da makromolekula od N monomera dužine b zauzima volumen $V = (bN)^3$. Koncentraciju polielektrolita kod koje se ti volumeni dotiču smatramo koncentracijom preklapanja c^* :

$$c^* = \frac{Nm_m}{V} = \frac{m_m}{b^3 N^2}, \quad (4.5)$$

gdje je Nm_m masa molekule polielektrolita u volumenu lanca preko stupnja polimerizacije N i mase monomera m_m (vidi Jed. 4.2). Kako je prema deklaraciji proizvođača molekulska

masa uzorka HA u području od 300 - 1900 kDa, a molekulska masa jednog monomera iznosi 401 Da, broj monomera N (stupanj polimerizacije) je u rasponu od 800 do 5000. Gornju graničnu vrijednost koncentracije preklapanja ocjenjujemo uzimajući u obzir samo najmanje fragmente $N = 800$:

$$c^* = \frac{401 \cdot 1.66 \cdot 10^{-27}}{(0.98 \cdot 10^{-9})^3 \cdot 800^2} mg/mL = 0.001 mg/mL. \quad (4.6)$$

Koncentracije otopina koje su se koristile u mjerenjima bile su rasponu od $0.01 mg/mL \leq c_{HA} \leq 5 mg/mL$, iznad te granice. Dakle, sva naša mjerenja rađena su na polurazrijeđenim otopinama pa za razmatranje fundamentalnih prostornih skala koristimo relacije iz poglavlja 2.2.3. Duljina dužine tvrdokornosti HA iznosi $7nm$ [6]. Za dužinu tvrdokornosti Na-HA odgovorna je intermonomerska i intramonomerska poveznica koju čini samo glikozidna, jednostruka veza preko kisika između dva prstena molekula glikana. Usporedbe radi, bitno veća duljina dužine tvrdokornosti kod DNA ($50nm$) uzrokovana je dvolančanom helikoidalnom strukturom, tj. snažnim vezama nukleinskih baza između i duž dvaju lanaca koji čine dvostruku uzvojniju.

4.2 Priprema uzorka

4.2.1 Protokoli pripreme

Kako bismo rezultate mjerenja svojstava uzoraka mogli usporediti s podacima dobivenim u prijašnjim mjerenjima na DNA [3] te da možemo reproducirati mjerenja, uzorci moraju biti izrađeni istim ili sličnim protokolima. Protokoli koji se koriste u izradi uzoraka su sljedeći

I Otopine u čistoj vodi

Granule soli Na-HA otopimo u čistoj vodi, (MiliQ). Dobivenu majku otopinu ostavimo 24 sata na $4^{\circ}C$.

I. (kao protokol I u [3]) iz majke otopine, prethodno opisane, dodavajući čistu vodu izradi se slijed otopina željenog raspona koncentracija. Najniže koncentracije dobivaju se iz sekundarnih majki otopina koje se konsekutivno dobivaju jedna iz druge - samo prva među njima iz primarne majke otopine.

I.1. (protokol nije u [3]) direktno iz primarne majke otopine izradi se slijed otopina željenog raspona koncentracija, bez pripravljanja sekundarnih majki otopina.

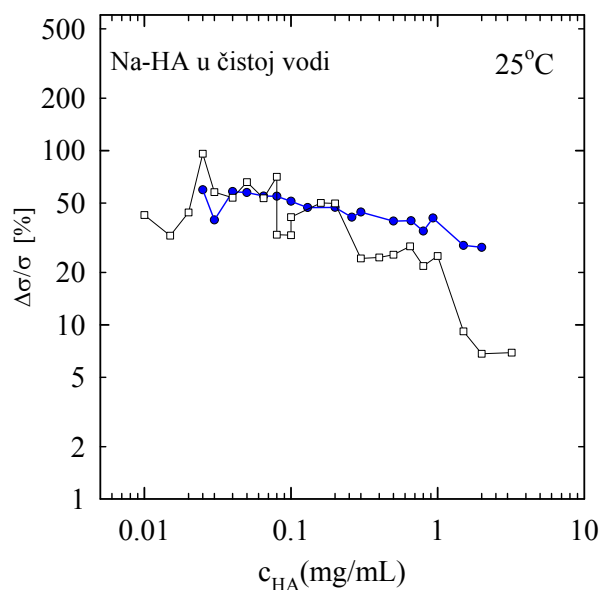
II Otopine sa dodanom soli

II.1. (kao protokol II.2 u [3]) Majka otopina pripravlja se iz uzorka otopljenog u 10 mM NaCl tokom 48 sati na $4^{\circ}C$. Majka otopina je dijalizirana 48 sati prema 10mM NaCl na $4^{\circ}C$ i zatim 24 sata prema 1mM NaCl. Otopine različitih koncentracija Na-HA dobivaju se dodavanjem 1mM NaCl u majku otopinu. Dobivene otopine su različitih koncentracija Na-HA, ali imaju konstantnu ionsku jakost dodane soli.

Kako bi bili sigurni da su otopine homogene, sve otopine izrađene su najmanje 24 sata prije mjerenja dielektričnom spektroskopijom.

Mjerenjem provodnosti na otopinama u čistoj vodi izrađenim po protokolu I. i I.1. utvrđeno je da su odstupanja od teorijski očekivane provodnosti u oba slučaja velika, kao što se vidi na Sl. 4.3. Za teorijsku provodnost otopine uzimamo provodnosti c_{int} natrija Na^{+} , čija provodnost je jednaka $\sigma_{int} = c_{int}\Lambda(Na)$. Koncentraciju intrinzičnih iona Na^{+} računamo prema relaciji 4.4 dok je molarna provodnost intrinzičnih iona natrija $\Lambda(Na) = 51\mu S cm^{-1} mmol^{-1}$. Dobivamo da je $\sigma_{int} = c_{HA} \cdot 2.5\mu mol/mg \cdot 51\mu cm^{-1} mmol^{-1}$ [8]. Pri tome pretpostavljamo da provodnosti ne doprinose poliiioni HA. Odstupanje eksperimentalne od teorijske provodnosti je jednako $(\sigma_{mj} - \sigma_{int}/\sigma_{int}) * 100\%$.

U slučaju I.1, kada su sve otopine izrađene iz jedne majke otopine varijacija odstupanja je bitno manja nego za protokol I., gdje je dodatni korak izrade sekundarnih majki otopina povećava varijaciju odstupanja. Razlika dolazi od pogreške u pipetiranju. Kvaliteta pipetiranja je različita ovisno o svojstvima otopine (utječu gustoća i viskoznost) koja se pipetira, stoga u protokolu s povećanim brojem koraka pipetiranja dolazi do odstupanja od željenih pipetiranih volumena, pa tako i koncentracija i odgovarajućih vodljivosti. Prema protokolu I.1. uvijek se pipetira otopina Na-HA iste koncentracije pa pogreška u koncentraciji postoji, ali je podjednaka za sve otopine. Pogreške u pipetiranju, dakle,



Slika 4.3: Kružići povezani plavom linijom predstavljaju odstupanje mjereno od teorijski očekivane vodljivosti za otopine izrađene prema protokolu I.1. (jedna majka otopina), a kvadratići povezani crnom linijom predstavljaju odstupanja za otopine izrađene prema protokolu I. (više majki otopina).

uzrokuju odstupanja u koncentraciji otopina, koja iznose do 5% ako se koristi protokol I. Nadalje, na niskim koncentracijama, odstupanja vodljivosti od teorijski očekivane vodljivosti su veća jer na to utječe više čimbenika. Jedan od čimbenika je pogreška u pipetiranju. Otopine niskih koncentracija izrađene su dodavanjem velikih količina vode pipetiranjem pa je ukupna pogreška u pipetiranju veća. Drugi čimbenik je da se u otapalima (čista voda i 1mM NaCl) mogu naći tragovi iona nečistoća koji na niskim koncentracijama nisu zanemarivi. Varijacije odstupanja protokola I. su značajne na visokim koncentracijama, ali to ne pridonosi bitno promjeni eksponenta koje promatramo u analizi 5. To nam dozvoljava da mjerenja na otopinama koje su izrađene prema protokolu I. ravnopravno koristimo u daljnjoj analizi. No, ubuduće ćemo koristiti protokol pripreme I.1.

4.2.2 Dijaliza

NFDS metodom mjerimo vodljivost i kapacitet uzorka, a istovremeno svaka nečistoća u uzorku (ioni Ca ili bilo koji drugi koji su mogli ući u uzorak prilikom pripreme) doprinosi vodljivosti, a time utječe na rezultate mjerenja. Procesom dijalize uklanjamo takve neželjene tvari iz uzorka. Crijevo od polupropusne membrane (pora veličine takve da polimer poput HA ne može izaći, a ioni soli i manjih molekula mogu) u kojem se nalazi uzorak, ubaci se u posudu neke otopine prema kojoj želimo dijalizirati. Ukoliko u uzorku postoji suvišak iona s obzirom na otopinu za dijalizu, ioni difundiraju iz područja više koncentracije u područje niže koncentracije. Dakle, ioni izlaze iz crijeva i ulaze u otopinu u posudi. Time se neželjenim ionima smanjuje koncentracija u crijevu, a time se smanjuje njihov utjecaj na rezultate mjerenja.

Priprema crijeva

Dijalizu otopina vršimo u crijevu od polupropusne membrane (Sigma Dialysis Tubing Cellulose; D9277-100FT, 10mmx6mm) zatvorenom kvačicama, prema sljedećem protokolu:

1. plastične kvačice moraju prije upotrebe biti u 1mM EDTA otopini u plastičnoj boci na $4^{\circ}C$, (molekule EDTA preferijabilno vežu dvoatomne ione kao Ca^{2+} i Mg^{2+}).
2. kvačice i crijevo prije upotrebe isprati MiliQ vodom, tako da vodljivost vode nakon ispiranja ne bude veća od $1\mu S$,
3. kvačice i crijevo zagrijati u čistoj vodi na $60^{\circ}C$,
4. osušiti crijevo, pri manipulaciji koristiti plastične pincete i rukavice,
5. dijaliza se radi u omjeru 1:500[†] u PE bocama na magnetnoj miješalici.

Priprema uzorka za dijalizu

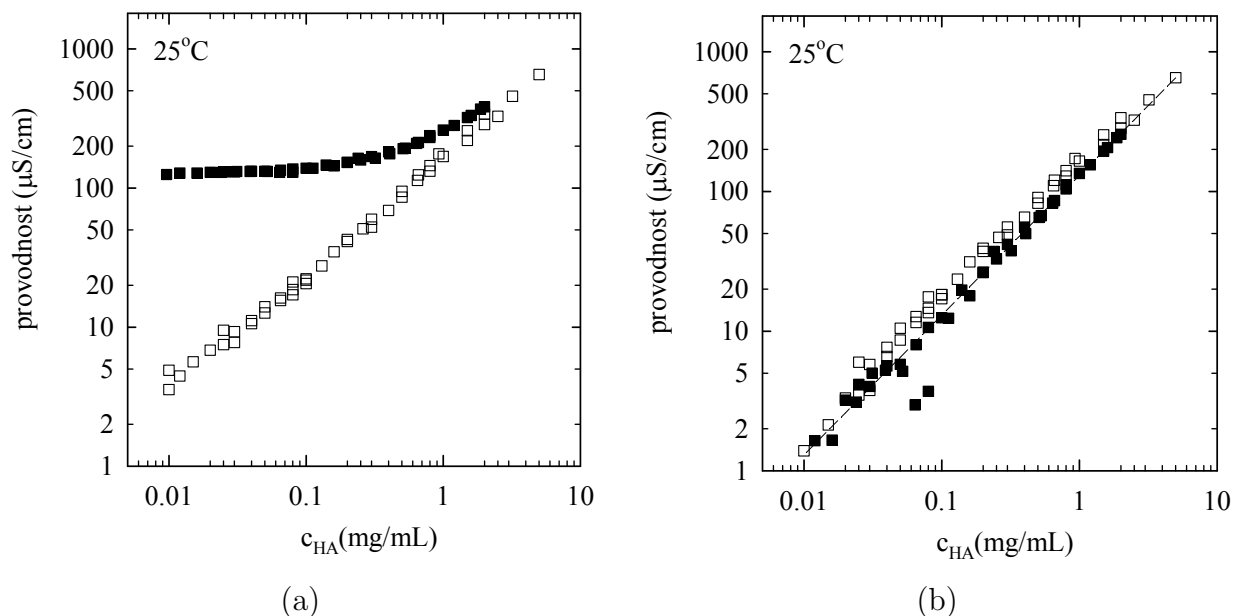
1. Suhu Na-HA otapa se u 10mM NaCl tijekom 48 sati pri temperaturi od $4^{\circ}C$
2. Crijevo s otopinom Na-HA u 10 mM NaCl je ubačeno u 10mM NaCl. Dijalizira se prema 10mM NaCl u trajanju od 48 sati s jednom izmjenom vode nakon 12 sati.
3. Slijedi dijaliza prema 1mM NaCl tokom 24 sata s izmjenom 1mM NaCl nakon 8 sati.

4.2.3 Utjecaj dijalize na provodnost uzoraka

Utjecaj dijalize na provodnost uzorka promatramo na mjerenjima otopina Na-HA u čistoj vodi, koje nisu dijalizirane i otopina Na-HA u 1mM NaCl koje su dijalizirane. Ukupnoj provodnosti otopina Na-HA osim intrinzičnih iona Na^{+} doprinosi i vodljivost otapala u kojem se Na-HA otapa. Sama makromolekula polielektrolita je prevelika da bi značajno doprinosila provodnosti. U prvom slučaju doprinos okoline čini provodnost vode, a u drugom provodnost 1mM NaCl Sl. 4.4(a). Provodnost intrinzičnih iona Na^{+} koji su vezani uz HA dobijemo oduzimanjem provodnosti otapala od ukupne provodnosti. Za otopine Na-HA u čistoj vodi oduzet ćemo provodnost vode koju mjerimo u našoj komori, oko $2\mu S/cm$. Za otopine Na-HA u 1mM NaCl oduzet ćemo upravo provodnost 1mM NaCl, koju smo izmjerili i iznosi oko $125\mu S/cm$, Sl 4.4(b). Na slici se osim provodnosti intrinzičnih iona Na^{+} za pojedine otopine dobivenih mjerenjem, nalazi i iscrtkana linija koja predstavlja teorijski predviđenu provodnost intrinzičnih iona Na^{+} određene koncentracije.

Vidljivo je da se provodnost intrinzičnih iona Na-HA u 1mM NaCl otopini poklapa s teorijski predviđenim provodnostima iona Na^{+} Sl. 4.4(b). Istovremeno provodnosti otopina u čistoj vodi su 30 - 50% veće od očekivanih, (vidi također Sl. 4.3). Možemo pretpostaviti da u otopinama Na-HA u čistoj vodi postoji neki dodatni doprinos provodnosti koji se u otopinama Na-HA u 1mM NaCl dijalizom eliminira. Dijaliza nam, dakle, omogućuje da uklonimo nečistoće iz uzorka te možemo biti sigurni da u daljnjem mjerenju dijaliziranih uzoraka odziv koji dobivamo je samo odziv istraživanog sustava. Dijalizu prema čistoj vodi nismo vršili jer zbog malih ionskih jakosti može lako doći do ionske izmjene i kontaminacije npr. Ca^{2+} .

[†]1:500 je omjer volumena uzorka i volumena otopine za dijalizu



Slika 4.4: (a) Mjerena provodnost otopina Na-HA u čistoj vodi, bijeli kvadratići, a crni kvadratići predstavljaju mjerenu provodnost otopina Na-HA u 1mM NaCl, (b) Provodnost otopina umanjene za provodnost otapala, bijeli kvadratići predstavljaju otopine u čistoj vodi, a crni kvadratići otopine Na-HA u 1mM NaCl. Na slici (b) nalazi se i iscrtkana linija koja predstavlja teorijski predviđenu provodnost.

4.3 Rezultati NFDS mjerenja

U ovom poglavlju izneseni su podaci o otopinama koje su mjerene te podaci o njihovom dielektričnom odgovoru.

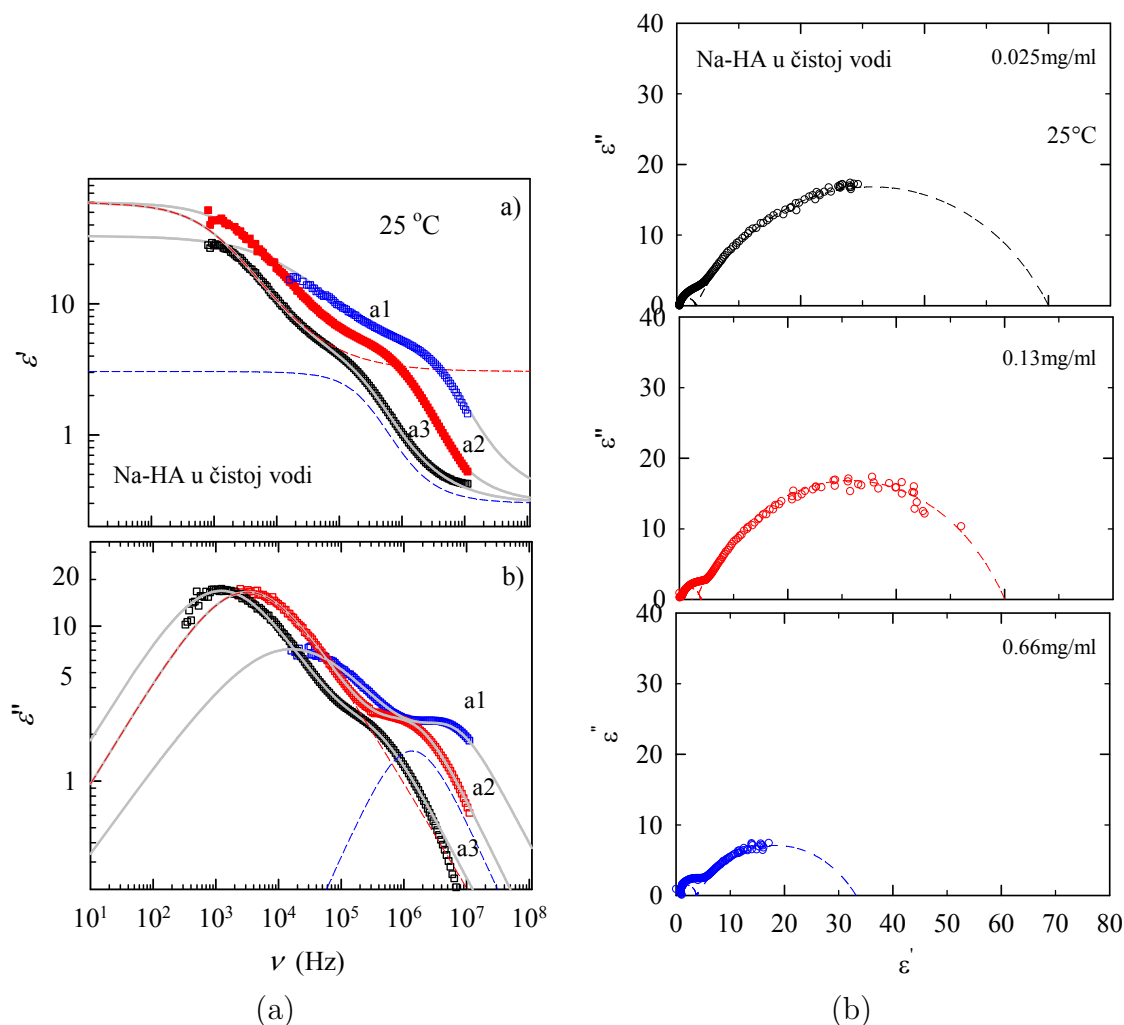
4.3.1 Otopine Na -HA u čistoj vodi

Otopine Na-HA u čistoj vodi izrađene su prema protokolima I. i I.1 tako da je konačna koncentracija HA bila u rasponu $0.01\text{mg/mL} \leq c_{\text{HA}} \leq 5\text{mg/mL}$. Izrađeno je oko 27 otopina za svaki protokol izrade.

Na slici 4.5(a) se prikazuje frekventna ovisnost dielektrične funkcije otopine Na-HA u čistoj vodi. Spektri prikazani na slici izrađeni su po protokolu I.1, dok se u analizi otopina Na-HA u čistoj vodi koriste podaci mjerenja na otopinama izrađenim prema protokolima I. i I.1. Realni dio dielektrične funkcije vodene otopine Na-HA koncentracija (0.025, 0.013, 0.66, mg/mL) prikazan je na panelu a) dok je imaginarni dio prikazan na panelu b). Izmjereni dielektrični odziv je složen u smislu da se podaci jedino mogu uspješno prilagoditi na zbroj dviju CC funkcija. Kvadratići na slici 4.5(a) predstavljaju izmjerene podatke, pune linije pripadaju zbroju dvije CC funkcije dok isprekidane predstavljaju pojedine CC funkcije.

U spektrima NFDS za sve otopine možemo razlučiti dva moda. Na niskim frekvencijama vidimo niskofrekventni mod, *NF mod*, a na visokim frekvencijama visokofrekventni mod, *VF mod*, što je vidljivo na slici 4.5 mjerenih spektara.

NF mod se nalazi u rasponu frekvencija $0.8\text{kHz} \leq \nu_{\text{NF}} \leq 0.16\text{MHz}$ i ima dielektričnu

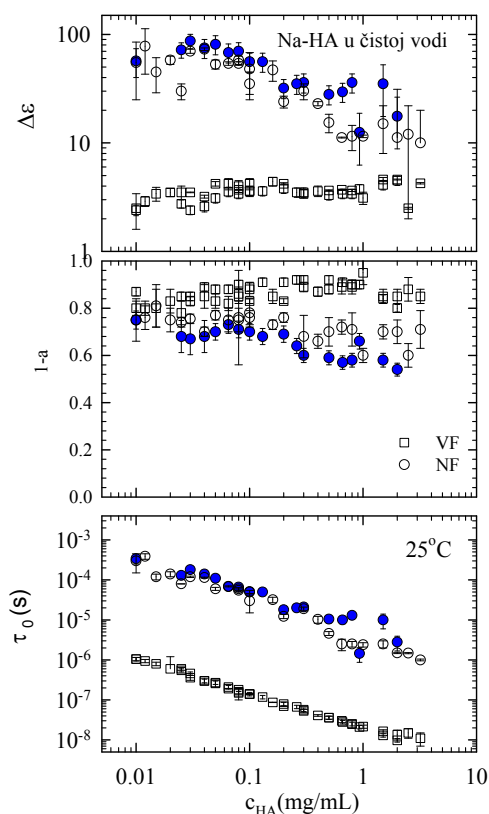


Slika 4.5: (a) Log-log prikaz frekventne ovisnosti realnog (ϵ') i imaginarnog (ϵ'') dijela dielektrične funkcije vodene otopine Na-HA mjerene na $T=25^\circ\text{C}$. Za prikaz su odabrane slijedeće koncentracije Na -HA a1=0.66mg/mL, a2=0.13mg/mL, a3=0.025mg/mL. Eksperimentalne točke dane su simbolima. Pune linije su prilagodba na zbroj dvije CC funkcije; dok isprekidane crte predstavljaju prilagodbu na pojedine CC funkcije. Slika (b) prikazuje CC graf dielektričnog odgovora vodenih otopina Na-HA koncentracija a1=0.66mg/mL, a2=0.13mg/mL, a3=0.025mg/mL. Eksperimentalne točke dane su simbolima. Pune linije su prilagodba na zbroj dvije CC funkcije; dok isprekidane crte predstavljaju prilagodbu na pojedine CC funkcije.

jakost $10 \leq \Delta\epsilon_{NF} \leq 90$, slika 4.6. Parametar $1 - \alpha$ opisuje širinu raspodjele relaksacijskog vremena. Za NF mod parametar $1 - \alpha$ opada od 0.8 prema 0.5 pri povećanju koncentracije HA.

Dielektrična jakost VF moda na svim koncentracijama je manja od dielektrične jakosti NF moda i nalazi se u rasponu od $1.2 \leq \Delta\epsilon_{VF} \leq 4.8$. VF mod se nalazi u frekventnom rasponu $0.8\text{kHz} < \nu_{VF} < 16\text{MHz}$. Širina raspodjele relaksacijskog vremena VF moda je približno konstantna i iznosi $1 - \alpha = 0.85 \pm 0.05$, što je vidljivo na slici 4.6, srednji panel. Ukratko, dielektrična jakost NF moda i parametar $1 - \alpha$ opadaju s povećanjem koncentracije, dok dielektrična jakost VF moda ostaje konstantna nakon blagog povećanja na niskim koncentracijama.

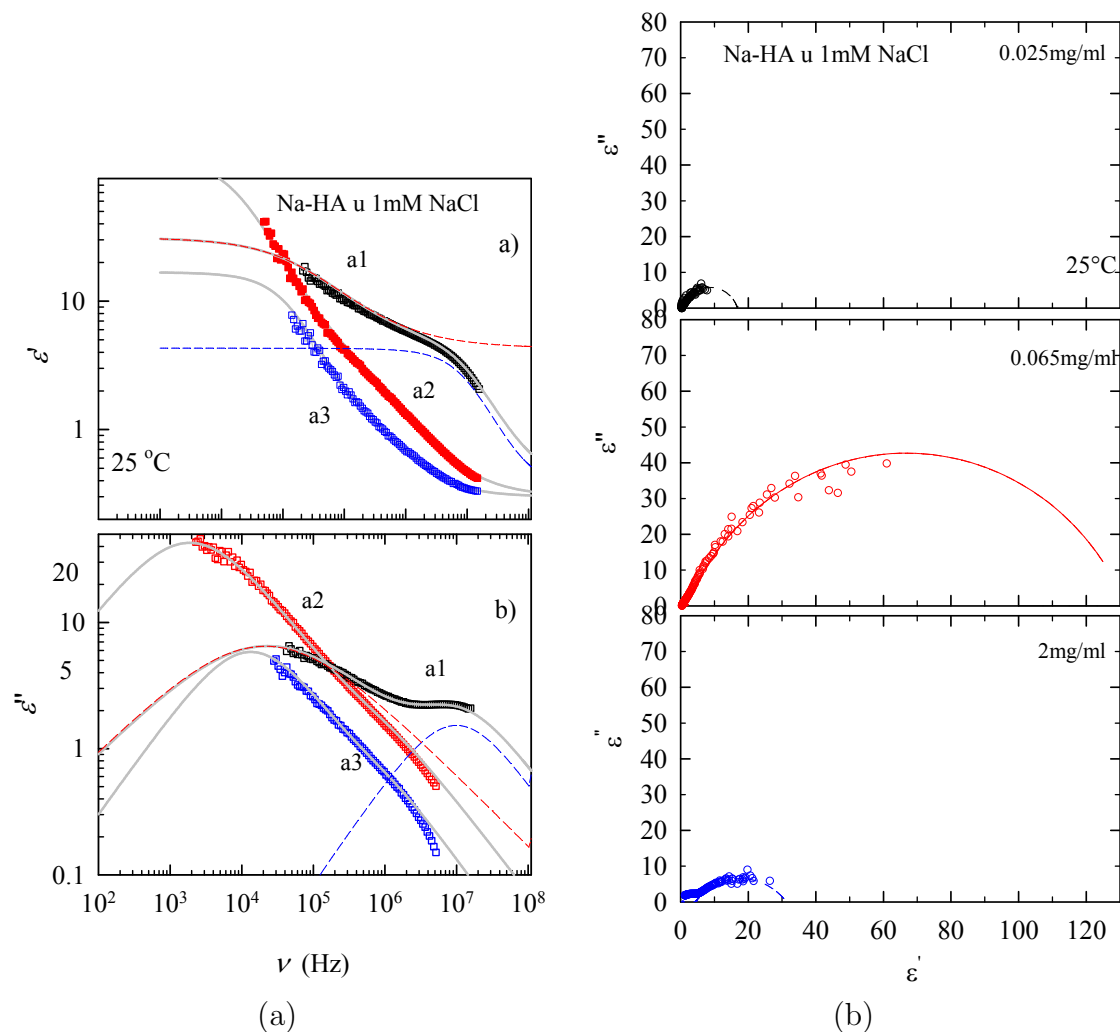
Ako pogledamo sliku 4.5 vidimo da su dobivene relativno kvalitetne prilagodbe sa



Slika 4.6: Parametri prilagodbe za oba moda: dielektrična jakost (panel a), širina raspodjele relaksacijskih vremena $1 - \alpha$ (panel b) i relaksacijsko vrijeme (panel c) za vodene otopine Na-HA u funkciji koncentracije raspona ($0.01 - 5 \text{ mg/mL}$). Kružići prikazuju NF mod dok kvadrati predstavljaju VF mod. Za NF mod bijeli i plavi kružići predstavljaju mjerenja na otopinama izrađenim po protokolima I. i I.1., tim slijedom.

nevelikim sumama kvadratnih odstupanja. Stoga i matematički algoritam prilagodbe izbacuje male pogreške vrijednosti parametara, veličine do 3%. Drugim riječima, lokalni minimum u parametarskom prostoru je širine 3%. Kako je ova analiza spektara s dvama modovima i 6 parametara lokalni minimum pogreške se istovremeno nalazi unutar jednog šireg minimuma gdje se uz veće varijacije parametara može dobiti podjednako kvalitetne prilagodbe kao na slici 4.5. Stoga mi u slici 4.6 naznačavamo pogreške koje odgovaraju širini tog minimuma. Porijeklo tog šireg minimuma je i u nepouzdanosti u odrađivanju c_{HA} (pogreške u pipetiranju). Pogreške se povećavaju za rubne koncentracije polielektrolita i pri povećanju koncentracije dodane soli. Npr. odstupanje parametra τ NF moda na niskim koncentracijama iznosi oko 40%, na srednjim oko 16%, a na visokim koncentracijama oko 20%. Odstupanje dielektrične jakosti NF moda na niskim koncentracijama iznosi oko 25%, na srednjim 16%, a na visokim koncentracijama 21%. Također, na visokim koncentracijama javlja se razlika između rezultata mjerenja na otopinama pripremljenim različitim protokolima (plavi i bijeli kružići u Sl. 4.6). Naime, upravo tu dolazi do razlike u vodljivosti između dvaju setova otopina, znači i koncentracija pa to unosi dodatnu pogrešku.

4.3.2 Otopine Na-HA u 1mM NaCl



Slika 4.7: (a) Log-log prikaz frekventne ovisnosti realnog (ϵ') i imaginarnog (ϵ'') dijela dielektrične funkcije 1mM NaCl otopine Na-HA mjerene na $T=25^\circ\text{C}$. Za prikaz su odabrane slijedeće koncentracije Na-HA a1=2mg/mL, a2=0.065mg/mL, a3=0.02mg/mL. Eksperimentalne točke dane su simbolima. Pune linije su prilagodba na zbroj dvije CC funkcije; dok isprekidane crte predstavljaju prilagodbu na pojedine CC funkcije. Slika (b) prikazuje CC graf dielektričnog odgovora 1mM NaCl otopina Na-HA koncentracija a1=0.66mg/mL, a2=0.13mg/mL, a3=0.025mg/mL. Eksperimentalne točke dane su simbolima, dok isprekidane crte predstavljaju prilagodbu na pojedine CC funkcije.

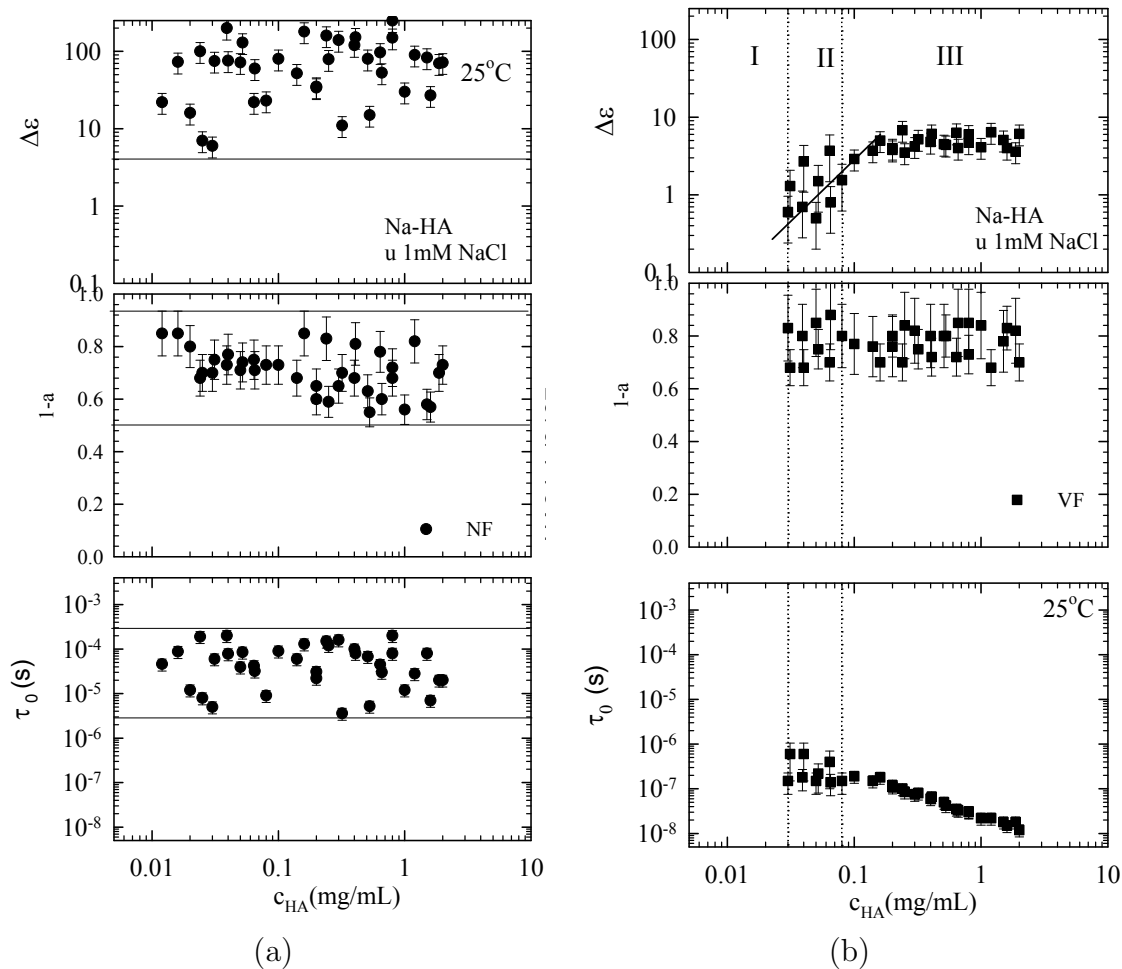
Otopine Na-HA u 1mM NaCl su izrađene prema protokolu II.3., u rasponu koncentracija $0.01\text{mg/ml} \leq c_{HA} \leq 2\text{mg/ml}$, izrađeno je oko 40 otopina. Slika 4.7(a) prikazuje frekventnu ovisnost dielektrične funkcije vodene otopine Na-HA. Realni dio dielektrične funkcije otopine Na-HA koncentracija (0.02, 0.065, 2 mg/mL) prikazan je na panelu a) dok je imaginarni dio prikazan na panelu b). Izmjereni dielektrični odziv je složen u smislu da se podaci jedino mogu uspješno prilagoditi na zbroj dviju CC funkcija. Kvadratići na slici 4.7(a) predstavljaju izmjerene podatke, pune linije pripadaju zbroju dvije CC funkcije dok isprekidane predstavljaju pojedine CC funkcije. Za sve otopine možemo razlučiti mod na niskim frekvencijama, tj. *NF mod*. Razlučivanje moda na visokim frekvencijama,

tj. *VF moda* nije bilo jednako moguće za sve koncentracije pa zato razlikujemo tri područja koncentracija za razlučivanje moda. I. područje koncentracija odnosi se na otopine koncentracija $c_{HA} < 0.03mg/mL$, gdje se *VF mod* ne može razlučiti. U II. područje koncentracija spadaju otopine koncentracija u rasponu $0.03mg/mL \leq c_{HA} \leq 0.08mg/mL$, gdje se *VF mod* može razlučiti, ali teško, zato postoje velike pogreške u određivanjima parametara prilagodbe. Na kraju, III. područje koncentracija, tu spadaju otopine koncentracija $c_{HA} > 0.08mg/mL$. U ovom području *VF mod* je dobro razlučiv. Na slici 4.8(b) vidimo da parametri prilagodbe u II. području koncentracija imaju velike pogreške.

NF mod se nalazi na niskim frekvencijama na kojima, za 1mM otopine, polarizacija elektroda ima veliki doprinos mjerenim rezultatima. Kako se polarizacija elektroda metodom oduzimanja ne može u potpunosti ukloniti, donja granica u frekvenciji je bila relativno visoko. Tj. eksperimentalni podaci za imaginarni dio dielektrične funkcije ne pokrivaju područje vrha moda, a za realni dio eksperimentalni podaci ne postoje za područje niskofrekventnog platoa dielektrične funkcije (Usporedi spektre na Sl.4.7 (a) i 4.5(a)). Stoga je točno određivanje parametara *NF moda* bilo otežano tako da svi parametri prilagodbe *NF moda* imaju veliki rasap, što je vidljivo na Sl. 4.8(a).

VF mod otopina Na-HA u 1mM NaCl smješten je u frekventnom rasponu $2.6MHz < \nu_{VF} < 13MHz$ i ima dielektričnu jakost $0.5 \leq \varepsilon_{VF} \leq 6.1$. Parametar $1 - \alpha$ širine raspodjele relaksacijskog vremena je približno konstantan i nalazi u rasponu $1 - \alpha = 0.80 \pm 0.05$. Dielektrična jakost, ponaša se slično kao kod otopina u čistoj vodi. U II. području koncentracija, dielektrična jakost raste s povećanjem koncentracije polielektrolita prema zakonu potencija s eksponentom 1.5, tj. $\Delta\varepsilon(c_{HA} \leq 0.1mg/mL) \sim c_{HA}^{1.5}$. U III. području koncentracija, $c_{HA} > 0.1mg/mL$, $\Delta\varepsilon$ poprima konstantnu vrijednost. Srednje relaksacijsko vrijeme τ u II. području ima konstantnu vrijednost, dok u području III. vrijednost τ opada s povećanjem koncentracije.

Otopine Na-HA u čitavom rasponu, prema relaciji 4.6, su polurazrijeđene, što nam omogućuje korištenje pretpostavki i teorija vezanih uz to stanje. U poglavlju 5 izvršiti ćemo analizu i diskusiju ovdje prikazanih osnovnih rezultata mjerenja.



Slika 4.8: (a) Parametri prilagodbe *NF moda* (crni kružići): dielektrična jakost (panel a), širina raspodjele relaksacijskih vremena $1 - \alpha$ (panel b) i relaksacijsko vrijeme (panel c) za Na-HA u 1mM NaCl u funkciji koncentracije raspona (0.01 – 2 mg/mL). Pune linije označavaju pojaseve unutar kojeg su rasipani parametri prilagodbe. (b) Parametri prilagodbe *VF moda* (crni kvadratići): dielektrična jakost (panel a), širina raspodjele relaksacijskih vremena $1 - \alpha$ (panel b) i relaksacijsko vrijeme (panel c) za Na-HA u 1mM NaCl u funkciji koncentracije raspona (0.01 – 2 mg/mL). Strelicama označene koncentracije naznačuju područja različite kvaliteta prilagodbe. Crta na panelu a prikazuje ovisnost $\Delta\varepsilon \propto c_{HA}^{1.5}$.

Poglavlje 5

Analiza rezultata i diskusija

Intrinsični ioni Na-HA prate promjene električnog polja i zato je njihovo gibanje oscilatorno. Općenito, gibanje iona otopinom određeno je zakonima difuzije zbog čega je prostorna skala L , duž koje se ioni kreću, povezana s relaksacijskim vremenom τ_0 , koje mjerimo, prema relaciji Einstein-Smoluchowski:

$$L \propto \sqrt{\tau_0 D_{in}}, \quad (5.1)$$

gdje je D_{in} konstanta difuzije protuiona koja je aproksimirana konstantom difuzije slobodnih iona. U našem slučaju za konstantu difuzije intrinzičnih protuiona natrija, isto kao u istraživanju genomske DNA u članku [3], koristimo konstantu difuzije slobodnih iona natrija $D_{in} = 1.33 \cdot 10^{-9} m^2 s^{-1}$. Također, u istraživanju genomske DNA u članku [3] je eksperimentalno dokazano da je konstanta proporcionalnosti u jednadžbi 5.1 reda veličine 1.

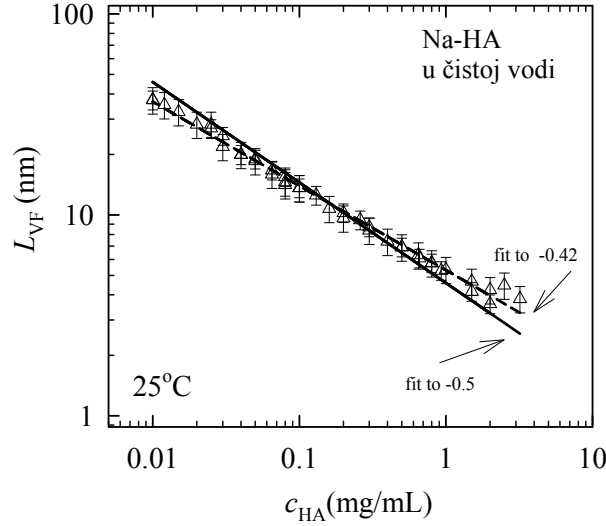
U poglavlju 5.1 nalazi se analiza NFDS mjerenja na otopinama Na-HA u čistoj vodi, a u 5.2 analiza NFDS mjerenja na otopina Na-HA u 1mM NaCl.

5.1 Analiza rezultata mjerenja dielektrične relaksacije otopina Na-HA u čistoj vodi

5.1.1 Visokofrekventni mod (*VF mod*)

Srednje vrijeme relaksacije *VF moda* nalazi se u intervalu $1 \cdot 10^{-8} s \leq \tau_0 \leq 2 \cdot 10^{-6} s$ iz čega prema jednadžbi 5.1 proizlazi da se vrijednosti karakteristične dužine za *VF mod*, L_{VF} , nalaze u intervalu 4-40nm. L_{VF} pokazuje ovisnost o koncentraciji c_{HA} prema zakonu potencije $L_{VF} \propto c_{HA}^{-0.42 \pm 0.03}$ Sl.5.1.

U istraživanju otopina DNA u čistoj vodi [3] *VF mod* je bio povezan s informacijom o strukturi polurazrijeđene otopine polielektrolita. *VF mod* daje informaciju o fundamentalnoj skali koja opisuje strukturu naše otopine, a to je korelacijska dužina, $\xi \propto c^{-0.5}$ (vidi 2.2.3). U otopinama Na-HA u čistoj vodi vidljivo je postojanje razlike između teorijski predviđenog eksponenta -0.5, i eksperimentalno izmjenjenog -0.42. Razlika teorijskog i eksperimentalnog eksponenta je veća od pogreške eksperimentalno nađenog eksponenta, Sl. 5.1. Potencijalni uzrok odstupanja zbog premalog raspona koncentracija možemo ostaviti jer se u mjerenju koriste otopine koncentracija preko tri dekade. Kako ne znamo



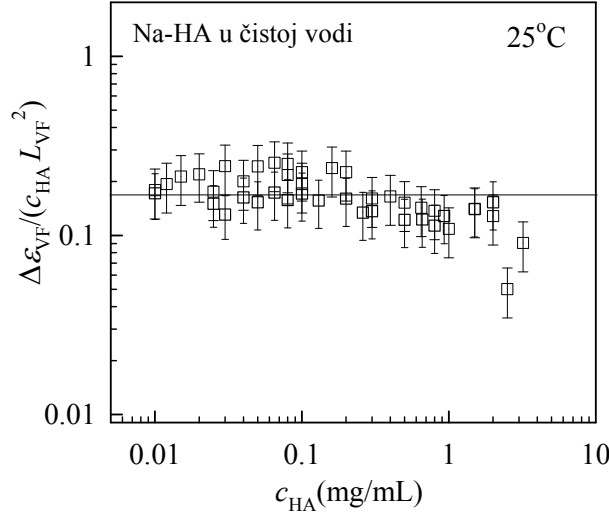
Slika 5.1: Karakteristična dužina VF moda (L_{VF}) otopine Na-HA u čistoj vodi u ovisnosti o koncentraciji. Puna crta predstavlja prilagodbu na $L_{VF} \propto c_{HA}^{-0.42 \pm 0.03}$, gdje je eksponent bio slobodni parametar prilagodbe. Crtkana linija je prilagodba na $L_{VF} \propto c_{HA}^{-0.5}$, gdje je eksponent fiksiran pri prilagodbi.

pravi uzrok razlike eksperimentalnog i teorijski očekivanog eksponenta možemo pretpostaviti da u teorijskom izvodu nedostaje neka korekcija. U radu na DNA [3] eksperimentalni rezultati se poklapaju s teorijski predviđenima. DNA je polifleksibilan polielektrolit, na temelju toga možemo pretpostaviti da teorija vrijedi za polifleksibilne polielektrolite, dok za polielektrolite visoke fleksibilnosti, poput HA, u teoriju treba uvesti korekcije.

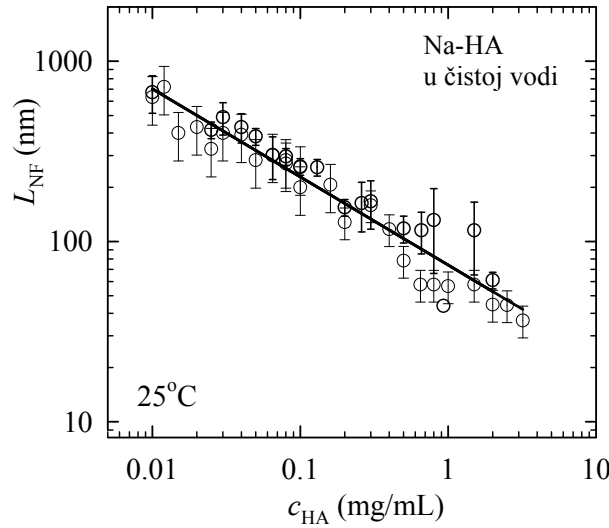
Stupanj polimerizacije, N , DNA korištene u mjerenjima [3] je do reda veličine veći od stupnja polimerizacije HA u našim mjerenjima. Kako je stupanj polimerizacije manji za HA, manji je i ukupni broj korelacijskih volumena, a time je lanac, koji grade korelacijski volumeni, kraći. Ako lanac sadrži premali broj korelacijskih volumena, nemoguće je zanemariti utjecaj krajeva lanaca (*chain end effect*). Utjecaj krajeva lanaca mogao bi biti odgovoran za razliku mjerenog eksponenta od teorijski očekivanog [1].

Spomenimo još da ako bismo pak pretpostavili da su naše otopine razrijeđene, ni tada se očekivani rezultati ne bi poklapali s našim rezultatima. Naime, za razrijeđene otopine VF daje informacije o udaljenosti između lanaca te bi očekivano ponašanje bilo $L_{VF} \sim c^{-0.33}$. Vidimo da je i taj eksponent različit od eksperimentalno dobivenog za HA 5.1.

Definirajmo dielektričnu jakost moda sa $\Delta\varepsilon_{VF} \approx f_{VF} \cdot c_{in} \cdot \alpha_{VF}$, gdje je f_{VF} udio protuiona koji sudjeluju u VF procesu, koncentracija tih protuiona je $c_{in} [\text{mM}] = c_{HA} [\text{mg/mL}] \cdot 2.5 \mu\text{mol/mg}$ (Jed. 4.4). Polarizabilnost je općenito proporcionalna $\alpha_{VF} \propto e^2 \cdot L_{VF}^2 \cdot /(\varepsilon_0 kT) \propto l_B \cdot \varepsilon \cdot L_{VF}^2$, tj. kvadratu dimenzije inducirano dipola. Stoga je udio protuiona f_{VF} koji sudjeluju u VF procesu proporcionalan sa $\Delta\varepsilon_{VF}/(c_{HA} \cdot L_{VF}^2)$. Na slici 5.2 prikazujemo ovisnost f_{VF} o koncentraciji Na-HA. Približno konstantna vrijednost f_{VF} pokazuje da udio protuiona koji sudjeluju u VF ne ovisi o koncentraciji c_{HA} . Takav rezultat dobiven je i u mjerenjima s DNA [3].



Slika 5.2: Normalizirana dielektrična jakost $\Delta\varepsilon_{VF}/(c_{HA} \cdot L_{VF}^2)$ VF moda otopine Na-HA u čistoj vodi u funkciji koncentracije (c_{HA}).



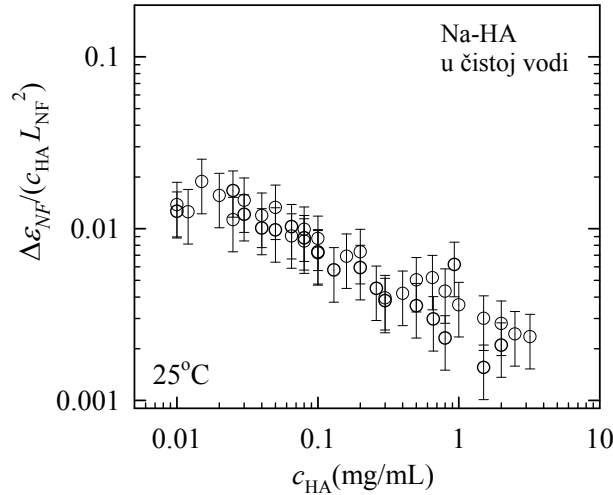
Slika 5.3: Karakteristična dužina NF moda (L_{NF}) otopine Na-HA u čistoj vodi u ovisnosti o koncentraciji. Puna crta je prilagodba na $L_{NF} \propto c_{HA}^{-0.48 \pm 0.05}$.

5.1.2 Niskofrekventni mod (*NF mod*)

Srednje relaksacijsko vrijeme *NF moda* je u intervalu $1 \cdot 10^{-6} s \leq \tau_0 \leq 1.8 \cdot 10^{-4} s$, a time je karakteristična dužina L_{NF} u rasponu 40-800nm. L_{NF} za otopine Na-HA u čistoj vodi pada s povećanjem koncentracije c_{HA} , a ovisnost odgovara zakonu potencija s eksponentom -0.48 ± 0.05 . Na slici 5.3 puna crta je prilagodba na relaciju $L_{NF} \propto c_{HA}^{-0.48 \pm 0.05}$. U istraživanju otopina DNA u čistoj vodi [3] utvrđeno je da za polurazrijeđene otopine polielektrolita L_{NF} odgovara srednjoj dužini lanca, čiji je teorijski opis dan u potpoglavlju 2.2.3, gdje je ovisnost L_{NF} koncentracije polielektrolita prema zakonu potencija $L_{NF} \propto c_{HA}^{-0.25}$, Jed.2.33. Na slici 5.3 se vidi da vrijednosti L_{NF} , pogotovo za veće koncen-

tracija Na-HA, imaju povećane pogreške, no, kao i za *VF mod*, razlika eksperimentalno dobivenog eksponenta i teorijski predviđenog za L_{NF} ne može se pripisati utjecaju povećanih pogrešaka. Eksperimentalni rezultat za DNA [3], se unutar granica pogreške, slagao sa teorijskim predviđanjem.

Do razlika u eksponentu za DNA i HA dolazi od razlika u fleksibilnosti DNA i HA. Kod polufleksibilnih polielektrolita dužina tvrdokornosti L_p je veća od korelacijske dužine ξ , tj. $L_p \geq \xi$. U tom slučaju dužina lanca je proporcionalna koncentraciji prema zakonu potencija s eksponentom -0.25, tj. $R_e \sim c^{-0.25}$. Za fleksibilne polielektrolite dužina tvrdokornosti L_p je manja od korelacijske dužine ξ , $L_p \leq \xi$, a srednja dužina lanca je proporcionalna koncentraciji prema zakonu potencija s eksponentom -0.5, tj. $R_e \sim c^{-0.5}$ [5] Dužina tvrdokornosti DNA je $L_p(DNA) = 50nm$, a korelacijska dužina u intervalu $7nm \leq \xi(DNA) \leq 50nm$. Time DNA zadovoljava uvjete za polufleksibilne polielektrolite. Eksperimentalni rezultati za srednju dužinu lanca DNA se poklapaju s teorijskim očekivanjima [3]. Dužina tvrdokornosti HA je $L_p(HA) = 7nm$, a iznos korelacijske dužine se nalazi u rasponu od $4nm \leq \xi(HA) \leq 35nm$. HA zadovoljava uvjete za fleksibilne polielektrolite. Dakle, mjereni je eksponent za HA jednak teorijski očekivanom eksponentu za veličinu lanca polufleksibilnih polielektrolita u polurazrijeđenoj otopini.



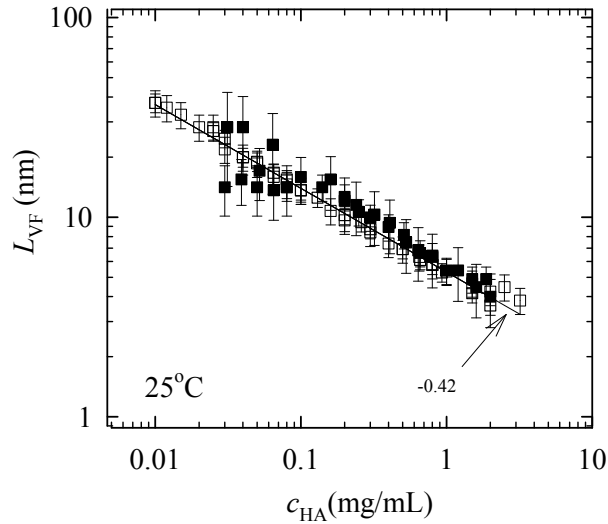
Slika 5.4: Normalizirana dielektrična jakost $\Delta\epsilon_{NF}/(c_{HA} \cdot L_{NF}^2)$ NF moda vodene otopine Na-HA u funkciji koncentracije

Podaci na slici 5.4 pokazuju da se broj protuiona koji sudjeluju u NF procesu smanjuje s povećanjem koncentracije Na-HA. Usporedno sa mjerenjima na DNA gdje je broj iona koji sudjeluju u NF procesu stalan, vidimo da se ponašanje NF moda za HA općenito ne poklapa sa očekivanjima. Ponovo možemo primijetiti kako je kod DNA, zbog pojave kondenzacije, došlo do toga da kondenzirani i nekondenzirani protuioni sudjeluju u NF i VF modu zasebno, a da se kod HA kondenzacija ne javlja. Dakle, kod HA bi svi protuioni trebali sudjelovati u obje relaksacije, no ostaje nejasno zašto bi samo kod NF moda njihovo efektivno sudjelovanje u dielektričnom odgovoru opadalo s koncentracijom HA.

5.2 Analiza rezultata mjerenja dielektrične relaksacije otopina Na-HA u 1mM NaCl

Analiza spektara NFDS otopina Na-HA u 1 mM NaCl svodi se na analizu *VF moda* jer zbog utjecaja polarizacije elektroda ne možemo kvantificirati *NF moda* kao što smo pojasnili u poglavlju 4.3.2. Problemi u kvantificiranju *NF moda* u 1mM NaCl otopinama također su evidentirani u radu s kratkim DNA [3].

Srednje relaksacijsko vrijeme *VF moda* nalazi se u intervalu $1.2 \cdot 10^{-8} s \leq \tau_0 \leq 6 \cdot 10^{-7} s$, karakteristična dužina 4 - 28nm.

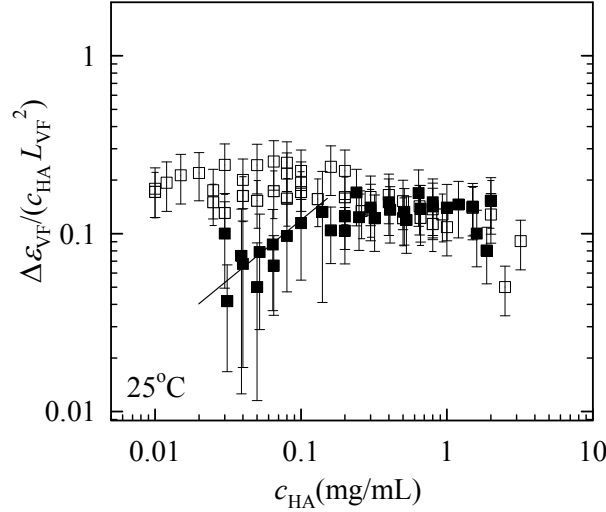


Slika 5.5: Karakteristične dužine VF moda u ovisnosti o koncentraciji HA, za otopine Na-HA u čistoj vodi (bijeli kvadratići) i za otopine Na-HA u 1mM NaCl (crni kvadratići).

Ovisnost L_{VF} o koncentraciji c_{HA} za otopine u 1mM NaCl na visokim koncentracijama ostaje proporcionalna s koncentracijom prema zakonu potencija $L_{VF} \propto c_{HA}^{-0.42 \pm 0.05}$. No, za koncentracije manje od 0.08mg/mL, L_{VF} za otopine Na-HA u 1mM NaCl ima velike pogreške pa promatrajući Sl. 5.5 ne možemo odrediti slijedi li L_{VF} otopina Na-HA u 1mM NaCl ponašanje L_{VF} otopina Na-HA u čistoj vodi ili poprma konstantnu vrijednost.

Normirana dielektrična jakost moda otopina Na-HA u čistoj vodi ne ovisi o koncentraciji, dok njezina vrijednost za otopine Na-HA u 1mM NaCl pada sa smanjenjem koncentracije c_{HA} ispod 0.08mg/mL, Sl.5.6 . Dakle, efektivni broj protuiona koji sudjeluju u VF relaksaciji pada s c_{HA} ispod 0.08 mg/mL. Naime, kod otopina koncentracija manjih od 0.08 mg/mL ioni 1mM NaCl prevladaju intrinzične ione, odnosno, povećanjem zasjenjenja ionima dodane soli smanji se efektivna jakost odziva, tj. efektivni broj iona koji sudjeluju u među lanačnom procesu relaksacije protuiona. Ovakvo ponašanje normirane dielektrične jakosti moda otopina Na-HA podudara se s ponašenjem otopina DNA prikazanim u članku [3].

Promatrajući parametre prilagodbe za τ_{0VF} , i $\Delta\varepsilon_{VF}$ na Sl. 4.8(b) te vrijednosti $\Delta\varepsilon_{VF}/(c_{HA} \cdot L_{VF}^2)$ na Sl. 5.6 pokušat ćemo pojasniti ponašanje L_{VF} za $c_{HA} \leq 0.8mg/mL$. $\Delta\varepsilon_{VF}$ raste s povećanjem koncentracije za koncentracije $c_{HA} \leq 0.8mg/mL$ Sl. 5.6, i to prema zakonu potencija s eksponentom 1.5 : $\Delta\varepsilon_{VF} \sim c_{HA}^{1.5}$. Na slici 5.6 vidimo da $\Delta\varepsilon_{VF}/cL_{VF}^2$ raste



Slika 5.6: Normaliziranu dielektričnu jakost $\Delta\varepsilon_{VF}/(c_{HA} \cdot L_{VF}^2)$ u funkciji koncentracije *VF moda* otopine Na-HA u čistoj vodi predstavljaju bijeli kvadratićima, a otopine Na-HA u 1mM crni kvadratići. Crta na prikazuje ovisnost $\Delta\varepsilon_{VF}/(c_{HA} \cdot L_{VF}^2) \propto c_{HA}^{0.5}$.

s eksponentom 0.5, pri povećanju koncentracije za $c_{HA} \leq 0.8 \text{ mg/mL}$. Uz takva okvirna ponašanja $\Delta\varepsilon_{VF}$ i $\Delta\varepsilon_{VF}/cL_{VF}^2$ možemo, dakle, zaključiti da L_{VF} za $c_{HA} \leq 0.8 \text{ mg/mL}$ poprima konstantnu vrijednost. Slična pojava zabilježena je i u radu s DNA [3]. Ukratko, karakteristična dužina za otopine DNA u 1mM NaCl [3] na visokim koncentracijama polielektrolita slijedi ovisnost L_{VF} u čistoj vodi i ostaje nepromijenjena sve dok je koncentracija intrinzičnih iona c_{int} srazmjerno veća od koncentracije iona dodane soli. Kada koncentracija intrinzičnih iona postane manja od koncentracije iona dodane soli, L_{VF} se više ne povećava smanjenjem koncentracije. L_{VF} ostaje konstantan i s iznosom bliskim Debyevoj dužini za 1mM NaCl otopinu. Kvalitativna analogija u ponašanju karakteristične dužine L_{VF} za Na-HA i DNA smatra se potvrdom našeg razumijevanja dobivenih rezultata [3]. U slučaju HA do promjene režima ponašanja dolazi pri omjeru koncentracija $2I_s/c_{int}$ iznosa 4, a za DNA je red veličine manji i iznosi 0.4. Možemo pretpostaviti da do razlike dolazi zbog MO kondenzacije 2.1.3. U slučaju HA, a za razliku od DNA gdje većina intrinzičnih iona ostaje u blizini polielektrolita, dodanoj soli je teže savladati utjecaj slobodnih intrinzičnih iona.

Dakle, naša mjerenja na Na-HA u 1mM NaCl otopinama identificiraju L_{VF} kao korelacijsku dužinu ξ iako eksponent ovisnosti prema zakonu potencija L_{VF} o c_{HA} odstupa od teorijski očekivane vrijednosti. To odstupanje objašnjavamo na isti način kao u otopinama Na-HA u čistoj vodi (vidi poglavlje 5.1.1) dakle utjecajem krajeva lanaca. Kada se u otopini nalazi dovoljno dodane soli $L_{VF} = \xi$ prelazi u Debyevu dužinu κ^{-1} , kao i kod DNA.

U radu s otopinama DNA u 1mM NaCl niskofrekventni mod je vezan uz dužinu tvrdokornosti, a kako u našim istraživanjima HA u 1mM NaCl nismo mogli dobiti nikakve konkretne informacije o *NF modu* potrebno je izvršiti daljnja mjerenja na otopinama Na-HA u varirajućim koncentracijama dodane soli, osobito u koncentracijskom području soli manjem od 1mM NaCl gdje je utjecaj polarizacije elektroda na mjerenja manji pa pa će kvantifikacija L_{NF} biti moguća, no ta mjerenja nisu obuhvaćena ovim diplomskim radom.

Poglavlje 6

Zaključak

Proučavana su svojstva vodenih otopina natrijeve soli hijaluronske kiseline (Na-HA), polielektrolita biološkog porijekla. Na temelju mjerenja niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom te koristeći teorijska predviđanja i poredbu s rezultatima za DNA (također polielektrolit), dobili smo informacije o strukturi same molekule HA u otopini, kao i o strukturi otopine. Zaključke izvodimo iz analize ovisnosti parametara koji opisuju dva relaksacijska moda, visokofrekventni mod (VF mod, u MHz području) i niskofrekventni mod (NF mod, u kHz području). Naime, iz relaksacijskih vremena tih modova proizlaze karakteristične dužine koje povezujemo sa fundamentalnim skalama kojima teorija opisuje otopine polielektrolita. Specifično, karakteristične dužine VF moda (L_{VF}) povezujemo uz skale koje opisuju otopine, tzv. korelacijsku dužinu ξ ili pak Debyeovu dužinu κ^{-1} , a NF moda (L_{NF}) uz skale samog polielektrolita, dakle veličinu lanca R ili pak dužinu tvrdokornosti L_P .

U otopinama Na-HA u čistoj vodi L_{VF} pokazuje ovisnost o koncentraciji HA prema zakonu potencije $L_{VF} \propto c_{HA}^{-0.42}$, koji je različit od teorijski očekivanog za $\xi \propto c^{-0.5}$, kakav je npr. dobiven u mjerenjima grupe dr. Tomić na otopinama DNA. Pretpostavljamo da takvo odstupanje kod Na-HA dolazi zbog utjecaja krajeva lanaca, jer su uzorci Na-HA sadržavali red veličine kraće molekule. Dodatni prilog identifikaciji L_{VF} daju rezultati mjerenja Na-HA u otopini 1 mM NaCl, gdje se ponovo javljaju analogije s DNA. Dok je omjer broja iona dodane soli i broja intrinzičnih Na^+ iona porijeklom s Na-HA manji od 4 ponašanje L_{VF} je istovjetno onom u otopinama u čistoj vodi. No, kad omjer premaši 4, tj. kada dodana sol dominira, L_{VF} identificiramo sa Debyeovom dužinom otopine, κ^{-1} . Važno je primijetiti da je kod Na-HA omjer pri kojem dolazi do prijelaza s ξ na κ^{-1} , za red veličine veći nego kod DNA. Naime, kod HA se ne javlja MO kondenzacija te je, u odnosu na DNA gdje ona postoji, relativno mnogo intrinzičnih iona slobodno i u kompeticiji sa ionima dodane soli. Karakteristična dužina NF moda za otopine Na-HA u čistoj vodi također pokazuje ovisnost prema zakonu potencije, $L_{NF} \propto c_{HA}^{-0.5}$ s eksponentom različitim od onoga kod DNA koji iznosi 0.25. Ipak, analogija u identifikaciji skala s DNA vrijedi i za NF mod. Naime, za polufleksibilne polielektrolite, poput DNA gdje je L_P veći od ξ , teorija predviđa ovisnost veličine lanca R s eksponentom 0.25, dok se kod fleksibilnih polielektrolita, poput HA gdje je L_P manji od ξ (tj. od L_{VF}), teorijski očekuje upravo eksponent 0.5 koji smo u našem radu i dobili.

Sukladnost rezultata za HA s onima za DNA pomalo prestaje po pitanju jakosti dielektričnog procesa i efektivnog broja nosilaca koji sudjeluju u relaksaciji. U slučaju DNA uočeno je da kondenzirani ioni sudjeluju u NF procesu, a slobodni u VF i da se njihov

omjer ne mijenja dok nema dodane soli. No, kod HA ne dolazi do MO kondenzacije, što znači da postoji samo jedna vrsta protuiona koji moraju sudjelovati u oba relaksacijska procesa. Iznenadujuće je onda kako se kod HA javlja opadanje s c_{HA} efektivnog broja nosilaca za NF mod, dok je taj broj konstantan za VF mod! Eksperiment u dodanoj soli (1mM NaCl) je pokazao analogiju s DNA rezultatom za VF mod, tj. opadanje efektivnog broja relaksacijskih entiteta kao posljedicu zasjenjenja. Nažalost, parametri NF moda nisu mogli biti određeni zbog prejakog utjecaja polarizacije elektroda na niskim frekvencijama gdje se mod nalazio, što nas zasad onemogućava u cjelovitom razumijevanju ponašanja efektivnog broja relaksacijskih entiteta kod Na-HA.

Na kraju napomenimo da NFDS kao tehnika pruža jednostavan način dobivanja informacija o sustavu polielektrolit-otopina, no ima ograničenja. Utjecaj polarizacija elektroda na niskim frekvencijama dolazi najviše do izražaja za otopine velikih koncentracija iona u otopini, tj. povećane dodane soli ili povećane koncentracije polielektrolita. Polarizacija elektroda smanjuje frekventni raspon našeg mjernog postava pa je jedan od motiva za daljnji rad smanjenje njenog utjecaja kako bi se razriješilo ponašanje Na-HA u otopinama s dodanom soli i možda detektirali i duljinu tvrdokornosti kao još jednu karakterističnu skalu, kao što je to uspjelo grupi dr. Tomić kod DNA.

Dodatak A

Fizikalne veličine

Fizikalna veličina	Oznaka	Jedinica
Avogadrova konstanta	N_A	$6.022 \cdot 10^{23} / mol$
Boltzmanova konstanta	k_B	$1.38 \cdot 10^{-23} J/K$
Bjerrumova dužina	l_B	Å
broj monomera u elektrostatskom volumenu	g_e	-
broj monomera u korelacijskom volumenu	g	-
Debyeova dužina	κ^{-1}	nm
dielektrična funkcija	$\varepsilon(\omega)$	-
dielektrična konstanta	ε	F/m
dielektrična konstanta vode	ε_{H_2O}	78.65 na T=300K
dielektrični pomak	D	C/m^2
difuzijska konstanta	D	m^2/s
dužina konture polimera	L	nm
dužina tvrdokornosti	L_p	nm
efektivna masa	m^*	kg
električno polje	E	V/m
elektrostatski potencijal	φ	V
elektrostatski volumen	D_e	nm^3
elementarni naboj	e	$1.6 \cdot 10^{-19} C$
gustoća struje	j	A/m^2
imaginarni dio dielektrične funkcije	$\varepsilon''(\omega)$	-
imaginarni dio kompleksne admitancije	$B(\omega)$	S
impedancija	Z	Ω
ionska jakost elektrolita	I_s	mM, $1/m^3$
jakost relaksacijskog procesa	$\Delta\varepsilon$	-
kapacitet	C	F
karakteristična dužina niskofrekventnog moda	L_{NF}	nm
karakteristična dužina visokofrekventnog moda	L_{VF}	nm
karakteristično relaksacijsko vrijeme	τ_0	s
kompleksna admitancija	$Y(\omega)$	$1/\omega$
koncentracija polielektrolita	c	mg/mL
koncentracija preklapanja	c^*	mg/mL

Fizikalna veličina	Oznaka	Jedinica
konstanta elastičnosti	k	kg/s ²
konstanta gušenja	γ	kg/s
konstanta komore	K	m ⁻¹
koordinata, prostorna	x	m
korelacijska dužina	ξ	nm
kružna frekvencija	ω	1/s
magnetsko polje	H	T
molarna provodnost	Λ	$\mu S cm^{-1} M^{-1}$
naboj	q	C
otpor	R	Ω
permitivnost vakuumu	ϵ_0	$8.858 \cdot 10^{-12} F/m$
polarizacija	P(ω)	C/m ²
površina	S	m ²
provodnost	σ	$\mu S/cm$
realni dio dielektrične funkcije	$\epsilon'(\omega)$	-
realni dio kompleksne admitancije	G(ω)	S
relativna dielektrična konstanta	ϵ_r	-
struja	I	A
svojtvena frekvencija titranja	ω_0	1/s
temperatura	T	K
vanjsko električno polje	E(ω)	V/m
valencija iona	z	-
veličina lanca	R	m
volumna gustoća naboja	ρ	1/ m ³
vremenska konstanta gušenja	τ	s

Dodatak B

Metodički dio

Priprema za nastavu

Škola: Gimnazija

Razred: Drugi

Nastavni predmet: Fizika

Nastavna cjelina: Elektrostatika

Nastavna jedinica: Električno polje

Trajanje: Jedan školski sat

Ključni pojmovi: naboj, sila, međudjelovanje, polje

Cilj nastavne jedinice: Uvesti pojam električnog polja

Zadaci:

Obrazovni: - utvrditi da su električna svojstva prostora oko naboja neovisna o probnom naboju

- uvesti pojmove: električno polje, jakost električnog polja te odrediti mjernu jedinicu
- utvrditi da je električno polje vektorska veličina
- objasniti pojam silnice električnog polja

Funkcionalni

- razvijati sposobnost logičkog zaključivanja

Odgojni

- poticati radoznalost
- uvažavati druga mišljenja
- razvijati vještinu dijaloga

Nastavna cjelina Elektrostatika, a time i električno polje, obrađuje se u drugom razredu gimnazije. U prethodnoj obradi nastavne cjeline elektrostatike učenici su se susreli s pojmom pozitivnog i negativnog naboja te Coulombove sile kao rezultata međudjelovanja naboja. Koristeći prije usvojene pojmove uvest ćemo novi pojam, električno polje, te utvrditi neka njegova svojstva.

Način izvođenja nastave je u obliku interaktivne nastave. Postavljanjem problemskih pitanja, predstavljanjem različitih problemskih situacija koje je protrebno razriješiti, nastavnik potiče učenike na razmišljanje te dolaženje do vlastitih zaključaka. Također, učenici uče uvažavati tuđa mišljenja. Uloga nastavnika je da potpitanjima vodi učenike razmišljanju do ostvarivanja nastavnog cilja.

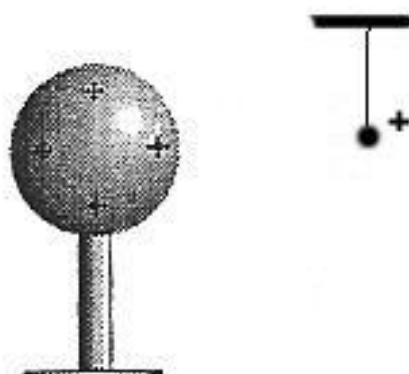
U nastavku slijedi primjer toka sata koji sadrži pitanja i pretpostavljene odgovore učenika.

Tijek nastavnog sata

Uvodni dio sata:

Pokus:

Pribor: metalna sfera na stalku, metalna kuglica obješena o nit, štap i krpica kojima ćemo naelektrizirati sferu i kuglicu (Sl. B.1).



Slika B.1: Pokus: Pribor koji koristimo u izvođenju pokusa

Metalnu sferu te kuglicu obješenu o nit nabijemo pozitivnom nabojem.

Pitanje: Što će se dogoditi ako nabijenu kuglicu približimo nabijenoj sferi?

Učenici će raspravom utvrditi da bi se, s obzirom da su i kuglica i sfera nabijene istoimennim nabojem (a od prije im je poznato djelovanje električne sile), kuglica trebala otkloniti.

- izvedemo pokus

Pitanje: Opišite što ste opazili.

Učenici opisuju opažanje; približavanjem kuglice sferi, kuglica se otklonila. Učenici primjećuju da se otklon kuglice obješene o nit povećava približavanjem kuglice sferi.

Pitanje: Kako električna sila djeluje na kuglicu? Kako ju pomiče? Kad imamo autić na stolu, da bi ga mogli pomaknuti moramo ga gurati. Na koji način električna sila pomiče kuglicu?

U raspravi učenici utvrđuju da se kuglice ne dodiruju, te da sila djeluje bez dodirivanja. Raspraviti kako to sila "djeluje na daljinu". Raspraviti da postojanje naboja na sferi utječe na električna svojstva prostora.

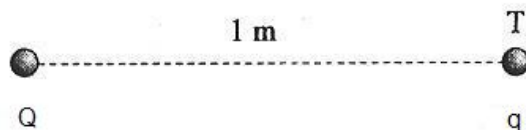
Glavni dio sata:

Pitanje: Kolika sila djeluje u točki T u kojoj se nalazi naboj od $q=1\text{nC}$ na udaljenosti od 1m od naboja od $Q=1\text{C}$?(Sl. B.2)

Koristći prije usvojen izraz za silu učenici računaju silu u točki T.

$$F=k\frac{q_1\cdot q_2}{r^2}, k=9\cdot 10^9 \text{NC}^{-2}\text{m}^2.$$

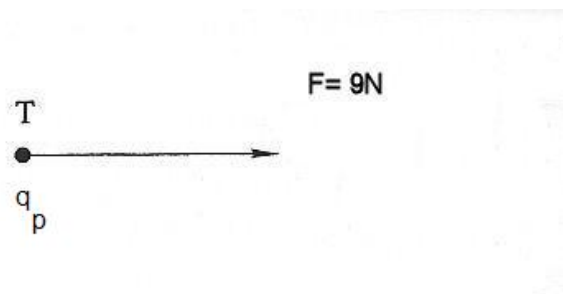
$$F=9\cdot 10^9 \text{NC}^{-2}\text{m}^2\frac{1\text{C}\cdot 10^{-9}\text{C}}{(1\text{m})^2}=9\text{N}$$



Slika B.2: Naboji $q=1\text{nC}$ i $Q=1\text{C}$ nalaze se na udaljenosti od 1m.

Učenici računaju silu između naboja Q i q te dobivaju iznos 9N.

Pitanje: Ako u točki T imamo probni naboj q_p 1nC i na njega djeluje sila od 9N, možemo li odmah znati kakva je raspodjela naboja prouzrokovala tu silu? (Sl. B.3)?



Slika B.3: Na probni naboj u točki T djeluje sila od 9N.

Kako bi učenici mogli odgovoriti na ovo pitanje promatramo novi problem. Kolika bi sila djelovala na naboj $q_p=1\text{nC}$ u točki T ako bi na udaljenost od 1m od tog naboja u jednu stranu stavili drugi naboja 0.5C, a na suprotnu stranu na udaljenost od 1m naboj -0.5C?

Napomenuti učenicima da promatraju silu jednog po jednog naboja. Prije nego što učenici počnu rješavati problem potaknuti raspravu o sličnosti ovog i prethodnog zadatka. Učenici raspravljajući primjećuju da se naboj smanjio s obzirom na prethodni zadatak te da u ovom slučaju imamo dva različita naboja, svaki upola manjeg iznosa nego u prethodnom zadatku.

Pitanje: Ako je naboj dva puta manji kako se promijenja sila?

U raspravi učenici primjećuju da je sila proporcionala s nabojem, te ako se naboj smanji

smanjit će se i sila. U ovom se slučaju naboj svake promatrane čestice se smanjio dva puta, pa će se i sila svake od čestica na probni naboj smanjiti dva puta. Dakle, u prethodnom slučaju sila je iznosila 9N, a sada svaka od čestica djeluje na probni naboj silom iznosa iznosi 4.5N. Primjećuju da je sila na probni naboj od čestice pozitivnog naboja odbojna, a od čestice negativnog naboja privlačna.

Pitanje: Skicirajte na slici sile na probni naboj u točki T.

Skicirajući sile na probni naboj učenici primjećuju da obje sile imaju isti smjer.

Koristeći analognu situaciju, guranja auta jednog čovjeka ili dva čovjeka, navesti učenike na zaključak da se sile zbrajaju.

Učenici zaključuju da je ukupna sila koja djeluje na probni naboj u točki T jednaka zbroju sila te iznosi 9N.

Pitanje: Promotimo sada obje problemske situacije, pokušajmo odgovoriti na prethodno postavljeno pitanje o uzroku sile na probni naboj.

Učenici primjećuju da je sila u oba sličaja ista, ali da su naboji različiti. Učenici zaključuju da različiti raspored naboja može dati jednaku silu te da samo poznavanje sile ne govori o raspodjeli i količini naboja, pa ne mogu odrediti koji naboj uzrokuje silu.

Pitanje: Nastavak na prethodni zadatak. Kolika će sila djelovati na probni naboj q_p ako su u točki T nalazi naboj i iznosa;

a) 2nC

b) -1nC

c) 4nC?

Učenici od prije znaju da u točki T na naboj od 1nC djeluje sila od 9N. Učenici opet koriste zaključivanje na temelju proporcionalnosti te promjenu naboja povezuju s promjenom sile. Ako se naboj 2 puta poveća povećat će se i sila, dakle ako je sila bila 9N za 1nC, za 2nC će biti 18 N. Takvo razmišljanje koriste za ostale primjere te dobivaju slijedeće iznose sila.

$$F_a = 18N$$

$$F_b = -9N$$

$$F_c = 36N.$$

Pitanje: Vidimo da se sila na probni naboj u točki T mijenja ako mijenjamo iznos naboja u toj točki. Postoji li nešto što ostaje nepromijenjeno?

Učenici primjećuju da se mijenja i probni naboj i sila na njega. Uputiti učenike da promatraju odnos sile i probnog naboja što ih dovodi do zaključka da je omjer sile u točki T i naboja koji se nalazi u toj točki konstantan te iznosi $9 \cdot 10^9 N/C$.

U daljnjoj raspravi učenici primjećuju da je uzrok sile na probni naboj u točki T nepoznat, ali da je omjer sile i naboja u toj točki konstantan, tj. ne ovisi o naboju koji se nalazi u toj točki.

Pitanje: Omjer sile i probnog naboja predstavlja novu veličinu koju zovemo jakost električnog polja. Električno polje označavamo s E. Koja je mjerna jedinica električnog polja?

Uvidom u omjer $E = \frac{F}{q_p}$ učenici uvrstavaju poznate mjerne jedinice za silu i naboj te dobiju da je mjerna jedinica za električno polje N/C.

Pitanje: Utvrdili smo da električno polje u nekoj točki ne ovisi o probnom naboju,

tj. da električno polje u nekoj točki u prostoru ne ovisi o naboju koji se u njoj nalazi. Što je uzrok električnom polju u nekoj točki u prostoru?

Učenici promatraju izraz za jakost električnog polja u nekoj točki, on je jednak omjeru sile u toj točki i probnog naboja koji se nalazi u toj točki, tj. $E = \frac{F}{q_p}$. Sila u točki, gdje se nalazi probni naboj, je posljedica međudjelovanje probnog naboja q_p i naboja q na udaljenosti r od probnog naboja, tj. $F = k \frac{q q_p}{r^2}$. Uvrštavajući izraz za silu u izraz za jakost električnog polja učenici dobivaju relaciju za jakost električnog polja

$$E = k \frac{q q_p}{r^2} \frac{1}{q_p} = k \frac{q}{r^2}. \quad (\text{B.1})$$

Promatrajući dobiveni izraz učenici zaključuju da jakost električnog polja u nekoj točki ovisi o naboju u prostoru, tzv. izvoru električnog polja i udaljenosti te točke od naboja.

Pitanje: Sila je vektorska veličina, ima smjer, a naboj nije vektorska veličina, to je broj. Je li električno polje vektor ili broj?

Učenici dolaze do zaključka o električnom polju promatrajući omjer vektorske veličine sile i naboja. Uviđaju da naboj utječe na iznos omjera, ali ne utječe na smjer pa dolaze do zaključka da je i E vektorska veličina, te ima isti smjer kao i sila. Zaključuju da jakost električnog polja ovisi o iznosu naboja i udaljenosti, a da je smjer polja jednak smjeru sile.

Pitanje: Koliki je iznos električnog polja u točki T, iz prvog problema, u kojoj se nalazi naboj 1nC , a na udaljenosti od 1m od naboja od 1C .

Učenici sada koriste izraz za električno polje u nekoj točki u prostoru. Uvrštavajući poznate vrijednosti u dobiveni izraz za polje dolaze do rezultata da električno polje u točki T iznosi

$$E = 9 \cdot 10^9 \text{NC}^{-2} \text{m}^{-2} \frac{1\text{C}}{(1\text{m})^2} = 9 \cdot 10^9 \text{N/C}.$$

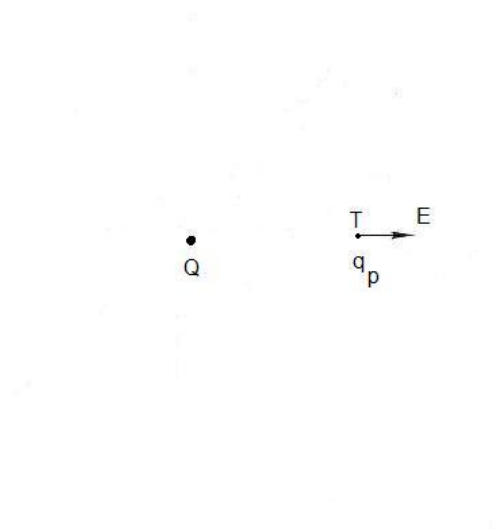
Pitanje: Skicirajte na slici smjer električnog polja u točki T. (Sl.B.4.)

Pitanje: Odredite smjer električnog polja u točkama A, B na slici B.5. Skicirajte!

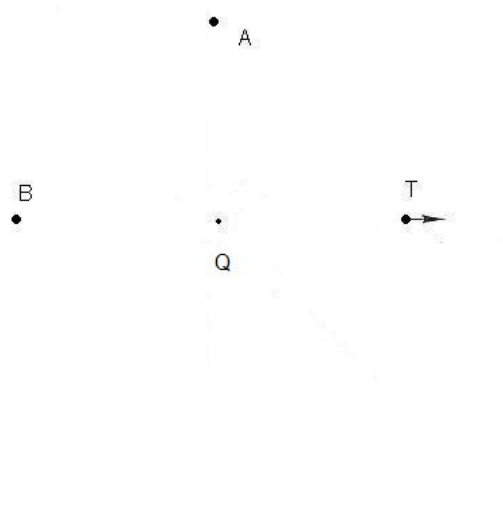
Učenici primjećuju da se u tim točkama ne mijenja iznos električnog polja jer su točke A, B i T jednako udaljene od naboja. Utvrđuju da se mijenja smjer sile, pa time i smjer električnog polja. Učenici skiciraju smjer električnog polja te dobivaju Sl.B.6

Pitanje: Na slici vidimo smjer električnog polja u točki T. Kakvo je električno polje u točki koja se nalazi na istom pravcu kao i točka T, ali bliže naboju 1nC ?

Učenici raspravljaju koristeći izraz za jakost električnog polja $E = k \frac{q}{r^2}$. Obzirom da promatramo točku koja je bliža naboju 1nC dakle promijenio se r pa će se promijeniti i E . Učenici zaključuju kako je električno polje obrnuto proporcionalno udaljenosti točke od naboja tj. ako se udaljenost smanji, električno polje će se povećati. Smjer električnog polje ostaje isti. Da bi označili električno polje u toj točki moramo uzeti u obzir da smjer ostaje isti, a da se mijenja jačina polja što reprezentiramo dužinom strelice. Duža strelica označava jače polje, a kraća strelica slabije polje. Učenici zaključuju da se na istom pravcu iznos električnog polja, a time i dužine strelica smanjuju s povećanjem udaljenosti



Slika B.4: Električno polje u točki T.



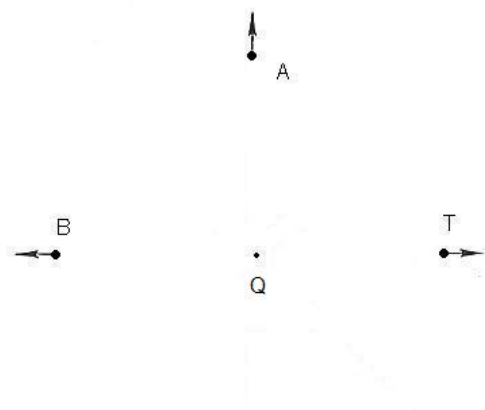
Slika B.5: Točke prostora (A i B) u kojima učenici trebaju skicirati smjer električnog polja.

između naboja. Učenici zatim skiciraju isto za negativni naboj kao izvor polja.

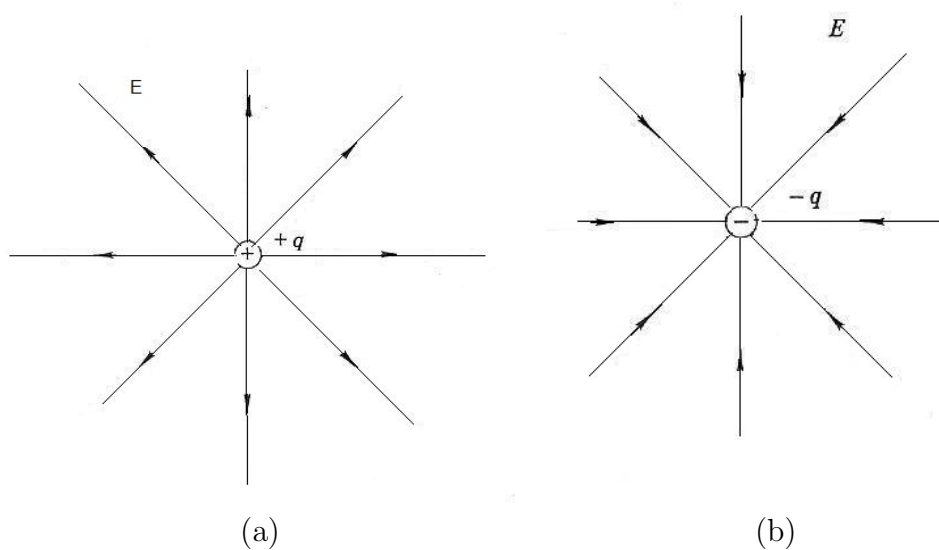
Pitanje: Da bi se zornije predočilo električno polje uvedene su zamišljene linije koje nazivamo silnicama. Njihovo je važno svojstvo da tangenta na silnicu u bilo kojoj točki određuje smjer električnog polja u toj točki. Kako bi izgledale silnice za slučaj točkastog naboja?

Učenici kroz raspravu dolaze do oblika silnica za točkasti naboj kao na slici. Pogledom na silnice za naboj 1nC i -1nC učenici zaključuju da električno polje pozitivnog naboja ima smjer od naboja, a polje negativnog naboja ima smjer prema naboju (Sl. B.7)

Literatura:



Slika B.6: Električno polje u točkama T, A i B.



Slika B.7: (a) Električno polje pozitivnog naboja , (b) Električno polje negativnog naboja

R. Krsnik., Fizika 2, Udžbenik za 2. razred gimnazije, B inačica programa, ŠK, Zagreb, 1997.

Bibliografija

- [1] A. V. Dobrynin and M. Rubinstein, *Prog. Polym. Sci.* **30**, 1049 (2005).
- [2] M. B. Jackson, “Molecular and Cellular Biophysics”, (Cambridge Univeristy Press, New York, 2006)
- [3] S. Tomić, S. Dolanski Babić, T. Vuletić, S. Krča, D. Ivanković, L. Griparić and R. Podgornik, *Phys. Rev. E.* **75**, 021905 (2007). ; S. Tomić, S. Dolanski Babić, T. Ivek, T. Vuletić, S. Krča, F. Livolant and R. Podgornik, *Phys. Rev. Lett.* **81**, 68003 (2006).
- [4] P. G. de Gennes, P. Pincus, R. M. Velasco and F. Brochard, *J. Phys. (Paris)* **37**, 1461 (1976).
- [5] T. Odijk, *J. Polym. Sci.: Polym. Phys.* **15**, 477 (1977).
- [6] Z. Kutnjak, G. Lahajnar, C. Filipič, R. Podgornik, L. Nordenskiöld, N. Korolev i A. Rupprecht, *Phys. Rev. E* **71**, 041901 (2005)
- [7] Dielectric Spectroscopy Centre Manual, Zagreb (2007).
- [8] D. R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 88th Edition, 2007
- [9] D. Voet, J. G. Voet, “Biochemistry” (J. Wiley&Sons, New York, 2004)
- [10] B. Alberts et. al, “Molecular Biology of the Cell ”, (GS, 2002)
- [11] K. Radmanović, “Komora za mjerenje dielektrične konstante uzoraka u tekućoj fazi”, Zagreb, diplomski rad, (2005)
- [12] A. Vojvodić, “Dielektrična relaksacija koloidne otopine nanočestica polistirenskog lateksa”, Zagreb, diplomski rad, (2006)
- [13] T. Ivek, “Val gustoće naboja u kvazi-jednodimenzionalnim kupratima”, Zagreb, diplomski rad, (2004)