

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

Danijel Grgičin

**ELEKTRIČNA VODLJIVOST
VODENIH OTOPINA NATRIJEVE
SOLI HIJALURONSKE KISELINE**

Diplomski rad

Zagreb, 2009.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

SMJER: DIPL. ING. FIZIKE

Danijel Grgičin

Diplomski rad

**ELEKTRIČNA VODLJIVOST
VODENIH OTOPINA NATRIJEVE
SOLI HIJALURONSKE KISELINE**

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

Ocjena diplomskog rada: _____

Povjerenstvo: 1. _____

2. _____

3. _____

Datum polaganja: _____

Zagreb, 2009.

Sadržaj

I. UVOD	4
II. TEORIJSKI UVOD	5
A. Poisson-Boltzmannova jednačba	5
B. Debye-Hückelova aproksimacija	6
C. Bjerrumova dužina i raspodjela protuiona oko poliiona	7
D. Model crvolikog lanca: dužina tvrdokornosti kao mjera savitljivosti polimera	7
E. Fundamentalne skale polielektrolitskih otopina	9
1. Razrijeđene polielektrolitske otopine	10
2. Granična koncentracija između razrijeđenih i polurazrijeđenih polielektrolitskih otopina	10
3. Polurazrijeđene polielektrolitske otopine	10
F. Specifična vodljivost polielektrolita	13
1. Električna vodljivost protuiona	13
2. Električna vodljivost poliiona	14
III. UZORCI I MJERNI POSTAV	17
A. Hijaluronska kiselina	17
B. Uzorci hijaluronske kiseline	18
C. Mjerni postav	19
1. Komora za dielektrična mjerenja	19
2. Mjerač admitancije Agilent 4294A	21
3. Temperaturna stabilnost	21
4. Uzroci netočnosti mjerenih veličina	21
5. Mjerenja električne vodljivosti	23
IV. OBRADA IZMJERENIH VELIČINA	24
A. Od izmjerenih veličina do kompleksne dielektrične funkcije	24
B. Prilagodba krivulje na jedan relaksacijski proces	26
C. Prilagodba krivulje na izmjerene veličine	28
V. ANALIZA REZULTATA MJERENJA I DISKUSIJA	30
A. Prikaz analize podataka dielektričnog odgovora	30
B. Prikaz analize podataka električne vodljivosti	33
1. Molarna vodljivost poliiona uz pretpostavku $f = 1$	34
2. Molarna vodljivost poliiona uz pretpostavku $f = f(c)$	34
VI. Zaključak	38
Literatura	39

I. UVOD

Polielektroliti su polimeri u vodenoj otopini. Polimeri su građeni od velikog broja istovrsnih strukturnih jedinica koje nazivamo monomerima. Monomeri mogu sadržavati ionizabilne grupe. U otopinama na određenoj temperaturi te ionizabilne grupe otpuštaju ione u otopinu. Ione otpuštene u otopinu nazivamo protuionima. Budući je polimer na početku bio neutralan otpuštanjem iona u otopinu on postaje nabijen. Nabijen polimer nazivamo poliionom. Razumijevanje elektrostatske interakcije poliiona i protuiona je ključno za razumijevanje fizike vodenih otopina polielektrolita. Uz razumijevanje elektrostatske interakcije važno je razumjeti i entropiju polielektrolitske otopine. Svojstva polielektrolita su određena upravo odnosom elektrostatske energije i energije entropije. Poglavlje TEORIJSKI UVOD se bavi prije iznesenim odnosom elektrostatske i entropijske energije polielektrolitske otopine kroz teorije koje su nastale prije manje od 50 godina, koliko se polielektroliti istražuju.

Prvi dio poglavlja UZORCI I MJERNI POSTAV govori o objektu našeg istraživanja a on je hijaluronska kiselina (HA). HA je važna zbog velikog broja funkcija koje obavlja i kod sisavaca i kod nižih organizama. HA se nalazi između stanica. Učenje se to kaže da HA sačinjava izvanstaničnu matricu. Tamo je ona zadužena za komunikaciju između stanica i za filtraciju tvari koje ulaze u stanicu. Pored tih jako važnih uloga HA u kombinaciji sa raznim proteinima obavlja još mnoštvo funkcija u izvanstaničnoj matrici. HA također nalazimo i u međuzglobnoj tekućini. Tamo ona obavlja funkcije i podmazivanja i ublažavanja sila koje djeluju na zglobove. Još jednu funkciju koju obavlja HA je davanje koži elastičnosti i volumena. Ona može obavljati upravo nabrojane funkcije zato što joj struktura ovisi o koncentraciji i valenciji prisutne soli u otopini. Kao i kod drugih bioloških uzoraka i funkcija HA je određena njenom strukturom. Stoga smo ju istraživali tehnikom pomoću koje možemo dobiti informaciju o njenoj strukturi. Ta tehnika je isto opisana u poglavlju UZORCI I MJERNI POSTAV a nazivamo ju niskofrekventna dielektrična spektroskopija (eng. *Low Frequency Dielectric Spectroscopy*).

U poglavlju OBRADA IZMJERNIH VELIČINA navodimo kako od izmjerenih veličina, koje su vodljivost i kapacitet polielektrolitske otopine, dolazimo do dielektrične funkcije poliiona.

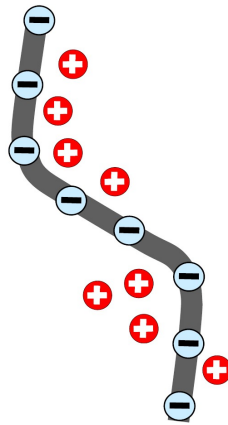
Poglavlje ANALIZA REZULTATA MJERENJA I DISKUSIJA se sastoji od dvije cjeline. Prvi dio poglavlja se bavi analizom podataka dielektričnog odgovora polielektrolitske otopine gdje dolazimo do zaključka da se u otopini događaju dva procesa relaksacije. Relaksacijski proces s karakterističnim vremenom $5 - 500 \mu s$ nazivamo niskofrekventnim (LF) relaksacijskim procesom. Relaksacijski proces s karakterističnim vremenom $10 - 1000 ns$ nazivamo visokofrekventnim (HF) relaksacijskim procesom. Ta karakteristična vremena relaksacija povezujemo s karakterističnim udaljenostima. Tako karakterističnu udaljenost LF procesa relaksacije povezujemo sa strukturom jednog lanca dok karakterističnu udaljenost HF procesa relaksacije povezujemo sa strukturom otopine, tj. sa duljinom omeđenom međusobno isprepletenim poliionima. Drugi dio poglavlja ANALIZA REZULTATA MJERENJA I DISKUSIJA govori o analizi podataka električne vodljivosti polielektrolitske otopine. Taj dio sadrži i cilj ovog diplomskog rada, a to je odrediti vodljivost poliiona.

U poglavlju ZAKLJUČAK iznijeli smo činjenice do kojih smo došli obradom izmjerenih podataka. Karakterističnu duljinu LF procesa relaksacije smo povezali sa renormaliziranom Debyevom duljinom, dok smo karakterističnu duljinu HF procesa relaksacije povezali s de Gennesovom korelacijskom duljinom. Pomoću izmjerene koncentracijske ovisnost HF relaksacijskog procesa smo došli do zaključka da je molarna vodljivost poliiona neovisna o koncentraciji. S tim zaključkom smo potvrdili predviđanja standardnih teorijskih modela.

II. TEORIJSKI UVOD

A. Poisson-Boltzmannova jednađba

Polielektrolit je polimer u vodenoj otopini. Polimer je sačinjen nizanjem identičnih strukturnih jedinica (monomera). Ako monomeri sadrže nabijene kemijske grupe u vodenim otopinama te grupe mogu disocirati ostavljajući suprotni naboj na polielektrolitu budući da je otopina neutralna. Sistem kojeg istražujemo su vodene otopine natrijeve soli hijaluronske kiseline (Na-HA). Natrijevi ioni (Na^+)¹ disocirani s natrijeve soli hijaluronske kiseline (Na-HA) u vodenu otopinu, ostavljaju negativni naboj na hijaluronskoj kiselini (HA), što je skicirano na slici 1. Slika 1 prikazuje poliion, koji je prikazan debelom linijom s negativnim nabojima po sebi, i protuione, koji su prikazani crvenim kružićima.



Slika 1: Na^+ protuioni disocirani s polimera prikazani su crvenim kružićima dok je poliion prikazan debelom linijom s negativnim nabojima po sebi.

Minimalizacija Coulombove energije zahtjeva homogenu raspodjelu obje vrste iona u otopini a oni to pokušavaju ostvariti nasumičnim termalnim gibanjem. Međutim, negativni naboji vezani na HA nisu slobodni, te ne može doći do homogene raspodjele negativnih naboja u otopini. Stoga se ni protuioni ne raspodjele homogeno u otopini nego pokušavaju zasjeniti što veći broj naboja poliiona a da pritom budu međusobno što više udaljeni. To zasjenjenje naboja poliiona protuionima ćemo opisati rješenjem linearizirane Poisson-Boltzmanove (PB) jednađbe u okviru Debye-Hückelove aproksimacije [1] ali i Manning-Oosawa (MO) teorijom kondenzacije u poglavlju IIC. Poissonova jednađba opisuje kako električni naboj ρ uzrokuje električni potencijal ϕ :

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho(r)}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} \quad (1)$$

gdje je ε_r relativna permitivnost homogenog elektrolita, a ε_0 permitivnost vakuuma. Budući da smo eksperiment izvodili na stalnoj temperaturi² polielektrolite možemo opisati kanonskim ansamblom. Stoga koncentraciju iona vrste i na položaju r , $c_i(r)[1/m^3]$, možemo opisati Boltzmannovom raspodjelom

¹ Riječi Na^+ ioni, protuioni, Na^+ protuioni su sinonimi.

² Temperatura na kojoj smo izvodili eksperiment iznosila je 25°C.

$$c_i(r) = c_i(0)e^{-ez_i\phi(r)/k_B T} \quad (2)$$

gdje smo uveli da je $c_i(0)$ koncentracija iona vrste i u dalekoj točki gdje je potencijal jednak nuli, e je elementarni naboj a z_i je valencija iona vrste i . Uvrštavanjem Boltzmannovog izraza za koncentraciju (2) u izraz za gustoću naboja dobivamo

$$\rho(r) = \sum_i ez_i c_i = e \sum_i z_i c_i(0) e^{-ez_i\phi/k_B T} \quad (3)$$

Uvrštavanjem tako izražene gustoće naboja u Poissonovu jednadžbu (1) dobijemo Poisson-Boltzmannovu (PB) jednadžbu

$$\nabla^2 \phi = -\frac{e}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} \sum_i z_i c_i(0) e^{-z_i e \phi / k_B T} \quad (4)$$

B. Debye-Hückelova aproksimacija

Za elektrostatske energije mnogo manje od toplinske energije $z_i e \phi \ll k_B T$ eksponent u PB jednadžbi (4) razvijemo u Taylorov red. U Debye-Hückelovoj (DH) aproksimaciji zadržavamo samo prva dva člana u razvoju te dobijemo lineariziranu Poisson-Boltzmannovu jednadžbu³

$$\nabla^2 \phi = \frac{e^2}{\varepsilon_0 \varepsilon_r k_B T} \sum_i z_i^2 c_i(0) \phi \quad (5)$$

Uvođenjem pokrate

$$\kappa^2 = \frac{e^2}{\varepsilon_0 \varepsilon_r k_B T} \sum_i z_i^2 c_i(0) \quad (6)$$

linearizirana PB jednadžba (5) postaje

$$\nabla^2 \phi = \kappa^2 \phi \quad (7)$$

Činjenica da pokrata κ^{-1} ima dimenziju dužine i da se linearizirana PB jednadžba (7) može zapisati bez parametara ako se ϕ zapiše u skali κ^{-1} govori nam da je κ^{-1} fundamentalna dužina. κ^{-1} označava Debyevu dužinu. Značenje joj je zasjenjenje naboja u otopini za dužine veće od κ^{-1} . Drugim riječima, naboj će otopinu oko sebe koja je udaljenija od njega za više od duljine Debyeva dužine vidjeti kao neutralnu otopinu. Uvođenjem definicije ionske jakosti otopine $I_s [1/m^3] = \frac{1}{2} \sum c_i(0) z_i^2 [1/m^3]$ možemo izraz (6) napisati u obliku

$$\kappa^2 = \frac{2e^2}{\varepsilon_0 \varepsilon_r k_B T} I_s \quad (8)$$

Sumirajmo glavnu značajku DH aproksimacije. Glavna značajka DH aproksimacije je postojanje duljine zasjenjenja κ^{-1} . Na udaljenosti većoj od κ^{-1} od sebe naboj vidi otopinu kao neutralnu.

³ Prvi član u razvoju jednak je nuli budući je otopina električki neutralna, tj. $\sum_i z_i c_i(0) = 0$.

C. Bjerrumova dužina i raspodjela protuiona oko poliiona

Poliioni koje razmatramo imaju različito ponašanje s obzirom da li su s ioni disocirali s njih ili su ioni ostali vezani na poliion. Stoga trebamo procjenu koja nam pomaže u odgovoru na to pitanje. Bjerrum je predložio udaljenost između naboja suprotnih predznaka koja osigurava asocijaciju kao udaljenost na kojoj su izjednačene elektrostatska energija privlačenja i toplinska energija

$$k_B T = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \frac{e^2}{l_B} \quad (9)$$

gdje je l_B Bjerrumova dužina, koju možemo izraziti kao:

$$l_B = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \frac{e^2}{k_B T} \quad (10)$$

Bjerrumova dužina na određenoj temperaturi ovisi samo o otapalu, tj. o ϵ_r . Za jednovalentne ione na 25°C uz konstantu permitivnosti čiste vode ($\epsilon_r = 78.65$)[2] duljina Bjerrumove dužine iznosi 0.72 nm. Što nam znači taj podatak? Ako je linearna gustoća naboja poliiona veća od jednog naboja na 0.72 nm protuioni iz otopine će se nakupljati u blizini poliiona dok mu efektivno ne smanje gustoću naboja na jedan naboj na 0.72 nm. Zbog toga definiramo parametar interakcije $u \equiv l_b/b$, gdje je b udaljenost naboja poliiona. Ako je parametar interakcije $u > 1$ protuioni se nakupljaju u blizini poliiona i efektivno mu smanjuju linearnu gustoću naboja. Tu pojavu nakupljanja protuiona u neposrednoj blizini poliiona nazivamo kondenzacijom a protuione kondenzirane.

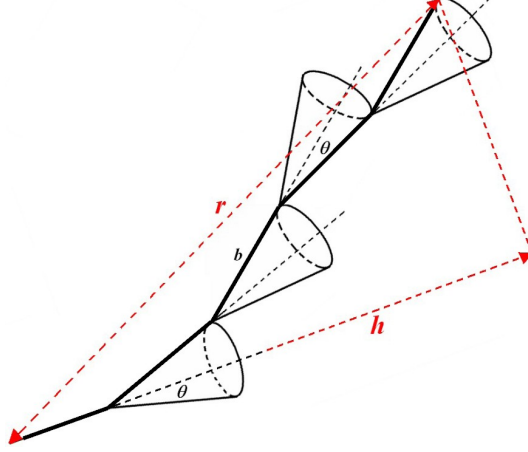
U poglavlju II B je opisana DH teorija izvedena uz pretpostavku male gustoće naboja poliiona, tj. $z_i e \phi \ll k_B T$. Sada ćemo opisati polielektrolitsku otopinu u slučaju velike gustoće naboja poliiona. Teorija koja opisuje taj slučaj je Manning-Oosawa (MO) teorija kondenzacije. MO teorija zbog velike gustoće naboja poliion ne opisuje točkastim nabojima već gustoćom naboja. Zbog velike gustoće naboja poliiona u R okolini poliiona kondenziraju se protuioni. Ti kondenzirani protuioni zasjenjuju naboj poliion te mu efektivno smanjuju gustoću naboja. Udio kondenziranih protuiona $1 - f$ od ukupnog broja protuiona je jednak

$$1 - f = 1 - \frac{1}{u} \quad (11)$$

kada je $u > 1$. To znači da će se zbog kondenzacije linearna gustoća naboja poliiona efektivno smanjiti za faktor f . Ako je $u < 1$ ne događa se pojava kondenzacije protuiona. Budući da je u našem eksperimentalnom slučaju $u < 1$ te se ne javlja pojava kondenzacije protuiona samo smo naveli glavno svojstvo MO teorije kondenzacije a čitatelj može više o tome naći u [1]. Naš istraživani sistem posjeduje samo slobodne ione budući su svi protuioni disocirali s poliiona te nemamo kondenzirane protuione.

D. Model crvolikog lanca: dužina tvrdokornosti kao mjera savitljivosti polimera

Model [3] koji dobro opisuje polimere koje mi proučavamo su predložili Kratky i Porod a oni modeliraju polimer crvolikim lancem (engl. worm-like chain). Na slici 2 je prikazan lanac s N monomera duljine b . Svaki monomer, osim prvog, se nalazi na plaštu stošca čija visina se poklapa s pravcem prethodnog monomera. Srednja vrijednost duljine projekcije cijelog lanca na pravac prvog monomera $\langle h \rangle$ jednaka je:



Slika 2: Prikaz modela savitljivosti lanca Kratky i Poroda. Lanac se sastoji od N monomera duljine b . Kut koji zatvara monomer s pravcem prethodnog monomera je θ . Spojnica krajeva lanaca je označena dužinom r dok je projekcija dužine r na smjer prvog monomera lanca označena s h .

$$\begin{aligned} \langle h \rangle &= b(x^0 + x^1 + x^3 + \dots + x^{N-1} + x^N) \\ &= b \sum_{k=0}^N x^k \end{aligned} \quad (12)$$

gdje je uvedena pokrata $x = \cos \theta$. Desna strana izraza (12) je suma geometrijskog reda koja je jednaka

$$\langle h \rangle = b(1 - x^N)/(1 - x) \quad (13)$$

Kao mjera savitljivosti polimera uvodi se duljina dužine tvrdokornosti (L_p). Dužinu tvrdokornosti definiramo kao projekciju polimera velikog broja monomera ($N \rightarrow \infty$) na pravac početnog monomera. Primijetimo da je duljina projekcije lanca, vidi izraz (13), uz uvjet velikog broja monomera jednak duljini tvrdokornosti. Stoga vrijedi

$$L_p \equiv b \frac{1 - \cos \theta^N}{1 - \cos \theta} \approx b \frac{1 - \left(1 - \frac{\theta^2}{2}\right)^N}{1 - 1 + \frac{\theta^2}{2}} \approx b \frac{1 - (0)}{\frac{\theta^2}{2}} = 2b/\theta^2 \quad (14)$$

gdje prvi znak aproksimacije označava aproksimaciju malog kuta otklona susjednih monomera ($\cos \theta \approx 1 - \frac{\theta^2}{2}$) a drugi znak aproksimacije označava aproksimaciju velikog broja monomera u lancu. U sistemu kojeg proučavamo obje te pretpostavke su zadovoljene. Dužina tvrdokornosti označava najkraću dužinu nakon koje više smjerovi monomera nisu korelirani. Drugim riječima, ako znamo usmjerenost određenog monomera najmanje udaljen monomer za koji ne znamo kako je usmjeren je udaljen za duljinu dužine tvrdokornosti. Budući da u općenitom slučaju ne znamo kut otklona susjednih monomera želimo duljinu projekcije izraziti bez kuta otklona. To postizemo uvođenjem duljine konture polimera (engl. *contour length* L_c). Duljina konture polimera jednaka je duljini polimera kada ga se opiše kao potpuno kruti štapić. Duljina konture polimera jednaka je

$$L_c = N \cdot b \quad (15)$$

Uz aproksimaciju malih kuteva otklona i velikog broja monomera te korištenjem izraza (14) i (15) možemo pisati

$$\begin{aligned} x^N &\equiv (\cos \theta)^N \approx \left(1 - \frac{\theta^2}{2}\right)^N \approx e^{-N\theta^2/2} = \\ &= e^{-(Nb)\left(\frac{\theta^2}{2b}\right)} = e^{-(Nb)/\left(\frac{2b}{\theta^2}\right)} = e^{-L_c/L_p} \end{aligned} \quad (16)$$

Uvrštavanjem dobivenog izraza (16) u izraz za duljinu projekcije lanca (13) možemo pisati

$$\begin{aligned} \langle h \rangle &= b \frac{(1 - e^{-L_c/L_p})}{1 - (1 - \theta^2/2)} \\ &= \frac{2b}{\theta^2} (1 - e^{-L_c/L_p}) \\ &= L_p (1 - e^{-L_c/L_p}) \end{aligned} \quad (17)$$

Izraz (17) potvrđuje početnu pretpostavku da za velik broj monomera N duljina projekcije lanca ($\langle h \rangle$) je jednaka dužini tvrdokornosti polimera (L_p). To vrijedi jer kada $N \rightarrow \infty$

$$\frac{L_c}{L_p} = \frac{N \cdot b}{L_p} \rightarrow \infty \quad (18)$$

Važno je zaključiti da se lanci puno duži od svoje dužine tvrdokornosti na skali većoj od dužine tvrdokornosti ponašaju kao nasumični hod u 3D prostoru, dok se lanci kraći od dužine tvrdokornosti ponašaju kao kruti štapići. Model crvolikog lanca je prvo predložen za polimere. On opisuje intrinzičnu savitljivost lanca L_0 . Budući su lanci sastavljeni od monomera intrinzična savitljivost polimera L_0 ovisi o kemijskim vezama između monomera. Međutim, kasnije je model proširen i na poliiione. No, kod poliiiona savitljivost lanca ovisi i o naboju poliiiona i o naboju otopine. Istovrsni naboji na poliiionu se zbog Couloumbove sile nastoje udaljiti što je više moguće. Tako oni ukrućuju poliiion te povećavaju duljinu tvrdokornosti za dio koji nazivamo elektrostatska duljina tvrdokornost L_{el} . Elektrostatska duljina tvrdokornosti ovisi i o zasjenjenju naboja poliiiona protuionima. Što više protuioni zasjenjuju naboje poliiiona to se oni manjom energijom odbijaju te je elektrostatski doprinos duljine tvrdokornosti manji. Ukupna duljina tvrdokornosti je naravno zbroj intrinzične duljine tvrdokornosti L_0 i elektrostatske duljine tvrdokornosti L_{el}

$$L_{dt} = L_0 + L_{el} \quad (19)$$

E. Fundamentalne skale polielektrolitskih otopina

Polielektrolitske otopine s obzirom na koncentraciju poliiiona dijelimo u dvije grupe: razrijeđene polielektrolitske otopine i polurazrijeđene polielektrolitske otopine. U razrijeđenim polielektrolitskim otopinama poliiioni su jako udaljeni jedni od drugih dok su u polurazrijeđenim polielektrolitskim otopinama poliiioni blizu jedni drugih čak toliko blizu da se međusobno preklapaju.

1. Razrijeđene polielektrolitske otopine

Zamislimo otopinu poliiona s brojem monomera N i duljinom monomera b . Radi jednostavnosti uzimamo da su naboji u otopini jednovalentni te da je svaki monomer nabijen. U razrijeđenim polielektrolitskim otopinama Debyeova dužina određuje duljinu zasjenjenja naboja. Budući da je Debyeova dužina mnogo veća od veličine poliiona naboji na poliionu se međusobno ‘vide’ bez zasjenjenja. Zbog odbojnosti istovrsnih naboja poliiona energetski je najpovoljnije da su ti naboji međusobno udaljeni što više mogu biti. To uzrokuje da su poliioni izduženi, štapićasti (engl. rod-like). Drugim riječima naboji na poliionu međudjeluju nezasjenjenim Coulombovim potencijalom, budući da je Debyeova duljina zasjenjenja mnogo veća od veličine poliiona u razrijeđenoj polielektrolitskoj otopini. To znači da je poliion izdužen i da je duljina poliiona zbog nezasjenjene interakcije jednaka duljini konture poliiona [4].

$$L_c = Nb \quad (20)$$

2. Granična koncentracija između razrijeđenih i polurazrijeđenih polielektrolitskih otopina

U razrijeđenim polielektrolitskim otopinama je udaljenost između poliiona mnogo veća od duljine poliiona. Međutim kako povećavamo koncentraciju polielektrolita udaljenost između poliiona se sve više smanjuje. Daljnjim povećanjem koncentracije udaljenost između poliiona se izjednači s duljinom konture poliiona. Tu koncentraciju nazivamo graničnom koncentracijom i označavamo ju s c^* . Graničnu koncentraciju kvantificiramo tako da zapišemo da se u volumenu koji je jednak kubu duljine konture poliiona nalazi jedan poliion s brojem monomera N , tj.

$$c^* \propto \frac{Nm_m/A}{L_c^3} = \frac{Nm_m/A}{(Nb)^3} = \frac{m_m/A}{b^3 N^2} \quad (21)$$

gdje je m_m molarna masa monomera, a A je Avogadrov broj. U drugom dijelu izraza za graničnu koncentraciju (21) korišten je izraz za duljinu konture poliiona u razrijeđenoj otopini (20).

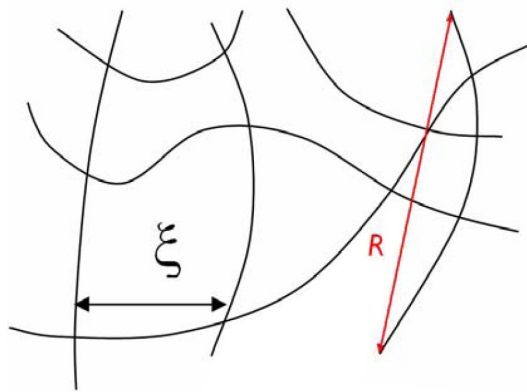
3. Polurazrijeđene polielektrolitske otopine

Polurazrijeđene polielektrolitske otopine definiramo kao otopine koncentracije poliiona veće od granične. Eksperiment koji je tema ovog diplomskog rada je rađen s polurazrijeđenim polielektrolitskim otopinama. Stoga si možemo postaviti pitanje što smo mi u eksperimentu mjerili? S time je povezano i pitanje što uzrokuje zasjenjenje u polurazrijeđenoj polielektrolitskoj otopini? Stoga pogledajmo sliku 3 gdje je označena udaljenost omeđena međusobno isprepletenim dijelovima poliiona ξ . Tu udaljenost nazivamo korelacijskom duljinom. Za danu koncentraciju poliiona $c(\gg c^*)$, slijedeći de Gennesov [4] argument, pretpostavimo da duljina ξ ne ovisi o broju monomera poliiona N .

Graničnu koncentraciju smo definirali kao koncentraciju na kojoj je korelacijska duljina jednaka duljini konture poliiona. Zbog toga na graničnoj koncentraciji vrijedi

$$\xi(c^*) = L_c \quad (22)$$

Povećanjem koncentracije poliiona smanjuje se korelacijska duljina. Prirodno je pretpostaviti da korelacijska duljina ovisi o koncentraciji po zakonu potencije za koncentracije veće od c^*

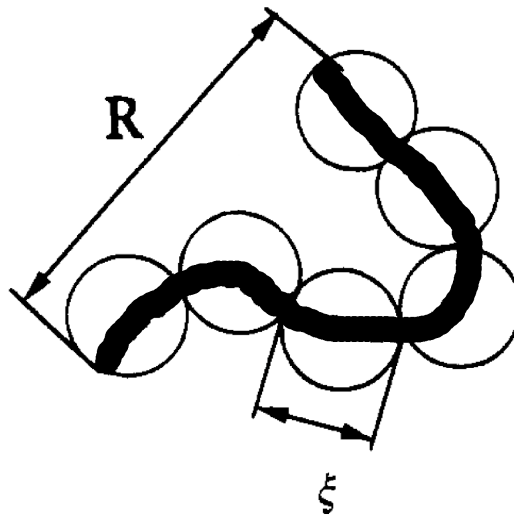


Slika 3: Na slici je označena korelacijska duljina ξ koja opisuje udaljenost omeđenu međusobno isprepletenim dijelovima poliiona te duljina krajeva poliiona R u polurazrijeđenoj otopini.

$$\xi = L_c(c/c^*)^m, \quad c > c^* \quad (23)$$

Pomoću prije iznesenog uvjeta o neovisnosti korelacijske duljine o broju monomera poliiona određujemo eksponent m iz izraza (23). Iz izraza granične koncentracije (21) vidimo da je $c^* \sim N^{-2}$ a iz izraza duljine konture poliiona u razrijeđenoj polielektrolitskoj otopini (20) vidimo da je $L_c \sim N$. Stoga nalazimo da je $m = -1/2$ te korelacijska duljina iznosi

$$\begin{aligned} \xi &= L_c(c/c^*)^{-1/2} \\ \xi &\propto (bc)^{-1/2} \end{aligned} \quad (24)$$



Slika 4: Srednja duljina Gaussovog lanca u polurazrijeđenoj otopini označena je s R . Naglasak je stavljen na činjenicu da je poliion u polurazrijeđenoj otopini nasumičan hod segmenata za udaljenosti veće od korelacijske dužine ξ .

Uočimo prvo, što i mora biti, uvrštavanjem granične koncentracije u izraz (23) da je korelacijska duljina na koncentraciji c^* jednaka duljini konture poliiona. Korelacijska duljina ovisi o koncentraciji isto kao i Debyeova dužina zasjenjenja. No ta slučajnost je istinita samo u 3 dimenzije. Sada ćemo odgovoriti na prije postavljena pitanja. Što mi u eksperimentu mjerimo? Što unosi zasjenjenje u otopinu? U eksperimentu mjerimo korelacijsku duljinu o kojoj će biti više riječi kasnije. Zasjenjenje u sistem unose sami poliioni svojim ispreplitanjem. Za duljine veće od duljine zasjenjenja, koja je jednaka korelacijskoj duljini, poliion se ponaša kao nasumični hod. To znači da ga možemo opisati Gaussovom lancem. Prisjetimo se da je duljina krajeva Gaussovog lanca jednaka umnošku duljine segmenta lanca i kvadratnom korijenu broja segmenata tog lanca. Duljina segmenta Gaussovog lanca je ξ a broj segmenata lanca jednak je (N/g) gdje je g broj monomera u volumenu ξ^3 koji je na slici 4 označen kružnicom. Broj monomera u volumenu ξ^3 se računa pod pretpostavkom homogene raspodjele monomera u prostoru i iznosi

$$g = c\xi^3 \quad (25)$$

Sada ćemo to primijeniti na naš slučaj te odrediti srednju duljinu Gaussovog lanca R

$$R^2 = \frac{N}{g}\xi^2 = \frac{N}{c\xi^3}\xi^2 \quad (26)$$

Uvrštavanjem druge jednakosti izraza (24) u izraz (26) dobivamo

$$R^2 \propto \frac{N}{c}(cb)^{1/2} = Nb^{1/2}c^{-1/2} \quad (27)$$

Izraz (27) nakon korjenovanja i sređivanja postaje

$$R \propto Nbc^{-1/4} \cdot \frac{1}{N^{1/2}b^{3/4}} \quad (28)$$

Budući je $c^{*1/4} \propto 1/(N^{1/2}b^{3/4})$ konačan izraz srednje duljine Gaussovog lanca je

$$R \propto L_c \left(\frac{c^*}{c} \right)^{1/4} \quad (29)$$

Sumirajmo najvažnije stvari ovog poglavlja. Fundamentalne skale polielektrolitske otopine za koncentracije manje od granične su duljina konture poliiona L_c i međusobna udaljenost poliiona. O duljini konture poliiona u razrijeđenoj otopini je bilo riječi u poglavlju II E 1, te se više nećemo ponavljati. Pažnju ćemo usmjeriti na međusobnu udaljenost poliiona. Međusobna udaljenost poliiona u razrijeđenoj otopini proizlazi iz geometrijskog razmatranja. Budući da poliioni zbog minimalizacije slobodne energije žele biti udaljeniji što više u jednoj dimenziji je međusobna udaljenost poliiona obrnuto proporcionalna koncentraciji poliiona. U dvije dimenzije poliioni imaju za razmještanje još jednu dimenziju. Zbog toga je međusobna udaljenost poliiona u dvije dimenzije proporcionalna s $c^{-1/2}$. Slijedeći isti argument u tri dimenzije, što je i naš slučaj, proizlazi da je međusobna udaljenost poliiona proporcionalna s $c^{-1/3}$. U polurazrijeđenim otopinama su fundamentalne skale korelacijska duljina ξ koja opisuje svojstvo grupe lanaca i duljina krajeva Gaussovog lanca R koja opisuje svojstvo pojedinog lanca. Korelacijska duljina ξ ovisi o koncentraciji kao $\xi \propto c^{-1/2}$ dok duljina krajeva Gaussovog lanca ovisio o koncentraciji kao $R \propto c^{-1/4}$.

F. Specifična vodljivost polielektrolita

Specifičnu vodljivost proizašlu iz gibanja naboja kao odgovor na vanjsko istosmjerno električno polje možemo napisati kao produkt tri člana; valencije naboja z , molarne koncentracije naboja c [$mmol/L \equiv mM$] i molarne vodljivosti Λ [Scm^2/mol]

$$\begin{aligned} \sigma \left[\frac{\mu S}{cm} \right] &= \sum_i |z_i| c_i [mM] \Lambda_i [Scm^2/mol] \\ &= z_1 c_1 \Lambda_1 + N c_p \Lambda_p \end{aligned} \tag{30}$$

gdje je prvi dio izraza općenita formula u kojoj sumiramo po svim vrstama naboja i . Na drugi dio jednakosti primijenili smo naš konkretni slučaj gdje imamo protuione indeksa 1 i poliion indeksa p . N u izrazu (30) označava broj monomera poliiona. Budući je naboj poliiona jednak umnošku broja monomera i elementarnog naboja $Q_p = Ne$ valencija poliiona je $z_p = N$. Nadalje, teorije [5, 6] pretpostavljaju da samo slobodni ioni vode pa ćemo i mi tu pretpostavku uključiti. U tu svrhu uvodimo udio slobodnih protuiona f . Od ukupnog broja protuiona broj kondenziranih je $1 - f$, a to znači da se broj slobodnih protuiona smanjio za faktor f . To znači da se koncentracija slobodnih protuiona smanjila za faktor f , tj. $c_1 \rightarrow c_1 \cdot f$, a što povlači da se efektivni naboj poliiona također smanjio f puta, tj. $N \rightarrow N \cdot f$. Veza molarnih koncentracija protuiona i poliiona je $c_1 = N \cdot c_p$. Budući je sa svakog monomera jedan ion disocirao u otopinu molarna koncentracija protuiona je jednaka molarnoj koncentraciji monomera, tj. $c_1 = c$. Budući da u našem eksperimentu imamo jednovalentne protuione $z_1 = 1$. Uvrštavanjem navedenih izraza u izraz (30) dobivamo

$$\sigma = c_1 f (\Lambda_1 + \Lambda_p) \tag{31}$$

1. Električna vodljivost protuiona

Specifičnoj vodljivosti u jednadžbi (31) doprinose dva člana. Prvo ćemo se koncentrirati na član molarne vodljivosti protuiona Λ_1 . Uslijed interakcije protuiona i poliiona te obrnuto poliiona i protuiona očekuje se da će vodljivost protuiona biti manja nego što bi bila da u otopini nema poliiona. Taj efekt zovemo efektom asimetričnog polja. Kako je Manning pokazao [7, 8] molarnu vodljivost protuiona u tom slučaju možemo zapisati na način

$$\Lambda_1 = \Lambda_0 \frac{D_1}{D_0} - \Lambda_p \left(1 - \frac{D_1}{D_0} \right) \tag{32}$$

gdje je Λ_0 molarna vodljivost protuiona u čistoj ionskoj otopini a D_1/D_0 je omjer difuzijske konstante polielektrolitskih protuiona i konstante difuzije protuiona u čistoj ionskoj otopini. Teorijski i eksperimentalno je pokazano da se konstanta difuzije protuiona polielektrolita može jako dobro aproksimirati konstantom difuzije iona u ionskoj otopini [5, 11]. Tada vrijedi da je $D_1 \sim D_0$ a to povlači da je $\Lambda_1 \sim \Lambda_0$. To znači da za odrediti doprinos protuiona ukupnoj vodljivosti trebamo samo znati kolika je molarna vodljivost iona u čistoj ionskoj otopini. Taj podatak se nalazi u tablicama, npr. u [2] $\Lambda_0(Na^+) = 50 Scm^2mol^{-1}$. Sada smo odredili molarnu vodljivost protuiona. Za odrediti ukupnu specifičnu vodljivost otopine preostalo nam je još odrediti molarnu vodljivost poliiona.

2. Električna vodljivost poliiona

Kod gibanja nabijenog tijela, u našem slučaju poliiona naboja $Q_p = fNe$, pod utjecajem električnog polja E u otopini javljaju se dvije sile. To su električna sila

$$F_E = Q_p E \quad (33)$$

i viskozna sila koja predstavlja otpor gibanju poliiona kroz otopinu

$$F_v = f_{Etot} v \quad (34)$$

$f_{Etot}[Ns/m]$ je elektroforetski koeficijent gibanja poliiona kroz otopinu a v je njegova brzina gibanja kroz otopinu. Rješavanjem jednadžbe (34) za brzinu gibanja poliiona kroz otopinu dobijemo izraz

$$v = \frac{F_v}{f_{Etot}} \quad (35)$$

Ako se tijelo giba jednoliko onda su te sile po iznosu jednake $F_E = F_v$ a po smjeru suprotne. Stoga u izrazu (35) na mjesto viskozne sile uvrštavamo izraz za električnu silu (33) te dobijemo

$$v = \frac{Q_p E}{f_{Etot}} \quad (36)$$

Iz ovog izraza proizlazi definicija pokretljivosti kao brzine gibanja po jedinici jakosti električnog polja

$$\mu_p \left[\frac{cm^2}{Vs} \right] = \frac{Q_p [C]}{f_{Etot} \left[\frac{Js}{cm^2} \right]} \quad (37)$$

Veza molarne vodljivosti i elektroforetske pokretljivosti⁴ $\mu[cm^2/Vs]$ je

$$\Lambda_p \left[\frac{Scm^2}{mol} \right] \equiv F \left[\frac{As}{mol} \right] \mu_p \left[\frac{cm^2}{Vs} \right] \quad (38)$$

, gdje je Faradayeva konstanta jednaka $F = 96485 As/mol$. Do sada smo uveli i difuzijsku konstantu i pokretljivost. Sada ćemo se prisjetiti Einsteinove formule koja povezuje difuzijsku konstantu i pokretljivost

$$\mu_p = \frac{Q_p}{k_B T} D \quad (39)$$

Uvrštavanjem izraza (39) u izraz (38) te koristeći $Q_p = fNe$ dobijemo

⁴ U daljnjem tekstu će se ispuštati riječ elektroforetska ali misliti će se na elektroforetsku pokretljivost.

$$\Lambda_p = F \frac{Q_p}{k_B T} D = F \frac{f N e}{k_B T} D \quad (40)$$

U analizi podataka električne vodljivosti zanimat će nas koncentracijska ovisnost električne vodljivosti poliona. Zato ćemo razmotriti koji članovi izraza (40) mogu biti ovisni o koncentraciji monomera. Koncentracijski ovisni članovi mogu biti f i D . O f je bilo riječi u poglavlju II C. Stoga ćemo sada pomoću dva modela dinamike polimera, Rouseovog i Zimmovog, odrediti ovisnost veličine D o koncentraciji. Više informacija o Rouseovom i Zimmovom modelu se može naći u [9] a ovdje ćemo iznijeti samo dijelove tih modela koji nam trebaju za model kojeg su iznijeli Dobrynjin, Colby i Rubenstein u [10]. Rouse modelira polimer kao niz od N kuglica. Kuglice reprezentiraju monomere. Monomeri su povezani oprugama duljine b . Monomeri međudjeluju samo preko opruga te je svaki monomer okarakteriziran koeficijentom trenja ζ između njega i otapala. Zbog toga je koeficijent trenja polimera jednak $\zeta_R = N\zeta$. Od Rouseovog modela mi ćemo iskoristiti slijedeću činjenicu. Vrijeme koje je polimeru potrebno da difundira udaljenost reda veličine svoje veličine jednako je

$$\tau_R \approx \tau_0 N^2 \quad (41)$$

gdje je τ_0 vrijeme potrebno da monomer difundira udaljenost reda veličine svoje veličine. Nasuprot Rouseovom modelu u Zimmovu modelu važnu ulogu igra hidrodinamička sila. Ona je odgovorna za otpor pri gibanju polimera kroz otapalo. Naime, polimer pri gibanju kroz otapalo za sobom vuče i dio otapala. To međudjelovanje se naziva hidrodinamičko međudjelovanje. Hidrodinamička sila je dugodosežna i opada obrnuto proporcionalno s udaljenošću od monomera. Činjenicu Zimmovog modela koju ćemo koristiti je vrijeme potrebno da polimer difundira duljinu reda veličine svoje veličine R

$$\tau_z \approx \frac{\eta_s}{k_B T} R^3 \quad (42)$$

gdje je η_s viskoznost otapala, a R je srednja duljina Gaussovog lanca. Veza trenja polimera srednje Gaussove duljine lanca R i viskoznosti u Zimmovu modelu je Stokesova $\zeta_Z \approx \eta_s R$. Zimmov model se pokazao i kao dobar opis dinamike poliona razrijeđenog polielektrolita budući je u razrijeđenim polielektrolitima hidrodinamičko međudjelovanje jako. Budući smo eksperiment radili s polurazrijeđenim polielektrolitom sada iznosimo model opisa dinamike polurazrijeđenog polielektrolita. Kada se lanci preklapaju, hidrodinamičko međudjelovanje postaje zasjenjeno na duljinama većim od korelacijske duljine ξ . Unutar korelacijskog volumena, gibanje različitih monomera je jako hidrodinamički vezano upravo kao i u razrijeđenim polielektrolitima. Zbog toga je vrijeme potrebno za difuziju korelacijskog volumena za udaljenost veličine korelacijske duljine Zimmovo vrijeme

$$\tau_\xi \approx \frac{\eta_s}{k_B T} \xi^3 \quad (43)$$

Svaki polion se sastoji od N/g korelacijskih volumena. Hidrodinamičko međudjelovanje korelacijskih volumena je zasjenjeno i zato se njihovo gibanje daje opisati Rouseovim modelom.

$$\tau_R \approx \tau_\xi (N/g)^2 \quad (44)$$

Veza vremena difuzije poliona τ_R i pomaka poliona od početnog položaja R je dana Einstein-Smoluchowski jednadžbom

$$R \propto \sqrt{\tau_R D} \quad (45)$$

Uvrštavanjem izraza (44) u Einstein-Smoluchowski jednadžbom dobijemo

$$D \approx \frac{R^2}{\tau_\xi (N/g)^2} \quad (46)$$

Uvrštavanjem izraza (26), izraza (43) i izraz (25) u izraz (46) dobijemo

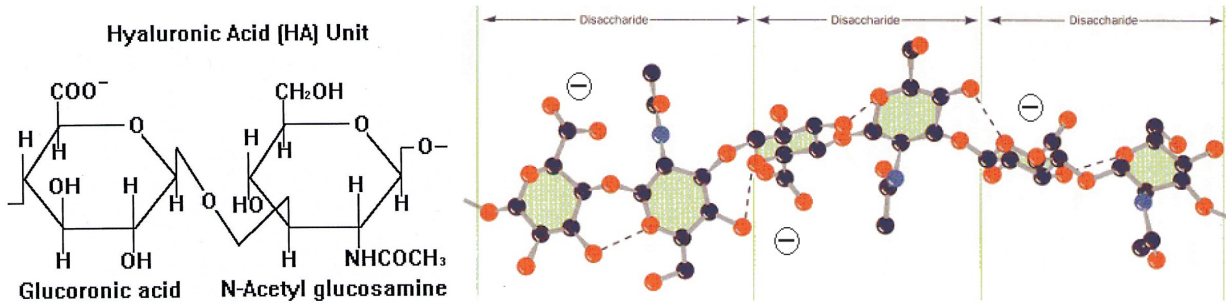
$$\begin{aligned} D &\approx \frac{\frac{N}{c\xi}}{\frac{\eta_s \xi^3}{k_B T} \frac{N^2}{c^2 \xi^6}} \\ &= \frac{k_B T}{\eta_s} \frac{c \xi^2}{N} \end{aligned} \quad (47)$$

Primijetimo da ako korelacijska duljina ovisi o koncentraciji monomera na način $\xi \propto c^{-1/2}$, vidi izraz (24), onda difuzijska konstanta ne ovisi o koncentraciji monomera. Tada je ovisnost difuzijske konstante obrnuto proporcionalna broju monomera koji sačinjavaju polion.

III. UZORCI I MJERNI POSTAV

A. Hijaluronska kiselina

Hijaluronska kiselina (HA), također znana kao hijaluronan i hijaluronat, je glikoaminoglikan koji je sačinjen nizanjem velikog broja identičnih disaharida. Kako je već bilo rečeno, identične strukturne jedinice koje sačinjavaju polimer zovemo monomerima. Monomer HA je disaharid sačinjen od dva derivata glukoze; od D-glukorne kiseline i N-acetil-D-glukozamina[13, 14] povezanih $\beta(1 \rightarrow 3)$ jednostrukom kovalentnom vezom⁵. Na slici 5 je projekcijski i kalotni prikaz hijaluronske kiseline.



Slika 5: Projekcijski prikaz prikazuje monomer hijaluronske kiseline. Kalotni prikaz prikazuje segment hijaluronske kiseline veličine 3 monomera. Na oba prikaza je vidljiv razlog velike fleksibilnosti hijaluronske kiseline. Naime i unutarmonomerska i međumonomerska kemijska veza među saharidima je jednostruka kovalentna. Na kalotnom prikazu je crtkano naznačena i vodikova veza koja ne doprinosi stabilizaciji hijaluronske kiseline. Na kalotnom prikazu boje predstavljaju slijedeće atoma: crno-ugljik, crveno-kisik, plavo-dušik. Na oba prikaza je karboksilna grupa hijaluronske kiseline negativno nabijena što prikazuje znak -.

Hijaluronska kiselina nije tipičan glikoaminoglikan pošto ne sadrži sulfatni šećer, nije vezana kovalentnom vezom na neki protein i može biti dugačka. Važno je uočiti činjenicu da svaki monomer sadrži jednu negativno nabijenu karboksilnu grupu, tj. da je molarna koncentracija monomera HA jednaka molarnoj koncentraciji negativno nabijene karboksilne grupe. U eksperimentima smo rabili HA kojoj se na negativno nabijenoj karboksilnoj grupi vezao ion Na^+ . Takva molekula naziva se Natrijeva sol hijaluronske kiseline $Na - HA$. Zbog prije iznesene činjenice molarna koncentracija Na^+ i molarna koncentracija monomera HA je jednaka. U radu se susrećemo sa različito definiranim koncentracijama (u teorijskim člancima koristi se brojčana koncentracija $c[1/m^3]$, kod pripreme uzoraka koristimo masenu koncentraciju $c_{HA}[mg/mL]$, dok kod obrade podataka i rasprave koristimo molarnu koncentraciju $c[mol/L \equiv M]$). Veza $c[mol/L \equiv M]$ i $c_{HA}[mg/mL]$ je slijedeća

$$c \left[\frac{mg}{mL} \right] / m_m = c \left[\frac{mg}{mL} \right] / 401 \left[\frac{g}{mol} \right] = c[M]$$

$$c[mM] \approx c \left[\frac{mg}{mL} \right] \cdot 2.5 \frac{\mu mol}{mg}$$
(48)

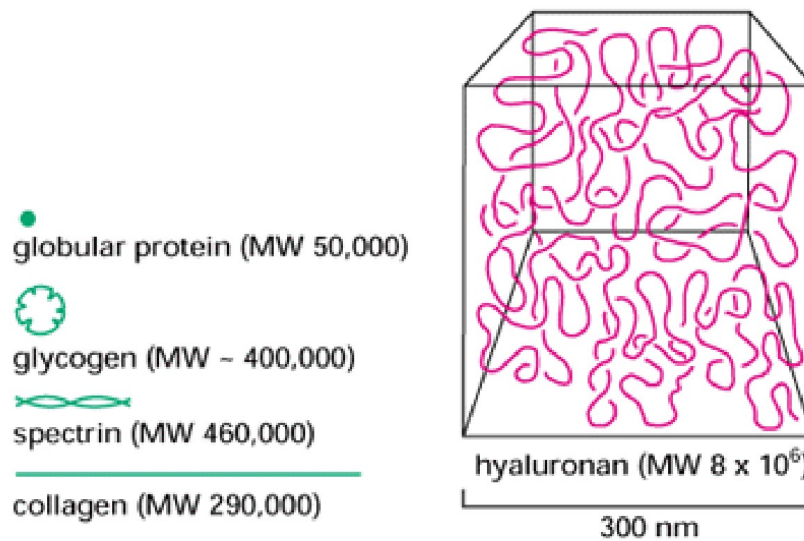
gdje je m_m molarna masa monomera $Na - HA$ ⁶ koja je jednaka

⁵ Kemijski naziv monomera hijaluronske kiseline je (β -glukorona kiselina-[1 \rightarrow 3]- β -N-acetilglukozamin)

⁶ Ako se vrsta i količina atoma monomera $Na - HA$ određuje sa slike 5 treba imati na umu da te slike prikazuju HA^- te stoga da se odrede sastavnice $Na - HA$ treba dodati ion Na^+ .

$$m_m(\text{Na} - \text{HA}) = 14A_r(\text{C}) + 11A_r(\text{O}) + 20A_r(\text{H}) + 1A_r(\text{N}) + 1A_r(\text{Na}) \approx 401\text{g/mol} \quad (49)$$

Duljina monomera HA je $\approx 1 \text{ nm}$. Duljina dužine intrinzične tvrdokornosti, o kojoj smo govorili u poglavlju IID, za HA iznosi 9 nm [15]. HA ima malu dužinu tvrdokornosti s obzirom na većinu poliiona, npr. duljina tvrdokornosti dvostruke DNA uzvojnice je 50 nm . Ta činjenica se može izreći i na način da kažemo da je HA jako fleksibilna u odnosu na druge poliione. Za malu dužinu tvrdokornosti HA odgovorne su unutarmonomerska i međumonomerska poveznica koju čini jednostruka kovalentna veza. Hijaluronsku kiselinu nalazimo u različitoj količini u svim tkivima sisavaca a posebno velike količine HA nalazimo u ranim embrijima. Ona je važna kao ispun prostora tijekom razvoja embrija. S time je povezana činjenica da u odnosu na druge biološke molekule HA ima veliko izuzeće volumena s obzirom na svoju masu. To je prikazano na slici 6. U izuzet volumen se računa volumen u koji ne mogu doći druge makromolekule.



Slika 6: Približne dimenzije koje zauzimaju različite makromolekule u odnosu na svoju masu. Navedeni su primjeri za protein, glikogen i hidratiziranu molekulu hijaluronske kiseline[14].

HA je sastojak međuzglobne tekućine te se smatra da tamo ublažava sile pritiska što je opet povezano sa njenim svojstvom da u vodenim otopinama zauzme veliki volumen u odnosu na svoju masu. To isto svojstvo dolazi do izražaja i u koži u kojoj je za elastičnost i volumen odgovorna HA. Ona se također nalazi u velikim količinama tijekom zacjeljivanja rana, što se povezuje sa činjenicom da sudjeluje u izgradnji vanstanične matrice. U vanstaničnoj matrici jedna od uloga HA je filtracija tvari koje ulaze u stanicu. Preko vanstanične matrice koju čini HA se odvija i komunikacija među stanicama. Mnoge druge funkcije HA su ovisne o specifičnoj interakciji HA sa ostalim molekulama, uključujući proteine i proteoglikane. Neke od tih molekula koje se vežu na HA su sastojci vanstanične matrice, dok su drugi nezamjenjivi dijelovi površine stanice.

B. Uzorci hijaluronske kiseline

Na-HA na kojoj smo vršili eksperimente ekstrahirana je iz *Streptococcus equi*. Uzorci dolaze u formi granula, proizvođača BioChemika Fluka iz kataloga Sigma-Aldrich, kataloški broj 53747. Deklarirana je srednja molarna masa granule Na-HA 1630 kg/mol . Budući je molarna masa

monomera $m_m(Na - HA) = 401 \text{ g/mol}$ to znači da su $Na - HA$ sačinjene od prosječno 4000 monomera. Protokol po kojem smo radili uzorke u rasponu koncentracija $0.01 \text{ mg/mL} \leq c_{HA} \leq 6 \text{ mg/mL}$ je slijedeći. Granule Na-HA otopimo u čistoj vodi⁷ te tu primarnu otopinu ostavimo 24 sata na 4°C. Direktno iz primarne otopine izrade se redom otopine raspona koncentracija $6 \text{ mg/mL} \geq c_{HA} \geq 0.01 \text{ mg/mL}$ ⁸. Graničnu koncentraciju HA u vodenoj otopini računamo pomoću izraz (21)

$$\begin{aligned}
 c_{HA}^* &= \frac{m_m/A}{b^3 N^2} = \\
 &= \frac{401[\text{g/mol}]/6.022 \cdot 10^{23}[\text{mol}^{-1}]}{(10^{-9})^3[\text{m}^3]N^2} = \\
 &= \frac{665.8}{N^2} \left[\frac{\text{g}}{\text{dm}^3} \right] = \frac{665.8}{800^2} \left[\frac{\text{g}}{\text{dm}^3} \right] = \\
 &= 0.001 \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]
 \end{aligned} \tag{50}$$

gdje je m_m molarna masa monomera HA, a Avogadrov broj je jednak $A = 6.022 \cdot 10^{23}[\text{mol}^{-1}]$. Granična koncentracija je računata za najkraće poliiione u polielektrolitskoj otopini koji su prema našim saznanjima sačinjeni od 800 monomera. Graničnu koncentraciju smo računali pomoću najkraćih poliiiona zato da budemo sigurni da eksperimente vršimo u polurazrijeđenoj otopini. Naime granična koncentracija ovisi o broju monomera poliiiona na način $c_{HA}^* \propto 1/N^2$. Stoga je granična koncentracija najveća za najkraće poliiione. Polielektrolitske otopine smo radili još veće koncentracije. Stoga smo osigurali da su polielektrolitske otopine polurazrijeđene otopine.

C. Mjerni postav

Niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom dobivaju se podatci o električnoj vodljivosti i o kompleksnoj dielektričnoj funkciji otopine. Mjerni postav pomoću kojeg dobivamo te podatke sastoji se od mjerne komore u koju stavljamo uzorak, mjerača admitancije Agilent 4294A i temperaturnog kontrolera.

1. Komora za dielektrična mjerenja

Komora za dielektrična mjerenja se sastoji od dvodijelnog pleksiglasnog kućišta u koje je utisnuto čelično tijelo. Unutar čeličnog tijela na podlozi od stakla⁹ nalaze se platinske elektrode. Kad su obje polovice kućišta zatvorene platinske elektrode formiraju kondenzator unutar kojeg se nalazi uzorak. Po obodu s unutarnje strane tijela nalazi se brtva čija je svrha smanjenje hlapljenja otopine. Unutar tijela nalazi se još i Pt-100 termometar. Koaksijalnim vodičem povezane su platinske elektrode s BNC konektorom. Vodičem je povezan i Pt-100 termometar s konektorom na kućištu¹⁰. Funkcija

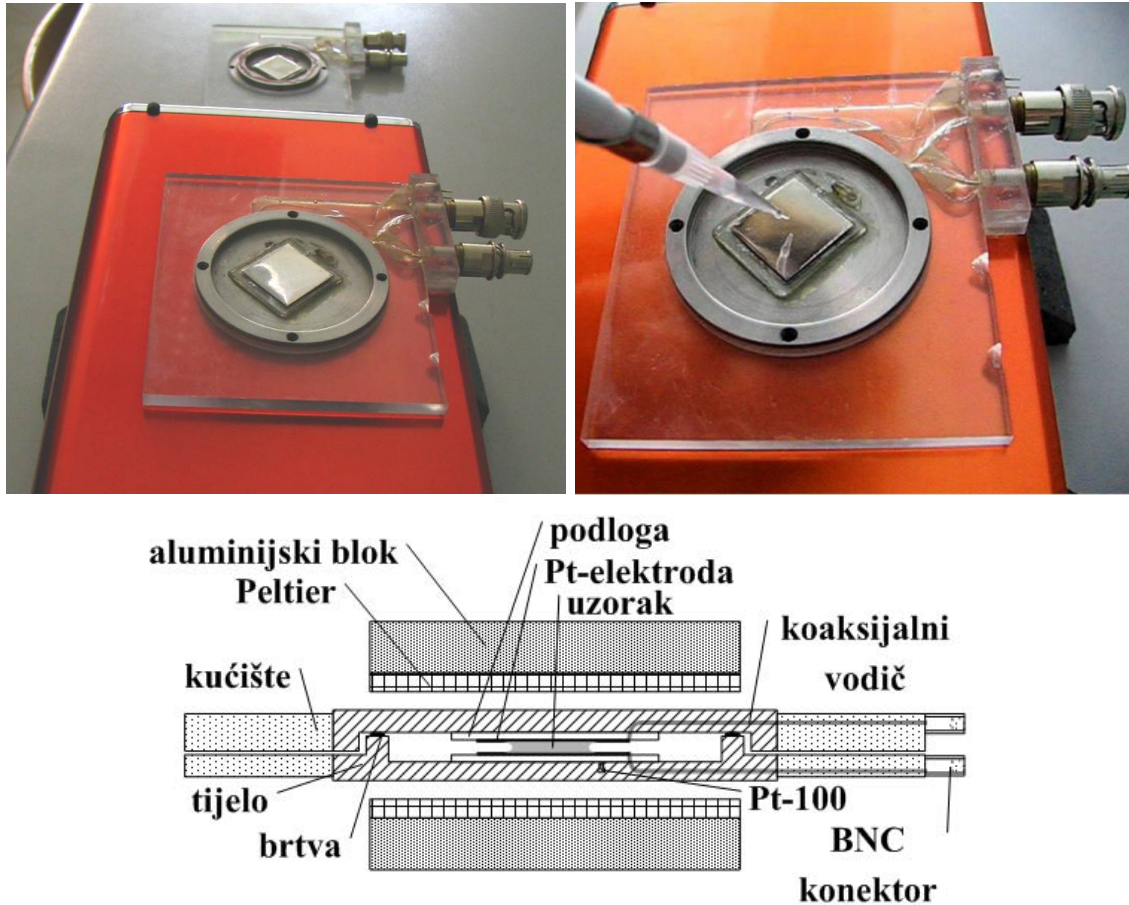
⁷ U pripravi svih uzoraka vodenih otopina koristili smo Milique vodu proizvođača Millipore. Tu vodu nazivamo čistom vodom.

⁸ Popis koncentracija izrađenih otopina, sve u mjernim jedinicama mg/mL je slijedeći: 0.01, 0.0125, 0.016, 0.02, 0.025, 0.032, 0.04, 0.05, 0.063, 0.08, 0.1, 0.125, 0.16, 0.2, 0.25, 0.32, 0.4, 0.5, 0.63, 0.8, 1, 1.25, 1.6, 2, 2.5, 3.2, 4, 6.

⁹ Svrha podloge je da električki izolira platinske elektrode od čeličnog kućišta.

¹⁰ Na slici 7 se konektor termometra vidi poslije dva BNC konektora.

čeličnog tijela je smanjenje hlapljenja otopine, eliminacija utjecaja električnih smetnji iz okoline na otopinu¹¹, te smanjenje temperaturnih oscilacija zbog velike mase kućišta.



Slika 7: Slika redom prikazuje: rasklopljenu komoru na kojoj se u pozadini vidi druga polovica tijela, stavljanje otopine u komoru i shematski prikaz presjeka sklopljene komore s Peltier elementima.

Raspon volumena mjerene otopine može biti u intervalu $50 - 200 \mu L$, no mi radimo s uzorcima veličine $100 \mu L$. Komora omogućuje mjerenje kompleksne vodljivosti s ponovljivošću od 0.5% ¹² u rasponu specifične vodljivosti od $1.5 - 2000 \mu S/cm$ [16]. Konstanta komore određena je mjerenjem na frekvenciji $100 kHz$ specifične vodljivost standardnih uzoraka KCl-a molarne koncentracije $10 mM$ (kataloški broj 51300138) i $0.5 mM$ (kataloški broj 51302153) kupljenih od tvrtke Mettler-Toledo. Dodatna provjera bila je mjerenje kapaciteta komore kada nema otopine i kada je uzorak $100 \mu L$ čiste vode. Iz razlike kapaciteta i poznate vrijednosti permitivnosti čiste vode $\epsilon_{H_2O} = 78.65$ dobiven je rezultat za konstantu komore koji odgovara gornjoj vrijednosti dobivenoj mjerenjem specifične vodljivosti standardnih uzoraka. Konstanta komore iznosi $l/S = 0.1042 \pm 0.0006 cm^{-1}$ gdje je efektivna kontaktna površina elektrode i otopine volumena $100 \mu L$ jednaka $S = 0.98 cm^2$, a udaljenost platinskih elektroda iznosi $l = 0.1021 \pm 0.0001 cm$. Više o mjernom postavu se može naći u [17].

¹¹ Tijelo je u biti Faradayev kavez.

¹² 0.1% otpada na netočnost u razmaku elektrodi koja iznosi do $1 \mu m$ na razmaku elektrodi od $1 mm$, netočnost pipetiranja iznosi 0.2% te netočnost u položaju otopine na elektrodi utječe na mjerene rezultate do 0.2% .

2. Mjerač admitancije Agilent 4294A

Agilent 4294A¹³ je korišten za određivanje kompleksne admitancije vodenih otopina HA. Mjerno područje Agilenta je interval frekvencija $40 \text{ Hz} \leq \nu \leq 110 \text{ MHz}$. Da bi skratili vrijeme mjerenja a budući nam područje ispod 100 Hz nije bitno mi mjerenja vršimo u intervalu frekvencija $100 \text{ Hz} \leq \nu \leq 110 \text{ MHz}$. U tom intervalu frekvencija Agilent napravi 201 mjerenje, tj. 33 mjerenja po dekadi frekvencije a mjerne veličine su vodljivost $G_{exp}(\omega = 2\pi\nu)$ i kapacitet $C_{exp}(\omega)$ ¹⁴. Prilikom mjerenja admitancije amplituda pobude vodenih otopina je iznosila 50 mV . Zašto je odabrana upravo ta amplituda pobude? To je najmanja amplituda pobude s kojom razlikujemo izmjerene podatke od šuma. Isto tako s tom amplitudom pobude je odgovor sistema linearan. To znamo jer je odgovor sistema bio isti u rasponu amplituda pobude od $20 - 500 \text{ mV}$. Budući je udaljenost elektroda približno 1 mm jakost primijenjenog električnog polja za amplitudu od 50 mV je 50 V/m . Pri mjerenju Agilent je radio u režimu postavke $BW=5$. Ta postavka znači da se nakon relativno dugog čekanja da se ustali sinusna modulacija vrši mjerenje na toj frekvenciji. Prednost takvog mjerenja je manji šum iako ono traje duže nego mjerenje s postavkom $BW=1$. Tri uzastopna prolaska kroz cijeli raspon frekvencija su rađena da bi se usrednjio eventualni utjecaj varijacije temperature otopine na izmjerene veličine. Cijela opisana procedura mjerenja iznosi 2 minute.

3. Temperaturna stabilnost

Za održavanje konstantne temperature otopine unutar komore za dielektrična mjerenja služe nam Peltierovi elementi koje stavljamo s vanjske strane kućišta, Pt-100 termometar koji se nalazi unutar kućišta te mjeri temperaturu otopine i temperaturni kontroler QC-PC-OS-21 G proizvođača Kuepper GmbH. Nabrojani uređaji rade na slijedeći način. Peltierov element se nalazi na aluminijskom bloku¹⁵ te se takav sklop prilikom vršenja mjerenja stavlja s gornje i donje strane tijela¹⁶. Peltierov element je poluvodički element kojem smjer toka struje kroz njega određuje smjer slanja toplinske energije. Za učinkovitu stabilizaciju temperature Peltierov element koristi temperaturni kontroler koji određuje smjer struje u Peltierovom elementu. Temperaturni kontroler određuje smjer struje u Peltierovom elementu na osnovi podatka o temperaturi kojeg prima od Pt-100 termometra unutar kućišta. Stabilizacija temperature koju postizemo s navedenom aparaturom je reda 10 mK . Čak i kada je temperaturni kontroler isključen te kada je komora na sobnoj temperaturi varijacija temperature se nalazi unutar istog intervala 0.01 K . Budući nam je tijelo komore veliki spremnik topline varijacija ne bi smjela biti 0.01 K . Stoga vjerujemo da imamo i bolju temperaturnu stabilnost od navedene varijacije od 0.01 K koja je najvjerojatnije posljedica šuma u očitanjima temperature.

4. Uzroci netočnosti mjerenih veličina

U procesu mjerenja kompleksne admitancije $Y(\omega)$ imamo više izvora netočnosti. Prvi izvor netočnosti može biti vještina pripravljanja otopine, tj. netočnost pri mjerenju mase i određivanju volumena otopine. S iskustvom ta netočnost se lako ukloni. Netočnost teža za izbjeći je neho-

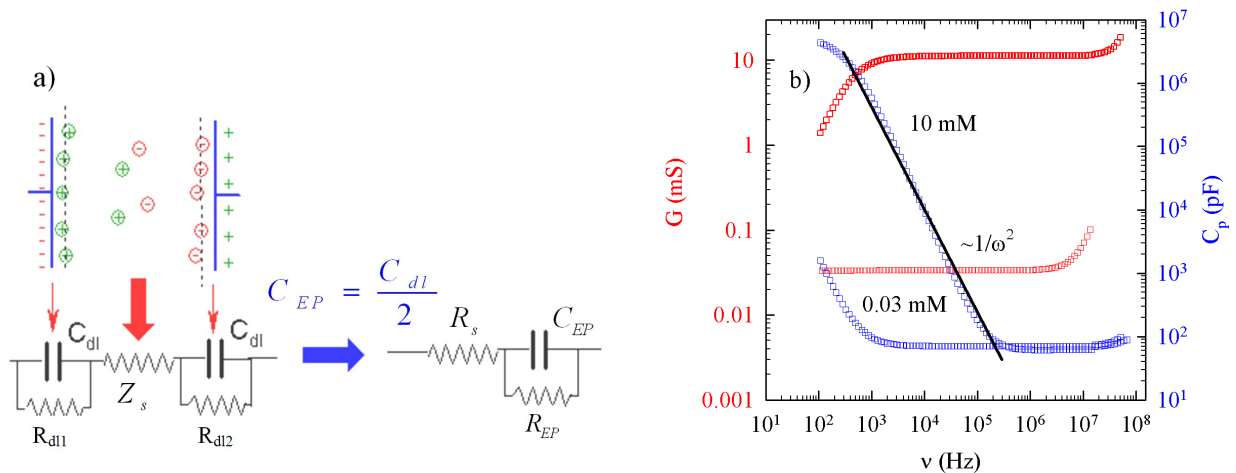
¹³ U ostatku teksta koristiti ćemo pokratu Agilent.

¹⁴ Izmjerena vodljivost i kapacitet su sastavnice admitancije $Y_{exp}(\omega) = G_{exp}(\omega) + i\omega C_{exp}(\omega)$, te zato u tekstu govorimo da mjerimo admitanciju.

¹⁵ Svrha aluminijskog bloka je da bude beskonačni spremnik topline, tj. da Peltierov element može odvoditi i dovesti po volji velike količine topline aluminijskom bloku a da mu ne promjeni temperaturu. Stoga kroz blok protječe voda konstante temperature.

¹⁶ Na shematskom prikazu komore na slici 7 su naznačeni položaji Peltierovih elemenata.

mogenost otopine koja je nastala pipetiranjem. Budući da viskoznosti otapala i otopljene tvari nisu iste pipeta "lakše povuče" otapalo, koje je manje viskozno, iz otopine nego otopljenu tvar. Zbog toga se događa da pipetiranjem dobijemo rjeđu otopinu nego je otopina iz koje pipetiramo. Slijedeći uzrok netočnosti proizlazi iz temperaturne (ne)stabilnosti otopine tijekom mjerenja. Naime, na temperaturnom kontroleru kućne izrade koji je korišten za mjerenja objavljena u [18] se PID parametri nisu mogli namještati s dovoljnom osjetljivošću za naše potrebe. Zato smo za slijedeća mjerenja, čije podatke obrađujemo u ovom radu, nabavili temperaturni kontroler Quick-Control QC-PC-OS-21 G na kojem se PID parametri mogu dovoljno osjetljivo podešavati za naše potrebe. Postignuta stabilizacija je $\pm 10 \text{ mK}$. Najveći problem koji nam unosi netočnost u mjerenje je polarizacija elektroda. Naime, u blizini elektroda koje nam služe i za pobudu i za mjerenje nakupljaju se naboji iz otopine.



Slika 8: Skica polarizacije elektroda s električnom shemom, te ekvivalentnom pojednostavljenom shemom prikazana je na a) slici. C_{dl} i R_{dl} označuju kapacitet i otpor polarizacijskog efekta na elektrodi i oni se mogu prikazati kao paralelni spoj kondenzatora i otpora C_{EP} , R_{EP} . Z_s je oznaka za impedanciju mjerene otopine. Na b) slici su prikazani izmjereni kapacitet i vodljivost za pozadinu koncentracije soli 0.03 mM i 10 mM. Veličine obojano crveno označavaju vodljivost, a veličine obojane plavo kapacitet. Crna crta predstavlja pravac proporcionalan sa $\propto 1/\omega^2$.

Stoga prilikom mjerenja admitancije mi izmjerimo admitanciju naše otopine uvećanu za admitanciju efekta polarizacije elektroda, vidi sliku 8:

$$C = C_s + \frac{1}{\omega^2 R^2 C_{EP}} \quad (51)$$

$$R = R_s + R_{EP} + R_s \omega^2 R^2 C^2, \quad (52)$$

gdje su C_s i R_s kapacitet i otpor otopine, a C_{EP} i R_{EP} kapacitet i otpor efekta polarizacije elektrodi[19]. Iz izraza (51) i (52) se može iščitati a sa slike 8 b) se vidi da je utjecaj polarizacije elektroda veći na nižim frekvencijama, te da raste s koncentracijom protuiona u otopini. Upravo zbog toga kod mjerenja na visokim koncentracijama i niskim frekvencijama nam je doprinos polarizacije elektroda veći od doprinosa LF moda polielektrolitske otopine. Za koncentracije veće od $c_{HA} = 1.25 \text{ mg/mL}$ nismo uspjeli na zadovoljavajući način odrediti parametre prilagodne krivulje upravo zbog efekta polarizacije elektrodi. Zbog toga dielektrični odgovor analiziramo samo do spomenute koncentracije HA, a podatke električne vodljivosti analiziramo sve do koncentracije $c_{HA} = 6 \text{ mg/mL}$. Na rezultate mjerenja na frekvenciji većoj od 10 MHz utječe rezonancija

našeg mjernog postava. Završni utjecaj na netočnost ima neodređenost prilagodbe CC funkcije na eksperimentalne podatke. Da zaključimo, u mjerenju nam se javlja više izvora netočnosti. Neke od njih, kao utjecaj vještine pripremljanja otopine se s iskustvom mogu potpuno ukloniti, neke kao nehomogenost uzrokovana pipetiranjem se mogu samo ublažiti sa stjecanjem iskustva, dok to nije moguće za utjecanje temperaturne stabilnosti i polarizacije elektroda¹⁷. Stoga smo višegodišnjim radom i iskustvom došli do maksimalne ocjene netočnost kako je prikazana u tablici I.

netočnost L_{LF}	netočnost $\Delta\varepsilon_{LF}/(c \cdot L_{LF}^2)$	netočnost L_{HF}	netočnost $\Delta\varepsilon_{HF}/(c \cdot L_{HF}^2)$
20% za $c_{HA} > 0.2mg/mL$	10%-15%	30%	30%-40%
30% za $c_{HA} \leq 0.2mg/mL$			

Tablica I: Ocjene netočnosti izračunatih veličina u odnosu na koncentraciju polielektrolita.

5. Mjerenja električne vodljivosti

Već smo rekli da mjerimo kapacitet i vodljivost polielektrolitske otopine u rasponu frekvencija od $100 Hz \leq \nu \leq 110 MHz$. Kod određivanja dielektrične funkcije koristimo sve te izmjerene podatke. Međutim kod analize vodljivosti polielektrolitske otopine koristimo samo podatak vodljivosti izmjeren na $\nu = 100 kHz$. Sa slike 8 b) možemo vidjeti razlog zašto je odabrana upravo ta frekvencija za očitavanje podatka električne vodljivosti. Za određenu koncentraciju otopine oko te frekvencije je vodljivost konstantna. Na toj frekvenciji su najmanji efekti polarizacije elektroda i rezonantne frekvencije mjernog postava te smatramo da vodljivost izmjerena u tom području najbolje odgovara vodljivosti otopine.

¹⁷ Četverokontaktним mjerenjem je moguće umanjiti utjecaj polarizacije elektroda na izmjerene rezultate. Nažalost mi nemamo mogućnost takvog mjerenja.

IV. OBRADA IZMJERENIH VELIČINA

A. Od izmjerenih veličina do kompleksne dielektrične funkcije

Tehniku kojom se služimo nazivamo niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom. Sada ćemo pokazati kako od izmjerenih veličina vodljivosti i kapaciteta računamo dielektričnu funkciju polimera. Veza se može pokazati pomoću Maxwellove jednadžbe

$$\nabla \times \vec{H}(t) = \sigma_0 \vec{E}(t) + \frac{\partial \vec{D}(t)}{\partial t} \quad (53)$$

gdje je $\vec{H}(t)$ vektor magnetskog polja, σ_0 je specifična vodljivost slobodnih nosilaca naboja, $\vec{E}(t) = \vec{E}_0 e^{i\omega t}$ je vektor vanjskog električnog polja kojim pobuđujemo uzorak a $\vec{D}(t) = \vec{D}_0 e^{i\omega t}$ je vektor dielektričnog pomaka polielektrolitske otopine za kojeg smo pretpostavili da je u fazi s pobudom $\vec{E}(t)$, tj. da je odgovor polielektrolitske otopine na pobudu trenutna. Izraz (53) možemo napisati u prostoru frekvencija na način

$$\begin{aligned} \int \nabla \times \vec{H}(t) dt &= \int \sigma_0 \vec{E}(t) dt + \int \frac{\partial \vec{D}(t)}{\partial t} dt \\ \nabla \times \int \vec{H}_0 e^{i\omega t} dt &= \sigma_0 \int \vec{E}_0 e^{i\omega t} dt + \int \frac{\partial \vec{D}_0 e^{i\omega t}}{\partial t} dt \\ \nabla \times \vec{H}(\omega) &= \sigma_0 \vec{E}(\omega) + \int \left(\underbrace{\frac{\partial \vec{D}_0}{\partial t}}_{=0} + i\omega \vec{D}_0 \right) e^{i\omega t} dt \\ \nabla \times \vec{H}(\omega) &= \sigma_0 \vec{E}(\omega) + i\omega \int \vec{D}_0 e^{i\omega t} dt \\ \nabla \times \vec{H}(\omega) &= \sigma_0 \vec{E}(\omega) + i\omega \vec{D}(\omega) \\ \nabla \times \vec{H}(\omega) &= [\sigma_0(\omega) + i\omega \varepsilon_0 \varepsilon(\omega)] \vec{E}(\omega) \end{aligned} \quad (54)$$

gdje smo u zadnjoj jednakosti iskoristili vezu dielektričnog pomaka i električnog polja u frekventnom prostoru $\vec{D}(\omega) = \varepsilon_0 \varepsilon(\omega) \vec{E}(\omega)$. Budući da vrijedi Ampèrov i Ohmov zakon za ukupnu struju

$$\begin{aligned} \vec{j}_{ukupno}(\omega) &= \nabla \times \vec{H}(\omega) \\ \vec{j}_{ukupno}(\omega) &= \sigma(\omega) \vec{E}(\omega) \end{aligned} \quad (55)$$

te usporedbom izraza (54) i izraza (55) dolazimo do traženog izraza koji povezuje specifičnu vodljivost i dielektričnu funkciju u prostoru frekvencija

$$\sigma(\omega) = \sigma_0(\omega) + i\omega \varepsilon_0 \varepsilon(\omega) \quad (56)$$

Prilikom mjerenja mi izmjerimo vodljivost uzorka (Na-HA) i parazitske doprinose

$$\sigma_{exp}(\omega) = \sigma_p(\omega) + \sigma_0(\omega) + i\omega \varepsilon_0 \varepsilon_{exp}(\omega) \quad (57)$$

gdje je σ_p doprinos specifičnoj vodljivost parazitskih otpora mjernog postava¹⁸. Kada je parazitski otpor našeg mjernog postava manji od ostalih vrijednosti u izrazu (57) pretpostavka da on linearno ulazi u izraz (57) je opravdana. Da bi odredili doprinos molekule $Na - HA$ dielektričnoj funkciji moramo izmjeriti specifičnu vodljivost polielektrolitske otopine bez molekule HA . Tu vodljivost zovemo vodljivost pozadine

$$\sigma_{po}(\omega) = \sigma_p(\omega) + \sigma_{0po}(\omega) + i\omega\varepsilon_0\varepsilon_{po}(\omega) \quad (58)$$

Dielektričnu funkciju polielektrolitske otopine $\varepsilon_{exp}(\omega)$ možemo razumjeti kao struju polarizacije proučavanog sistema, molekule $Na - HA$, $\delta\varepsilon(\omega)$ uvećanu za ostale doprinos kojima su rezonantne frekvencije iznad nama eksperimentalno uočljivih¹⁹, pogledati sliku 9

$$\varepsilon_{exp}(\omega) = \delta\varepsilon(\omega) + \varepsilon_{HF} \quad (59)$$

gdje smo sa $\delta\varepsilon(\omega)$ obilježili sistem koji proučavamo. Poanta izraza (59) je vizualizirana na slici 9. Oduzimanjem izraza (58) od izraza (57) uz uvrštavanje izraza (59) u izraz (57) dobijemo

$$[\sigma_{exp}(\omega) - \sigma_{po}(\omega)] - [\sigma_0(\omega) - \sigma_{0po}(\omega)] = i\omega\varepsilon_0[\delta\varepsilon(\omega) + \varepsilon_{HF} - \varepsilon_{po}] \quad (60)$$

Vodljivost pozadine σ_{po} je dobivena mjerenjem vodljivosti vodene otopine NaCl. Vodljivost pozadine ima dvije komponente: jedna je vodljivost iona Na^+ i Cl^- σ_{0po} , a druga proizlazi iz ostalih doprinosa kojima su rezonantne frekvencije iznad nama eksperimentalno uočljivih. Ta druga komponenta dielektrične funkcije je upravo jednaka komponenti dielektrične funkcije polielektrolitske otopine kojoj su frekvencije iznad nama eksperimentalno uočljivih, tj. $\varepsilon_{HF} = \varepsilon_{po}$. To je prikazano i na slici 9. S dobrim odabirom koncentracije pozadine može se postići $\sigma_{0po}(\omega) = \sigma_0(\omega)$. Uz tu jednakost i maloprije iznesenu činjenicu o jednakosti $\varepsilon_{HF} = \varepsilon_{po}$ izraz 60 glasi

$$[\sigma_{exp}(\omega) - \sigma_{po}(\omega)] = i\omega\varepsilon_0[\delta\varepsilon(\omega)] \quad (61)$$

Pošto mi ne mjerimo $\sigma_{exp}(\omega)$ i $\sigma_{po}(\omega)$ ostalo nam je još te veličine izraziti preko direktno mjerenih veličina $G_{exp}(\omega)$, $C_{exp}(\omega)$, $G_{po}(\omega)$ i $C_{po}(\omega)$. Kompleksna specifična vodljivost σ je definirana kao produkt konstante komore i admitancije

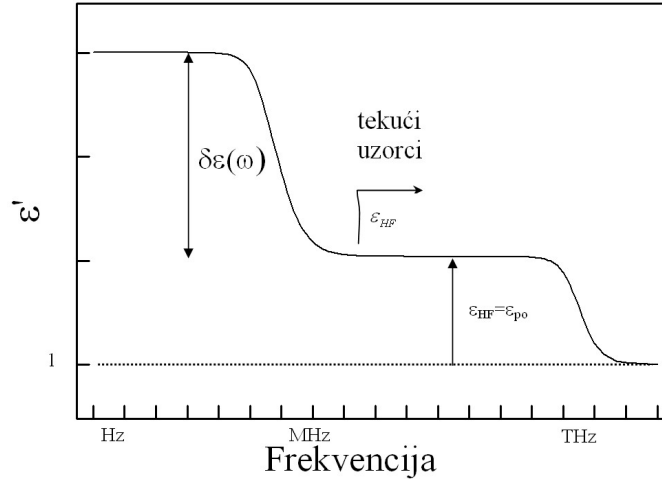
$$\begin{aligned} \sigma_{exp}(\omega) &= \frac{l}{S} Y_{exp}(\omega) \\ \sigma_{po}(\omega) &= \frac{l}{S} Y_{po}(\omega) \end{aligned} \quad (62)$$

a admitanciju $Y(\omega)$ čine nama direktno mjerljive veličine $G(\omega)$ i $C(\omega)$ na način

$$\begin{aligned} Y_{exp}(\omega) &= G_{exp}(\omega) + i\omega C_{exp}(\omega) \\ Y_{po}(\omega) &= G_{po}(\omega) + i\omega C_{po}(\omega) \end{aligned} \quad (63)$$

¹⁸ Najveći dio tog doprinosa je uzrokovan efektom polarizacije elektroda koji je objašnjen u poglavlju III C 4.

¹⁹ Gornja granica nama eksperimentalno uočljive frekvencije je 110 MHz.



Slika 9: Puna crta prikazuje vrijednost realnog dijela dielektrične funkcije uzorka ε_{exp} . Točkasta crta prikazuje vrijednost dielektrične konstante vakuumu, tj. vrijednost 1. Vrijednost dielektrične funkcije istraživanog uzorka $\delta\varepsilon(\omega)$ i vrijednost dielektrične funkcije za frekvencije veće od eksperimentalno uočljivih ε_{HF} su obilježene na slici.

Oduzimanjem specifične vodljivosti pozadine od specifične vodljivosti polielektrolitske otopina na način da je uvršten izraza za admitancije (63) u izraz za kompleksnu specifičnu vodljivost (62) dobivamo

$$\sigma_{exp}(\omega) - \sigma_{po}(\omega) = \frac{l}{S} [G_{exp}(\omega) - G_{po}(\omega)] + i \frac{l}{S} \omega [C_{exp}(\omega) - C_{po}(\omega)] \quad (64)$$

Usporedba izraza (64) s izrazom (61) te izjednačavanjem realnih i imaginarnih dijelova dobivamo:

$$\begin{aligned} \delta\varepsilon'(\omega) &= \frac{l}{S} \cdot \frac{C_{exp}(\omega) - C_{po}(\omega)}{\varepsilon_0} \\ \delta\varepsilon''(\omega) &= \frac{l}{S} \cdot \frac{G_{exp}(\omega) - G_{po}(\omega)}{\omega \cdot \varepsilon_0} \end{aligned} \quad (65)$$

gdje smo kompleksnu dielektričnu funkciju zapisali na način $\delta\varepsilon = \delta\varepsilon' - \delta\varepsilon''$ gdje je $\delta\varepsilon'$ realni dio a $\delta\varepsilon''$ imaginarni dio dielektrične funkcije.

B. Prilagodba krivulje na jedan relaksacijski proces

Da bi se protuioni pod utjecajem izmjeničnog električnog polja jako udaljili od poliiona potrebna je velika energija. Budući da koristimo male amplitude pobude uzorka \vec{E}_0 , tj. unosimo male energije u uzorak, protuioni se nalaze u neposrednoj blizini poliiona te titraju na maloj udaljenosti oko osi poliiona. Drugim riječima protuioni su vezani za poliion, te oscilacijom oko poliiona uzrokuju polarizaciju $\vec{P}(\omega) = e\rho_0\vec{x}(\omega)$. $\vec{x}(\omega)$ je vektor pomaka protuiona iz ravnotežnog položaja a ρ_0 je gustoća protuiona. Upravo ta polarizacija titranja protuiona oko poliiona je uzrok dielektrične funkcije poliiona $\delta\varepsilon(\omega)$. Protuione opisujemo jednadžbom gušenog, tjeranog harmonijskog oscilatora čije gušenje dolazi od sudara protuiona sa molekulama vode

$$m^* \ddot{x} + \gamma \dot{x} + kx = eE_0 e^{i\omega t} \quad (66)$$

gdje je m^* efektivna masa, $\gamma = m^*/\tau$ je konstanta gušenja, τ je vremenska konstanta gušenja a k je konstanta elastičnosti koja opisuje vezu protuiona Na^+ u vodenoj otopini na polimera. Uvrštavanjem stacionarnog rješenja²⁰ $\vec{x}(\omega) = \vec{x}_0(\omega)e^{i\omega t}$ u izraz (66) u svrhu određivanja koeficijent $\vec{x}_0(\omega)$ dobivamo

$$\vec{x}(\omega) = \frac{e\vec{E}_0}{m^*} \cdot \frac{1}{(\omega_0^2 - \omega^2) + i\frac{\omega}{\tau}} e^{i\omega t} \quad (67)$$

gdje je $\omega_0^2 \equiv k/m^*$. Uvrštavanjem veza električnog polja, dielektričnog pomaka i polarizacije $\vec{D}(\omega) = \varepsilon_0 \vec{E}(\omega) + \vec{P}(\omega)$ u vezu električnog polja i dielektričnog pomaka $\varepsilon(\omega) - 1 = \frac{\vec{P}(\omega)}{\varepsilon_0 \vec{E}(\omega)}$ dobivamo vezu polarizacije i električnog polja

$$\varepsilon(\omega) - 1 = \frac{\vec{P}(\omega)}{\varepsilon_0 \vec{E}(\omega)} = \frac{e\rho_0 \vec{x}(\omega)}{\varepsilon_0 \vec{E}(\omega)} \quad (68)$$

Uvrštavanjem izraza (67) u izraz (68) dobivamo

$$\varepsilon - 1 = \frac{e^2 \rho_0}{\varepsilon_0 m^*} \cdot \frac{1}{(\omega_0^2 - \omega^2) + i\frac{\omega}{\tau}} = \frac{e^2 \rho_0}{\varepsilon_0 m^* \omega_0^2} \cdot \frac{1}{\left(1 - \frac{\omega^2}{\omega_0^2}\right) + i\frac{\omega}{\omega_0^2 \tau}} \quad (69)$$

Konstanta gušenja našeg eksperimentalnog sustava je velika te zbog toga vrijedi $\omega \ll \omega_0$. Ta činjenica uz pokrate

$$\begin{aligned} \Delta\varepsilon &= \frac{e^2 \rho_0}{\varepsilon_0 m^* \omega_0^2} \\ \tau_0 &= \frac{1}{\omega_0^2 \tau} \end{aligned} \quad (70)$$

nam omogućava da izraz (69) možemo zapisati u obliku Debyeve funkcije

$$\varepsilon - 1 = \Delta\varepsilon \frac{1}{1 + i\omega\tau_0} \quad (71)$$

Međutim zbog nereda u sistemu dolazi do širenja relaksacijskih procesa oko srednje vrijednosti. Da bi u izrazu za prilagodbu mogli uključiti parametar distribucije karakterističnog vremena oko srednjeg karakterističnog vremena τ_0 moramo poopćiti Debyeovu funkciju, izraz (71)

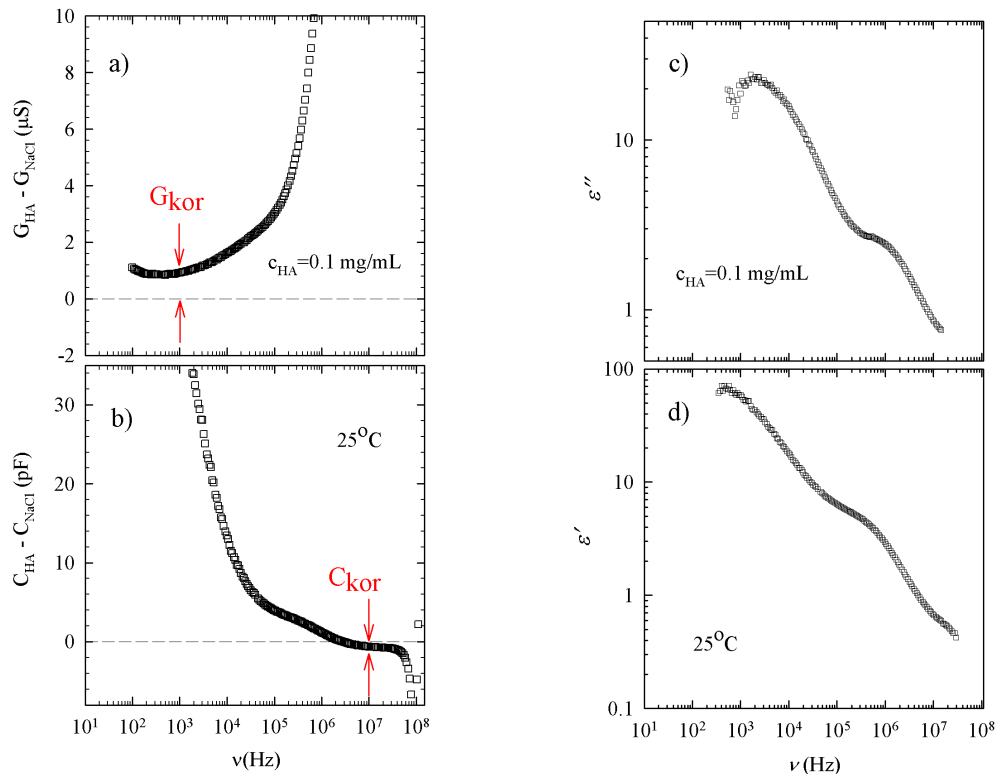
$$\delta\varepsilon = \Delta\varepsilon \frac{1}{(1 + i\omega\tau_0)^{1-\alpha}} \quad (72)$$

²⁰ Homogeno rješenje jednadžbe (66) ne razmatramo pošto je ono prijelazno i eksponencijalno trne u vremenu a mi smo kod mjerenja koristili Agilent postavku BW=5, koja znači mjerenje nakon što pobuda već dugo traje.

Znači izraz koji prilagođujemo na jedan relaksacijski proces je izraz (72). On je poopćena Debyeova funkcija koju nazivamo Cole-Cole funkcija (skraćeno CC funkcija). CC funkcija ima tri parametra koja mi određujemo tako da napravimo najbolju prilagodbu na izmjerene vrijednosti. To su jačina relaksacijskog procesa $\Delta\varepsilon$, srednje vrijeme relaksacije τ_0 i širenje relaksacijskog procesa oko srednjeg vremena relaksacije $(1 - \alpha)$.

C. Prilagodba krivulje na izmjerene veličine

U poglavlju IV A smo rekli, a u izrazu (65) smo to uvažili, da od izmjerenih veličina polielektrolita oduzimamo izmjerene veličine pozadine u cilju određivanja doprinosa samo molekule HA . Međutim to nije moguće napraviti sa savršenom točnošću, tj. nije moguće napraviti uzorak i pozadinu sa savršeno istim koncentracijama, već se one razlikuju u nekoj decimali koncentracije. Ta razlika u koncentraciji se kod prilagodbe očituje u neuklonjenim iznosima vodljivosti G_{kor} na niskim frekvencijama, prikazano na slici 10 a), i kapaciteta C_{kor} na visokim frekvencijama, prikazano na slici 10 b).



Slika 10: Frekventna ovisnost izmjerenih veličina vodljivosti i kapaciteta nakon oduzimanja izmjerenih veličina pozadine od izmjerenih veličina polielektrolitske otopine nalazi se na slikama a) i b). Na slikama a) i b) su označeni neuklonjeni dijelovi mjernih veličina G_{kor} i C_{kor} . Prikaz c) i d) je frekventna ovisnost kompleksne dielektrične funkcije čiji su izmjereni podatci obrađeni na način izraza (73).

Te neuklonjene vrijednosti, očitane sa slika 10 a) i b), unosimo u naš model. Neuklonjeni doprinos dielektričnoj funkciji C_{kor} unosimo u model kao parametar oblika $b = \frac{l}{S} \frac{C_{kor}}{\varepsilon_0}$ a neuklonjeni dio G_{kor} unosimo u tom obliku u model. Uz te korekcije vezu izmjerenih veličina i kompleksne dielektrične funkcije (65) zapisujemo u obliku

$$\begin{aligned}
\delta\varepsilon'(\omega) &= \frac{l}{S} \cdot \frac{C_{exp}(\omega) - C_{po}(\omega)}{\varepsilon_0} \rightarrow \frac{l}{S} \cdot \frac{C_{exp}(\omega) - C_{po}(\omega)}{\varepsilon_0} - b \\
\delta\varepsilon''(\omega) &= \frac{l}{S} \cdot \frac{G_{exp}(\omega) - G_{po}(\omega)}{\omega \cdot \varepsilon_0} \rightarrow \frac{l}{S} \cdot \frac{[G_{exp}(\omega) - G_{po}(\omega)] - G_{kor}}{\omega \cdot \varepsilon_0}
\end{aligned}
\tag{73}$$

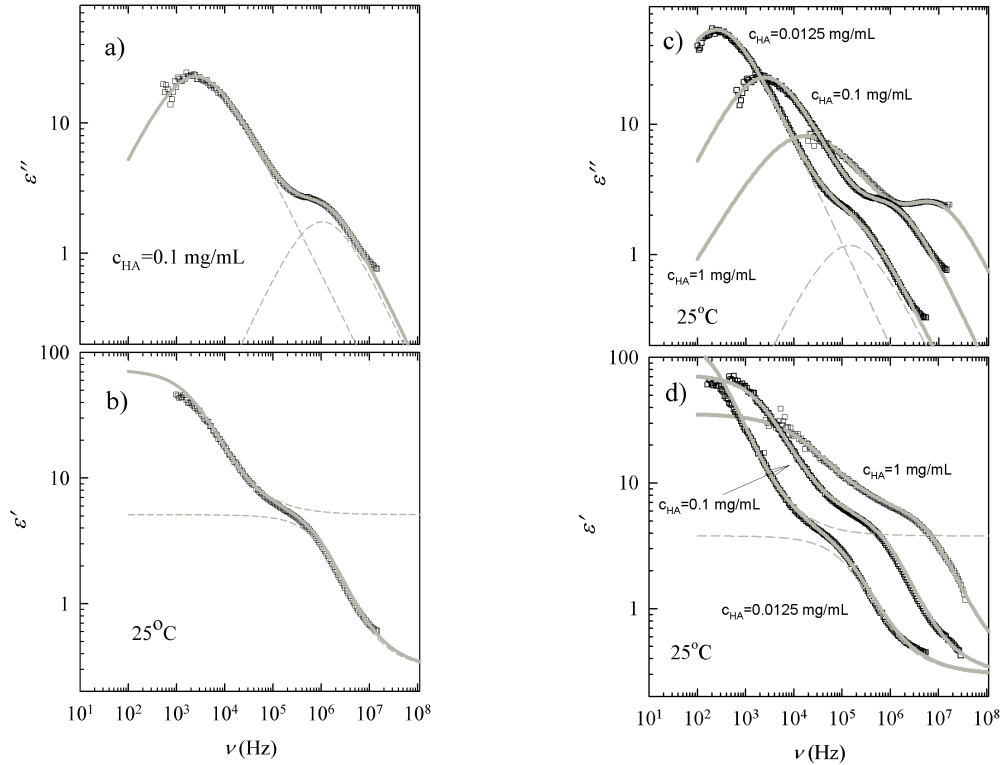
Nakon što podatke mjerenja obradimo na način napisan u izrazu (73), za $c_{HA} = 0.1 \text{ mg/mL}$ su ti podatci prikazani na slici 10 c) i d), oni nam nedvosmisleno pokazuju da uzorak u mjenom intervalu frekvencija sadrži dva relaksacijska procesa. Zbog toga na te izmjerene podatke prilagođujemo zbroj dviju CC funkcija. Onu CC funkciju koju prilagođujemo na relaksacijski proces na nižoj frekvenciji nazivamo niskofrekventni mod a parametre koji opisuju taj mod obilježavamo indeksom LF. Onu CC funkciju koju prilagođujemo na relaksacijski proces na višoj frekvenciji nazivamo visokofrekventni mod a parametre koji opisuju taj mod obilježavamo indeksom HF. Oblik prilagodnih funkcija koje prilagođujemo izmjerenim podacima eksperimenta su dane izrazom (74) a parametri prilagodbe su slijedeći: $\Delta\varepsilon_{LF}$, τ_{0LF} , $1 - \alpha_{LF}$, $\Delta\varepsilon_{HF}$, τ_{0HF} , $1 - \alpha_{HF}$, b , G_{kor}

$$\begin{aligned}
Re\left(\frac{\Delta\varepsilon_{LF}}{1 + (i\omega\tau_{0LF})^{1-\alpha_{LF}}}\right) + Re\left(\frac{\Delta\varepsilon_{HF}}{1 + (i\omega\tau_{0HF})^{1-\alpha_{HF}}}\right) + b &= \frac{l}{S} \cdot \frac{C_{exp}(\omega) - C_{po}(\omega)}{\varepsilon_0} \\
Im\left(\frac{\Delta\varepsilon_{LF}}{1 + (i\omega\tau_{0LF})^{1-\alpha_{LF}}}\right) + Im\left(\frac{\Delta\varepsilon_{HF}}{1 + (i\omega\tau_{0HF})^{1-\alpha_{HF}}}\right) &= \frac{l}{S} \cdot \frac{[G_{exp}(\omega) - G_{po}(\omega)] - G_{kor}}{\omega \cdot \varepsilon_0}
\end{aligned}
\tag{74}$$

V. ANALIZA REZULTATA MJERENJA I DISKUSIJA

A. Prikaz analize podataka dielektričnog odgovora

Na slici 10 c) i d) su pokazani izmjereni podaci obrađeni po uzoru na izraz (73). Na tako obrađene podatke prilagođujemo funkcije na način naznačen izrazom (74). Na slici 11 a) i b) je prikaz tako prilagođenih funkcija na obrađene podatke slike 10 c) i d). Na slici 11 c) i d) je zbirni prikaz prilagodnih funkcija na obrađene podatke tri uzorka koncentracija: $c_{HA} = 1 \text{ mg/mL}$, $c_{HA} = 0.1 \text{ mg/mL}$, $c_{HA} = 0.0125 \text{ mg/mL}$.

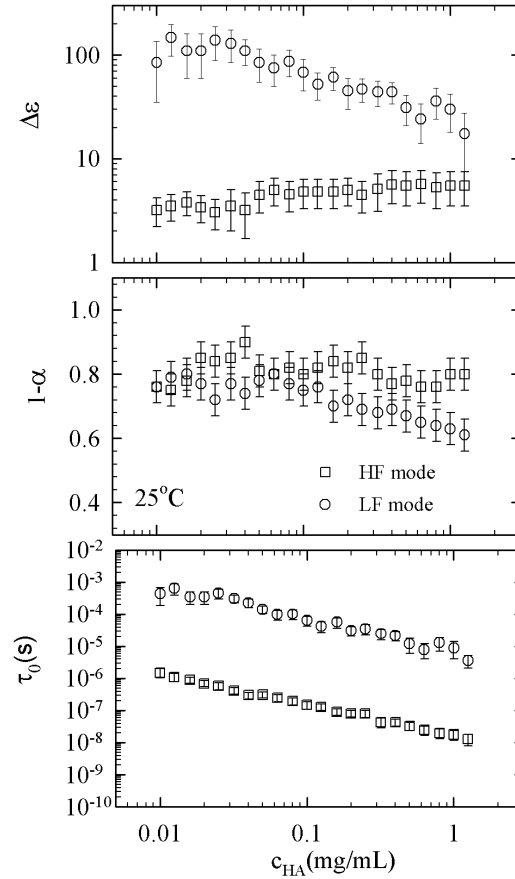


Slika 11: Prilagođene kompleksne dielektrične funkcije na način izraza (74) su prikazane sivom crtom, dok su pojedini prilagođeni modovi relaksacije prikazani isprekidanom crtom. Podatci na koje je vršena prilagodba su prikazani kvadratićima. Prikazana je i prilagodba vršena na izmjenjenim podacima uzorka koncentracija $c_{HA} = 1 \text{ mg/mL}$, $c_{HA} = 0.1 \text{ mg/mL}$, $c_{HA} = 0.0125 \text{ mg/mL}$.

Idemo probati shvatiti što se događa u našem sistemu. Iako su protuioni polielektrolita podvrgnuti i tjeranim i gušenim procesima njihovo gibanje u otopini je određeno zakonima difuzije. Protuioni tjerani vanjskim električnim poljem prevaljuju udaljenost L koja je povezana s karakterističnim vremenom τ_0 Einstein-Smoluchowski jednadžbom. Prisjetimo se još jednom Einstein-Smoluchowski jednadžbe:

$$L \propto \sqrt{\tau_0 D} \quad (75)$$

gdje je $D = 1.33 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ konstante difuzije protuiona koju smo aproksimirali konstantom difuzije iona u ionskoj otopini zbog razloga iznesenog u poglavlju IIF 1. Zanimljivost našeg eksperimentalnog postava je da nam konstanta proporcionalnosti Einstein-Smoluchowski jednadžbe (75)

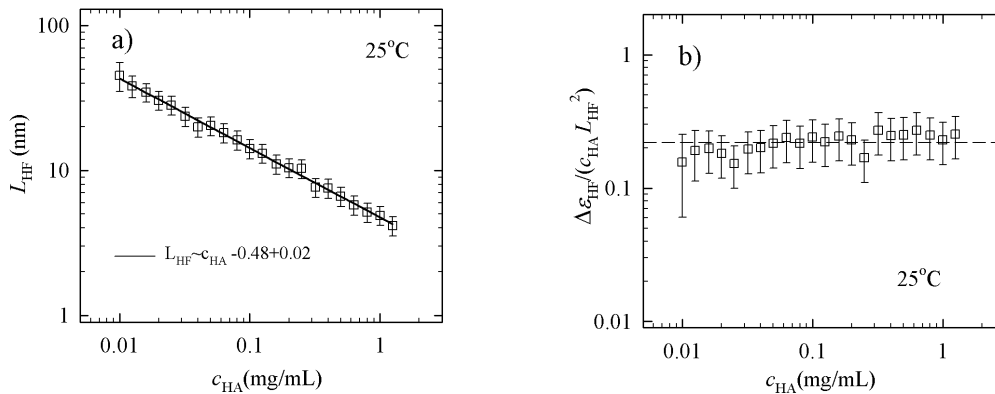


Slika 12: Kružići predstavljaju vrijednosti parametara prilagodbe LF moda, dok kvadratići predstavljaju vrijednosti parametara prilagodbe HF moda za raspon koncentracija $0.01 \text{ mg/mL} - 1.25 \text{ mg/mL}$ vodenih otopina hijaluronske kiseline. Redom od gore prema dolje slike prikazuje parametre: dielektrična jakost relaksacijskog procesa ($\Delta\epsilon$), širina relaksacijskog procesa ($1 - \alpha$) i relaksacijsko vrijeme (τ_0).

iznosi reda veličine 1 [20], što je provjereno na više eksperimenata, od kojih su neki objavljeni u [21]. Iz podataka prilagodbe na eksperimentalno izmjerene podatke možemo odrediti karakteristična vrijeme. Tada pomoću jednadžbe (75) možemo odrediti karakterističnu udaljenost. Zato pogledajmo podatke prilagodbe krivulja na eksperimentalno izmjerene podatke. Na slici 12 grafički su prikazani parametri prilagodbe oba moda relaksacije. U tablici II dani su ti isti podatci samo brojčano i dodane su brojčane vrijednosti karakteristične duljine. Jakost relaksacijskog procesa LF moda nalazi se u intervalu $\Delta\epsilon_{LF} = 20 - 150$, dok se jakost HF moda nalazi u intervalu $\Delta\epsilon_{HF} = 5.5 - 2.3$. Sa slike 12 i iz tablice II mogu se iščitati još i sljedeći podatci: relaksacijsko vrijeme LF moda nalazi se u intervalu $5 - 500 \mu\text{s}$ dok se relaksacijsko vrijeme HF moda nalazi u intervalu $10 - 1000 \text{ ns}$. Sada ćemo iz relaksacijskih vremena dobivenih prilagodbom na izmjerene podatke izračunati karakteristične udaljenosti.

c_{HA}	$\Delta\epsilon_{LF}$	$\tau_{0LF}(\mu s)$	$1 - \alpha_{LF}$	$L_{LF}(nm)$	$\Delta\epsilon_{HF}$	$\tau_{0HF}(ns)$	$1 - \alpha_{HF}$	$L_{HF}(nm)$
1,2500	17 ± 10	4 ± 1	0,61 ± 0,05	69 ± 21	5,5 ± 2,0	13 ± 5	0,80 ± 0,05	4,1 ± 0,6
1,0000	30 ± 12	9 ± 5	0,63 ± 0,05	109 ± 33	5,5 ± 2,0	18 ± 6	0,80 ± 0,05	4,9 ± 0,7
0,8000	36 ± 12	13 ± 6	0,64 ± 0,05	131 ± 39	5,3 ± 2,0	20 ± 7	0,76 ± 0,05	5,1 ± 0,9
0,6300	24 ± 10	8 ± 4	0,65 ± 0,05	103 ± 31	5,7 ± 2,0	25 ± 8	0,76 ± 0,05	5,8 ± 0,9
0,5000	31 ± 10	12 ± 6	0,67 ± 0,05	126 ± 38	5,5 ± 2,0	33 ± 9	0,78 ± 0,05	6,6 ± 1,0
0,4000	44 ± 10	22 ± 7	0,69 ± 0,05	171 ± 51	5,6 ± 2,0	43 ± 10	0,77 ± 0,05	7,6 ± 1,1
0,3200	44 ± 12	25 ± 9	0,68 ± 0,05	182 ± 55	5,1 ± 2,0	44 ± 15	0,80 ± 0,05	7,6 ± 1,1
0,2500	47 ± 12	35 ± 12	0,69 ± 0,05	216 ± 65	4,5 ± 1,5	80 ± 20	0,85 ± 0,05	10 ± 1,5
0,2000	45 ± 15	31 ± 10	0,72 ± 0,05	203 ± 61	5,0 ± 1,5	82 ± 20	0,82 ± 0,05	10 ± 1,6
0,1600	61 ± 15	57 ± 20	0,70 ± 0,05	275 ± 83	4,8 ± 1,5	92 ± 20	0,84 ± 0,05	11 ± 1,7
0,1250	52 ± 15	42 ± 15	0,76 ± 0,05	236 ± 71	4,8 ± 1,5	130 ± 30	0,82 ± 0,05	13 ± 2,0
0,1000	68 ± 23	64 ± 22	0,75 ± 0,05	292 ± 88	4,8 ± 1,5	150 ± 40	0,80 ± 0,05	14 ± 2,1
0,0800	87 ± 25	102 ± 35	0,77 ± 0,05	368 ± 110	4,5 ± 1,5	198 ± 50	0,82 ± 0,05	16 ± 2,4
0,0630	75 ± 25	99 ± 35	0,80 ± 0,05	363 ± 109	5,0 ± 1,5	250 ± 60	0,80 ± 0,05	18 ± 2,7
0,0500	85 ± 30	143 ± 40	0,78 ± 0,05	436 ± 131	4,5 ± 1,5	312 ± 70	0,81 ± 0,05	20 ± 3,0
0,0400	110 ± 30	230 ± 70	0,74 ± 0,05	553 ± 166	3,2 ± 1,5	300 ± 70	0,90 ± 0,05	20 ± 3,0
0,0320	130 ± 45	310 ± 80	0,77 ± 0,05	642 ± 193	3,5 ± 1,5	420 ± 100	0,85 ± 0,05	24 ± 3,5
0,0250	139 ± 50	450 ± 150	0,72 ± 0,05	774 ± 232	3,0 ± 1,0	600 ± 150	0,84 ± 0,05	28 ± 4,2
0,0200	110 ± 50	350 ± 150	0,77 ± 0,05	682 ± 205	3,4 ± 1,0	700 ± 150	0,85 ± 0,05	30 ± 4,6
0,0160	110 ± 50	350 ± 150	0,77 ± 0,05	682 ± 205	3,4 ± 1,0	800 ± 200	0,82 ± 0,05	33 ± 4,9
0,0125	148 ± 50	650 ± 250	0,76 ± 0,05	930 ± 330	2,6 ± 1,0	800 ± 300	0,90 ± 0,05	33 ± 6,5
0,0100	85 ± 50	440 ± 250	0,74 ± 0,05	765 ± 344	2,3 ± 1,0	920 ± 500	0,90 ± 0,05	35 ± 10

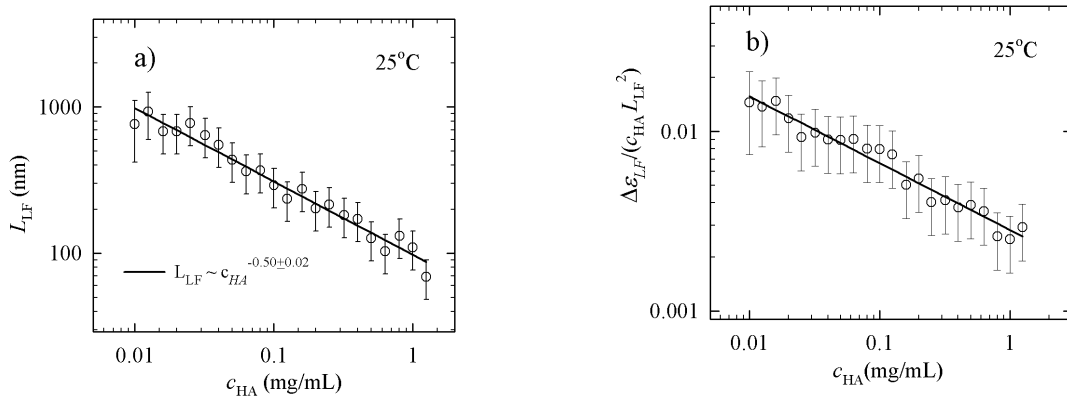
Tablica II: Parametri prilagodbe niskofrekventnog i visokofrekventnog relaksacijskog procesa su dani u tablici za sve izmjerene koncentracije uzoraka. U tablici se još nalaze i karakteristične udaljenosti relaksacijskih procesa.



Slika 13: Prikaz karakteristične udaljenosti, izračunate izrazom (75), visokofrekventnog procesa relaksacije u ovisnosti o koncentraciji HA je prikazan na slici a). Punom crtom je prikazana prilagodba po zakonu potencije na izračunate podatke. Na slici b) je prikazana (ne)ovisnost broja sudionika visokofrekventnog relaksacijskog procesa o koncentraciji HA.

Na slici 13 a) su grafički prikazani podatci karakteristične udaljenosti u ovisnosti o koncentraciji za HF proces relaksacije. Karakteristične udaljenosti HF moda relaksacije su u rasponu $4 \text{ nm} - 40 \text{ nm}$ a pokazuju ovisnost o koncentraciji HA po zakonu potencije $L_{HF} \propto c_{HA}^{-0.48 \pm 0.02}$.

Karakterističnu udaljenost L_{HF} povežujemo s korelacijskom dužinom ξ o kojoj smo govorili u poglavlju II E 3. To znači da nam HF mod mjeri udaljenost omeđenu međusobno isprepletenim polionima [21]. Prikaz na slici 13 b) je broj protuiona sudionika HF relaksacijskog procesa u ovisnosti o koncentraciji HA . Dielektrična jakost HF relaksacijskog procesa je $\Delta\varepsilon_{HF} \propto f_{HF} \cdot c_{HF} \cdot \alpha_{HF}$, gdje f_{HF} predstavlja broj sudionika HF relaksacijskog procesa, a α_{HF} je polarizibilnost koja je proporcionalna kvadratu dimenzije inducirano dipola, tj. $\alpha_{HF} \propto e^2 \cdot L_{HF}^2 / (\varepsilon_0 k_B T)$. Stoga smo pokazali da veličina $\Delta\varepsilon_{HF} / (c_{HA} \cdot L_{LF}^2)$ koja je prikazana na slici 13 b) pokazuje broj sudionika HF relaksacijskog procesa. Broj protuiona koji sudjeluju u HF relaksacijskom procesu je neovisan o koncentraciji.



Slika 14: Simbolima na slici a) je prikazana karakteristična udaljenost LF procesa relaksacije. Crta označava prilagodbu na podatke po zakonu potencije. Prikaz na b) slici je broj protuiona sudionika LF relaksacijskog procesa u odnosu na koncentraciju HA . Na broj protuiona sudionika LF relaksacijskog procesa je napravljena prilagodba po zakonu potencije.

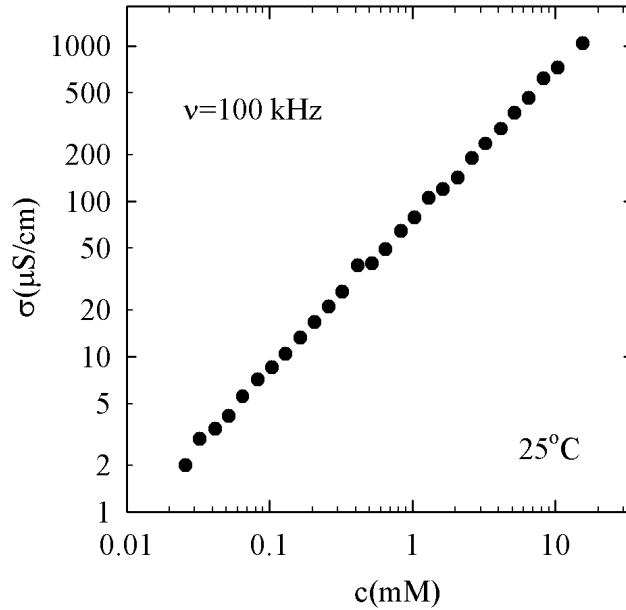
Radi potpunosti iznosimo i podatke za LF proces iako nam njegovi parametri nisu bitni za analizu specifične vodljivosti poliiona. Primijetimo da su karakteristične udaljenosti povezane s LF procesom relaksacije u rasponu od $70 \text{ nm} - 800 \text{ nm}$ te pokazuju ovisnost o koncentraciji HA po zakonu potencije $L_{LF} \propto c_{HA}^{-0.50 \pm 0.02}$. Ta ovisnost ukazuje da L_{LF} slijedi renormaliziranu Debyeovu duljinu zasjenjenja $\kappa^{-1} \propto c_{HA}^{-1/2}$ [10]. Broj protuiona koji sudjeluju u LF relaksacijskom procesu nije stalan te ovisi o koncentraciji HA po zakonu potencije $\Delta\varepsilon_{LF} / (c_{HA} \cdot L_{LF}^2) \propto c_{HA}^{-0.37 \pm 0.02}$. Moguće objašnjenje pada broja sudionika LF relaksacijskog procesa s povećanjem koncentracije HA je slijedeće. Naime povećanjem koncentracije monomera povećava se koncentracija protuiona pa se samim time povećava i zasjenjenje. Povećano zasjenjenje uzrokuje smanjenje efektivne gustoće naboja poliiona a to povlači smanjenje udjela sudionika relaksacijskog procesa.

B. Prikaz analize podataka električne vodljivosti

Realnu komponentu specifične vodljivosti σ računamo iz direktno mjerene vodljivosti G pomoću relacije

$$\sigma = \frac{l}{S} \cdot G \quad (76)$$

Tako izračunatu specifičnu vodljivost izmjerenu na frekvenciji pobude 100 kHz u ovisnosti o molarnoj koncentraciji monomera smo prikazali na slici 15. Podsjetimo se još jednom da je molarna koncentracija monomera jednaka molarnoj koncentraciji protuiona.



Slika 15: Prikaz specifične vodljivosti polielektrolitske otopine Na-HA izmjerene na frekvenciji pobude 100 kHz u ovisnosti o molarnoj koncentraciji monomera.

Budući da je cilj ovog diplomskog rada dobiti informaciju o električnoj vodljivosti poliiona moramo se vratiti na formulu (31) koja glasi

$$\sigma = cf(\Lambda_1 + \Lambda_p) \quad (77)$$

gdje je c molarna koncentracija monomera.

1. Molarna vodljivost poliiona uz pretpostavku $f = 1$

Dijeleći desnu i lijevu strane jednadžbe (77) s cf dobivamo

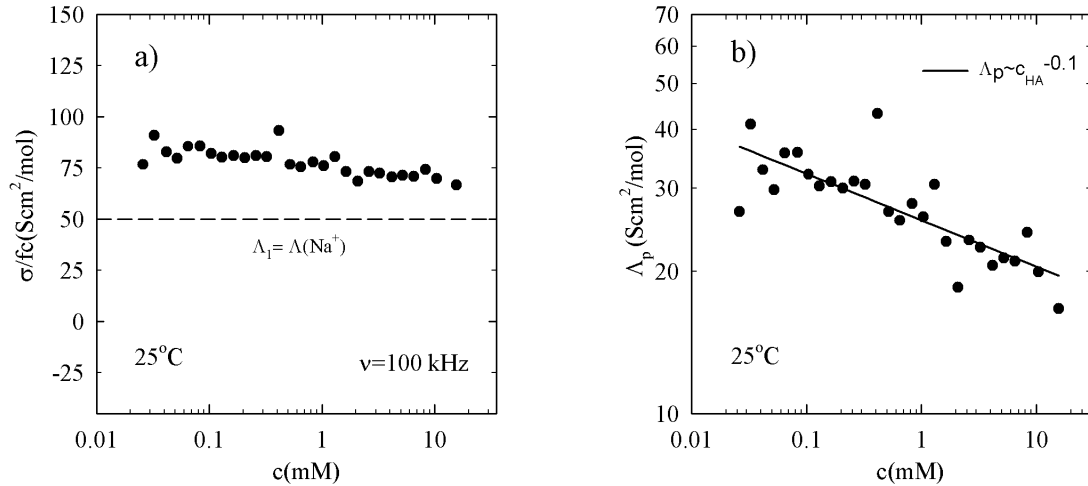
$$\sigma/(cf) = \Lambda_1 + \Lambda_p \quad (78)$$

Pošto mi u eksperimentu mjerimo σ -u, a c biramo kod priprema otopine mi možemo jednadžbu (78) grafički riješiti. Zbroj molarnih vodljivosti protuiona i poliiona u funkciji molarne koncentracije monomera se može vidjeti na slici 16 a). Na istoj toj slici je isprekidanom crtom naznačena i molarna vodljivost protuiona Na^+ koja iznosi $\Lambda(Na^+) = 50 \text{ Scm}^2/\text{mol}$ [2]. Slika 16 b) je nastala oduzimanjem molarne vodljivosti protuiona od zbroja molarnih vodljivosti protuiona i poliiona, tj. ta slika prikazuje vodljivost poliiona $\Lambda_p = \sigma/(c_1 f) - \Lambda_1$.

Crna na slici 16 predstavlja prilagodbu po zakonu potencije na podatke molarne vodljivosti poliiona. Molarna vodljivost poliiona blago opada sa molarnom koncentracijom monomera po zakonu $\Lambda_p \propto c^{-0.1}$. Kao uzrok blagog pada isključujemo sistematsku pogrešku.

2. Molarna vodljivost poliiona uz pretpostavku $f = f(c)$

Možda je uzrok blagog pada molarne vodljivosti koncentracijska ovisnost konstante difuzije. Da bi vidjeli je li to uzrok blagog pada ekvivalente vodljivosti prisjetimo se izraza (47)



Slika 16: Slika a) prikazuje molarnu vodljivost protuiona i poliiona, dok slika b) prikazuje molarnu vodljivost poliiona. Na slici b) crta predstavlja prilagodbu po zakonu potencije na podatke molarne vodljivosti poliiona.

$$D = \frac{k_B T c \xi^2}{\eta_s N} \quad (79)$$

Budući smo u eksperimentu odredili ovisnost korelacijske duljine o koncentraciji monomera kao $\xi \propto c^{-1/2}$ proizlazi da je difuzijska konstanta neovisna o koncentraciji $D \propto 1/N$. Neovisnost difuzijske konstante o koncentraciji monomera se može vidjeti kod više autora [10, 22]. Budući je difuzijska konstanta neovisna o koncentraciji možda je uzrok blagog pada molarne vodljivosti koncentracijska ovisnost efektivne gustoće naboja poliiona. Stoga ćemo izračunati molarnu vodljivost poliiona uz pretpostavku koncentracijske ovisnosti efektivne gustoće naboja poliiona. Koncentracijsku ovisnost efektivne gustoće naboja poliiona uvodimo preko broja slobodnih protuiona $f(c)$. U tu svrhu prisjetimo se izraza (40) iz poglavlja II F 2

$$\Lambda_p = F \frac{f N e}{k_B T} \cdot D \quad (80)$$

Budući je konstanta difuzije neovisna o koncentraciji molarnu vodljivost poliiona možemo zapisati na slijedeći način

$$\Lambda_p = const \cdot f \quad (81)$$

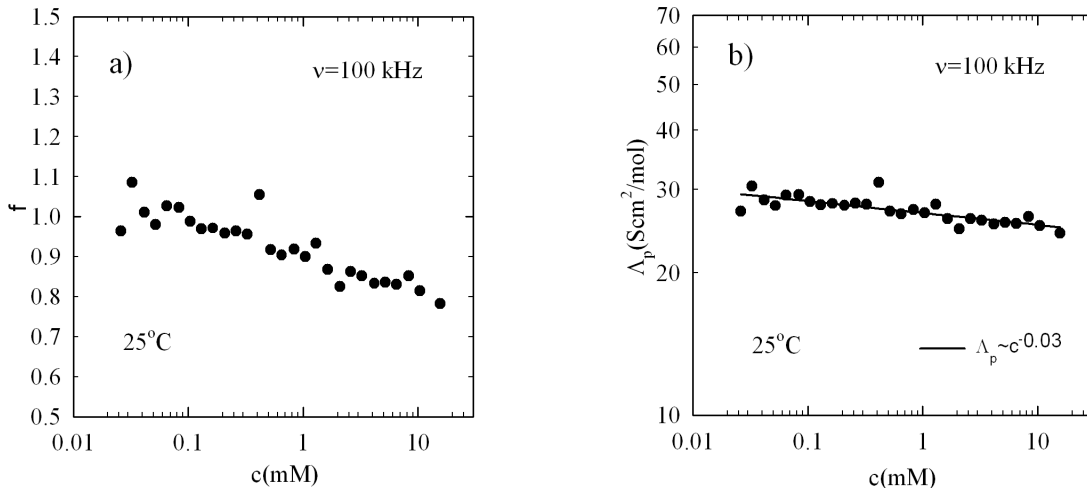
Uvrštavanjem izraza (81) u izraz (77) dobijemo

$$\sigma = cf(\Lambda_1 + const \cdot f) \quad (82)$$

Taj izraz je kvadratna jednadžba oblika

$$const \cdot f^2 + \Lambda_1 \cdot f - \frac{\sigma}{c} = 0 \quad (83)$$

Budući da na najmanjoj koncentraciji monomera očekujemo najmanje zasjenjenje poliiona protuionima jednadžbu (83) rješavamo uz uvjet da za najmanju koncentraciju polielektrolitske otopine su svi protuioni slobodni, tj. $f_{c=min} = 1$. Stoga u kvadratnu jednadžbu (83) uvrstimo uvjet $f_{c=min} = 1$ te izračunamo vrijednost $const$ i dobijemo $const = 26.78$. To znači da je u polielektrolitskoj otopini koncentracije monomera $c = 0.025 \text{ mM}$ vodljivost poliiona jednaka $\Lambda_p = 26.78 \text{ Scm}^2/\text{mol}$. S vrijednošću ulazimo u kvadratnu jednadžbu te ju riješimo s obzirom na f zadržavajući samo pozitivno rješenje. Tako izračunati $f(c)$ je prikazan na slici 17 a), dok je molarna vodljivost poliiona, koja je jednaka $\Lambda_p(c) = const \cdot f(c)$ prikazana na slici 17 b).



Slika 17: Slika a) prikazuje koncentracijsku ovisnost broja slobodnih protuiona, dok slika b) prikazuje molarnu vodljivost poliiona.

Na slici 17 a) se vidi smanjenje broja slobodnih protuiona u ovisnosti o koncentraciji monomera. Uzrok smanjenja broja slobodnih protuiona je zasjenjenje poliiona. Naime povećanjem koncentracije monomera povećava se zasjenjenje poliiona protuionima. To zasjenjenje vrše protuioni. Zbog toga se smanjuje udio slobodnih protuiona. Smanjenje udjela slobodnih protuiona povlači smanjenje gustoće naboja poliiona jer su oni neutralizirani protuionima. A smanjenje gustoće naboja poliiona povlači smanjenje molarne vodljivosti poliiona. Na slici 17 b) vidimo blago opadanje molarne vodljivosti poliiona s povećanjem koncentracije poliiona. Pad molarne vodljivosti je mnogo manji nego kod pretpostavke konstantnog broja protuiona i iznosi $\Lambda_p \propto c^{-0.03}$. Budući da smatramo da uzrok tog blagog pada nije sistematska pogreška taj blagi pad predstavlja zanimljivu tendenciju.

Sada možemo izraziti difuzijsku konstantu koristeći izraz (80)

$$D = \frac{\Lambda_p k_B T}{F f N e} \quad (84)$$

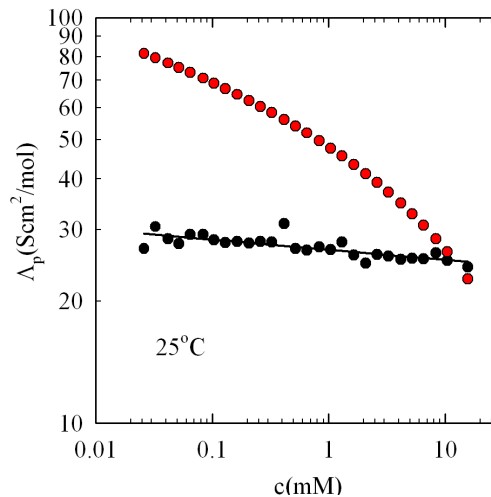
Iznos difuzijske konstante poliiona sačinjenog od $N = 4000$ monomera u otopini monomerske koncentracije $c = 1.3 \text{ mM}$ je $D = 20.4 \cdot 10^{-10} \text{ [cm}^2/\text{s]}$. Gdje smo koristili $F = 96485 \text{ As/mol}$, $f = 1$, $T = 25^\circ\text{C}$ i $k_B = 1.38 \cdot 10^{-23} \text{ [J/K]}$. Zanimljivo je tu vrijednost difuzijske konstante usporediti s difuzijskom konstantom dobivenom pomoću hidrodinamičke simulacije napravljene za kratke štapičaste molekule [23]

$$D = k_B T \frac{\ln(L_c/d)}{3\pi\eta L_c} \quad (85)$$

gdje smo za promjer Na-HA uzeli $d = 0.5 \text{ nm}$, za duljinu konture poliiona $L_c = N \cdot b = 4000 \cdot 1 \text{ nm}$ a za viskoznost vode na temperaturi 25°C $\eta = 8.9 \cdot 10^{-4} [\text{Pas}]$. Tako izračunata vrijednost difuzijske konstante iznosi $D = 110 \cdot 10^{-10} [\text{cm}^2/\text{s}]$. Primijetimo da je ova vrijednost difuzijske konstante pet puta veća od vrijednosti koju smo mi dobili iz eksperimentalnog podatka koristeći standardni izraz (84). Pretpostavljamo da je tomu uzrok činjenica da naš uzorak nije kratki štapić, kako je pretpostavljeno u [23], već dugački lanac. Budući da izraz (85) ne uzima u obzir zasjenjenje poliiona navodimo i izraz za pokretljivost koji uzima u obzir zasjenjenje a dobiven je također hidrodinamičkom simulacijom drugih autora [24]

$$\mu_p = eN\mu_0 \cdot \left[-2\frac{d}{b} \ln(\kappa b) \right] \quad (86)$$

gdje je $\mu_0 = (6\pi\eta d)^{-1}$, Debyeova duljina $\kappa^{-1} = 1/\sqrt{8\pi l_B I_s}$ a $I_s = c/2 = 1.3 \text{ mM}/2$. Vrijednost μ_p uvrstimo u izraz koji proizlazi iz izraza (39), te dobijemo vrijednost difuzijske konstante $D(c = 1.3 \text{ mM}) = 29.7 \cdot 10^{-10} [\text{cm}^2/\text{s}]$. Tako dobivena difuzijska konstanta u iznenađujuće je dobrom slaganju s difuzijskom konstantom dobivenom pomoću standardnog izraza (84). Iako se vrijednosti difuzijskih konstanti slažu iznenađujuće dobro, vodljivost u funkciji koncentracije koja proizlazi iz teorijskog razmatranja ne podudara se s našim izmjerenim podacima. Na slici 18 su izmjereni podatci molarne vodljivosti prikazani crnim a podatci dobiveni hidrodinamičkom simulacijom crvenim točkama [24].



Slika 18: Izmjereni podatci su prikazani crnim točkama a crvenim točkama su prikazani podatci dobiveni hidrodinamičkom simulacijom.

VI. ZAKLJUČAK

Pomoću niskofrekventne dielektrične spektroskopije (eng. *Low Frequency Dielectric Spectroscopy*) proučavali smo dielektrična i električna svojstva polurazrijeđenih vodenih otopina natrijeve soli hialuronske kiseline (Na-HA). Električna svojstva smo proučavali mjerenjem istosmjerne vodljivosti tih otopina na frekvenciji 100 kHz . Vodljivost polielektrolitske otopine ima dva doprinosa. To su vodljivost protuiona koja se može aproksimirati vodljivošću iona u čistoj otopini i vodljivost poliiona. Molarna vodljivost protuiona je neovisna o koncentraciji Na-HA i iznosi $\Lambda_1 = 50\text{ [Scm}^2/\text{mol]}$. Određena iz mjerenja molarna vodljivost poliiona iznosi $\Lambda_p \approx 30\text{ [Scm}^2/\text{mol]}$ i neznatno opada s koncentracijom Na-HA. Taj blagi pad vodljivosti s koncentracijom može doći ili od koncentracijske ovisnosti broja slobodnih protuiona (f) ili od koncentracijske ovisnosti korelacijske duljine (ξ) budući je vodljivost poliiona dana izrazom $\Lambda_p \propto f\xi^2c$. Da bi odredili uzrok tog pada odredili smo koncentracijsku ovisnost korelacijske duljine (ξ) pomoću dielektrične spektroskopije. Dielektrični odgovor u rasponu frekvencija $100\text{ Hz} - 110\text{ MHz}$ otkriva dva moda relaksacije. Mod u kHz području nazivamo niskofrekventni mod (LF) relaksacije, a mod u MHz području nazivamo visokofrekventni (HF) mod relaksacije. Amplitude i karakteristično vrijeme oba moda ovise o koncentraciji proučavanog uzorka Na-HA. Karakteristično vrijeme relaksacijskog procesa nam omogućava da izračunamo karakterističnu duljinu povezanu s tim procesom. Tu karakterističnu duljinu pokušavamo identificirati kao jednu od fundamentalnih duljina polielektrolitske otopine predviđene teorijom. Karakteristična duljina niskofrekventnog relaksacijskog procesa (L_{LF}) nalazi se u intervalu $70 - 800\text{ nm}$ te ima koncentracijsku ovisnost $L_{LF} \propto c_{HA}^{-0.50 \pm 0.02}$. Nju povezujemo sa teorijski predviđenom renormaliziranom Debyeovom duljinom. Karakteristična duljina visokofrekventnog relaksacijskog procesa (L_{HF}) se nalazi u intervalu $4 - 40\text{ nm}$ te ima koncentracijsku ovisnost $L_{HF} \propto c_{HA}^{-0.48 \pm 0.02}$. Nju povezujemo sa teorijski predviđenom de Gennesovom korelacijskom duljinom, za koju je teorijski predviđena ovisnost o koncentraciji $\xi \propto c^{-0.50}$. Ona opisuje svojstvo grupe lanaca polielektrolitske otopine. Kod dielektričnog odgovora osim analize dielektrične funkcije bavili smo se i brojem sudionika relaksacijskog procesa. Za LF proces relaksacije dobili smo da broj sudionika relaksacijskog procesa opada s rastom koncentracije Na-HA dok je broj protuiona sudionika HF relaksacijskog procesa neovisan o koncentraciji Na-HA. Moguće objašnjenje pada broja sudionika LF relaksacijskog procesa je povećanje zasjenjenja s povećanjem koncentracije Na-HA.

Izmjerena koncentracijska ovisnost korelacijske duljine $\xi \propto c_{HA}^{-0.50}$ znači da je koncentracijska ovisnost molarne vodljivosti poliiona dana izrazom $\Lambda_p \propto f$. Tako smo ustvrdili da je za izmjerenu blagu ovisnost o koncentraciji odgovoran udio slobodnih protuiona, tj. smanjenje efektivne gustoće naboja poliiona koje je uzrokovano povećanjem zasjenjenja. Konačno, potvrdili smo činjenice standardnih teorijskih modela koje predviđaju i vodljivost poliiona danu izrazom $\Lambda_p \propto f\xi^2c$ i neovisnost vodljivosti poliiona o koncentraciji.

-
- [1] M.B.Jackson, **Molecular and Cellular Biophysics**, Cambridge University Press, New York (2006).
- [2] D. R. Lide, **CRC Handbook of Chemistry and Physics, 88 edition** CRC Press, Boca Raton (2007).
- [3] M.Daune, **Molecular Biophysics**, Oxford University Press, New York (2003).
- [4] P. G. de Gennes, P. Pincus, R. M. Velasco and F. Brochard, *J. Phys. (Paris)* **37**, 1461 (1976).
- [5] F. Bordi, C. Cametti, R. H. Colby, *J. Phys.:Condens. Matter* **16**, R1423 (2004.)
- [6] F. Bordi, C. Cametti, T. Gili, *Phys. Rev. E* **66**, 021803 (2002).
- [7] G. S: Manning, *J. Chem. Phys.* **51**, 924 (1969).; G. S: Manning, *J. Chem. Phys.* **51**, 934 (1969).
- [8] G. S: Manning, *J. Chem. Phys.* **85**, 1506 (1981).
- [9] M. Rubinstein, R. H. Colby, **Polymer Science**, Oxford University Press, New York (2008).
- [10] A. V. Dobrynin, R. H. Colby and M. Rubinstein, *Macromolecules* **28**, 1859 (1995).
- [11] T. E. Angelini, R. Golestanian, R. H. Coridan, J. C. Butler, A. Beraud, M. Krisch, H. Sinn, K. S. Schweizer, G.C.L. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 7962 (2006.)
- [12] J. Herak, **Osnove kemijske fizike**, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb (2001).
- [13] D. Voet, J. G. Voet, **Biochemistry**, John Wiley & sons, New York (2004).
- [14] B. Alberts et. al., **Molecular biology of the cell**, Garland Science, New York (2004).
- [15] E. Buhler, F. Boué, *Macromolecules* **37**, 1600 (2004).
- [16] Dielectric Spectroscopy Centre Manual, Zagreb (2009)
- [17] Sanja Dolanski Babić, **Električna i dielektrična svojstva vodenih otopina genomske deoksiribonukleinske kiseline**, Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb (2008).
- [18] Zrinka Gregurić, **Dielektrična relaksacija vodenih otopina hijaluronske kiseline**, Diplomski rad, PMF Sveučilište u Zagrebu, Zagreb (2008).
- [19] J. Baker-Jarvis, C. A. Jones, B. Riddle, **Electrical Propertis and Dielectric Relaxation of DNA in Solution**, NIST Technical Note 1509 (NIST, Boulder, Colorado, 1998.)
- [20] R. W. O'brien, *Journal of Colloid and Interface Science.* **113**, 81 (1986).
- [21] S. Tomić, S. Dolanski Babić, T. Vuletić, S. Krča, D. Ivanković, L. Griparić i R. Podgornik, *Phys. Rev. E* **75**, 021905 (2007).; S. Tomić, T. Vuletić, S. Dolanski Babić, S. Krča, D. Ivanković, L. Griparić i R. Podgornik, *Phys. Rev. Lett.* **97**, 098303 (2006).; S. Tomić, S. Dolanski Babić, T. Ivek, T. Vuletić, S. Krča, F. Livolant, R. Podgornik, *Europhys. Lett.* **81**, 68003 (2008).
- [22] M. Muthukumar, *J. Chem. Phys.* **107**, 2619 (1997).
- [23] E. Stellwagen, Y. Lu, N. C. Stellwagen, *Biochemistry* **42**, 11745 (2003).
- [24] S. Fischer, A. Naji, R. Netz, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 176103 (2008).
- [25] T. Odijk, *J. Polym. Sci.* **15**, 477 (1977).