

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

Andrej Vidak

ELEKTRIČNA VODLJIVOST
RAZRIJEĐENIH OTOPINA
NATRIJ POLISTIREN SULFONATA

Diplomski rad

Zagreb 2010.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

SMJER: PROFESOR FIZIKE I INFORMATIKE

Andrej Vidak

Diplomski rad

ELEKTRIČNA VODLJIVOST
RAZRIJEĐENIH OTOPINA
NATRIJ POLISTIREN SULFONATA

Voditelj diplomskog rada: Dr. sc. Tomislav Vuletić

Ocjena diplomskog rada: _____

Povjerenstvo: 1. _____

2. _____

3. _____

Datum polaganja: _____

Zagreb, 2010.

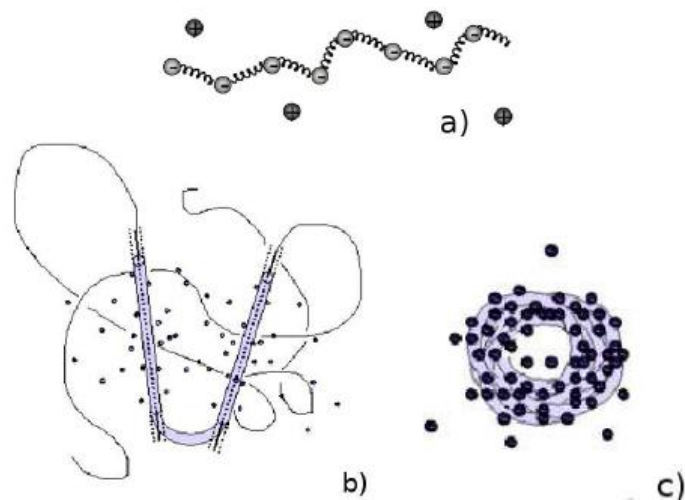
Sadržaj rada

1. Uvod u polielektrolite	1
1.1. Poisson-Boltzmannova jednačba	3
1.2. Debye-Hückelova aproksimacija	3
1.3. Manning Oosawa kondenzacija	5
1.4. Duljina tvrdokornosti	8
1.5. Koncentracija preklapanja	9
1.6. Vodljivost u razrijeđenim polielektrolitima	10
1.6.1 Molarna vodljivost poliiiona	12
1.6.2 Difuzijska konstanta	13
2. Materijali i metode	15
2.1. Monodisperzni uzorci natrij polistiren sulfonata (NaPSS)	15
2.2. Priprema monodisperznih uzoraka NaPSS-a	16
2.3. Konduktometrija	17
3. Rezultati	19
3.1. Određivanje konstante komore	19
3.2. Vodljivost otopina NaPSS-a u čistoj vodi	23
4. Rasprava	27
4.1. Koncentracija preklapanja	27
4.2. Vodljivost i difuzijska konstanta poliiiona	28
4.3. Teorijska difuzijska konstanta	30
5. Zaključci	33
6. Zahvale	34
7. Popis literature	35
8. Dodaci	37
A) Metodički dio	37
B) Fizikalne veličine	47
C) Kazalo pojmova	49
D) Kratice	50

1.Uvod u polielektrolite

Polielektrolite definiramo kao vodene otopine polimera koji posjeduju brojne kemijske grupe koje se lako ioniziraju [1,2,3]. Polielektrolite u biologiji prepoznajemo u vodenim otopinama biopolimera, kao što su proteini i DNK, pa sve do molekularnih nakupina kao što su bakterijski virusi. Polielektroliti se nalaze u koloidnim sustavima i mekoj materiji općenito, pri čemu pokazuju veliki raspon ponašanja, što ovisi o njihovoj strukturi, koncentraciji, valentnosti protuiona, te valentnosti i koncentraciji dodane soli. Nadalje, polielektroliti mogu biti i sintetski kao što je natrij polistiren sulfonat (NaPSS) koji je predmet našeg istraživanja. Polimeri u polarnim otapalima disociraju na poliione i protuione (ione naboja suprotnog naboju poliiona). Poliion teži štapićastoj strukturi (Slika 1.1a) jer postoji vrlo snažna odbojna elektrostatska sila između samih naboja na poliionu. Ioni dodane soli svojom preraspodjelom dovode do zasjenjenja elektrostatskog odbijanja, pa konformacija poliiona postaje sve fleksibilnija (Slika 1.1 b). Nadalje, polivalentni protuioni ili dodana sol imaju sposobnost da elektrostatsko odbijanje pretvore u elektrostatsko privlačenje što može smanjiti krutost nabijenih polimera koji tada kolabiraju u visoko kompaktno stanje (Slika 1.1 c). Unatoč tome što sudjeluju u mnogim tehnološkim i biološkim procesima, složena fenomenologija koju oni predstavljaju nije još uvijek u dovoljnoj mjeri eksperimentalno razjašnjena, već postoji samo teorijski pogled na pojedine aspekte ove fenomenologije. Dinamička svojstva ovih sustava manifestiraju se preko elektroforetske mobilnosti, difuzije, viskoznosti i transportnih procesa pod utjecajem vanjskih sila i uvelike se razlikuju od neutralnih polimera. Njihovo osebujno i složeno ponašanje nastaje zbog elektrostatske interakcije uzduž naboja poliiona, te interakcije sa protuionima (poliionima). Trenutni modeli polielektrolitskih otopina se uglavnom baziraju na protuionskoj kondenzaciji koju su prvi uveli Imai i Onishi [4], Oosawa [5] i kasnije Manning [6], za beskonačno dug i tanak linearno nabijen lanac. Iako postoje eksperimentalni dokazi protuionske kondenzacije [7,8,9], prema teorijskom Manningovom modelu oni vrijede samo za beskonačno male koncentracije. Prema Manningu i drugima [5,6] kada je linearna gustoća naboja uzduž poliionskog lanca dovoljno velika, zbog elektrostatskog privlačenja poliiona dio disociranih iona se vraća u okolinu poliiona tj. dolazi do kondenzacije protuiona. Zbog „kondenzacije“ dolazi do efektivnog smanjenja naboja poliiona. Potpuni pristup objašnjenju ovih fenomena polimerske otopine je složen zbog intrinzične asimetrije polielektrolitske otopine, pa teško možemo odrediti doseg djelovanja pojedinog poliiona, jer jako nabijen fleksibilan ili djelomično fleksibilan poliionski lanac zadržava u svojoj okolini dio protuiona. Također, na doseg djelovanja poliiona utječu sami protuioni, te kationi i anioni

iz slane otopine. Protuioni koji se nalaze unutar dosega poliiiona ograničeni su na gibanje uzduž poliiionskog lanca, dok se ostali protuioni mogu slobodno ili gotovo slobodno kretati. Većina strukturnih i dinamičkih svojstava polielektrolita u biološkom kontekstu su kontrolirani gustoćom naboja uzduž poliiiona i ionskom jakošću okolinske otopine. U našem istraživanju proučavamo svojstva vodljivosti i difuzijsku konstantu vodenih otopina sintetskog polielektrolita NaPSS-a različitim koncentracijama kako bi pomoću dobivenih rezultata donijeli zaključke o konformaciji i kondenzaciji koji se mogu primijeniti na istraživanja drugih polielektrolita.



Slika 1.1:

- a.) polimer se nalazi u vodenoj otopini gdje zauzima izduženu konformaciju*
- b.) lanac polimera se počinje savijati u slanoj otopini sa velikom koncentracijom jednovalentnih iona, dok lokalno može biti ravan*
- c.) polimer zauzima kompaktnu konformaciju globularnog ili toroidalnog oblika u slanoj otopini sa polivalentnim ionima*

1.1. Poisson-Boltzmannova jednađba

Poisson-Boltzmannova jednađba najjednostavnije opisuje elektrostatsku interakciju u polielektrolitima sa jednovalentnim protuionima i dodanom soli. Dok Poissonova jednađba povezuje gustoću naboja i potencijal, Boltzmannova raspodjela opisuje raspodjelu iona u otopini. Povezivanjem tih dviju jednađbi dobivamo izraz za gustoću naboja opisanu pomoću Boltzmannove raspodjele i povezanu sa električnim potencijalom.

$$\Delta\varphi(r) = -\frac{e}{\varepsilon} \sum_i z_i c_i(\infty) e^{\frac{-z_i e \varphi(r)}{kT}} \quad (1.1)$$

Unutar izraza (1.1) φ označava električni potencijal, e elementarni naboj, ε je permitivnost otapala, Z je valentnost iona, kT energijska skala Boltzmannove raspodjele zadana termičkim gibanjem čestica, a $c(\infty)$ označava koncentraciju iona daleko od promatrane točke u kojoj računamo električni potencijal. Ionska otopina jednovalentnih iona, koje predstavljamo kao točkaste naboje, teži stanju homogene raspodjele naboja u cijeloj otopini. Homogenu raspodjelu pozitivnih i negativnih točkastih naboja osigurava termičko gibanje u otopini. Međutim, gibanje protuiona koji se nalaze uz polion je ograničeno elektrostatskim međudjelovanjem što onda sprječava i jednoliku raspodjelu disociranih protuiona.

Poisson-Boltzmannova (PB) jednađba općenito opisuje međudjelovanje termičkog pobuđenja i elektrostatske interakcije u sustavu poliona i protuiona.

1.2. Debye-Hückelova aproksimacija

Ako je elektrostatsko međudjelovanje slabo i zadovoljen je uvjet $z_i e \varphi \ll kT$, tada eksponencijalnu funkciju u izrazu (1.1) možemo razviti u Taylorov red. Za Debye-Hückelovu aproksimaciju uzimaju se u obzir samo prva dva člana reda (gdje prvi iznosi 0 zbog neutralnosti otopine) te dobivamo slijedeći izraz:

$$\Delta\varphi(r) = -\frac{e^2}{\varepsilon kT} \sum_i z_i^2 c_i(\infty) \varphi(r) \quad (1.2)$$

Kako bi pojednostavili izraz uvodimo varijablu κ :

$$\kappa^2 = -\frac{e^2}{\epsilon k T} \sum_i z_i^2 c_i(\infty) \quad (1.3)$$

$$\Delta\varphi(r) = \kappa^2 \varphi(r) \quad (1.4)$$

Izraz (1.4) prikazuje lineariziranu PB jednadžbu koja se naziva Debye-Hückelova i čije rješenje daje potencijal oblika:

$$\varphi \propto \frac{e^{-\kappa r}}{r} \quad (1.5)$$

Veličina κ^{-1} ima dimenziju duljine i naziva se Debyeva duljina zasjenjenja. Na udaljenostima manjim od κ^{-1} elektrostatsko međudjelovanje je snažno (praktički Coulombsko), dok na udaljenostima većima od κ^{-1} elektrostatsko međudjelovanje naglo slabi (eksponencijalno trne). Ovakvo ponašanje potencijala je izravna posljedica preraspodjele jednostavnih iona u otopini. Kažemo da je elektrostatski potencijal u otopini **zasjenjen**. Za jednovalentne soli Debyevu duljinu dobivamo pomoću slijedećeg izraza:

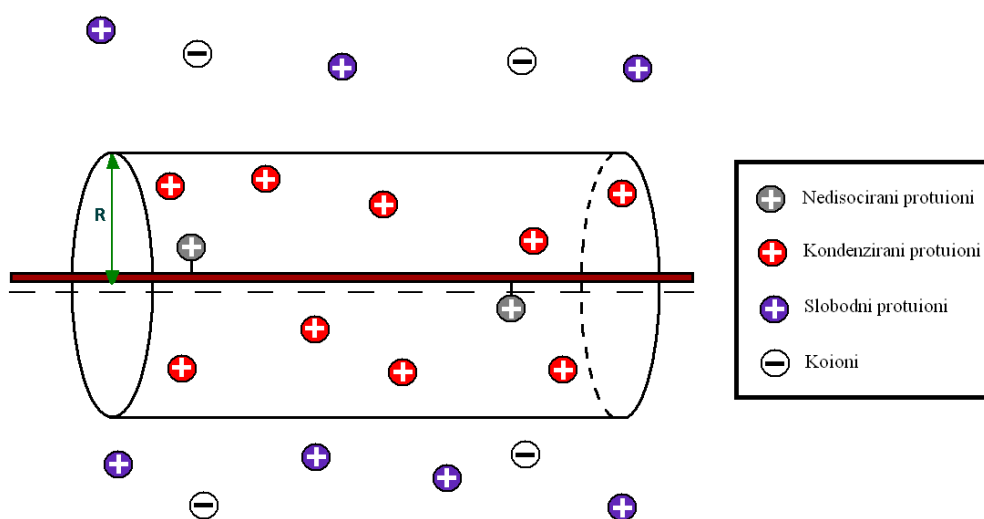
$$\kappa^{-1} [nm] = \frac{10}{\sqrt{I_S [mM]}} \quad (1.6)$$

κ^{-1} se smanjuje sa povećanjem ionske jakosti otopine I_S , tj. $\kappa^{-1} \propto I_S^{-1/2}$.

Npr. za 1 mM otopinu Debyeva duljina iznosi ~ 10 nm.

1.3. Manning Oosawa kondenzacija

Linearna gustoća naboja na poliiionu u polielektrolitu je velika pa uvjet $z_i e \phi \ll kT$ iz Debye-Hückel aproksimacije često ne može biti zadovoljen. Stoga postoji jako elektrostatsko privlačenje između poliiionskih lanaca i protuiona (iako ovi nisu kemijski vezani na poliiion). To privlačenje rezultira pojavom kondenzacije protuiona na lancima. Kondenzacija efektivno smanjuje linearnu gustoću naboja poliiiona, što onda samosuglasno zaustavlja i daljnju kondenzaciju – linearna gustoća se smanjuje samo do određene granice. U pojednostavljenoj slici polielektrolitske otopine pretpostavljamo da je otapalo homogeno, relativne permitivnosti ϵ_r , te da postoji jednolika raspodjela točkastih naboja. Polielektrolitski lanac je određen linearnom gustoćom naboja e/b gdje je b prosječna udaljenost između susjednih elementarnih naboja na polielektrolitskom lancu. Npr. linearna gustoća naboja dsDNK iznosi $2e/0.34nm$ iz čega proizlazi da je prosječna udaljenost između dva susjedna elementarna naboja $b=0.17nm$. Pri tome poliiionski lanac opisujemo cilindrom beskonačne duljine i polumjera R (Slika 1.2).



Slika 1.2: Prikaz protuiona koji se nalaze u cilindru oko poliiiona i izvan njega. Nedisocirani protuioni su ioni koji su još uvijek kemijski vezani sa poliiionom. Kondenzirani protuioni su ioni koji su nastali disocijacijom sa poliiiona, te se gibaju unutar prikazanog cilindra oko poliiiona. Slobodni protuioni su nastali disocijacijom poliiiona ili iz dodane soli, a nalaze se izvan cilindričnog volumena. Koioni su nastali iz soli koja je dodana u otopinu.

Iz Gaussovog teorema proizlazi izraz za elektrostatski potencijal linearne gustoće naboja e/b :

$$\varphi(r) = \frac{2e}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r b} \ln r \quad (1.7)$$

U izrazu (1.7) r je udaljenost protuiona od lanca za koju vrijedi: $r \leq R$. Sporo opadanje elektrostatskog potencijala s logaritamskom funkcijom ukazuje na to da ioni osjećaju elektrostatski potencijal i na većim udaljenostima što vodi na pojavu kondenzacije iona. Radi jednostavnosti pretpostavit ćemo da su protuioni jednovalentni. Dakle, broj jednovalentnih protuiona naboja e u cilindru polumjera R koji opisuje polielektrolit linearne gustoće naboja e/b je proporcionalan particijskoj funkciji sistema. U izračunu particijske funkcije sistema uzimamo u obzir Boltzmannovu raspodjelu naboja:

$$\Omega = \int_0^R e^{-e\varphi(r)/k_B T} 2\pi r dr \quad (1.8)$$

Integriranje kutnih koordinata, o kojima ne ovisi energija sistema, dobivamo faktor 2π .

Uvrstivši (1.7) u (1.8) slijedi:

$$\Omega = \int_0^R r^{-2e^2/4\pi\epsilon_0\epsilon_r b k_B T} 2\pi r dr = 2\pi \int_0^R r^{1-2e^2/4\pi\epsilon_0\epsilon_r b k_B T} dr = 2\pi \int_0^R r^{1-2u} dr \quad (1.9)$$

Integral particijske funkcije (1.9) divergira u $r=0$ kada je eksponent manji od -1 , dakle za $u > 1$. Tako velika slobodna energija sistema se očituje u snažnom elektrostatskom privlačenju polimera i njegovih protuiona te se određeni udio protuiona kondenzira uz polimer (Slika 1.2). Parametar u je parametar gustoće naboja:

$$u = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r b k_B T} = l_B / b \quad (1.10)$$

U gornjem izrazu l_B je Bjerrumova duljina jednovalentnih protuiona određena izrazom

$$l_b = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r kT},$$

dok je b udaljenost naboja poliiiona. Bjerrumova duljina je mjera odnosa

jakosti elektrostatskog međudjelovanja i toplinskih pobuđenja naboja u nekom otapalu (dielektričnom mediju). Za jednovalentne ione na temperaturi od 25°C uz relativnu permitivnost $\epsilon_r = 78.65$, Bjerumova duljina iznosi 0.72 nm. Ovaj podatak nam govori da ako je linearna gustoća naboja poliiiona veća od jednog naboja na 0.72 nm protuioni iz otopine će se nakupljati u blizini poliiiona dok mu efektivno ne smanje gustoću naboja na jedan naboj na svakih 0.72 nm. Faktor smanjenja linearne gustoće naboja polielektrolita zbog kondenzacije monovalentnih protuiona se izražava slijedećom relacijom:

$$1 - f = 1 - \frac{1}{u} \tag{1.11}$$

Smanjenje linearne gustoće naboja daje za posljedicu povećanje efektivne udaljenosti između susjednih elementarnih naboja s b na l_B pa parametar gustoće naboja izražen relacijom (1.11) postaje $u = 1$. Smatra se da je gibanje kondenziranih protuiona prostorno ograničeno u blizini poliiiona dok se gibanje nekondenziranih protuiona tzv. slobodnih protuiona ne mijenja pojavom kondenzacije (Slika 1.2). Kondenzacija je karakteristična za cilindrično simetrične sustave, zbog njihove logaritamske ovisnosti elektrostatskog potencijala.

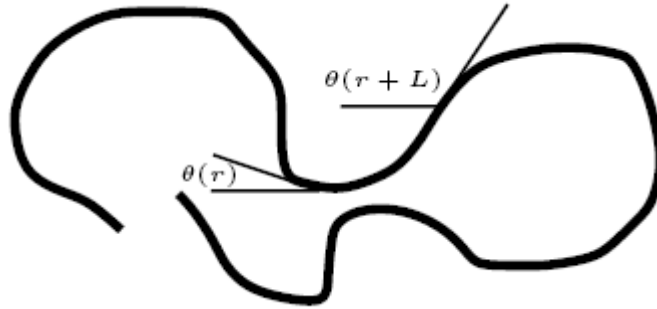
	b[nm]	U	f
dsDNK	0,17	4,23	0,23
ssDNK	0,43	1,67	0,59
HA	1	0,72	1,38
NaPSS	0,25	2,88	0,34

Tablica 1.1: Vrijednosti b (udaljenosti naboja na poliiionu), u (Manningovog parametra smanjena gustoće naboja) i f (udjela slobodnih naboja) za dvostruku uzvojniju DNK (dsDNK), jednostruki lanac DNK(ssDNK), hijaluronsku kiselinu (HA) i natrij polistiren sulfonat (NaPSS).

U tablici 1.1. navodimo primjere za kondenzaciju na nekim polielektrolitima. Udio slobodnih naboja za NaPSS kojim se bavimo u ovom radu iznosi $f=0.34$, što znači da su prosječno oko dvije sulfonatne skupine, od ukupno tri, neutralizirane s protuionima. Na takav način nastaje oko poliona neka vrsta kondenziranog sloja u kojem su lokalne ionske koncentracije puno više nego što je koncentracija *bulk* otopine. Rezultati mjerenja raspršenja X-zraka pod malim kutovima (SAXS) na jednovalentnim solima DNK potvrđuju pojavu kondenzacije [10]. Pojava kondenzacije u okviru MO teorije je uvjetovana ispunjenjem zahtjeva da Debyeova duljina zasjenjenja mora biti puno veća od polumjera polimera: $\kappa^{-1} \gg a$ (R). S obzirom da je $\kappa^{-1} \propto I_s^{-1/2}$, uvjet može biti ispunjen samo u otopinama s niskom ionskom jakošću. Kod istraživanja kondenzacije za DNK pokazalo se da i koncentracija DNK mora biti niska [11]. S druge strane, za konačne koncentracije DNK predložen je puno složeniji model raspodjele protuiona, koji se temelji na rješenju nelinearne Poisson- Boltzmannove jednadžbe za DNK u okviru modela ćelije. MO teorija govori da su kondenzirani ioni savršeno pokretni unutar cilindričnog kondenzacijskog sloja.

1.4. Duljina tvrdokornosti

Polimeri osim elektrostatskih svojstava povezanih sa nabojem koji nose pokazuju i svojstvo krutosti (savitljivosti) uzrokovano samom njihovom strukturom. Savitljivost polimera se opisuje pomoću duljine tvrdokornosti L_p . Polimeri čija je dužina manja od njihove duljine tvrdokornosti ponašaju se kao kruti štapići, dok se polimeri sa većom dužinom od njihove duljine tvrdokornosti opisuju statistički kao nasumično savijeni lanci. Duljina tvrdokornosti predstavlja granicu između krutog i savitljivog lanca, najmanja udaljenost duž polimera na kojoj segment lanca nije u korelaciji sa segmentima ostatka lanca. Kako bismo to kvantificirali, definirajmo kut θ kao kut između vektora tangente na polimer na udaljenosti L (Slika 1.3) od ishodišta i vektora tangente na polimer u ishodištu. Korelacija između smjerova tih dvaju vektora opada eksponencijalno s udaljenošću duž polimera. Tj. kosinus kuta θ opada eksponencijalno u ovisnosti o količniku udaljenosti L i duljine tvrdokornosti P, $\cos \Theta = e^{-\frac{L}{P}}$. Npr. duljina tvrdokornosti kod dsDNK (50 nm), ssDNK (1.5-3 nm), Hijaluronska kiselina(4-6 nm), NaPSS (1 nm).



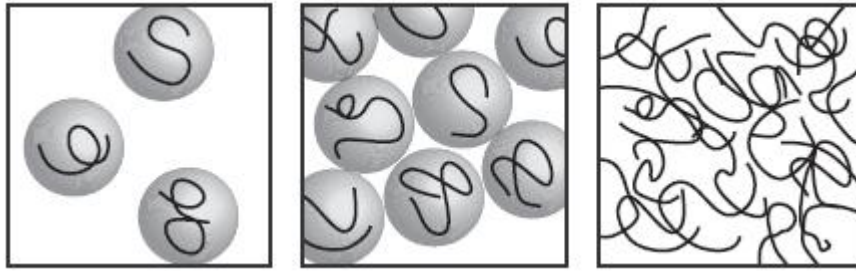
Slika 1.3: Shematski prikaz duljine tvrdokornosti

1.5. Koncentracija preklapanja

Kod razrijeđenih otopina koncentracija polielektrolita (poliiona) je niska, te se pojedini lanci nalaze na međusobno dovoljnoj udaljenosti da ne dođe do preklapanja. Ako se koncentracija polielektrolita poveća tada dolazimo do mogućnosti da se polielektrolitski lanci preklapaju. Koncentracijom preklapanja nazivamo koncentraciju otopine na kojoj dolazi do preklapanja polielektrolitskih lanaca i označavamo je sa c^* . Otopinu u kojoj dolazi do preklapanja lanaca ($c > c^*$) nazivamo polurazrijeđenom otopinom. De Gennes [12] je prvi računao koncentraciju preklapanja, dok je kasnije Dobrynin zajedno sa suradnicima došao do koncentracije preklapanja drugom metodom [13]. Do preklapanja polielektrolitskih lanaca dolazi kada je udaljenost između lanaca usporediva sa njihovom duljinom konture L_c , uz uvjet koncentracije $c = c^*$. Vrijedi izraz:

$$c^* \propto \frac{Nm_b}{(L_c)^3} \propto \left(\frac{Nm_b}{(Nb)^3} \right) \propto N^{-2} \quad (1.12)$$

U izrazu (1.12) m_b je masa jednog monomera, dakle umnožak $N \cdot m_b$ je masa polimera. Duljina konture L_c je jednaka umnošku stupnja polimerizacije N i duljine jednog monomera b kada se polimer opisuje kao kruti štapić. Dakle, na koncentraciji c^* masa jednog lanca se nalazi u volumenu L_c^3 opisanom duljinom toga lanca (Slika 1.4).



a.) $c < c^*$

b.) $c = c^*$

c.) $c > c^*$

Slika 1.4: Prikaz lanaca unutar polielektrolita za različite koncentracije:

a.) Razrijeđena otopina ($c < c^*$)

b.) Otopina na koncentraciji preklapanja ($c = c^*$)

c.) Polurazrijeđena otopina ($c > c^*$)

1.6. Vodljivost u razrijeđenim polielektrolitima

U razrijeđenim polielektrolitima polioni su jako udaljeni jedni od drugih, te se ne preklapaju. U otopinama bez dodane soli Debyeova duljina je mnogo veća od veličine poliona, zbog čega se naboji na polionu međusobno «vide» bez zasjenjenja tj. međudjeluju Coulombovom silom. Zbog odbijanja istovrsnih naboja poliona energetski je povoljnije da su ti naboji međusobno udaljeni što više mogu biti. Takvo odbijanje uzrokuje izravnavanje poliona u izduženi, štapićasti oblik. Duljina štapića jednaka je umnošku broja monomera i njihove duljine b tj. duljini konture L_c .

$$L_c = Nb \quad (1.13)$$

Ako polielektrolit stavimo u vanjsko istosmjerno električno polje polioni i protuioni će se početi gibati u suprotnim smjerovima. Odgovarajuću specifičnu vodljivost otopine $\sigma \left[\frac{S}{m} \right]$ možemo izraziti kao sumu po ionskim vrstama umnožaka tri člana; valencije čestica z , molarne koncentracije čestica $c \left[\text{mol} / L \equiv M \right]$ i njihove molarne vodljivosti $\Lambda \left[S m^2 / \text{mol} \right]$

$$\sigma = \sum_i |z_i| c_i \Lambda_i \quad (1.14)$$

$$\sigma = z_i c_i \Lambda_i + Z_p c_p \Lambda_p \quad (1.15)$$

Izraz (1.14) prikazuje općenit oblik računanja specifične vodljivosti σ sumirajući po svim vrstama naboja i . Izraz (1.15) prikazuje slučaj za polielektrolit gdje imamo jednostavne protuione (oznaka i), te poliione (oznaka p). Ukupni naboj poliiona možemo prikazati izrazom $Q_p = Z_p \cdot e$, gdje valencija poliiona iznosi $Z_p = N \cdot z_p$, N je stupanj polimerizacije i z_p naboj jednog monomera. Molarnu koncentraciju poliiona c_p možemo povezati sa molarnom koncentracijom monomera c , $c_p = \frac{c}{N}$, dakle $z_p c = Z_p c_p$. Zbog neutralnosti otopine vrijedi $z_p c = z_i c_i$ tj. umnožak naboja i i koncentracije monomera na poliionu jednak je umnošku naboja i i koncentracije protuiona koji su disocirali sa polimera. Dakle, koncentracija protuiona c_i jednaka je $\frac{z_p c}{z_i}$ tj. jedan monomer otpušta $\frac{z_p}{z_i}$ protuiona.

Nadalje, teorijski [10,12,15] se predviđa da vode samo slobodni ioni pa zbog toga uvodimo udio slobodnih protuiona f . Ukupni broj kondenziranih protuiona iznosi $1-f$ što znači da se broj tj. koncentracija slobodnih protuiona smanjila ($c_i \rightarrow c_i \cdot f$). Primijetimo, sukladno tome se i efektivni naboj poliiona smanji za faktor f ($N \rightarrow N \cdot f$) tj. ukupni naboj poliiona je $Q_p = f \cdot N \cdot z_p \cdot e$. Iz prethodnog izraza možemo vidjeti da je naboj poliiona ovisan o umnošku valencije monomera, broja monomera, elementarnom naboju i faktoru f (<1) koji umanjuje efektivni naboj zbog Manning-Osawa kondenzacije protuiona u okolini poliiona.

Uvrštavanjem navedenih izraza u izraz (1.15) dobivamo:

$$\sigma = z_p c f (\Lambda_i + \Lambda_p) \quad (1.16)$$

Za određivanje doprinosa protuiona ukupnoj specifičnoj vodljivosti dovoljno je znati kolika je molarna vodljivost iona u jednostavnom elektrolitu što se nalazi u tablicama [14]. Molarna vodljivost iona u jednostavnom elektrolitu za Na^+ iznosi:

$$\Lambda_i(Na^+) = 50 \text{ Scm}^2 \text{ mol}^{-1} \quad (1.17)$$

1.6.1 Molarna vodljivost poliiona

Ako se poliion nalazi u električnom polju tada na njega djeluju električna sila $F_E = Q_p \cdot E$ i sila $F = f_v \cdot v$, jer poliion pri gibanju brzinom v trpi silu otpora viskoznog medija koja nastaje zbog Brownovog gibanja okolnih čestica. f_v je koeficijent otpora koji nastaje zbog gibanja poliiona kroz otopinu. Definiirajući pokretljivost kao konstantu proporcionalnosti brzine gibanja i električnog polja dobivamo:

$$v = \mu_p \cdot E \quad (1.18)$$

Izjednačavajući sile F i F_E dobivamo izraz:

$$\mu_p = \frac{Q_p}{f_v} = \frac{Q_p}{kT} D \quad (1.19)$$

Izrazom (1.19) prikazana je Einstein-Smoluchowski jednadžba koja definira vezu između mikroskopske pokretljivosti čestica μ_p i makroskopske veličine, difuzijske konstante D .

Dalje navedimo kako je molarna vodljivost povezana sa elektroforetskom pokretljivošću:

$$\Lambda_p = F \cdot \mu_p \quad (1.20)$$

U gornjem izrazu F je Faradayeva konstanta koja iznosi $F=96485$ C/mol.

Uvrštavanjem Einsteinove jednadžbe u izraz (1.20) dobijemo izraz (1.21) koji ukazuje kako električna molarna vodljivost poliiona proizlazi iz njegovog naboja i difuzijske konstante.

$$\Lambda_p = F \frac{Q_p}{kT} D \quad (1.21)$$

Uvrstimo ukupni naboj poliiiona $Q_p = f \cdot N \cdot z_p \cdot e$ u izraz (1.21), te dobijemo:

$$\Lambda_p = F \frac{fNz_p e}{kT} D \quad (1.22)$$

U prethodnom izrazu možemo vidjeti da je molarna vodljivost obrnuto proporcionalna sa temperaturom T , te proporcionalna sa faktorom f povezanim s kondenzacijom, brojem monomera N , valencijom monomera z_p i difuzijskom konstantom D . Napomenimo da jedino D i f mogu ovisiti o vanjskim parametrima dok su ostale veličine ili konstante (F, e, k) ili zadane uvjetima eksperimenta (N, z_p, T).

1.6.2 Difuzijska konstanta

U izrazu (1.22) definirana je proporcionalna veza između vodljivosti poliiiona Λ_p i difuzijske konstante D . Difuzijska konstanta se razlikuje za pojedine vrste čestica i njihove oblike. Male molekule i ione možemo zamisliti kao kuglice. Difuzijsku konstantu za kuglicu računamo pomoću Stokes-Einsteinove jednadžbe:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R} \quad (1.23)$$

Iz izraza (1.23) možemo vidjeti da je konstanta difuzije D obrnuto proporcionalna sa polumjerom kuglice R , viskoznošću fluida η i proporcionalna sa temperaturom T . Gornji izraz vrijedi za difuziju kuglica kroz fluid sa niskim Reynoldsovim brojem ($R_E < 0.1$) koji je definiran kao omjer inercijalne i viskozne sile u fluidu:

$$R_E = \frac{\rho v R}{\eta} \quad (1.24)$$

U gornjem izrazu ρ je gustoća fluida, a v srednja fluidna brzina kuglice. Za naš slučaj natrijevih protuiona koje promatramo kao kuglice, Reynoldsov broj je bitno manji od 0.1 tj. difuzijsku konstantu možemo računati prema izrazu (1.23). Osnovni parametar koji opisuje

hidrodinamiku čestice je njen promjer ili neka druga karakteristična prostorna dimenzija. Za štapićaste, cilindrične molekule difuzijska konstanta dana je izrazom:

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta} \frac{[\ln(L_c / d) + \nu]}{L_c} \quad (1.25)$$

Za razliku od izraza za difuzijsku konstantu kuglice ovdje je osim glavne dimenzije čestica L_c potrebno uvesti i logaritamsku ovisnost o omjeru duljine i promjera cilindra, $\frac{L_c}{d}$.

Nadalje, u izrazu (1.25) ν je parametar korekcije za utjecaj krajeva molekule tj. zbog rubne situacije kada molekula postaje prekratka. Kada ne bi bilo parametra ν u situaciji kada je duljina konture jednaka promjeru, difuzijska konstanta u izrazu (1.25) bila bi jednaka nuli, što je nefizikalno, te zbog toga uvodimo empirijski korekcijski parametar.

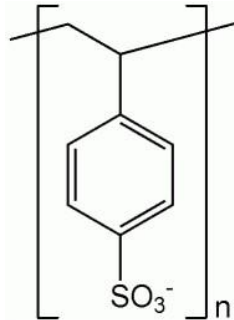
Na kraju, primijetimo da zbog logaritamske ovisnosti omjera duljine konture i promjera, male pogreške u parametru korekcije ν uzrokuju relativno velike pogreške u promjeru štapića koji bi se mogao procijeniti iz mjerenja difuzijske konstante D [14, 15].

Nadalje, eksperimentalno je pokazano da se za fragmente DNK duljine 40-50 parova baza (pb) hidrodinamičko ponašanje podudara sa ponašanjem ravnih štapića, cilindara. U vodenim otopinama, zbog elektrostatskog odbijanja koje izravna polion to vrijedi i do nekoliko stotina parova baza [14]. Za razliku od DNK, relativno nefleksibilne molekule, NaPSS molekule s kojima ovdje radimo su puno fleksibilnije i upitno je kada i u kojem režimu mogu biti promatrane kao štapići.

2. Materijali i metode

2.1. Monodisperzni uzorci natrij polistiren sulfonata (NaPSS)

Konduktometrijska mjerenja (vodljivosti) vodenih otopina natrij polistiren sulfonata (NaPSS) izvedena su na nizu otopina različitih koncentracija.



Slika 2.1: Monomer natrij polistiren sulfonata

Monomer polistiren sulfonata (Slika 2.1.) sastoji se od prstena benzena i negativno nabijene sulfonatne skupine na koju se veže Na^+ ion. Kemijska formula NaPSS-a je $C_8H_7NaO_3S$, a njegova molarna masa iznosi $M_w = 206.19 g/mol$. Veza između molarne i masene koncentracije monomera prikazana je izrazom (2.1).

$$\begin{aligned} c[M] &= c_{PSS} \left[\frac{g}{L} \right] / M_w = c_{PSS} \left[\frac{g}{L} \right] / 206 \left[\frac{g}{mol} \right] \\ c[mM] &= 1000 * c_{PSS} \left[\frac{g}{L} \right] / 206 \left[\frac{g}{mol} \right] = c_{PSS} \left[\frac{g}{L} \right] * 4.85 \frac{mmol}{g} \end{aligned} \quad (2.1)$$

Za NaPSS sa stupnjem sulfonacije blizu jedan, svaki monomer ima jednu negativno nabijenu sulfonatnu skupinu na koju se veže Na^+ ion. Vidljivo je da kod stupnja sulfonacije blizu vrijednosti jedan, molarna koncentracija natrija je jednaka molarnoj koncentraciji monomera. U našim mjerenjima koristili smo monodisperzne uzorke NaPSS-a pripadajućeg stupnja polimerizacije $N=340$, sa veličinom monomera od $b=0.25nm$, te duljinom konture $L_c = 85nm$. Molarna masa takvih uzoraka jednaka je $M_w = 70000 g/mol$.

NaPSS je jako nabijen polielektrolit tj. njegova linearna gustoća naboja veća je od $1e/l_b$.

$$u = z l_b / b > 1 \quad (2.2)$$

U gornjem izrazu u je parametar gustoće naboja, z je valencija protuiona (u našem slučaju +1 za natrij), l_b je Bjerrumova duljina.

2.2. Priprema monodisperznih uzoraka NaPSS-a

Pripremili smo „majku otopinu“ koncentracije $C_{\text{NaPSS}}=17,646$ g/L tako da smo suhi NaPSS prah otopili u vodi i ostavili 48 sati na temperaturi 4°C. Takva „majka otopina“ korištena je za izradu serije otopina koncentracijskog raspona od 0.015 g/L < C_{NaPSS} < 9,689 g/L. Uzorci tih otopina korišteni su za mjerenje vodljivosti i kapaciteta. Uzorci su pripremljeni prema tablici.

Redni broj otopine	C_{NaPSS} (g/l)	c (mM)	V_{majka} (μ L)	V_{vode} (μ L)
1.	9,689	46,994	150	125,719
2.	7,595	36,835	100	135,280
3.	6,107	29,619	100	194,101
4.	4,842	23,484	100	267,626
5.	3,781	18,341	100	366,827
6.	3,401	16,497	100	425,180
7.	2,592	12,575	100	635,252
8.	1,967	9,544	100	819,066
9.	1,526	7,402	100	1076,404
10.	1,093	5,302	100	1370,505
11.	0,975	4,728	100	1738,132
12.	0,771	3,739	150	2252,809
13.	0,473	2,298	100	3576,264
14. Otopine 14.-27. su dobivene razrjeđivanjem 13. Otopine				
15.	0,381	1,848	500	134,920
16.	0,319	1,548	200	104,761
17.	0,242	1,176	200	200
18.	0,194	0,941	200	300
19.	0,152	0,741	100	220
20.	0,120	0,583	100	300
21.	0,097	0,472	100	400
22.	0,076	0,369	100	540
23.	0,061	0,296	100	700
24.	0,038	0,185	100	1169,841
25.	0,030	0,147	100	1500
26.	0,024	0,118	100	1900
27.	0,022	0,108	100	2400
28.	0,015	0,073	100	3100

Tablica 2.1: Priprema vodenih otopina NaPSS-a:

$C(\text{NaPSS})$ označava masenu koncentraciju NaPSS-a u g/l

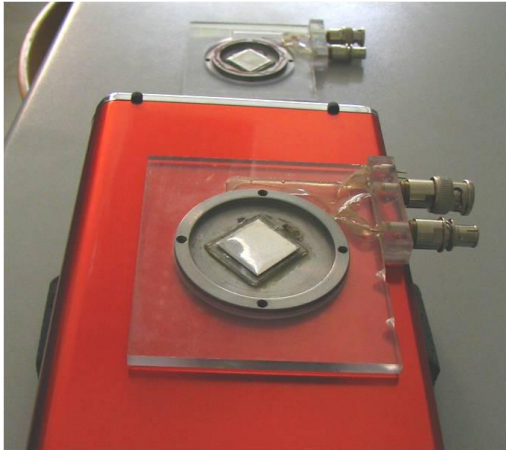
$c(\text{mM})$ označava molaru koncentraciju NaPSS-a u mM

V_{majka} označava volumen majke otopine u μ L

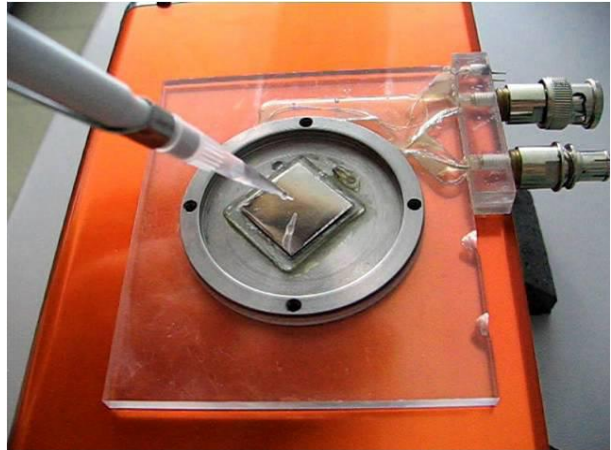
V_{vode} označava volumen vode koji miješamo sa volumenom majke otopine kako bi dobili određenu koncentraciju

2.3. Konduktometrija

Konduktometrijska mjerenja su sastavni dio mjerenja niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom koja se izvodi pomoću kapacitivne komore kućne izrade priključene na precizni mjerač impedancije Agilent 4294A, s kojim se mjeri u rasponu frekvencija od $\omega = 100 \text{ Hz}$ do 110 MHz . Volumen uzorka je $100 \text{ }\mu\text{L}$. Kapacitivna komora (Slika 3.2) omogućava mjerenje kompleksne vodljivosti s reproducibilnosti od 0.5% [17], u mjerivom rasponu specifične vodljivosti od $1.5\text{--}2000 \text{ }\mu\text{S/cm}$. Komora za dielektrična mjerenja se sastoji od dvodjelnog polikarbonatnog kućišta u koje je utisnuto čelično tijelo. Unutar čeličnog tijela na podlozi od stakla 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 kućištu. Male ac amplitude od 50 mV su korištene za istraživanje odgovora NaPSS 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 što bi imalo za posljedicu preveliko (nepraktično dugotrajno) usrednjavanje. 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 $100 \text{ }\mu\text{L}$, $l = 0.1021 \pm 0.0001 \text{ cm}$ je udaljenost među elektrodama. Konstanta komore određena je mjerenjem realnog dijela vodljivosti G na 100 kHz standardnih uzorka KCl-a od 0.01M i 0.0005M (nabavljenih od tvrtke Mettler-Toledo). Dodatna provjera je bilo i mjerenje kapaciteta komore kada je prazna i kada sadrži kapljicu od $100 \text{ }\mu\text{L}$ čiste vode. Iz razlike kapaciteta pune i prazne komore i poznate vrijednosti relativne permitivnosti čiste vode $\epsilon_{\text{voda}} = 78.65$ [18] dobiven je rezultat za konstantu komore koji odgovara gornjoj vrijednosti dobivenoj mjerenjem vodljivosti. Primjer je ove provjere dan u odjeljku 3.1. Za širi raspon koncentracija otopina vodljivost je neovisna o utjecaju artefakata komore i dielektričnih modova uzorka oko frekvencije 100 kHz . 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.



a.)



b.)

Slika 3.2: a.) Rasklopljena mjerna komora.

b.) Stavljanje uzorka u komoru.

3. Rezultati

3.1. Određivanje konstante komore

Vrijednost konstante komore računamo prema izrazu:

$$K = \frac{l}{S} \quad (3.1)$$

U gornjem izrazu l je udaljenost među platinskim elektrodama, S je efektivna kontaktna površina elektrode (površina kapljice uzorka).

Volumen uzorka definiramo kao umnožak udaljenosti između platinskih elektroda (l) i površine presjeka kapljice vode (S):

$$V = l \cdot S \quad (3.2)$$

Volumen pipetirane kapljice u našem mjerenju iznosi 100 μL .

Kako bi odredili konstantu komore potrebne su nam veličine l i S koje možemo izračunati pomoću rezultata mjerenja kapaciteta prazne komore i komore sa uzorkom čiste vode.

Kapacitet prazne komore računamo prema izrazu:

$$C_{\text{PraznaKomora}} = \varepsilon_{\text{zraka}} \varepsilon_0 \frac{S_2}{l} \quad (3.3)$$

U izrazu (3.3) $C_{\text{PraznaKomora}}$ je kapacitet prazne komore i iznosi 3,4 pF, $\varepsilon_{\text{zraka}}$ označava relativnu permitivnost zraka čiju vrijednost uzimamo da je 1.

Permitivnost vakuumu je $\varepsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ F/m}$. S_2 je ukupna površina elektrode mjerne komore.

Nadalje,

$$C_{\text{mjereno}} = \varepsilon_{\text{vode}} \varepsilon_0 \frac{S}{l} + \varepsilon_{\text{zraka}} \varepsilon_0 \frac{(S_2 - S)}{l} \quad (3.4)$$

U izrazu (3.4) ϵ_{vode} je relativna permitivnost vode koja iznosi 78,65, S označava efektivnu kontaktnu površinu elektrode koja odgovara uzorku kada mjerimo njegov kapacitet. Razlika $\epsilon_{zraka} \epsilon_0 \frac{(S_2 - S)}{l}$ označava doprinos kapaciteta dijela prazne komore ukupnom kapacitetu uzorka koji mjerimo komorom. $S_2 - S$ je razlika ukupne površine elektroda S_2 i efektivne površine elektroda S sa kojom je uzorak u dodiru.

Kada izraz 3.4 preuredimo dobivamo:

$$C_{mjereno} = \epsilon_0 \frac{S}{l} (\epsilon_{vode} - \epsilon_{zrak}) + \epsilon_0 \frac{S_2}{l} \quad (3.4b)$$

Kapacitet uzorka koji je potreban za računanje konstante komore pomoću izraza (3.3) i (3.4) mjerimo pomoću kapacitivne komore. Kapacitet smo mjerili deset puta na temperaturi od 25 °C i frekvenciji od 10 MHz. Nakon svakog pojedinog mjerenja komora se suši zrakom pod pritiskom, te se mikropipetom stavlja nova kapljica uzorka 100 µL.

Rezultati mjerenja navedeni su u tablici:

Mjerenje	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$C_{mjereno}$ (pF)	70,810	71,255	71,423	71,378	71,356	71,281	71,753	70,735	71,245	71,247

Tablica 3.1 Vrijednosti kapaciteta uzoraka vodene otopine NaPSS-a izmjerenih na frekvenciji od 10 MHz i temperaturi od 25 °C.

Srednja vrijednost mjerenog kapaciteta koji je jednak zbroju kapacitetu uzorka i kapaciteta prazne komore iznosi:

$$C_{mjereno} = \frac{\sum C_{mjereno}}{10} = 71,25 \text{ pF} \quad (3.5)$$

Standardna devijacija u mjerenju kapaciteta $C_{mjereno}$ jednaka je:

$$\Delta C_{mjereno} = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}}{n-1} \quad (3.6)$$

Dobivamo da je $\Delta C_{mjereno} = 0,29 \text{ pF}$, odnosno $C_{mjereno} = (71,25 \pm 0,29) \text{ pF}$. Dakle, relativna pogreška u mjerenju kapaciteta uzorka je 0,4 %.

Kapacitet C_{uzorak} dobivamo oduzimanjem vrijednosti kapaciteta prazne komore $C_{PraznaKomora}$ od kapaciteta uzorka $C_{mjereno}$.

$$C_{uzorak} = C_{mjereno} - C_{praznaKomora} = 71,25 \text{ pF} - 3,4 \text{ pF} = 67,85 \text{ pF} \quad (3.7)$$

Relativna pogreška kapaciteta C_{uzorak} ovisi samo o relativnoj pogrešci izmjerenog kapaciteta $C_{mjereno}$, te iznosi 0,4%. Prema tome vrijednost kapaciteta C_{uzorak} možemo zapisati:

$$C_{uzorak} = (67,85 \pm 0,27) \text{ pF} \quad (3.8)$$

Da bi izračunali konstantu komore K iz izraza (3.3.) i (3.4.) također koristimo izraz (3.2.) kako bi povezali umnožak udaljenosti elektroda sa poznatim volumenom kapljice od 100 μL .

Rješavanjem sustava tri jednadžbe (3.2, 3.3, 3.4), dobivamo srednje vrijednosti S , S_2 i l :

$$\begin{aligned} S &= 0,9980 \text{ cm}^2 \\ S_2 &= 3,8010 \text{ cm}^2 \\ l &= 0,1002 \text{ cm} \end{aligned} \quad (3.9)$$

Uvrštavajući vrijednosti l i S iz izraza (3.9) u izraz (3.1) dobivamo da je srednja vrijednost konstante komore :

$$K=0,1004 \text{ cm}^{-1}. \quad (3.10)$$

Pogreška mjerenja kapaciteta ($C_{mjereno}$) ujedno je i pogreška vrijednosti konstante komore (K).

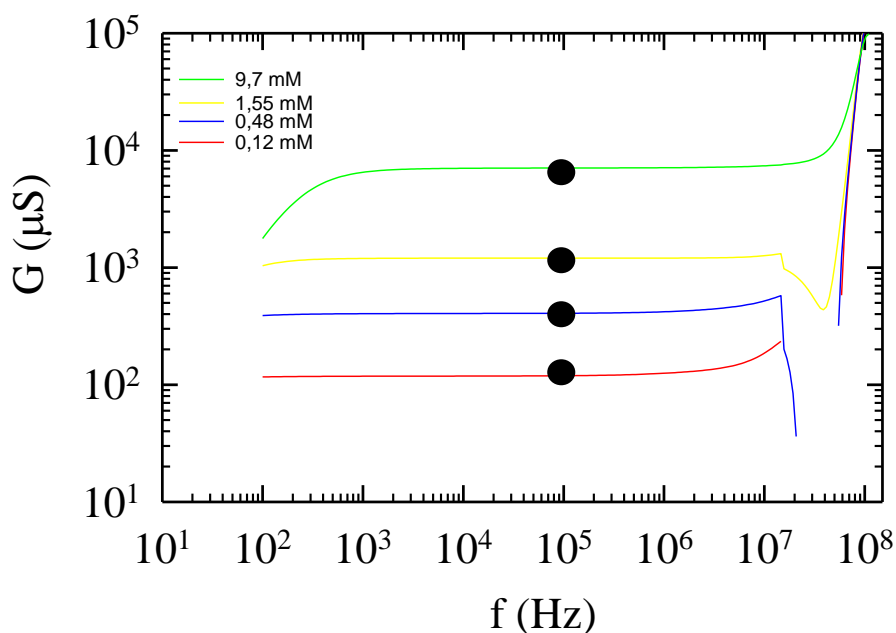
$$\frac{\Delta K}{K} = \frac{\Delta C_{mjereno}}{C_{mjereno}} = 0,004 \quad (3.11)$$

Dakle je relativna pogreška konstante komore 0,4%. Konstantu komore K možemo zapisati:

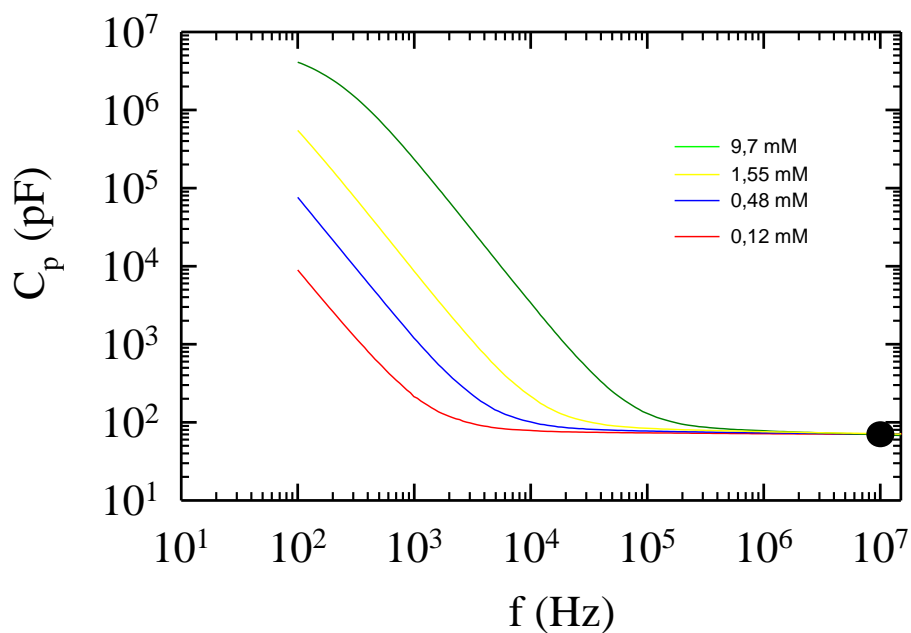
$$K = (0,1004 \pm 0,0004)\text{cm}^{-1} \quad (3.12)$$

3.2. Vodljivost otopina NaPSS-a u čistoj vodi

Mjerenja niskofrekventne električne vodljivosti su izvedena za niz koncentracija 0.07-50 mM. Za mjerenja koristimo kapacitivnu komoru kućne izrade na koju je spojen Agilent 4294A analizator impedancije. Sva mjerenja su izvedena na temperaturi 25 °C. Konduktometrijski podaci su dobiveni iz impedancijskih spektara, realnog dijela vodljivosti, G [μS] (Slika 3.1) i kapaciteta C [pF] (Slika 3.2). Specifičnu vodljivost tj. vodljivost σ [$\mu S cm^{-1}$] dobili smo množenjem očitane vodljivosti G [μS] sa konstantom komore koja iznosi $0,1004 cm^{-1}$. Mjerenja vodljivosti provodili smo na 100 kHz jer su na toj frekvenciji najmanji efekti polarizacije elektroda i rezonantne frekvencije mjernog postava, te smatramo da vodljivost izmjerena u tom području najbolje odgovara vodljivost otopine. Vrijednosti kapaciteta C [pF] smo očitali na frekvenciji 10 MHz zbog minimalnog utjecaja polarizacije elektroda na rezultate mjerenja na toj frekvenciji.

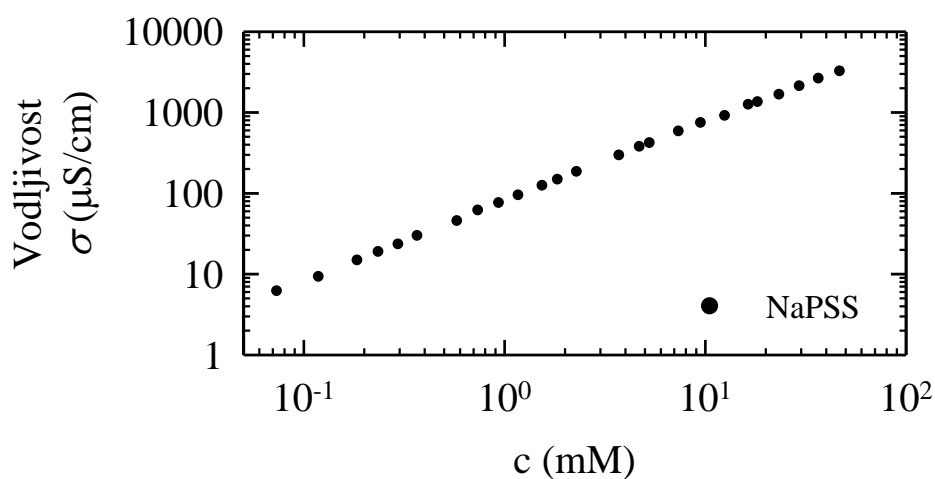


Slika 3.1: Ovisnost vodljivosti G o frekvenciji f za različite koncentracije vodene otopine NaPSS-a. Crnim kružićem je označena frekvencija od 100 KHz na kojoj je očitana vodljivost.



Slika 3.2: Ovisnost kapaciteta C_p o frekvenciji f za različite koncentracije vodene otopine NaPSS-a. Crnim kružićem je označena frekvencija od 10 MHz na kojoj je očitana kapacitet.

Ukupna vodljivost tj. specifična vodljivost NaPSS-a (Na^+ protuiona i PSS poliona) prikazana je na slici 3.3 u ovisnosti o molarnoj koncentraciji monomera PSS-a. Prikazane vodljivosti su umanjene za $1.5 \mu\text{Scm}^{-1}$ u odnosu na izmjerene, čime je odračunat doprinos otapala, tj. čiste vode. Vodljivosti su dane i u tablici 3.2.



Slika 3.3: Vodljivost NaPSS-a u čistoj vodi naspram molarne koncentracije monomera.

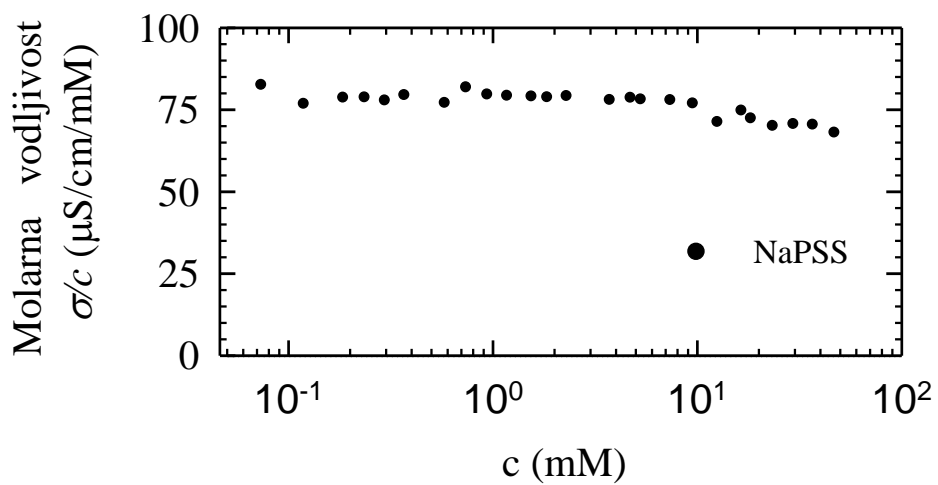
Redni broj otopine	$C_{NaPSS}(g/l)$	$c(mM)$	Vodljivost $\sigma(\mu S/cm)$	Molarna vodljivost σ/c (Scm^2/mol)	Kapacitet (pF)
1.	9,689	46,994	30648,700	67,924	29,438
2.	7,595	36,835	24871,140	70,314	45,029
3.	6,107	29,619	20065,000	70,537	53,286
4.	4,842	23,484	15777,600	69,939	61,369
5.	3,781	18,341	12734,300	72,261	65,92
6.	3,401	16,497	11833,390	74,650	67,000
7.	2,592	12,575	8599,980	71,140	69,811
8.	1,967	9,644	7048,630	76,795	71,200
9.	1,526	7,402	5544,180	77,843	71,931
10.	1,093	5,302	3986,430	78,051	72,354
11.	0,975	4,728	3578,070	78,524	72,450
12.	0,771	3,739	2809,790	77,887	72,521
13.	0,473	2,298	1758,120	79,049	71,914
14.	0,381	1,848	1409,930	78,686	72,091
15.	0,319	1,548	1187,540	78,934	71,777
16.	0,242	1,176	908,375	79,158	71,888
17.	0,194	0,941	732,813	79,538	71,855
18.	0,152	0,741	595,604	81,708	71,728
19.	0,120	0,583	445,079	76,954	71,563
20.	0,097	0,476	328,104	69,147	72,183
21.	0,076	0,369	295,773	79,341	71,135
22.	0,061	0,296	235,843	77,719	71,235
23.	0,038	0,185	192,705	78,660	71,247
24.	0,030	0,147	154,316	78,566	71,245
25.	0,024	0,118	101,899	76,666	71,753
26.	0,022	0,108	85,373	67,894	71,280
27.	0,015	0,073	72,750	82,460	71,356

Tablica 3.2: Izmjerena vodljivost, kapacitet i molarna vodljivost (vodljivost normirana na koncentraciju monomera) su prikazane za uzorke određene molarne i masene koncentracije

Naizgled linearnu ovisnost vodljivosti o koncentraciji analiziramo kroz računanje molarne vodljivosti.

$$\frac{\sigma}{c} = f(\Lambda_{Na} + \Lambda_{PSS}) \quad (3.13)$$

Molarna vodljivost (vodljivost normirana na koncentraciju monomera) prikazana je na slici:



Slika 3.4: Molarna vodljivost NaPSS-a naspram molarne koncentracije monomera.

Na gornjoj slici možemo vidjeti da je molarna vodljivost konstantna do 10 mM i njena srednja vrijednost iznosi $\sigma = 78 \pm 3 \text{ Scm}^2 / \text{mol}$. Iznad vrijednosti molarne koncentracije od 10 mM molarna vodljivost opada.

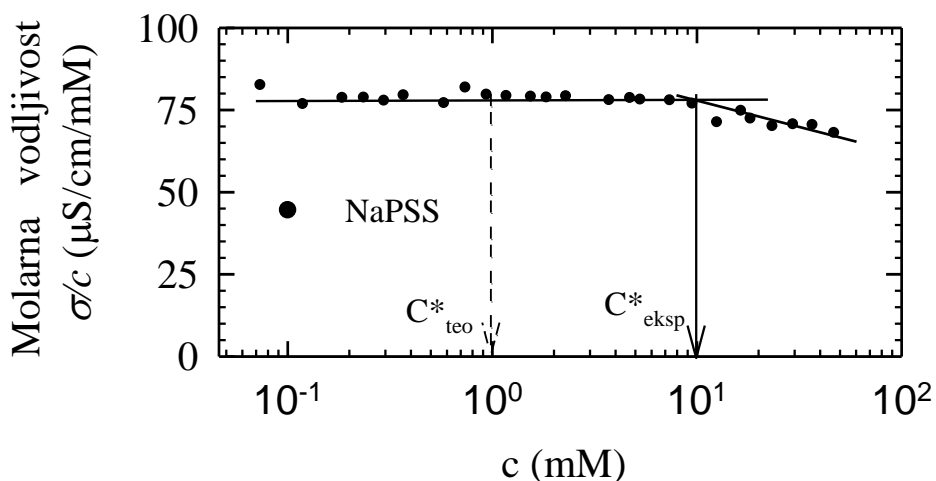
4. Rasprava

4.1. Koncentracija preklapanja

Na slici 3.4 možemo vidjeti da nakon molarne koncentracije 10 mM dolazi do smanjenja molarne vodljivosti NaPSS-a. Takva pojava se može interpretirati utjecajem preklapanja polimera kod povišenih koncentracija. U polurazrijeđenim otopinama polimeri međudjeluju jedni sa drugima i to može utjecati na doprinos polimera cjelokupnoj vodljivosti. Za naš NaPSS uzorak sa stupnjem polimerizacije $N=340$, teorijska masena koncentracija preklapanja $c^* = 0.17 \text{ g/l}$.

$$c_{teo}^* = \frac{Nm_m}{N_A(Nb)^3} \quad (4.1)$$

U gornjem izrazu m_m je masa monomera ($m_m = 206 \text{ Daltona}$), b je duljina monomera ($b = 0,25 \text{ nm}$), a N_A je Avogardova konstanta ($N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$).



Slika 4.1: Molarna vodljivost NaPSS-a naspram molarne koncentracije monomera. Iscrtkanom strelicom je prikazana teorijska koncentracija preklapanja (c_{teo}^*), a punom strelicom je prikazana dobivena eksperimentalna koncentracija (c_{eksp}^*) na kojoj dolazi do opadanja vodljivosti.

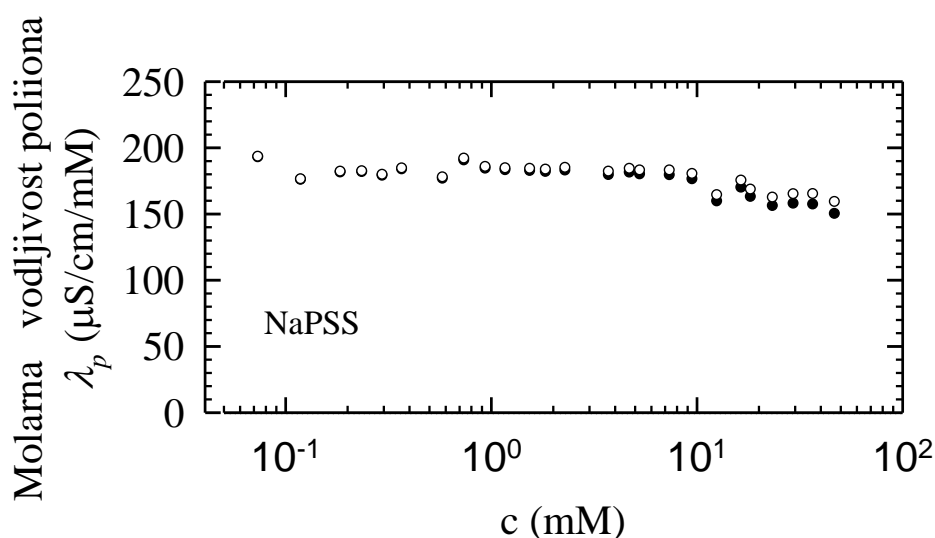
Pomoću izraza (4.1) dobivamo da je molarna koncentracija preklapanja jednaka $c_{\text{teo}}^* = 0.8 \text{ mM}$. Koncentracija koju smo dobili iz naših mjerenja $c_{\text{eksp}}^* = 10 \text{ mM}$ veća je 12,5 puta nego li koncentracija koja se dobiva teorijskim računom [12] što možemo vidjeti na slici 4.1. Slično odstupanje teorijske vrijednosti c_{teo}^* od eksperimentalno dobivene c_{eksp}^* zabilježeno je kod istraživanja vodenih otopina NaPSS-a metodom raspršivanja svjetlosti[26].

4.2. Vodljivost i difuzijska konstanta poliiona

Pretpostavljajući da postoji nezavisno gibanje iona, modelirali smo ukupnu specifičnu vodljivost σ vodenih otopina NaPSS-a kao zbroj doprinosa protuiona Na^+ i poliiona p.

$$\sigma = fc(\Lambda_{\text{Na}^+} + \Lambda_p) \quad (4.2)$$

U izrazu (4.2) f je udio slobodnih iona. Prema Manningu $f = b/l_B$ gdje je b duljina monomera i l_B je Bjerrumova duljina. Veličina monomera NaPSS-a je $b = 0.25 \text{ nm}$ što daje $f = 0.34$. Molarna vodljivost protuiona može biti aproksimirana sa molarnom vodljivošću Na^+ iona u jednostavnoj razrijeđenoj otopini koja iznosi $50 \text{ Scm}^2 / \text{mol}$.



Slika 4.2: Molarna vodljivost poliiona NaPSS-a naspram molarne koncentracije monomera. Tamnim krugovima su označeni podaci vodljivosti NaPSS-a od koje je oduzeta vodljivost natrijevih iona Na^+ , dok su bijelim krugovima prikazani rezultati gdje je uzeta u obzir ovisnost vodljivosti Na^+ o Kohlrauschovom zakonu.

Molarnu vodljivost poliiona prikazanu bijelim kružićima na slici (4.2) dobili smo oduzimanjem doprinosa vodljivosti Na^+ iona od ukupne vodljivosti:

$$\Lambda_p = \frac{\sigma}{fc} - \Lambda_{Na^+} \quad (4.3)$$

Na slici 4.2 možemo vidjeti da je molarna vodljivost poliiona označena tamnim krugovima konstantna do 10 mM i njena srednja vrijednost iznosi $\lambda_p = 183 \pm 4 \text{ Scm}^2 / \text{mol}$. Iznad vrijednosti molarne koncentracije od 10 mM molarna vodljivost opada. Poznato je da vodljivost jednostavne soli, NaCl opada sa koncentracijom u sličnom području koncentracija kao i kod rezultata NaPSS-a. Stoga, postoji mogućnost da opadanje molarne vodljivosti NaPSS-a nastaje zbog opadanja doprinosa Na^+ iona ukupnoj vodljivosti uzoraka. To se događa zbog ionskih interakcija koje se povećavaju sa povećanjem koncentracije i smanjuju efektivnu molarnu vodljivost Λ_m , što objašnjava Kohlrauschov zakon:

$$\Lambda_m = \Lambda_m^\circ - (A + B\Lambda_m^\circ)c^{1/2} \quad (4.4)$$

U izrazu (4.4) Λ_0^m je granična molarna vodljivost za beskonačno razrijeđenu otopinu.

U promatranju ove pojave uzima se u obzir pretpostavka o nezavisnom gibanju iona, te pretpostavka da pojedine ionske vrste aditivno doprinose ukupnoj vodljivosti npr. $\Lambda_{NaCl}^\circ = \Lambda_{Na}^\circ + \Lambda_{Cl}^\circ = 126.4 \text{ Scm}^2 / \text{mol}$. A i B su konstante, te za 1:1 elektrolit koji je otopljen u vodi na temperaturi 25 °C iznose $A = 60.2 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1/2} \text{ l}^{1/2}$, $B = 2.09 \text{ mol}^{-1/2} \text{ l}^{1/2}$. U našem slučaju otopina NaPSS-a trebamo uzeti u obzir utjecaj Kohlrauschovog zakona na vodljivost samo Na^+ (a ne soli NaCl). Kao aproksimaciju toga utjecaja u izraz (4.4) uvrštavamo upola manju vrijednost konstante A, tj. $A = 30.1 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1/2} \text{ l}^{1/2}$. Bijeli krugovi na slici 4.2 prikazuju podatke molarne vodljivosti poliiona kada smo od ukupne molarne vodljivosti NaPSS-a oduzeli doprinos vrijednosti vodljivosti Na^+ iona dobivenih preko Kohlrauschovog zakona.

U daljnjim analizama koristit ćemo kao molarnu vodljivost PSS-a vrijednosti za koncentracije ispod 10 mM gdje je molarna vodljivost konstantna i ne moramo pretpostavljati utjecaj Kohlrausch zakona ili preklapanja poliiona.

Molarna vodljivost poliiiona Λ_p je proporcionalna iznosu naboja poliiiona Q_p koji sudjeluje u vodljivosti i difuzijskoj konstanti poliiiona D .

$$\Lambda_p = \frac{F}{kT} Q_p D \quad (4.5)$$

U gornjem izrazu F je Faradayeva konstanta.

Naboj poliiiona koji sudjeluje u vodljivosti možemo izraziti:

$$Q_p = fNe \quad (4.6)$$

U našem slučaju NaPSS-a ($N=340$, $f=0.34$) ukupni naboj poliiiona NaPSS-a iznosi 116 elementarnih naboja, $1,85 \cdot 10^{-17} C$.

Prema izrazu (4.5) difuzijska konstanta je proporcionalna vodljivosti. Iz eksperimentalno izmjerene vodljivosti dobivamo vrijednost difuzijske konstante poliiiona (ispod 10 mM):

$$D_{\text{exp}} = 4.21 \cdot 10^{-11} m^2 / s \quad (4.7)$$

4.3. Teorijska difuzijska konstanta

Eksperimentalnu vrijednost difuzijske konstante usporedimo sa teorijskim predviđanjima. Muthukumar [25] promatra poliiion kao molekulu sa određenim radijusom giracije R_g .

Radijus giracije računa prema izrazu:

$$R_g^2 = \frac{1}{6} \left(\frac{4\pi l_B}{2\sqrt{6}\pi^{5/2}b} \right) (Nb)^2 \quad (4.8)$$

Možemo izračunati da radijus giracije za NaPSS ($N=340$, $b=0.25$ nm) iznosi $R_g = 13.7$ nm.

Difuzijsku konstantu za molekulu u režimu niske soli dobivamo prema izrazu [25]:

$$D_{\text{teo}} = \frac{8}{3\sqrt{\pi}} \frac{kT}{6\pi\eta_0 R_g} \quad (4.9)$$

Pomoću izraza (4.9) dobivamo da je teorijska difuzijska konstanta jednaka $D_{teo} = 2.71 \cdot 10^{-11} m^2 / s$ za PSS poliion sa 340 monomera.

Istovremeno Dobrynin i Rubinstein [13] prepostavili su i opisali, u razrijeđenim otopinama čiste vode, konformaciju poliiona koja je skraćena u odnosu na duljinu konture $L_c = 85nm$. Skraćivanje ovisi o parametru linearne gustoće naboja poliiona, u :

$$\frac{L_R}{L_c} = \left(\frac{1}{u}\right)^{\frac{2}{7}} \quad (4.10)$$

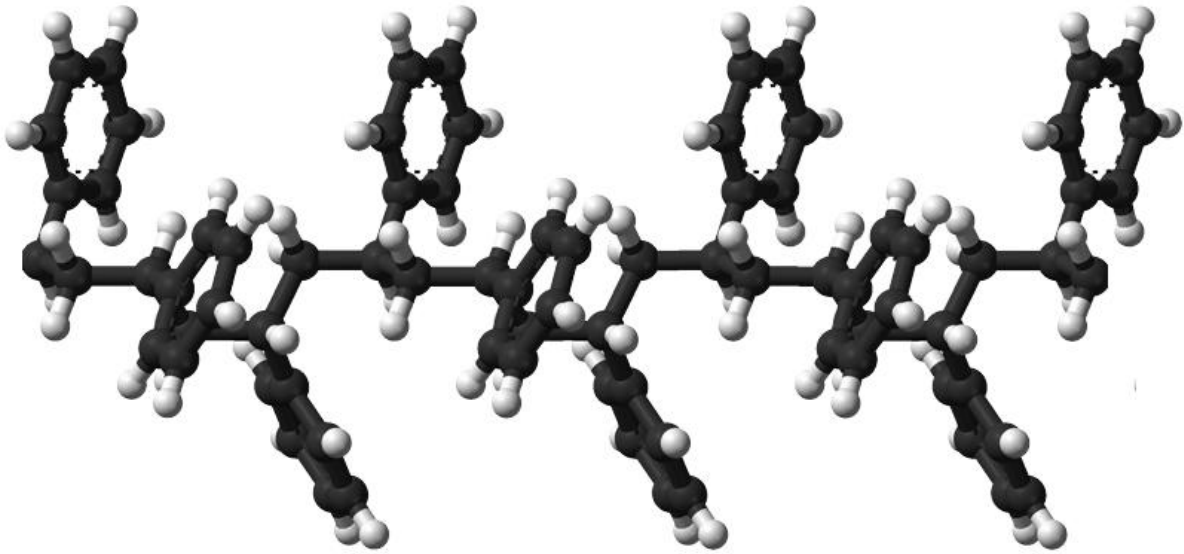
Kako je u obrnuto proporcionalno od f tj. $f=1/u=0.34$ za NaPSS, možemo izračunati novu duljinu poliiona, $L_R=60$ nm. Prepostavljamo da je poliion cilindričnog oblika sa duljinom 60 nm i promjera d_{L_R} . Uz smanjenu duljinu poliiona moglo bi se pretpostaviti da promjer poliiona d_{L_R} postaje veći od promjera strukture PSS-a, d_{L_c} .

Ako zatim pretpostavimo da poliion ima uvijek cilindrični oblik između konfiguracije u kojoj je potpuno rastegnut i skraćene konfiguracije, tada promjer poliiona možemo izraziti pomoću izraza:

$$d_{L_R} = \sqrt{\frac{L_c}{L}} d_{L_c} \quad (4.11)$$

U našem slučaju d_{L_R} iz gornjeg izraza iznosi $d_{L_R} = 1.33d_{L_c}$.

Hidrodinamički promjer d_{L_c} procjenjujemo iz istraživanja strukture kristaliziranog izotaktičnog polistiren sulfonata [28] pomoću X zraka. Izmjeren promjer polistirena iznosi $d_{L_c} = 0.7nm$.



Slika 4.2: Struktura izotaktičnog polistiren poliion dobivena kristalografijom X-zraka.

Prema izrazu (4.11) pretpostavlja se da je efektivni promjer poliiona $d_{L_R} = 0.931nm$. Iz toga možemo zaključiti da se poliion NaPSS-a ($N=340$) u difuziji i električnom transportu u vodenoj otopini ponaša približno kao cilindar 60 nm dugačak i 1 nm širok.

Izraz za računanje difuzijske konstante koji uvodi Tirado [14] uspješno je upotrijebljen za kratke, štapićaste fragmente DNK, te ćemo ga primijeniti i za NaPSS:

$$D_R = \frac{kT}{3\pi\eta} \frac{[\ln(L_R/d_R) + \nu]}{L_R} \quad (4.12)$$

U gornjem izrazu η je viskoznost vode, a ν je parametar korekcije za utjecaj krajeva molekule tj. zbog rubne situacije kada molekula postaje prekratka.

Uvrštavanjem u izraz (4.12) za PSS poliion dobivamo da je difuzijska konstanta $D_R = 4.054 \cdot 10^{-11} m^2/s$. Ova vrijednost je mnogo bliža eksperimentalnoj vrijednosti

$D_{exp} = 4.21 \cdot 10^{-11} m^2/s$ nego vrijednost koju smo dobili prema argumentima Muthukumara tj.

$D_{teo} = 2.71 \cdot 10^{-11} m^2/s$.

5. Zaključci

U ovome radu predstavljamo istraživanje električnog transporta razrijeđenih vodenih otopina NaPSS-a, sintetskog polielektrolita. Konduktometrijska mjerenja za niz koncentracija dobivena su iz rezultata dielektrične spektroskopije mjerenjem pomoću kapacitivne komore. Namjera je istražiti mogućnosti takvog, relativno jednostavnog eksperimentalnog pristupa u analizi konformacija polielektrolita. U istraživanju smo željeli povući usporedbe sa našim radom na razrijeđenim otopinama kratke DNK, te smo zato odabrali razrijeđene otopine relativno kratkih fragmenata NaPSS-a od 340 monomera, duljine konture 85 nm koji su usporedivi sa fragmentima DNK duljine konture 50 nm. Osnovna je razlika ovih dvaju polimera u duljini tvrdokornosti koja je kod DNK usporediva sa duljinom cijelog fragmenta, dok je kod NaPSS-a usporediva s veličinom monomera tj. reda veličine 1 nm. Ovo su strukturni doprinosi duljini tvrdokornosti, a kako su otopine pripremane u čistoj vodi, bez dodane soli ili pufera javlja se i elektrostatski doprinos – međusobno odbijanje naboja na poliiionu što teži izravnavanju poliiiona. Upravo to proizlazi i iz našeg rada, gdje možemo primijetiti da čak i vrlo savitljivi polimer kao što je NaPSS biva izravnat, skoro do štapićastog oblika. Naime, vodljivost otopine je posljedica gibanja poliiiona PSS-a i iona Na^+ , pod utjecajem vanjskog električnog polja. Na temelju mjerene vodljivosti računski dobivamo kako se poliiion PSS-a giba kroz otopinu kao cilindar duljine 60 nm, što je manja duljina u odnosu na duljinu konture 85 nm (duljinu izravnatog poliiiona). Možemo zaključiti da je nedostatak zasjenjenja električnog naboja koji nastaje zbog nedostatka dodane soli u otopini učinio poliiion PSS-a vrlo rigidnim, skoro kao DNK. Pri tome izračunu uzeta je u obzir i pojava Manning kondenzacije, pri čemu udio slobodnih nekondenziranih iona iznosi $f=0.34$. Drugim riječima, u vodljivosti NaPSS-a ne sudjeluje sav naboj poliiiona i protuiona disociranih s poliiiona, već samo njih 34%. Ostatak je međusobno neutraliziran procesom kondenzacije, te ne doprinosi vodljivosti.

6. Zahvale

Zahvaljujem se članovima grupe za dielektričnu spektroskopiju na Institutu za fiziku, voditeljici dr. Silviji Tomić, Danijelu Grgičinu i dr. Sanji Dolanski Babić za savjete i nesebičnu suradnju u svim segmentima istraživanja. Posebno hvala mom mentoru dr. sc. Tomislavu Vuletiću koji me uveo u ovo područje znanosti, te bio podrška i velika pomoć kod istraživanja i pisanja rada.

7. Popis literature

1. Polyelectrolytes, edited by M. Hara (Marcel Dekker, New York, 1993).
2. Macroions in Solution and Colloidal Suspension, edited by K. Schmitz (VCH, New York, 1993).
3. C. Wandrey and D. Hunkeler, Handbook of Polyelectrolytes and their Applications (American Scientific, Stevenson Ranch, CA, 2002), pp. 147-172.
4. N. Imai and T. Onishi, J. Chem. Phys. **30**, 1115 (1959).
5. F. Oosawa, Polyelectrolyte (Dekker, New York, 1971).
6. G. S. Manning, J. Chem. Phys. **51**, 924-934, (1969).
7. M. Mandel and T. Odijk, Annu. Rev. Phys. Chem. **35**, 75 (1984).
8. C. F. Anderson and M. T. Record, Jr., Annu. Rev. Phys. Chem. **33**, 191 (1982).
9. F. Bordi, C. Cametti, T. Gili, Phys. Rev. E **66**, 021803 (2002).
10. R. Das, T.T.Mills, L.W.Kwok, G.S.Maskel, I.S.Millett, S.Doniach, K.D. Finkelstein, D.Herschlag i L.Pollack, Phys.Rev.Lett. **90**, 188103, (2003).
11. M. B. Jackson, Molecular and Cellular Biophysics, (Cambridge University Press, New York, 2006).
12. P. G. de Gennes, P. Pincus, R. M. Velasco and F. Brochard, J. Phys. (Paris) **37**, 1461 (1976).
13. A. V. Dobrynin, R. H. Colby and M. Rubinstein, Macromolecules, **28**, 1859 (1995).
14. M. Mercedes Tirado, Carmen Lopez Martinez, Jose Garcia de la Torre, J. Chem. Phys. **81**, 2047-2051, (1984).
15. Stellwagen E., Yongjun Lu, Nancy C. Stellwagen, Biochemistry, **42**, 11745-11750, (2003).
16. M. Thomas Record, JR., Biopolymers, **14**, 2137-2158. (1975).
17. Sanja Dolanski Babić, Električna i dielektrična svojstva vodenih otopina genomske deoksiribonukleinske kiseline, Doktorska disertacija (PMF Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2008).
18. A. Vojvodić, Dielektrična relaksacija koloidne otopine nanočestica polistirenskog lateksa, Diplomski rad (PMF Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2006).
19. Masataka Kinjo, Rudolf Rigler, Nucleic Acids Research, Vol. **23**, No.10, 1795-1799. (1995).
20. P. Schwille, J. Bieschke, F. Oehlenschläger, Biophysical Chemistry, **66**, 211-228 (1997).

21. M. Thomas Record, JR., Charles P. Woodbury, Timothy M. Lohan, *Biopolymers*, **15**, 893-915. (1976).
22. S. Tomić, T. Vuletić, S. Dolanski Babić, S. Krča, D. Ivanković, L. Griparić and R. Podgornik, *Phy. Rev. E*. **75**, 021905 (2007).
23. S. Fischer, A. Naji, R. Netz, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 176103 (2008).
24. Carl Zeiss: Applications Manual LSM 510 - ConfoCor 2 Application Handbook, (2002).
25. M. Muthukamar, *J. Chem. Phys.* **107**, (1997).
26. Johner et. al *Progr. Collod. Polym Sci.*, **97**, 35-39, (1994).
27. Kohzo Ito, Akira Yagi, Norio Ookubo, Reinosuke Hayakawa, *Macromolecules*, **23**, 857-862, (1990).
28. G. Natta, P. Corradini, I. W. Bassi, *Suppl. Nuovo Cimento* **15**, 68-82 (1960).

8. Dodaci

A) Metodički dio

Priprema nastavnog sata

Nastavni predmet: Fizika
Nastavna jedinica: Metode biofizike (4 sata)

Predznanja:

Učenici posjeduju znanja o elektricitetu i magnetizmu, te poznaju gradivo iz opće kemije.

Predavanje je namijenjeno za učenike 2. razreda prirodoslovno matematičke gimnazije koji sudjeluju u izornoj nastavi iz fizike. Učenici dolaze na Institut za fiziku u skupini od po 5 učenika gdje sudjeluju u laboratorijskim vježbama.

Zadaci:

Obrazovni:

- Cilj nastavne jedinice je upoznati učenike sa dielektričnom spektroskopijom kao metodom biofizike. Važno je da učenici nakon vježbi znaju kako se pripremaju otopine, te kako se izvode mjerenja vodljivosti i analiziraju rezultati mjerenja. U prvom dijelu vježbe učenici pripremaju uzorke NaCl otopina, a u drugom djelu mjere vodljivost čistih vodenih otopina natrijeve soli DNK u komori za dielektričnu spektroskopiju. Učenici na kraju analiziraju rezultate mjerenja vodljivosti.
 - Naučiti koristiti pipetu
 - Određivanje mase uzorka
 - Pripremanje otopine određene molarne koncentracije
 - Razumjeti građu komore za mjerenje vodljivosti
 - Naučiti mjeriti vodljivost mjernom komorom
 - Grafička analiza rezultata

Funkcionalni:

- Poticati primjenjivanje i povezivanje ranije stečenih znanja
- Razvijati sposobnost uočavanja i logičkog zaključivanja

Odgojni:

- Razvijati komunikativnost učenika i timski rad

Oblici rada: Interaktivni oblik nastave temeljen na konstruktivističkom pristupu, laboratorijske vježbe.

Nastavna sredstva: Pribor za pokus, Power point prezentacija, ploča.

Na ovim laboratorijskim vježbama primjenjujemo metodu učeničkog izvođenja i samostalnog zaključivanja. Kroz nastavni sat učenici koriste pipetu za pipetiranje uzoraka, digitalnu vagu, komoru za mjerenje vodljivosti, milimetarski papir.

Učenici na vježbama rješavaju zadatke koje su dobili na papiru. Prije rješavanja pojedinog zadatka uvodim potrebne fizikalne pojmove, te objašnjavam instrumente koje će koristiti (pipeta, digitalna vaga, mjerna komora).

Tijek rada:

Započinjemo ponavljanjem gradiva iz fizike i kemije koje učenicima treba za rješavanje zadataka (definiramo električno polje, jakost električne struje, Ohmov zakon, električni otpor, nosioce naboja, kondenzator, molarnu masu, molarnu koncentraciju).

Nakon uvodnog djela učenicima pokazujem kako pomoću pipete mogu u epruvetu staviti određeni volumen otopine.

Zadatak 1:

Pipetirajte 1000 μL vode u tubicu. Provjerite svoje rezultate.

(Učenici u skupini rješavaju zadatak, tako da svaki učenik pipetira svoj uzorak u epruvetu)

Cilj: Naučiti pipetirati uzorke otopine

Učenici zaključuju da bi provjeru volumena pipetirane otopine najbolje bilo učiniti pomoću menzure. S obzirom na male volumene, u ovom slučaju menzuru predstavlja gradacija na tubicama.

Provjera je aproksimativna i svodi se na kontrolu ponavljanih pipetiranja, tj. koliko puta smo u tubicu pipetirali određeni volumen. Naime, pipetiranjem po 200 μL to treba učiniti 5 puta, i pri takvom repetitivnom radu može doći do zabune, te provjerom na gradaciji tubice vidimo jesmo li zaista pipetirali 5 puta – nivo tekućine je blizu oznake 1 mL ili smo to učinili 4 ili 6 puta – nivo vode je pomaknut.

Prije sljedećeg zadatka stavljam uzorak NaCl (Slika 1a) u epruvetu, te određujem njegovu masu digitalnom vagom (Slika 1b). Objasnjavam učenicima važnost čistoće vage, jer čestice nečistoće koje se nalaze na vagi mogu uzrokovati netočna mjerenja mase uzorka. Također ih upozoravam na važnost zatvaranja vrata komore vage za točnost mjerenja mase.

Stavili smo NaCl u epruvetu na digitalnu vagu, te smo očitali masu epruvete i NaCl uzorka.

Kako bi odredili masu samog NaCl uzorka ?

->Učenici u međusobnoj diskusiji zaključuju da prvo trebamo vagnuti masu same epruvete, pa zatim od mase uzorka i epruvete oduzeti masu epruvete kako bi dobili masu uzorka.



Slika 1: a.) Kristali NaCl

b.) Digitalna vaga

Sljedeći pojam koji diskutiramo je molarna koncentracija koja je učenicima poznata iz kemije. U diskusiji učenici zaključuju da je molarna koncentracija otopine omjer množine otopljene tvari i volumena otopine.

(Jedan učenik na ploči piše formulu)

$$c = \frac{n}{V} \quad (1)$$

Određujemo mjernu jedinicu molarne koncentracije, mol/L koju možemo označiti i kao M.

Također definiramo molarnu masu kao masu tvari u jednom molu, kao M_r :

$$M_r = \frac{m}{n} \quad (2)$$

Definiramo gustoću tvari:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (3)$$

Ponavljanje gornjih izraza je potrebno kako bi učenici efikasnije riješili slijedeći zadatak.

Zadatak 2:

Vagnite određenu količinu NaCl u plastičnoj epruveti, te dodajte u epruvetu volumen vode od 1 dL kako bi dobili otopinu koncentracije 10 mM.

$M_r(\text{NaCl}) = 58.442 \text{ g/mol}$. $\rho(\text{NaCl}) = 2,16 \text{ g/cm}^3$.

Cilj: Naučiti točno vagati uzorak sa digitalnom vagom, te naučiti pripremati otopinu određene molarne koncentracije.

(Učenici rade u skupini. Iz izraza za molarnu masu (2) odrede masu tvari koja im je potrebna da pripreme zadanu otopinu. Zatim odrede masu uzorka $m(\text{NaCl})$ pomoću digitalne vage. Potrebnu masu NaCl stave u vodu kako bi dobili zadanu koncentraciju. Ukupni volumen je samo $V(\text{vode})$ jer se otapanjem soli u vodi volumen otopine ne povećava za volumen dodane soli. Ioni Na^+ i Cl^- uključuju se u prostore između molekula vode. Predlaže im se da kod kuće pokušaju otopiti vrlo veliku količinu kuhinjske soli u vodi, otprilike 200 g u 1L i pogledaju je li volumen otopine porastao iznad 1L.)

Nakon određivanja koncentracija prelazimo na mjerenja vodljivosti.

Mi ćemo mjeriti vodljivost NaDNK tj. natrijeve soli deoksiribonukleinske kiseline. Deoksiribonukleinska kiselina (Slika 2) je nukleinska kiselina u obliku dvostruke, spiralne zavojnice koja sadrži genetičke odrednice za specifični biološki razvoj staničnih oblika života i većine virusa. Godine 1953. Francis Crick i James Watson konstruirali su i opisali model dvostruke uzvojnice lanca DNK, a njihova konstrukcija potekla je od rendgenskih difrakcijskih uzoraka koje su snimili Rosalind Franklin i Raymond Gosling u svibnju 1952. DNK je dugački polimer parova nukleotida (adenin, citozin, gvanin, timin) i kodira redosljed aminokiselina u proteinima koristeći genetički kod tj. trostruki kod nukleotida. Svaki se nukleotid sastoji od šećera (deoksiriboza), fosfata i nukleobaza (baza). U čistoj vodi NaDNK disocira na pozitivno nabijen ion Na^+ i negativno nabijen polion DNK. Naboj DNK je primarno negativan zbog fosfatnih skupina između svake deoksiriboze. Izrazom čista voda definiramo vodu sa niskim udjelom vodljivih iona.

Zašto nam je kod mjerenja vodljivosti niskih koncentracija vodenih otopina nekog uzorka važno da udio vode bude što manji ?

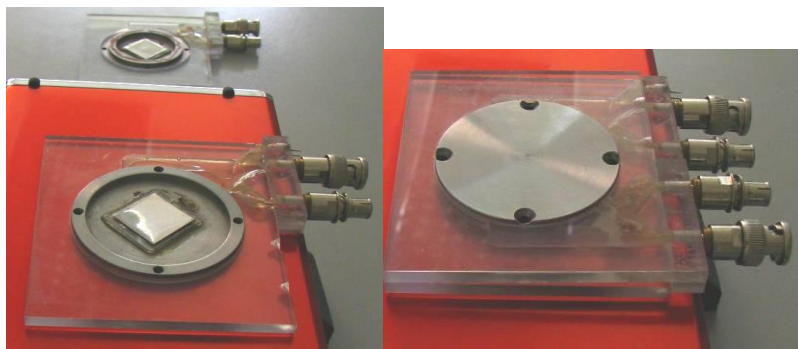
->Učenici u diskusiji zaključuju da vodljivost vode treba biti što manja kako doprinos vodljivosti same vode ne bi bio veći od vodljivosti uzorka.



Slika 2: Deoksiribonukleinska kiselina

Mjerenja vodljivosti su sastavni dio mjerenja niskofrekventnom dielektričnom spektroskopijom koja se izvodi pomoću kapacitivne komore kućne izrade priključene na precizni mjerač impedancije Agilent 4294A (Slika 6) kojim se mjeri u rasponu frekvencija od $\omega = 100 \text{ Hz}$ do 110 MHz. Na temelju vodljivosti koju dobijemo iz mjerenja spektroskopijom možemo pretpostaviti strukturu lanaca (poliiona) i strukturu otopine. Npr. vodljivost denaturirane (raspadnute) DNK na visokim koncentracijama je viša nego li vodljivost native DNK. Volumen uzorka koji se mjeri je $100 \mu\text{L}$. Kapacitivna mjerna komora (Slika 3) omogućava mjerenje kompleksne vodljivosti u mjerivom rasponu specifične vodljivosti σ od $1.5\text{--}2000 \mu\text{S/cm}$.

Učenicima pokazujem komoru za mjerenje vodljivosti (Slika 3).



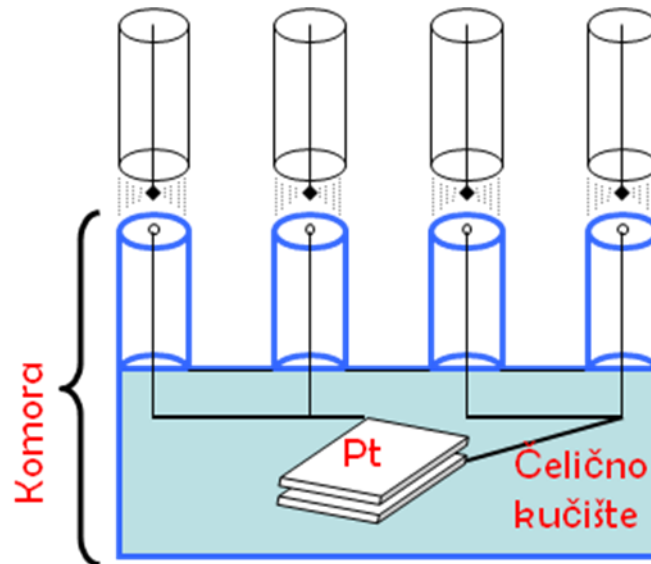
Slika 3: Komora za mjerenje vodljivost

Pokazujem kako se uzorak treba staviti u komoru (Slika 4).



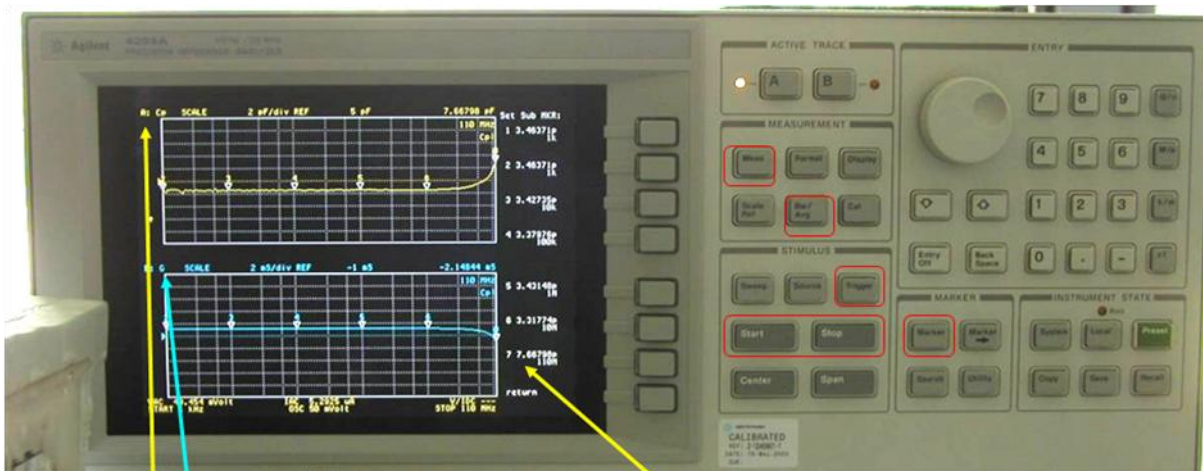
Slika 4: Stavljanje uzorka u komoru

Komora se sastoji od čeličnog kućišta unutar kojega se nalaze platinske elektrode (Slika 4). Elektrode formiraju kondenzator unutar kojeg se nalazi uzorak. Male ac amplitude od 50 mV su korištene za istraživanje odgovora NaDNK. Vodljivost G koju mjerimo trebamo pomnožiti konstantom komore l/S kako bi dobili specifičnu vodljivost σ .



Slika 4: Unutrašnjost komore

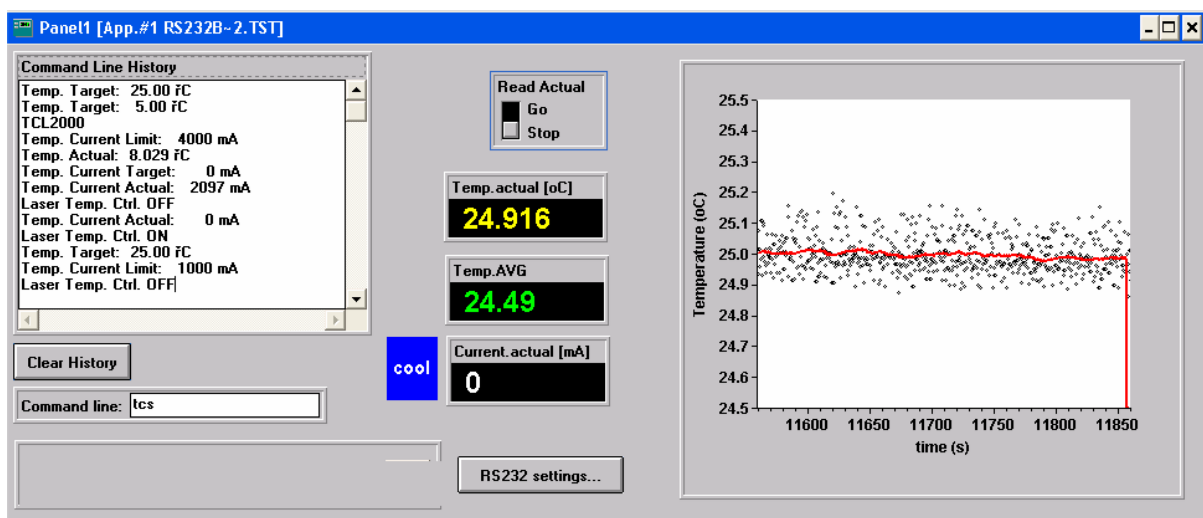
Analizator impedancije Agilent (Slika 6) koristimo kod mjerenja vodljivosti.



Gumb	Izbor	Značenje	Krajnji status
Meas	Cp-G	Kapacitet i realni dio vodljivosti	Gornji i donji ekran, A & B gumbi
Start/Stop	100 Hz- 110MHz; 201 points	Frekvencijski opseg, mjerenje 201 točke	
Bw/Avg	BW=1, Avg 1/point, 3 sweeps	Mjeri na jednoj frekvenciji duže vremena ali ne radi usrednjavanje. Usrednjava mjereni spektar, 3 puta	6 minuta za mjerenje
Trigger	Groups 3	Mjeri 3 puta, te usrednjava.	Ovime započinje pravo mjerenje
Marker	Submarker	Čitanje vrijednosti Cp,G sa ekrana na 100 kHz i 110 MHz	Prikazane vrijednosti

Slika 6: Agilent analizator impedancije

Vodljivost mjerimo na 25 °C, a temperaturu održavamo stalnom pomoću komponente za stabilizaciju temperature koja je spojena na računalo. Pomoću naredbe *tcr* pokrećemo stabilizaciju temperature, a pomoću naredbe *tcs* zaustavljamo stabilizaciju. Čitanje temperature pokrećemo klikom na gumb *Go*, a zaustavljamo klikom na gumb *Stop* unutar aplikacijskog sučelja (Slika 7).



Slika 7: Aplikacijsko sučelje koje se koristi za upravljanje stabilizacijom temperature.

Ako spojimo napon na krajeve elektroda, što će se dogoditi sa anionima i kationima ?

->Učenici zaključuju da će kationi dolaziti na anodu, a anioni na katodu. Ako se naboji gibaju tada će protjecati struja kroz otopinu.

Kako bi mogli iz jakosti struje zaključiti kolika je vodljivost naše otopine ?

->Učenici razmišljaju da je struja obrnuto proporcionalna sa otporom, a otpor je obrnuto proporcionalan sa vodljivošću. Zaključuju da je vodljivost proporcionalna sa strujom i da ako mjerimo veću struju, tada je i vodljivost veća.

Upute za mjerenje vodljivosti mjernom komorom:

- 1.) Stavite uzorak otopine na sredinu mjerne komore
- 2.) Zatvorite komoru
- 3.) Spojite komoru na Agilent mjerač impedancije
- 4.) Uključite stabilizator temperature (*tcr, Go*)
- 5.) Pričekajte da prođe cijelu krivulju
- 6.) Pritisnite gumb A, trigger, groups
- 7.) Očitajte sa plavog grafa vodljivost na 100 kHz
- 8.) Isključite stabilizator temperature (*tcs, Stop*)
- 9.) Izvadite komoru, isperite je i ispušite zrakom pod tlakom

Zadatak 3:

Odredite specifičnu vodljivost σ različitih koncentracija NaCl. Nacrtajte graf ovisnosti vodljivosti o koncentraciji.

(Učenici dobivaju ispisanu tablicu za 5 različitih koncentracija DNK otopina sa uputama za mjerenje vodljivosti. Skupine su po 5 učenika i svaki učenik samostalno mjeri jednu koncentraciju.)

Cilj: Naučiti mjeriti vodljivost pomoću mjerne komore, te prikazati rezultate u ovisnosti o koncentraciji.

Kakva je ovisnost vodljivosti i koncentracije ?

->Učenici analiziraju graf, uočavaju linearnu funkciju, te zaključuju da je vodljivost proporcionalna koncentraciji tj. raste linearno sa koncentracijom.

Zašto vodljivost raste sa koncentracijom ?

-> Učenici u raspravi zaključuju da bi se takav odnos mogao objasniti da kod viših koncentracija postoji više naboja koji sudjeluju u vodljivosti.

B) Fizikalne veličine

Fizikalna veličina	Oznaka	Jedinica
Avogardova konstanta	N_A	$6,022045 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
Bjerrumova duljina	l_B	m
Boltzmannova konstanta	k_B	$1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J/K}$
Brownova sila	F	N
Brzina	V	m/s
Debyeova duljina zasjenjenja	κ^{-1}	m
Duljina konture	L_c	m
Difuzijska konstanta	D	m^2/s
Difuzijska konstanta (teorijska)	D_{teo}	m^2/s
Difuzijska konstanta (eksperimentalna)	D_{eksp}	m^2/s
Difuzijska konstanta (štapićasti fragmenti)	D_R	m^2/s
Efektivna kontaktna površina	S	m^2
Električna sila	F_E	N
Električni potencijal	φ	V
Električno polje	E	V/m
Elementarni naboj	e	$1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$
Faradayeva konstanta	F	96485 C/mol
Gustoća fluida	ρ	kg/m^3
Ionska jakost otopine	I_s	mM
Kapacitet	C	F
Koncentracija preklapanja	c^*	kg/m^3
Koeficijent otpora kod gibanja kroz otopinu	f_v	kg/s
Konstanta komore	K	m^{-1}
Kružna frekvencija	ω	1/s
Masa monomera	m_b	kg
Masena koncentracija	C	kg/m^3
Molarna koncentracija	C	mol/L
Molarna koncentracija poliiona	c_p	mol/L
Molarna masa	M	g/mol
Molarna vodljivost	Λ	Sm^2 / mol
Molarna vodljivost poliiona	Λ_p	Sm^2 / mol
Molarna vodljivost (granična)	Λ_0	Sm^2 / mol
Naboj	Q	C
Naboj poliiona	Q_p	C
Napon	U	V
Otpor	R	Ω
Parametar gustoće naboja	U	-
Parametar korekcije	ν	m^2/s

permitivnost vakuuma	ϵ_0	$8,8542 \cdot 10^{-12} \text{ F/m}$
Pokretljivost čestica	μ_p	m^2/Vs
Polumjer čestice	R	m
Promjer čestice	2R	m
Promjer cilindrične čestice	d_R	m
Površina	S	m^2
Radius giracije	R_g	m
Relativna permitivnost vode	$\epsilon_{\text{H}_2\text{O}}$	78,65 na T=298,15 K
Reynoldsov broj	R_e	-
Temperatura	T	K
Veličina monomera	B	m
Udaljenost među elektrodama	L	m
Udio slobodnih protuiona	F	-
Valencija	Z	-
Valencija poliiona	Z_p	-
Valencija monomera	z_p	-
Vodljivost (specifična)	σ	S/m
Vodljivost	G	S

C) Kazalo pojmova

Bandwidth (BW)- postavka na Agilent uređaju koja omogućava brzo mjerenje jedne točke, tj. jednog spektra.

Bjerrumova duljina- mjera odnosa jakosti elektrostatskog međudjelovanja i toplinskih pobuđenja naboja u nekom otapalu (dielektričnom mediju).

Debyeova duljina- udaljenost na kojoj se potencijal smanji za $1/e$ od njegove vrijednosti na površini metala. Definira se i kao mjera širine dvosloja.

Elektrolit- tvar koja rastaljena ili otopljena u vodi provodi električnu struju. Taljenjem ili otapanjem disocira na električki nabijene čestice (ione).

Koioni- ioni jednakog naboja kao i površina elektrode.

Peltierovi elementi- poluvodički elementi koji rade kao toplinske pumpe i služe za grijanje/hlađenje komore.

Protuioni- ioni suprotnog naboja od naboja površine elektrode.

Radijus giracije-mjera veličine čestice koja se računa kao drugi korijen srednje udaljenosti dijela čestice od centra gravitacije ili druge osi.

Reynoldsov broj- bezdimenzionalni broj koji definira omjer inercijalnih i viskoznih sila za određene uvjete toka tekućine.

D) Kratice

ac – Izmjenična struja (eng. Alternating current)

DB – Debye-Hückelova

DNK – deoksiribonukleinska kiselina (*engl. deoxyribonucleic acid*)

ds – dvostruka uzvojnica (*engl. double stranded*)

FCS – fluorescentna korelacijska spektroskopija (*eng. fluorescence correlation spectroscopy*)

MO – Manning-Oosawa

NaPSS – natrij polistiren sulfonat

PB – Poisson-Boltzmann

SAXS – raspršenje X-zraka pod malim kutovima (*eng. small angle X-ray scattering*)

ss – jednostruki lanac (*engl. single stranded*)

UV – ultraljubičasta (*engl. ultraviolet*)