

C6200–Biochemické metody

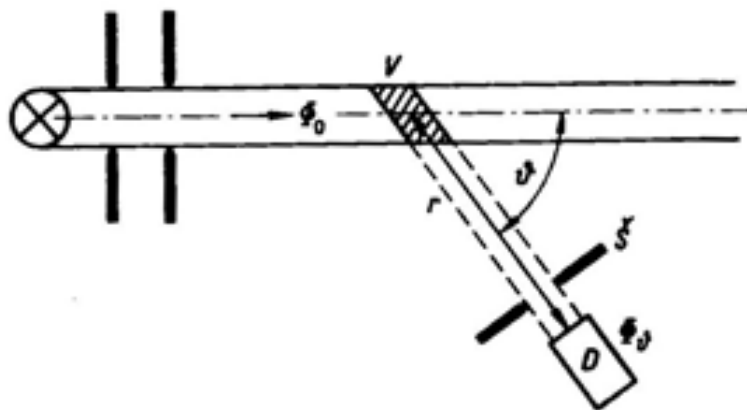
12F1_ROZPTYLOVÉ METODY

Petr Zbořil

Rozptyl světla

- Interakce fotonu s částicí – indukce a zánik dipolmomentu
 - Dipolmoment $p = a E$ (koef. polarisovatelnosti x int. el. pole – foton)
 - Homogenní prostředí – fotony v různých směrech se vyruší
 - Nehomogenita prostředí – rozptyl
- Čisté prostředí – rozpouštědlo
 - fluktuace hustoty
- $\langle (d\rho)^2 \rangle = k T b_0 \rho_0^2 / dV$ ρ - hustota = $\rho_0 + d\rho$ pro elementární objem dV
- k – Boltzmanova k., b_0 - stlačitelnost
-
- $r^2 \Phi_\vartheta / \Phi_0 = R_\vartheta = k (1 + \cos^2 \vartheta) V / l^4$ Einstein, Smoluchowski
-
- r – vzdálenost, světelný tok rozptýlený (objemem V ve vzdálenosti r) a primární, Rayleighův poměr, k - optická konstanta látky – f(hustoty, indexu lomu, T aj.)

Rozptyl světla



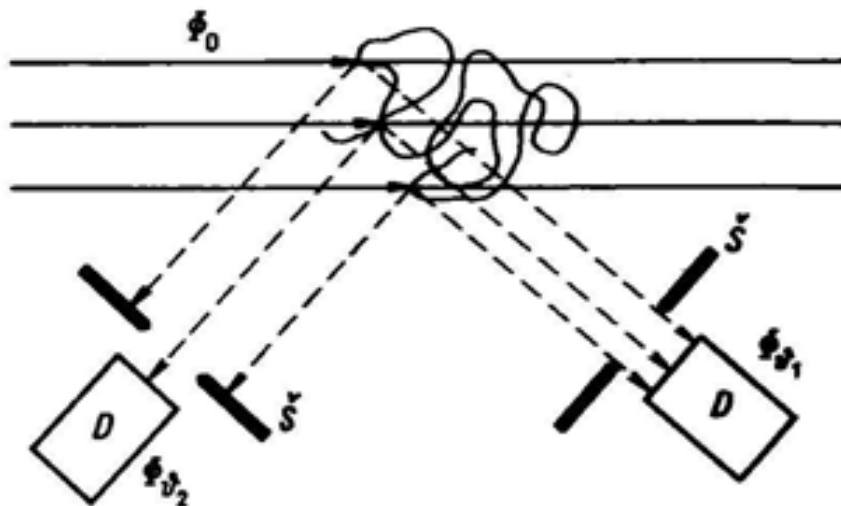
Obr. 2.12 Schéma měření
toku rozptýleného světla
 \tilde{s} – štěrba,
 V – rozptylující objem
dané látky, D – detektor

Rozptyl světla

- Roztoky – navíc (a zejména) koncentrační fluktuaace – řádově větší
- $\langle(\Delta c)^2\rangle = kTc_0 / \Delta V (dP/dc)$ P - osmotický tlak
 - Projeví se změnou indexu lomu n (pokud se neliší - $dn / dc = 0$ - bez vlivu)
- **Malé částice** - $d < \lambda/20$
 - kulová symetrie rozptylu - intenzita stejná ve všech směrech
 - redukovaná intenzita $R = (1 + \cos^2 \vartheta) / R_g$ nezávisí na ϑ , měření jen pro $\vartheta = 90^\circ$
tj. $R = 1 / R_g$
- **$Kc_m/R = 1/M_r + 2Bc_m + \dots$** (viriální koeficient B závisí na tvaru)
 - optická konstanta K - zjištění z dn/dc_m $K = (2p^2n^2/N_A\lambda^4) \cdot (dn/dc_m)$
- **$R_g = r^2(\Phi_g - \Phi_g^0)/\Phi_0$**
- roztok - rozpouštědlo / primární
- Měření pro řadu koncentrací pro $\vartheta = 90^\circ$ - vynesení **Kc_m/R proti c_m**

Rozptyl světla

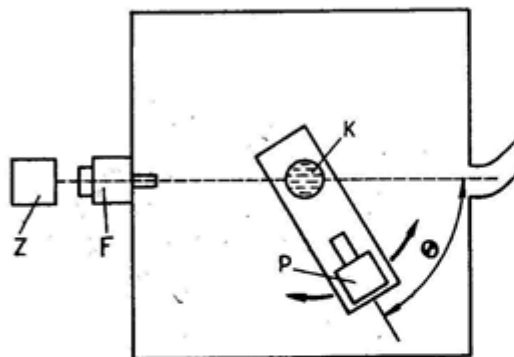
- Větší částice
 - interference pro různé $\vartheta \Rightarrow$ nutno měřit pro řadu úhlů ($45^\circ - 135^\circ$)



Obr. 2.13 Zeslabení toku rozptýleného světla při jeho rozptylu velkými částicemi
š — štěrba, D — detektor

Rozptyl světla

- Větší částice
 - Schema měření



Obr. 86 Schéma přístroje pro měření rozptylu světla

Z – zdroj, F – filtr, K – kyveta s roztokem, P – fotonásobič, θ – úhel měření

Rozptyl světla

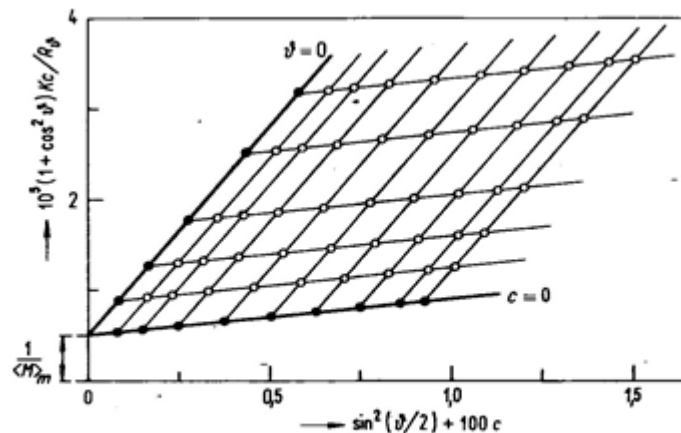
- Větší částice
 - interference pro různé $\vartheta \Rightarrow$ nutno měřit pro řadu úhlů ($45^\circ - 135^\circ$)
- Vztah se rozšíří o rozptylovou funkci P_ϑ , tvarovou konstantu S a střední gyrační poloměr částic R_G
- **$Kc_m/R = 1/M_r \cdot P_\vartheta + 2Bc_m + \dots$**
 - $1/P_\vartheta = S \cdot \sin^2(\vartheta/2) = 1 + (16\pi^2 n_0^2 / 3\lambda^2) \langle R_G^2 \rangle \sin^2(\vartheta/2)$
-
- **$Kc_m/R = 1/M_r \cdot S \cdot \sin^2 \vartheta/2 + 2Bc_m + \dots$**

Rozptyl světla

- Větší částice
 - interference pro různé $\vartheta \Rightarrow$ nutno měřit pro řadu úhlů ($45^\circ - 135^\circ$)

Rozptyl světla

Vynesení – Zimmovy diagramy



Obr. 2.14 Zimmův diagram látky o relativní molekulové hmotnosti $M_m = 200\,000$

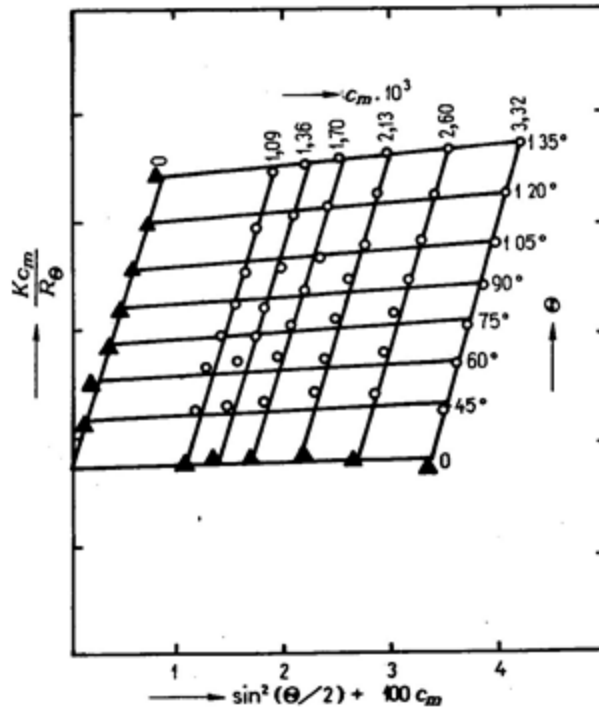
Násobky se zvolí pro přiměřené rozložení bodů

Experimentální body o, pro $\vartheta = 0$ a $c_m = 0$ se extrapoluje – plné •

Stanovení M_r z průsečíku, $B = sm_{\vartheta=0}/2$, R_G ze $sm_{c_m=0}$

$$R_G = sm_{c_m=0} \cdot M_r \cdot 3l^2/16p^2$$

Rozptyl světla

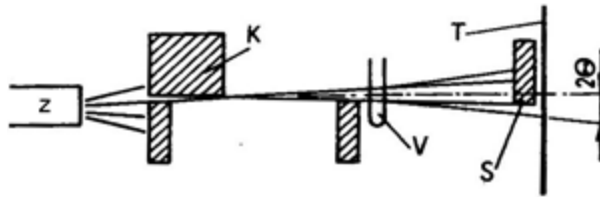


Obr. 85 Zimmův diagram pro určení molekulové hmotnosti poly-L-prolinu v propionové kyselině na základě měření rozptylu světla
Význam symbolů je v textu

Výpočtem:

$$M_r - M_w \text{ (průměr)} = 58000, R_G = 54 \text{ nm}, B = 2,2 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ mol g}^{-2}$$

Rozptyl Rentgenova záření v malých úhlech

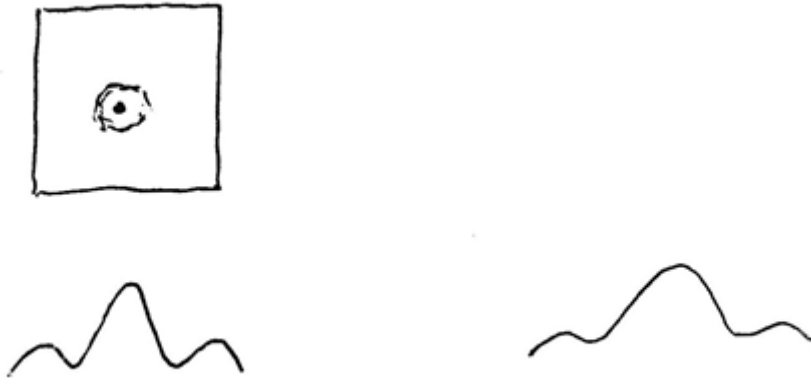


Obr. 88 Schéma přístroje pro měření rozptylu paprsků X v malých úhlech
Z – zdroj paprsků X, K – kolimátor, V – vzorek, T – rovina pozorování (detektor), S – destička pohlcující paprsky X

$$\Theta \in 1-2^\circ$$

- Detektor – fotografická deska, GM
- Široký obor velikostí 2 – 2000 nm
- Přístrojově náročné a nákladné.

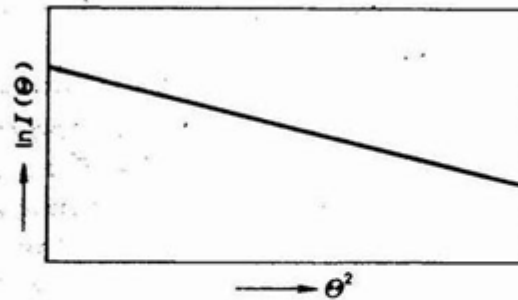
Rozptyl Rentgenova záření v malých úhlech



- Záznam rozptylu X v malých úhlech a densitogramy pro kulovité (vlevo) a protáhlé

Rozptyl Rentgenova záření v malých úhlech

$$i_{\theta} = I_0 \exp\left(-\frac{16\pi^2}{3\lambda^2} R_G^2 \theta^2\right)$$



Obr. 87 Rozptyl paprsků X v malých úhlech
 $I(\theta)$ – intenzita rozptýlených paprsků pod úhlem θ

- Vztah platí pro kulovité částice, protáhlé – srovnání s křivkami vypočtenými.

DĚKUJI ZA POZORNOST