

74635 Molekylær biofysikk EKSAMEN 3. DESEMBER 1998. LØSNINGSFORSLAG.

En fullgod besvarelse bør ha med flere figurer enn i dette løsningsforslaget. Det er henvist til kompendiet i Molekylær biofysikk (1997-utgaven) samt Øvinger 1998.

Oppgave 1a.

(Kap. 7.4.2). Når η er løsningsens viskositet og η_0 løsningsmiddelets viskositet, defineres

relativ viskositet: $\eta_r = \eta/\eta_0$,

spesifikk viskositet: $\eta_{sp} = \eta_r - 1$ og

egenviskositet: $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{sp}/c$ ($c =$ makromolekylkonsentrasjonen i g/ml el.l).

Enhet for $[\eta]$ er invers konsentrasjonen, dvs. ml/g, dl/g el.l. (NB m³/mol er ikke vanlig.)

Einstein viste teoretisk at spesifikk viskositet for sfæriske partikler i løsning er gitt av: $\eta_{sp} = 2,5 \cdot \phi$, der ϕ er partiklenes volumandel av totalvolumet (løsningsens volum). For partikler med annen form gjelder: $\eta_{sp} = \nu \cdot \phi$, der Sihma-faktoren ν alltid er større enn 2,5. Fordi $\phi =$ molekylvolum/løsningsvolum $= c/\rho$, der $\rho =$ partiklenes massetetthet, finner vi

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\nu c}{\rho c} = \frac{\nu}{\rho}.$$

Oppgave 1b.

(Kap. 9.5.3 + Øv. 8). $s =$ fart/akselerasjon $= u/(\omega^2 r)$, der ω er vinkelfarten for sentrifugehodet og r er midlere avstand fra rotasjonsaksen.

Kraften (fratrasket oppdriften) på ett molekyl med masse m_i og volum v_i er lik:

$$F_i = \omega^2 r (m_i - \rho_0 \cdot v_i) = \omega^2 r \frac{M}{N_A} \cdot (1 - \rho_0 \bar{V}_i^{(S)}),$$

der M er molekylvekten, ρ_0 er løsningsmiddelets massetetthet og $\bar{V}_i^{(S)}$ molekylens partielle spesifikke volum. Denne kraften gir en sedimentasjonshastighet u gitt ved: $F_i = f_T \cdot u$, som igjen gir oss:

$$s = \frac{u}{\omega^2 r} = \frac{F_i}{f_i \omega^2 r} = \frac{M}{N_A f_T} \cdot (1 - \rho_0 \bar{V}_i^{(S)})$$

Oppgave 1c.

(Øv. 8). Friksjonskoeffisienten bestemmes fra Stokes formel for kuleformet molekyl: $f_T = 6\pi\eta_0 R$. Vi må altså bestemme hydrodynamiske radius R . Finner først volum v_i pr. molekyl: $v_i = (\bar{V}_i^{(S)} + \delta \bar{V}_0^{(S)}) \cdot M/N_A$, der $\delta = 0,6$ er hydreringsfaktor og $\bar{V}_0^{(S)} \approx 1/\rho_0$ er vannets spesifikke volum. Oppgitte tallverdier gir da:

$$v_i = (0,75 + 0,6 \cdot 1) \text{ cm}^3/\text{g} \cdot \frac{500 \text{ kg/mol}}{N_A} = 1,12 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 = 1120 \text{ nm}^3,$$

$$\text{og fra } v_i = \frac{4\pi}{3} R^3 \text{ får vi } R = 6,44 \text{ nm} \quad \text{og} \quad f_T = 6\pi\eta_0 R = 1,21 \cdot 10^{-10} \text{ Ns/m}.$$

Dette gir endelig $s = \frac{500 \text{ kg/mol}}{N_A \cdot f_T} \cdot (1 - 1,0 \cdot 0,75) = 17,2 \cdot 10^{-13} \text{ s}^{-1} = \underline{17 \text{ S}}$, der S = 1 svedberg.

Oppgave 1d.

(Kap.9.1+7.4.2 + Øv. 8). Oppgitte figurer viser F'_T og ν for ulike akseforhold. Sihma-faktoren ν er direkte gitt av egenviskositeten fra formel i a): $6,5 = [\eta]_2/[\eta]_1 = \nu_2/\nu_1$. Kuler har $\nu = 2,5$ (kan avleses fra grafen), derfor er $\nu_2 = 6,5 \cdot 2,5 = \underline{16,3}$. Grafen viser da at molekylet enten er en prolat ellipsoide med akseforhold omlag 11:1 eller en oblat med akseforhold 22:1.

F'_T er definert ved: $f_T = F'_T \cdot f_{0,T}$, der $f_{0,T} = 6\pi\eta R$ for en kule med samme volum. Dimeren

og monomeren har ulike $f_{0,T}$ fordi volumene er ulike for den ekvivalente kule. Med $V_2/V_1 = 2$ er $R_2/R_1 = 2^{(1/3)}$, derfor

$$\begin{aligned} f_{T,1} &= 1 \cdot 6\pi\eta R_1 \quad (\text{kule med } F_{T,1} = 1) \\ f_{T,2} &= F_{T,2} \cdot 6\pi\eta R_2 = F_{T,2} \cdot 6\pi\eta R_1 2^{(1/3)} = F_{T,2} \cdot f_{T,1} \cdot 2^{(1/3)}, \end{aligned}$$

Sammenheng mellom oppgitt D_T og f_T ved Nernst Einsteins likning: $f_T D_T = k_B T$, slik at $f_{T,2}/f_{T,1} = D_{T,1}/D_{T,2} = 2$, og derfor:

$$F_{T,2} = \frac{f_{T,2}}{f_{T,1}} \cdot 2^{(-1/3)} = 2 \cdot 2^{(-1/3)} = \underline{1,6}.$$

Av grafen er dette oppfylt for en prolatt ellipsoide med akseforhold omlag 11:1 eller en oblat med akseforhold 14:1. Sammenholdt med viskositetsdata finner vi konklusjonen: dimeren er en prolatt ellipsoide med akseforhold 11:1.

Oppgave 2a.

(Kap. 11.1.2+3).

i) $\vec{\omega}_L = -\gamma \vec{B}$, dvs. roterer om akse antiparallell med \vec{B} .

ii) Longitudinell relaksasjonstid, T_1 , for M_z (langs det ytre magnetiske felt). Også kalt spinn-gitter-relaksasjonstid fordi denne relaksasjonen er et resultat av vekselvirkning mellom kjernespinne og omgivelsene.

Transversell relaksasjonstid, T_2 , for M_x og M_y (på tvers av det ytre magnetiske felt). Kalles også spinn-spinn-relaksasjonstid fordi denne relaksasjonen er et resultat av innbyrdes vekselvirkning mellom kjernespinne.

iii) T_2 angir hvor fort M_z faller mot likevektsverdien M_0 :

$$\dot{M}_z(t) = \frac{M_0 - M_z(t)}{T_1} \quad \text{med løsning} \quad M_z(t) = M_0(1 - \exp\{-t/T_1\})$$

mens T_1 angir hvor fort M_x og M_y faller mot likevekt (=0):

$$\begin{aligned} \dot{M}_x(t) &= -\frac{M_x(t)}{T_2} \quad \text{med løsning} \quad M_x(t) = M_{x0} \cdot \exp\{-t/T_2\} \cdot \sin \omega_L t \\ \dot{M}_y(t) &= -\frac{M_y(t)}{T_2} \quad \text{med løsning} \quad M_y(t) = M_{y0} \cdot \exp\{-t/T_2\} \cdot \cos \omega_L t \end{aligned}$$

Bloch-likningene inklusiv relaksasjonene blir derfor

$$\dot{\vec{M}} = \gamma \vec{M} \times \vec{B} + \begin{pmatrix} 1/T_2 & 0 & 0 \\ 0 & 1/T_2 & 0 \\ 0 & 0 & 1/T_1 \end{pmatrix} (\vec{M}_0 - \vec{M})$$

Oppgave 2b.

(Kap. 11.1.4+11.1.6) Ved CW-NMR eksiteres de kjernemagnetiske dipoler ved et svakt, stasjonært (kontinuerlig) harmonisk magnetfelt \vec{B}_{rf} som er et roterende felt i xy -planet (normalt på det statiske magnetfeltet \vec{B}_0). Feltet har frekvens ω_{rf} i radiofrekvensområdet, nærmere bestemt i nærheten av Larmour-frekvensen ω_L . Feltet settes opp av en spole med akse langs x -retning som gir et lineært oscillerende B-felt i x -retning. Dette tenkes dekomponert i to roterende felt med motsatt rotasjonsretning, hvorav bare komponenten som roterer samme retning som $\vec{\omega}_L$ kan gi energiabsorpsjon til kjernemomentene.

Resultatet er at magnetiseringen \vec{M} etter en kort tid oppnår en stasjonær tilstand der \vec{M} preseserer med frekvens ω_{rf} . (Den stasjonære) energiabsorpsjonen er sterkt avhengig av hvor nærme ω_{rf} er resonansfrekvensen for den aktuelle kjerne.

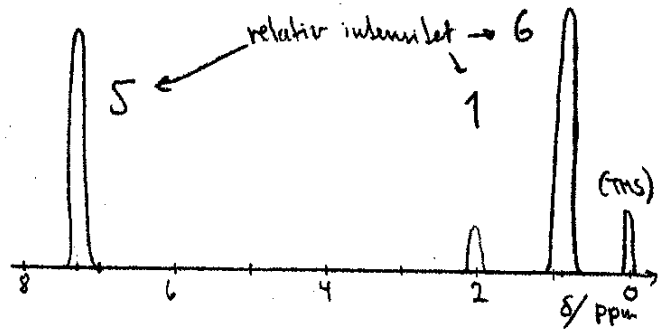
Ved pulset teknikk sendes i prinsipp det samme harmonisk varierende magnetfeltet inn på

prøven, men amplituden til dette feltet er nå betydelig sterkere slik at \vec{M} ikke oppnår stasjonær tilstand, men får en varierende preseseringsamplitude. Den høye amplituden kombineres med kun kortvarige pulser (derav navnet). En kan ved såkalte spinn-ekko-eksperiment (f.eks. ved en $90^\circ - \tau - 180^\circ$ pulssekvens) på en effektiv måte få informasjon om bla. relaksasjonstider. Analysen gjøres enklest ved bruk av roterende koordinatsystem og Fourier-transformteknikker, og pulsteknikken er den enerådende i NMR-instrumenter i dag. Ved Fourier-teknikker eksiteres med en rekke ulike frekvenser i samme eksitasjonspulsen.

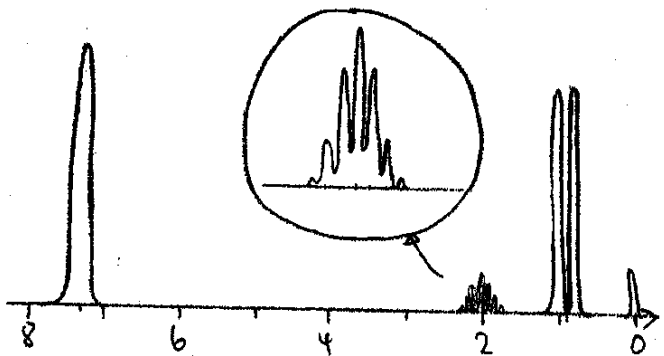
Oppgave 2c.

(Øving 10.)

Fra tabellen ser vi at det kjemiske skift for protonene i den sykliske ringen er 7,3, for CH-protonet 2,0 og for CH₃-protonene 0,9. Intensitetsfordelingen står i forhold til antall protoner av hvert slag, dvs. 5:1:6. Uten hensyn til spinn-spinn-kopling blir spekteret som vist i første figur.

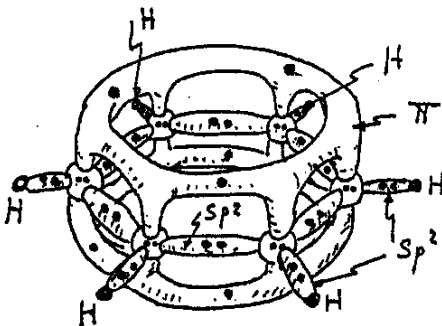


Singel-H-toppen splittes i 7 pga. de seks nærliggende CH₃-protoner. Intensitetsfordelingen blir (utledet fra f.eks. "Pascals trekant") 1:6:15:20:15:6:1. CH₃-proton-toppen splittes i to fra det ene CH-protonet. De sykliske protoner ligger lengre unna, og spinn-spinn-splitting er svak og kan sees bort fra i dette tilfellet. Riktignok splittes de tre protonene nærmest CH₃-gruppene noe (og det kjemiske skift for disse er også noe ulikt de to andre). Spekteret med spinn-spinn-splitting er vist nederst.



Oppgave 3a.

(Kap. 1.5, Øving 2.)



Totalt antall elektroner:

C: $6 \cdot 6 = 36$

H: $1 \cdot 6 = 6$, totalt: 42.

Orbitaltype	# orbitaler	# elektroner
1s C	6	12
sp ² CC	6	12
sp ² CH	6	12
π C-ring	3	6

Oppgave 3b.

(Kap. 3.2.2, Øving 3.)

Molaritet: # mol pr. liter (antall molekyler før tilsats til løsning)

Osmolaritet: # mol ioner(partikler) pr. liter (antall etter løst opp) som er osmotisk aktive, dvs. ikke slipper gjennom en spesifisert membran.

Ionestyrke: $I = \frac{1}{2} \sum_i c_i Z_i^2$, der c_i er molar ionekonsentrasjon og Z_i er valensen til det tilhørende ion (antallet etter løst opp). Ioner med høyere valens teller altså mer.

Osmolariten aktuell ved egenskaper som øker med antallstettheten, f.eks. osmotisk trykk. Ionestyrke nyttig ved angivelse av Debyeskjerming, idet skjermingslengden $\lambda_D \propto 1/\sqrt{I}$.

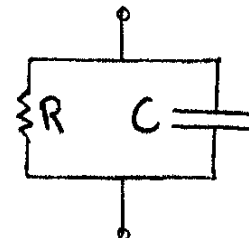
Oppgave 3c.

(Kap. 3.2.2, Øving 3.) Ekvivalentimpedansen for parallellkoplingen til høyre er

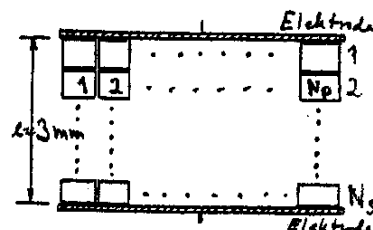
$$Z = R // (1/j\omega C) = \frac{R}{1 + j\omega RC} \approx \begin{cases} \frac{1}{j\omega C} & \leftarrow \omega \gg 1/(RC) \\ R & \leftarrow \omega \ll 1/(RC) \end{cases}$$

At fasen er 90° viser at $Z = \frac{1}{j\omega C}$, derfor kan vi beregne kapasitansen C fra målt impedans:

$$|Z| = \frac{1}{\omega C} \Rightarrow C = \frac{1}{2\pi f |Z|} = \frac{1}{2\pi \cdot 100 \text{ s}^{-1} \cdot 800 \text{ k}\Omega} = 1,99 \text{ pF}$$



Denne kapasitansen er fordelt på N_p celler i parallell og N_s celler i serie hver med kapasitans C_m for hver celledmembran. Fra figuren ser vi $N_s = \frac{3 \text{ mm}}{4,4 \mu\text{m}} = 682$. Antall celledmembraner i serie er $2N_s$. Videre er $N_p = \frac{3,2 \text{ cm}^2}{4,4 \cdot 4,4 \mu\text{m}^2} = 16,5 \cdot 10^6$. Kondensatorer i serie og parallellkopling:



$$C = C_m \cdot \frac{N_p}{2N_s} \Rightarrow C_m = C \cdot \frac{2N_s}{N_p} = 1,64 \cdot 10^{-16} \text{ F}$$

(Oppgitt) kondensatorformel: $C_m = \epsilon_m \epsilon_0 \frac{A}{d}$, gir da tykkelsen d på lippiddobbeltlaget:

$$d = \epsilon_m \epsilon_0 \frac{A}{C_m} = 3 \cdot 8,85 \text{ pF/m} \cdot \frac{4,4 \cdot 4,4 \mu\text{m}^2}{1,64 \cdot 10^{-16} \text{ F}} = \underline{3,1 \mu\text{m}}$$

Utregningen kan bli kortere ved å unngå utregning av N_p og bruke A = areal av hele elektroden i siste likning. Da er $C = C_{m,p} \cdot \frac{1}{2N_s} \Rightarrow C_{m,p} = C \cdot 2N_s = 2,71 \cdot 10^{-9} \text{ F} \Rightarrow d = \epsilon_m \epsilon_0 \frac{A}{C_{m,p}} = 3 \cdot 8,85 \text{ pF/m} \cdot \frac{3,2 \text{ cm}^2}{2,71 \cdot 10^{-9} \text{ F}} = \underline{3,1 \mu\text{m}}$

Svaret er 1000 ganger større enn forventet. Årsaken er at oppgavens spesifiserte 800 kΩ skulle være 800 Ω !! Denne feilen ble ikke oppdaget under eksamen. Utregning med 800 Ω gir: $C = 1,99 \text{ nF}$, $C_m = 1,64 \cdot 10^{-13} \text{ F}$ og $d = 3,1 \mu\text{m}$.

Oppgave 3d. (Kap. 11.3.) IR-stråling med bølgelengder i området 1-1000 μm eksiterer de longitudinelle vibrasjonsmodene samt bøynings- og vridningsmodene (torsjonsmodene) til kovalente bindinger. Resonansfrekvensen og dermed absorpsjonsfrekvensen er karakteristisk for ulike atomgrupper, derfor kan IR-spekteret gi informasjon om hvilke ulike bindinger og atomgrupper som finnes i et molekyl.

I et Fouriertransform IR-spektrometer sendes en monokromatisert IR-stråle inn mot et oscillatorende speil før den sendes gjennom prøven. Pga. Dopplereffekten perturberes bølgelengden harmonisk omkring innsendt bølgelengde, og IR-absorpsjonen ved de ulike bølgelengder kan effektivt plukkes ut ved en (invers) Fourier-transform av det detekterte signalet. For enkelt å måle hastigheten til speilet (og dermed perturbasjonen i bølgelengden) brukes en laserstråle mot speilet. Fig. 11.23 i kompendiet viser instrumentet.

Etter innføring av Fouriertransform IR-spektrometeret har IR fått en viss renessanse.