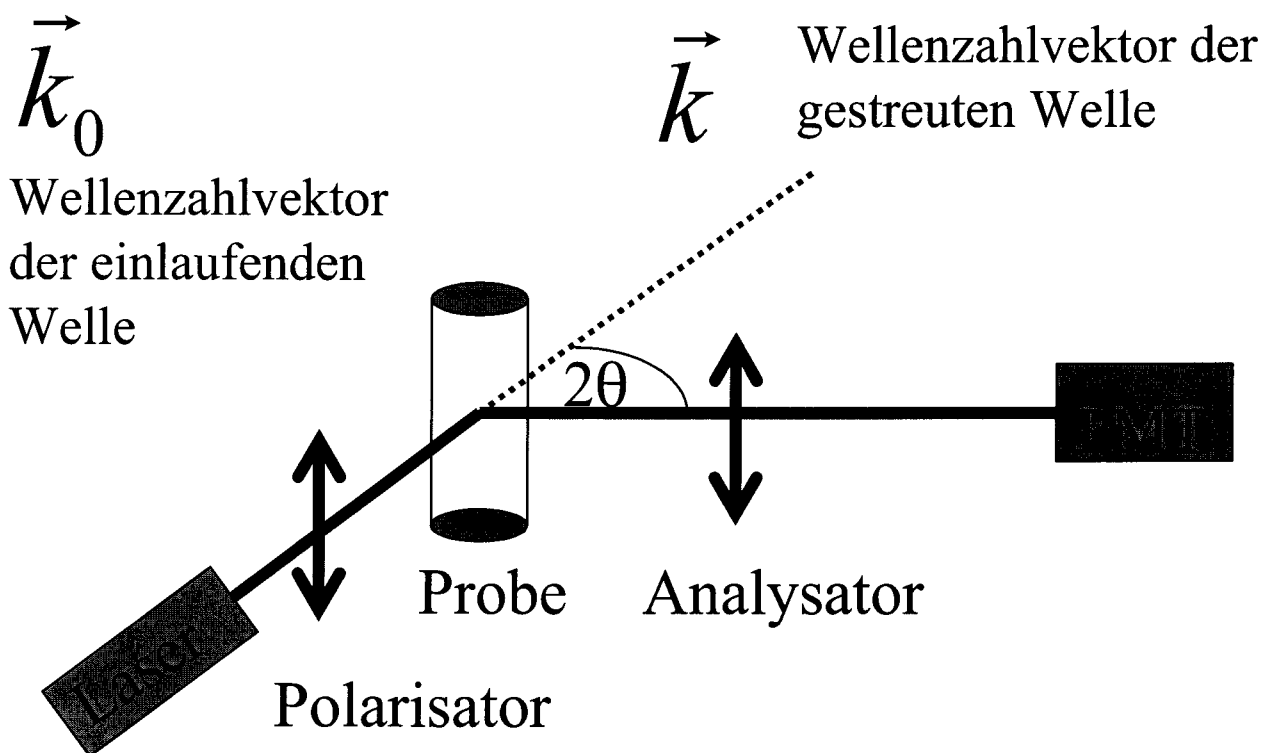


# Lichtstreuung (LS)

## 1. Statische Lichtstreuung (SLS)

Messung der zeitgemittelten Streuintensität

### 1.1 Lichtstreuapparat

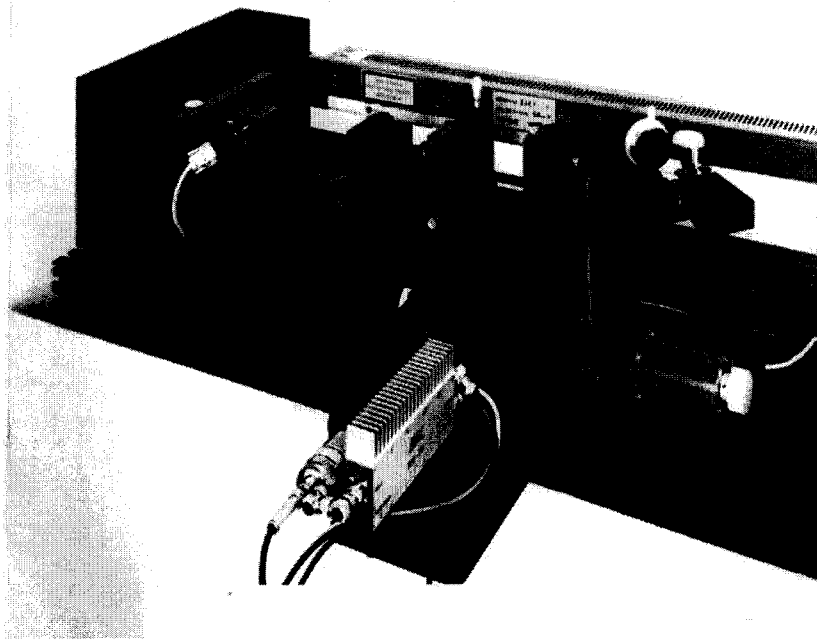


Streuolumen  $V$

Streuvektor  $\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_0$

Elastische Streuung

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$$

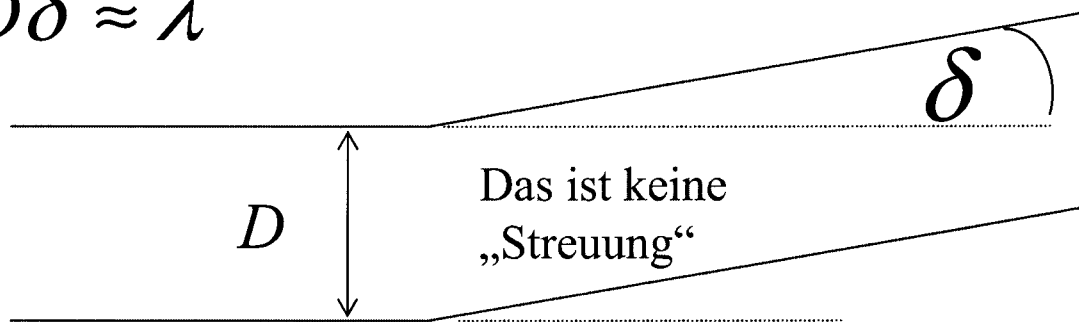


SLS/DLS-Gerät der der Abt. POP  
(Prof. Geschke/PD Helmstedt)

# Lichtstreuungsprozesse

Im reinen Vakuum wird ein Laserlichtstrahl nur durch Beugungseffekte an seinem Rand aufgeweitet:

$$D\delta \approx \lambda$$



Bei einer Strahldicke  $D \approx 1$  mm und einer Wellenlänge  $\lambda \approx 500$  nm ergibt sich ein Aufweitungswinkel  $\delta \approx 0,0005$  rad.

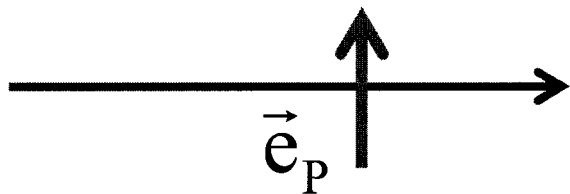
Durchquert der Laserstrahl jedoch eine Substanz, dann polarisiert das elektrische Feld des Laserstrahls die Atome/Moleküle/Partikel der Probe, die dann „Streulicht“ in alle Richtungen emittiert. Der Lichtstreumechanismus ist der gleiche wie bei der Streuung von Röntgenstrahlen (s. Vorlesung SAS1), jedoch können die Elektronen in der Probe nicht mehr als quasifrei angesehen werden.

# Zum differentiellen Streuquerschnitt einer Probe bei SLS

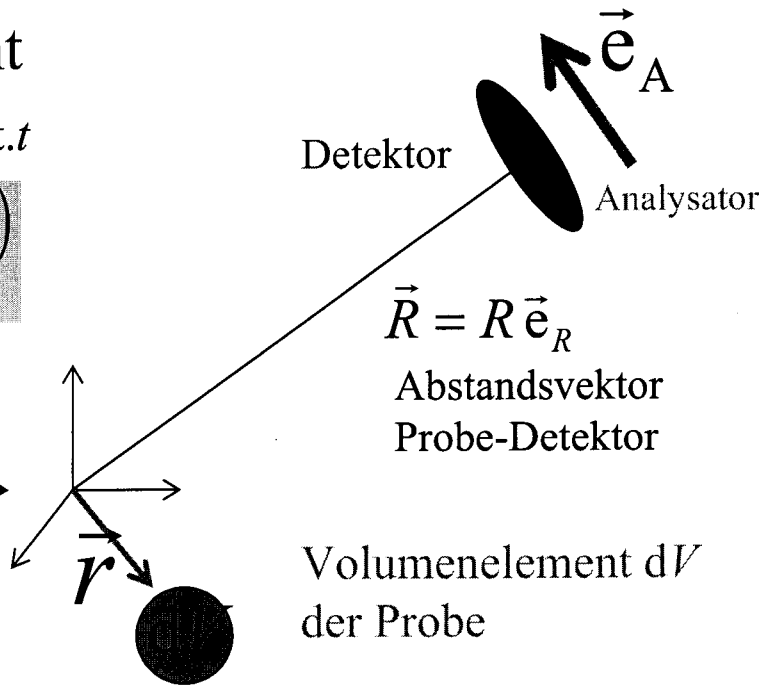
Einlaufendes Laserlicht

Elektrisches Feld am Ort  $r$  z.Zt. $t$

$$\vec{E}_{\text{in}} = \vec{e}_p E_0 e^{-i(\omega t - \vec{k}_0 \vec{r})}$$



Polarisationsvektor



$\vec{R} = R \vec{e}_R$   
Abstandsvektor  
Probe-Detektor

Volumenelement  $dV$   
der Probe

Induziertes Dipolmoment des  
Volumenelements  $dV$

$$d\vec{p} = \tilde{\chi} dV \epsilon_0 \vec{E}_{\text{in}}$$

Suszepti-  
bilität  $\chi$

Das vom Volumenelement  $dV$  gestreute Licht besitzt am Detektor zur Zeit  $t$  die elektrische Feldstärke (Fernfeld eines Hertz'schen Dipols)

$$d\vec{E}_{\text{out}}(\vec{R}, t) = \frac{(d\ddot{\vec{p}}(t_r) \times \vec{e}_R) \times \vec{e}_R}{4\pi\epsilon_0 c^2 R}$$

und hängt von der zweiten Zeitableitung des Dipolmoments von  $dV$  zur retardierten Zeit  $t_r$  ab

$$t_r = t - \frac{R}{c} + \frac{\vec{e}_R \vec{r}}{c}$$

Retardierte Zeit in  $dV$

Das von der Probe insgesamt zum Detektor gestreute Licht besitzt in Analysatorrichtung die elektrische Feldstärke

$$\vec{e}_A \vec{E}_{\text{out}}(\vec{R}, t) = - \int_V \frac{\vec{e}_A d\ddot{\vec{p}}(t_r)}{4\pi\epsilon_0 c^2 R} = \omega^2 \frac{\vec{e}_A \tilde{\chi}(\vec{q}) \vec{e}_P}{4\pi c^2 R} E_0 e^{-i(\omega t - kR)}$$

mit der Fouriertransformierten der dielektrischen Suszeptibilität der Probe

$$\tilde{\chi}(\vec{q}) = \int_V \tilde{\chi}(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV$$

*Nebenrechnung:*

$$\vec{e}_A \vec{e}_R = 0$$

$$\begin{aligned} \vec{e}_A \cdot (d\ddot{\vec{p}}(t_r) \times \vec{e}_R) \times \vec{e}_R &= \vec{e}_A \left( -d\ddot{\vec{p}}(t_r) (\vec{e}_R \vec{e}_R) + \vec{e}_R (\vec{e}_R d\ddot{\vec{p}}(t_r)) \right) = \\ &= -d\ddot{\vec{p}}(t_r) \vec{e}_A \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \omega t_r - \vec{k}_0 \vec{r} &\approx \omega t - \frac{\omega}{c} R + \frac{\omega}{c} \vec{e}_R \vec{r} - \vec{k}_0 \vec{r} = \\ &= \omega t - kR + (\vec{k} - \vec{k}_0) \vec{r} = \omega t - kR + \vec{q} \vec{r} \end{aligned}$$

## Definition des differentiellen Streuquerschnitts

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \equiv \frac{1}{j_0} \frac{dP_{out}}{d\Omega}$$

Die ins Raumwinkelement  $d\Omega$  gestreute Leistung geteilt durch die einlaufende Energiestromdichte

$$j_0 = \frac{1}{2} \epsilon_0 E_0^2 c$$

Energiestromdichte des einlaufenden Laserstrahls

$$dP_{out} = \frac{1}{2} \epsilon_0 \left| \vec{e}_A \vec{E}_{out} \right|^2 c R^2 d\Omega$$

Die am Detektor in Analysatorrichtung detektierte Leistung

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{\omega^4}{16\pi^2 c^4} \left| \vec{e}_A \vec{\chi}(\vec{q}) \vec{e}_P \right|^2 = \frac{\pi^2}{\lambda^4} \left| F(\vec{q}) \right|^2$$

$$F(\vec{q}) \equiv \vec{e}_A \vec{\chi}(\vec{q}) \vec{e}_P$$

Streuamplitude der Probe

## 1.2 Differentieller Streuquerschnitt SLS

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{\pi^2}{\lambda^4} |F(\vec{q})|^2$$

Differentieller Streuquerschnitt der Probe

$$F(\vec{q}) = \vec{e}_A \tilde{\chi}(\vec{q}) \vec{e}_P$$

Streuamplitude der Probe

$$\tilde{\chi}(\vec{q}) = \int_V \tilde{\chi}(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV$$

Fouriertransformierte der Suszeptibilität  $\chi$

Lokale Suszeptibilität der Probe am Ort  $\vec{r}$

$$\vec{D}(\vec{r}) = \varepsilon_0 \vec{E}(\vec{r}) + \vec{P}(\vec{r}) = \vec{\varepsilon}(\vec{r}) \varepsilon_0 \vec{E}(\vec{r})$$

$$\vec{P}(\vec{r}) = \varepsilon_0 \tilde{\chi}(\vec{r}) \vec{E}(\vec{r})$$

Induzierte Polarisation

$$\vec{p}_\ell = \vec{\alpha}_\ell \varepsilon_0 \vec{E}(\vec{R}_\ell)$$

Polarisierbarkeit  $\vec{\alpha}$

$$\vec{P}(\vec{r}) \approx \sum_\ell \vec{p}_\ell \delta(\vec{r} - \vec{R}_\ell)$$

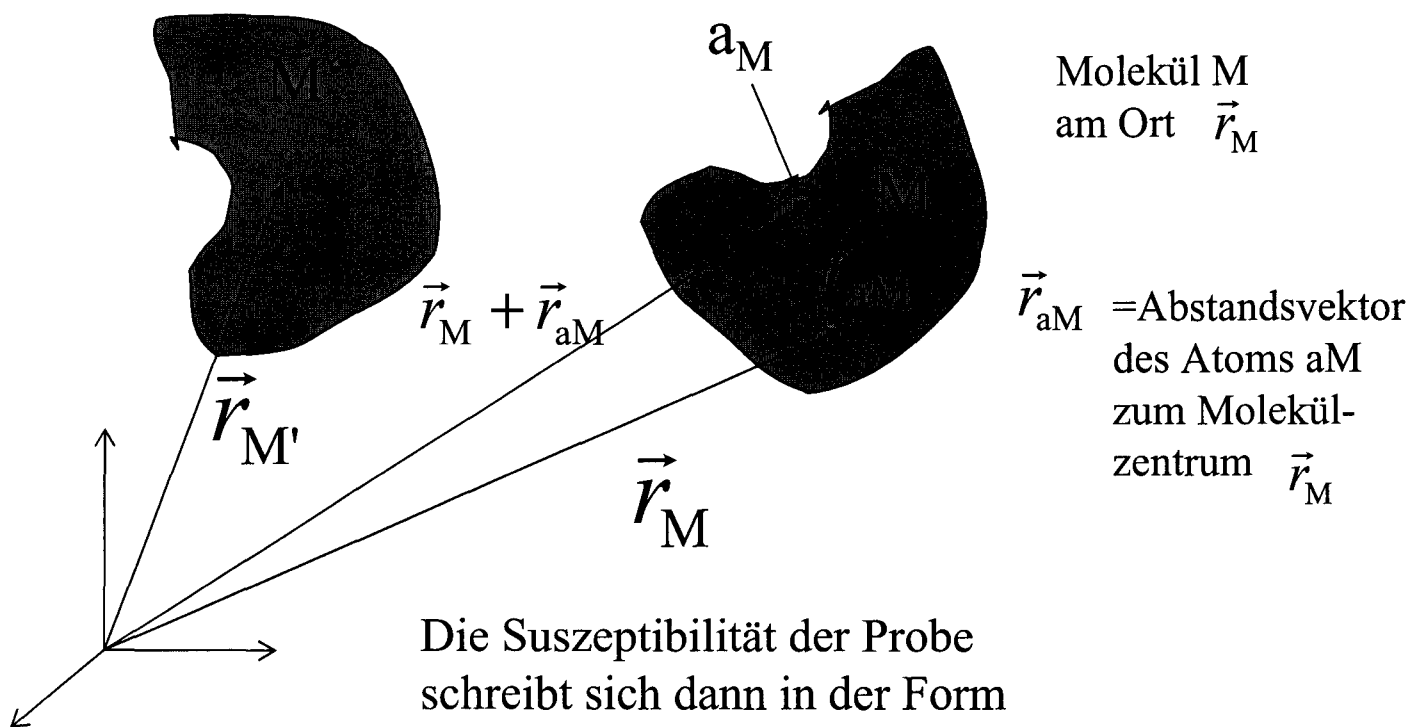
Polarisation als Summe von Pktdipolen an den Orten  $\vec{R}_\ell$

$$\tilde{\chi}(\vec{r}) \approx \vec{\alpha}(\vec{r}) \rho(\vec{r})$$

Suszeptibilitätstensor

# Formfaktor und Strukturfunktion

Die Probe bestehe aus Molekülen  $M$ , die aus Atomen  $a_M$  zusammengesetzt sind, deren Polarisierbarkeit in der Probe durch die Tensoren  $\vec{\alpha}_{aM}$  beschrieben werden kann.



$$\vec{\chi}(\vec{r}) \approx \sum_M \sum_{aM} \vec{\alpha}_{aM} \delta(\vec{r} - \vec{r}_M - \vec{r}_{aM})$$

Summe über alle  
Atome der Probe

$$\vec{\chi}(\vec{q}) \approx \sum_M \sum_{aM} \vec{\alpha}_{aM} e^{-i\vec{q}(\vec{r}_M + \vec{r}_{aM})} = \sum_M \vec{\chi}_M e^{-i\vec{q}\vec{r}_M}$$

$$\vec{\chi}_M(\vec{q}) \equiv \sum_{aM} \vec{\alpha}_{aM} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{aM}}$$

Summe über alle  
Atome im Molekül



Streuamplitude der Lösung als Summe der  
Streuamplituden der einzelnen Teilchen

$$F(\vec{q}) = \sum_M \vec{e}_A \tilde{\chi}_M(\vec{q}) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}\vec{r}_M} = \sum_M f_M(\vec{q}) e^{-i\vec{q}\vec{r}_M}$$

Streuamplitude des  $M$ -ten Teilchens

$$f_M(\vec{q}) \equiv \vec{e}_A \tilde{\chi}_M(\vec{q}) \vec{e}_P$$

Betragsquadrat der Streuamplitude der Probe

$$|F(\vec{q})|^2 = \sum_{MM'} f_M(\vec{q}) f_{M'}^*(\vec{q}) e^{-i\vec{q}(\vec{r}_M - \vec{r}_{M'})}$$

Alle Teilchen seien gleich, aber unregelmäßig  
im Raum verteilt und orientiert und stochastisch bewegt:

Ensemblemittel (Zeitintegration/Scharmittel)

Streuquerschnitt als Produkt aus Formfaktor und Strukturfunktion  $I$

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \approx \frac{\pi^2}{\lambda^4} \left\langle |f_M(\vec{q})|^2 \right\rangle I(q)$$

$$I(q) = \sum_{MM'} \left\langle e^{-i\vec{q}(\vec{r}_M - \vec{r}_{M'})} \right\rangle$$

**Formfaktor eines Moleküls** bestehend aus den Atomen a, b, ... an den Orten  $r_a, r_b, \dots$

$$\vec{r}_{ab} \equiv \vec{r}_a - \vec{r}_b$$

$$\left\langle \left| f_M(\vec{q}) \right|^2 \right\rangle = \left\langle \sum_{a,b} (\vec{e}_A \vec{\alpha}_a \vec{e}_P) (\vec{e}_A \vec{\alpha}_b \vec{e}_P) e^{-i\vec{q}\vec{r}_{ab}} \right\rangle$$

Annahmen bei der Ensemblemittelung:

$$\vec{e}_A \vec{\alpha}_a \vec{e}_P \rightarrow \alpha_a \vec{e}_A \vec{e}_P$$

$$\alpha_a = \frac{1}{3} \text{Sp}(\vec{\alpha}_a)$$

$$\left\langle e^{-i\vec{q}\vec{r}_{ab}} \right\rangle \rightarrow \frac{\sin(qr_{ab})}{qr_{ab}}$$

$$\left\langle \left| f_M(\vec{q}) \right|^2 \right\rangle \rightarrow (\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 \sum_{a,b} \alpha_a \alpha_b \left( \frac{\sin(qr_{ab})}{qr_{ab}} \right)$$

Polarisierbarkeit des Moleküls als Summe der Atompolarisierbarkeiten

$$\alpha_M = \sum_a \alpha_a$$

**Die Streufunktion des Moleküls** ist definiert als

$$P(\theta) = \frac{1}{\alpha_M^2} \sum_{a,b} \alpha_a \alpha_b \frac{\sin(qr_{ab})}{qr_{ab}}$$

Summe über die Atome des Moleküls

Sie enthält Information über die Struktur des Moleküls.

Der Formfaktor ist proportional zur Streufunktion:

$$\left\langle \left| f_M(\vec{q}) \right|^2 \right\rangle \approx (\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 \alpha_M^2 P(\theta)$$

# Eigenschaften der Streufunktion

Annahme:

Moleküldurchmesser sei kleiner als etwa  $\lambda/20$  und bestehe aus  $N_a$  Atomen mit mittlerer Polarisierbarkeit  $\alpha_a = \alpha_b = \dots = \bar{\alpha} = \alpha_M / N_a$

Die Streufunktion ergibt sich dann zu

$$P(\theta) = \frac{1}{N_a^2} \sum_{a,b} \frac{\sin(qr_{ab})}{qr_{ab}} \approx \frac{1}{N_a^2} \sum_{a,b} \left( 1 - \frac{(qr_{ab})^2}{6} \right) = 1 - q^2 \frac{R_G^2}{3}$$

mit dem Quadrat des Gyrationradius

$$R_G^2 \equiv \frac{1}{2N_a^2} \sum_{ab} r_{ab}^2$$

Summe über alle Atomabstands-Quadrate im Molekül

In dieser Näherung hängt die Streufunktion wegen  $q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$  vom Sinus-Quadrat des halben Streuwinkels ab:

$$P(\theta) \approx 1 - \frac{16\pi^2 R_G^2}{3\lambda^2} \sin^2 \theta$$

Mit wachsender Molekülgröße ( $R_G$ ) erfolgt demnach stärkere Vorwärtsstreuung

## Das Molekül sei modellierbar als Kugel mit dem Radius R und homogener Polarisierbarkeit.

Die Streufunktion ist dann gegeben durch

$$P(\theta) = \left( \frac{1}{\frac{4\pi}{3} R^3} 4\pi \int_0^R r^2 dr \frac{\sin(qr)}{qr} \right)^2 = \left\{ \frac{3}{(qR)^3} [\sin(qR) - qR \cos(qR)] \right\}^2$$

Für  $qR \ll 1$  ergibt die Taylor-Entwicklung der Streufunktion

$$P(\theta) \approx 1 - \frac{q^2 R^2}{5}$$

woraus für den Gyrationradius einer homogenen Kugel folgt

$$R_G = \sqrt{\frac{3}{5}} R$$

Reihenentwicklung der reziproken Streufunktion

$$\frac{1}{P(\theta)} = 1 + \frac{1}{5} (qR)^2 + \frac{4}{175} (qR)^4 + \dots$$

$$qR = 4\pi \frac{R}{\lambda} \sin \theta$$

# Eigenschaften der Strukturfunktion

Definition:

$$I(\vec{q}) \equiv \left\langle \sum_{M, M'} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{MM'}} \right\rangle = N_M + \left\langle \sum_{M \neq M'} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{MM'}} \right\rangle$$

Die Summe auf der rechten Seite über alle Molekülpaare in der Probe wird ausgewertet, indem man annimmt, dass alle Moleküle des Ensembles gleichberechtigt sind und man sich bei der Mittelung auf ein Molekül „0“ beziehen kann:

$$\left\langle \sum_{M \neq M'} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{MM'}} \right\rangle = N_M \left\langle \sum_{M \neq 0} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{M0}} \right\rangle \approx N_M \bar{\rho} \int_V dV e^{-i\vec{q}\vec{r}} g(\vec{r})$$

$\bar{\rho}$  ist die mittlere Anzahldichte der Moleküle in der Probe

$$g(\vec{r}) = \frac{dN(\vec{r})}{\bar{\rho} dV}$$

ist die Paarverteilungsfunktion, das Verhältnis der sich im Volumenelement  $dV$  bei  $\vec{r}$  sich tatsächlich befindlichen Teilchenzahl  $dN$  zur mittleren Teilchenzahl  $\bar{\rho} dV$

Die Strukturfunktion wird damit zu

$$I(\vec{q}) = N_M \left( 1 + \bar{\rho} \int_V dV e^{-i\vec{q}\vec{r}} g(\vec{r}) \right)$$

Für eine verdünnte Lösung von Makromolekülen hat die Paarverteilungsfunktion fast im gesamten Raum den Wert 1, mit Ausnahme der unmittelbaren Nähe zum Molekül selbst, wo sie verschwindet. Wenn der Molekülradius klein gegen die Wellenlänge des Lichts ist, hängt die Strukturfunktion nicht vom Streuvektor ab und es gilt

$$I \approx N_M (1 + \rho b_1)$$

Der Faktor  $b_1$  bei der Teilchenzahldichte heißt zweiter Virialkoeffizient und liegt in der Größenordnung des Molekülvolumens.

Anstelle des Virialkoeffizienten  $b_1$  verwendet man oft den Koeffizienten  $A_2$  (ebenfalls zweiter Virialkoeffizient genannt), der mit  $b_1$  über die Beziehung

$$b_1 \rho = b_1 \frac{N_A}{M} C_m \equiv -2 A_2 M C_m$$

zusammenhängt, wobei die molare Masse  $M$  und die Massekonzentration  $C_m$  der gelösten Moleküle auftritt.

## Differentieller Streuquerschnitt

Probe aus  $N_M$  gleichen Molekülen der Polarisierbarkeit  $\alpha_M$

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{\pi^2}{\lambda^4} (\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 \alpha_M^2 P(\theta) N_M (1 - 2A_2 M C_m)$$

Zur Eliminierung der Polarisatorverhältnisse und Bezug auf das Streuvolumen führt man das Rayleigh-Verhältnis ein:

$$R_\theta \equiv \frac{1}{2(\vec{e}_A \vec{e}_P)^2} \frac{d\Sigma}{d\Omega} = \frac{1}{2(\vec{e}_A \vec{e}_P)^2} \left( \frac{1}{V} \frac{d\sigma}{d\Omega} \right)$$

Für ein ideales Gas kleiner isotrop polarisierbarer Moleküle gilt wegen  $P(\theta) = 1$  und  $A_2 = 0$

$$R_\theta = \frac{\pi^2}{2\lambda^4} \alpha_M^2 \rho$$

Mit  $\alpha_M \rho \approx \varepsilon - 1 = n^2 - 1 \approx 2(n - 1)$

erhalten wir die Rayleigh-Formel:

$$R_\theta = \frac{\pi^2}{2\lambda^4} \frac{4(n-1)^2}{\rho}$$

## Totaler Streuquerschnitt kleiner Teilchen für unpolarisiertes Licht

$$(\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 = \frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \quad (\text{vgl. SAS1})$$

$n$  = Brechzahl des Mediums ( $N_T$  Teilchen im Volumen  $V$ )

$$\rho\alpha \approx n^2 - 1 \quad \alpha^2 \approx \frac{(n^2 - 1)^2}{\rho^2}$$

Differentieller Streuquerschnitt der Probe

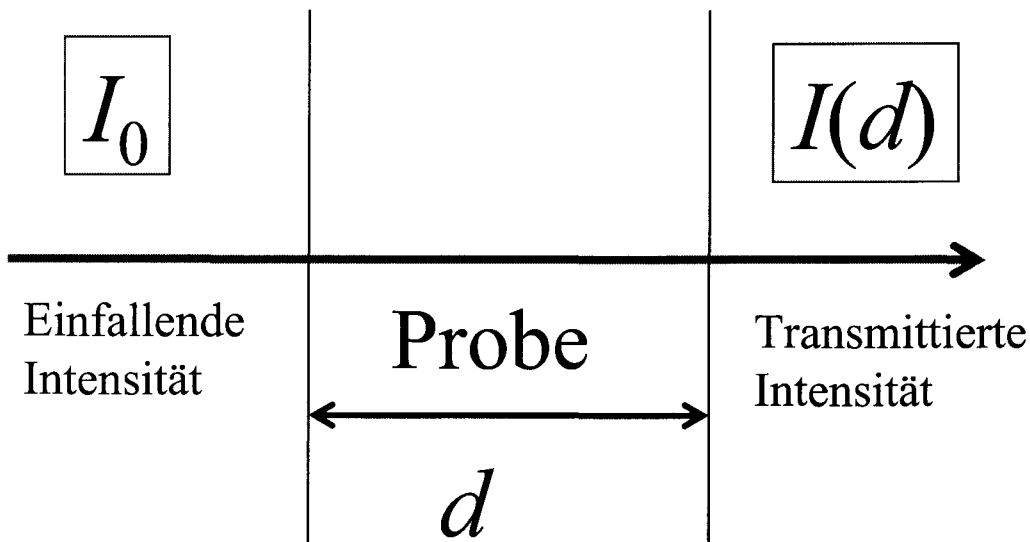
$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = N_T \left( \frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \right) \frac{\pi^2}{\lambda^4} \frac{(n^2 - 1)^2}{\rho^2}$$

Totaler Streuquerschnitt eines Teilchens

$$\sigma = \left( \frac{8\pi}{3} \right) \frac{\pi^2}{\lambda^4} \frac{(n^2 - 1)^2}{\rho^2}$$



## Trübung $\tau$



$$I(d) = I_0 e^{-\tau d}$$

$$\tau = \rho \sigma$$

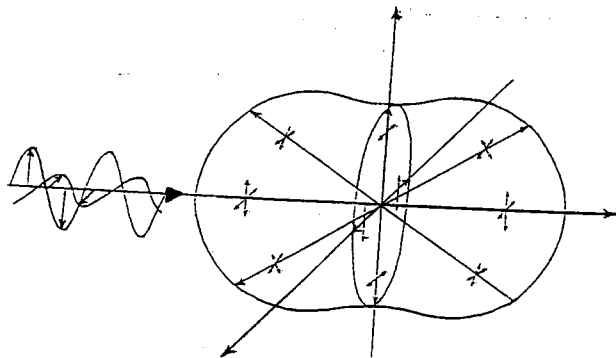
$$\tau = \left( \frac{8\pi}{3} \right) \frac{\pi^2}{\lambda^4} \frac{(n_L^2 - 1)^2}{\rho} \approx \frac{32\pi^3}{3\lambda^4} \frac{(n_L - 1)^2}{\rho}$$

Rayleigh

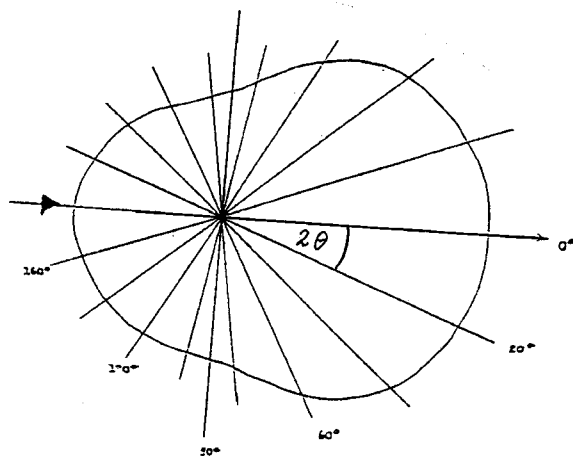
# Winkelabhängigkeit der Streuung

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \propto (\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 P(\theta) \propto (1 + \cos^2 2\theta) \left[ 1 - \frac{16\pi^2 R_G^2}{3\lambda^2} \sin^2 \theta \right]$$

## Streudiagramme



$$R_G < \frac{\lambda}{20}$$



$$\frac{\lambda}{2} > R_G > \frac{\lambda}{20}$$

# Lösung von Makromolekülen

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{\pi^2}{\lambda^4} (\vec{e}_A \vec{e}_P)^2 \alpha_M^2 P(\theta) N_M (1 - 2A_2 MC_m)$$

Die streuwirksame Polarisierbarkeit der gelösten Moleküle findet man aus der Differenz der Brechzahlen der Lösung und des Lösemittels im Grenzfall verschwindender Konzentration

$$\alpha_M \rho \approx n_L^2 - n_0^2 \approx 2n_0 \left( \frac{dn_L}{dC_m} \right)_0 C_m$$

Für das im Experiment bestimmbare Rayleighverhältnis erhält man dann unter Verwendung der Beziehung

$$\alpha_M^2 \rho = \frac{(\alpha_M \rho)^2}{\rho} = \frac{\left\{ 2n_0 \left[ \frac{dn_L}{dC_m} \right]_0 C_m \right\}^2}{\frac{C_m}{M} N_A} = \frac{4n_0^2 \left[ \frac{dn_L}{dC_m} \right]_0^2 MC_m}{N_A}$$

den Ausdruck

$$R_\theta = \frac{\pi^2}{2\lambda^4} \frac{4n_0^2 \left( \frac{dn_L}{dC_m} \right)_0^2 MC_m}{N_A} P(\theta) [1 - 2A_2 MC_m]$$

Zur übersichtlicheren Auswertung der SLS-Daten fasst man die bekannten Größen in einer Konstanten  $K$  zusammen

$$R_{\theta} = K \cdot MC_m P(\theta) [1 - 2A_2 MC_m]$$

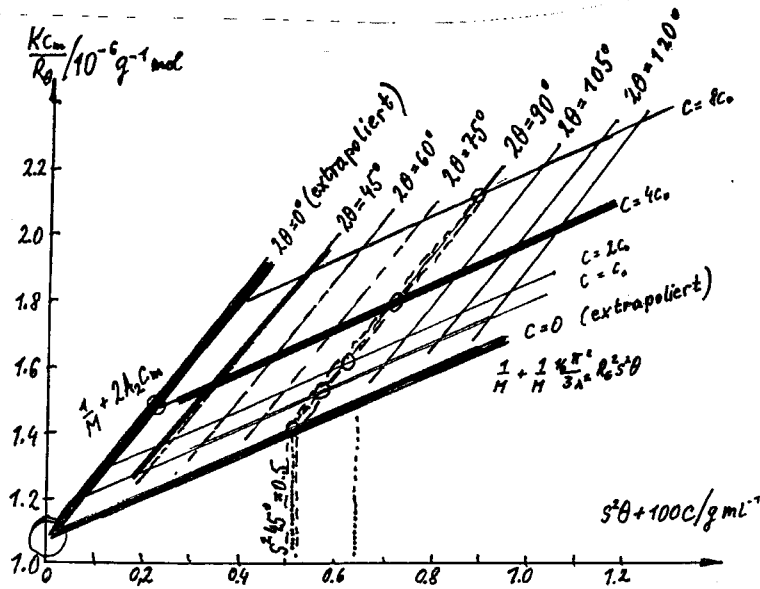
$$K \equiv \frac{2\pi^2 n_0^2}{\lambda^4 N_A} \left\{ \left( \frac{dn_L}{dC_m} \right)_0 \right\}^2$$

Diese Gleichung kann benutzt werden, um aus den SLS-Daten einer Lösung die Molmasse, den zweiten Virialkoeffizienten und den Gyrationradius der gelösten Moleküle zu bestimmen.

$$\begin{aligned} \frac{KC_m}{R_{\theta}} &= \frac{1}{MP(\theta)[1 - 2A_2 MC_m]} \approx \\ &\approx \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3M} \left( \frac{R_G}{\lambda} \right)^2 \sin^2 \theta + 2A_2 C_m \end{aligned}$$

# ZIMM-Plot

$$\frac{KC_m}{R_\theta} \approx \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3M} \left( \frac{R_G}{\lambda} \right)^2 \sin^2 \theta + 2A_2 C_m$$

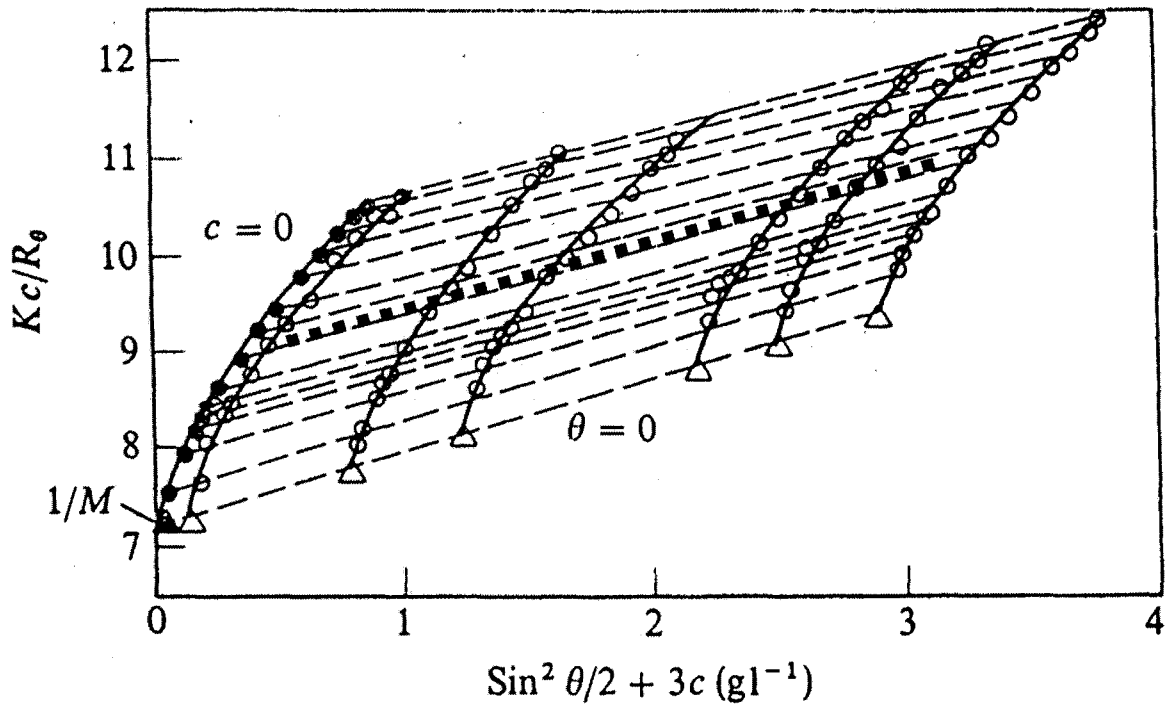


Zahlenwerte:

$$M \approx 9.1 \cdot 10^5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$A_2 \approx 10^{-4} \frac{\text{cm}^3 \text{mol}}{\text{g}^2}$$

$$R_G \approx 92 \text{ nm}$$



**Figure 14-20**

Zimm plot for light scattering measured on solutions of *Ascites* tumor-cell rRNA. Plotted points include experimental data (○), extrapolations to zero concentration (●), and extrapolations to  $\theta = 0$  (△). [After M. J. Kronman et al., *Biochim. Biophys. Acta* 40:410 (1960).]

$$\frac{KC_m}{R_\theta} \approx \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3M} \left( \frac{R_G}{\lambda} \right)^2 \sin^2 \theta + 2A_2 C_m$$

Bei fixiertem  
Streuwinkel  
Anderung der  
Konzentration

## Anwendungsbeispiel der SLS (s. Knoll/Winter)

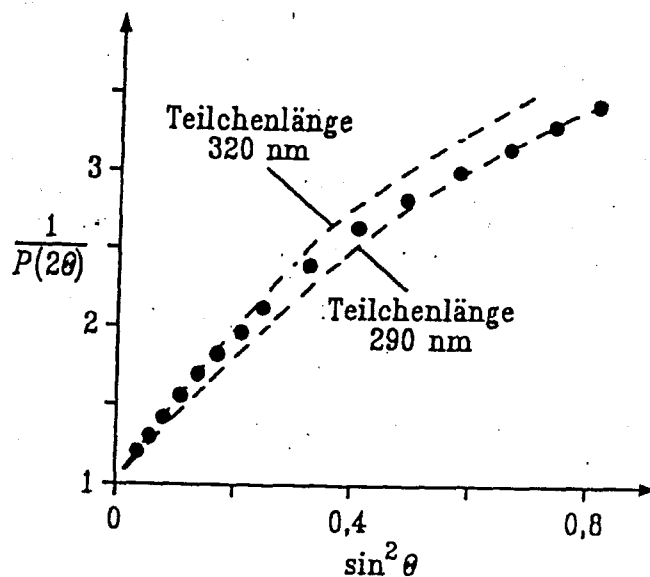


Abb. IV.24:

Lichtstreuurve einer Lösung des Tabak-Mosaik-Virus. Die Modellkurven für zwei verschiedenen lange Stäbchen von 290 nm und 320 nm (gestrichelte Kurven) werden mit den experimentellen Daten (•) verglichen (nach: W.J. Moore, D.O. Hummel, *Physikalische Chemie*, S. 1141, Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin, 1976).

Streufunktion für ein dünnes Stäbchen der Länge  $\ell$

$$P = \left\langle \left[ \frac{1}{\ell} \int_{-\ell/2}^{\ell/2} dz e^{-iqz \cos \vartheta} \right]^2 \right\rangle = \left\langle \left[ \frac{\sin(v \cos \vartheta)}{v \cos \vartheta} \right]^2 \right\rangle \approx 1 - \frac{v^2}{9} + \frac{2v^4}{225}$$

$$v \equiv q \cdot \frac{\ell}{2} = 2\pi \frac{\ell}{\lambda} \sin \theta$$

$$R_G^2 = \frac{\ell^2}{12}$$

$$\frac{1}{P(\theta)} \approx 1 + \frac{1}{9} v^2 + \frac{7}{2025} v^4 + \dots$$

## 2. Dynamische Lichtstreuung (DLS)

### Photonenkorrelationsspektroskopie

Die molekulare Bewegung in der Probe führt zu zeitlichen Fluktuationen in der Intensität des Streulichts. Je kleiner das Streuvolumen, desto ausgeprägter die Fluktuationen

Die Formel für den differentiellen Streuquerschnitt der Probe unter Berücksichtigung der molekularen Bewegung wird zu

$$\frac{d\sigma(t)}{d\Omega} \approx \frac{\pi^2}{\lambda^4} |f_M(\vec{q}, t)|^2 I(\vec{q}, t)$$

Die Streuamplitude des  $M$ -ten Teilchens ist zeitabhängig auf Grund der molekularen Umorientierung und intramolekularer Bewegungen

$$f_M(\vec{q}, t) \approx \sum_{aM} \vec{e}_A \alpha_{aM}(t) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}\vec{r}_{aM}(t)}$$

Summe über alle Atome  $a$  (Polarisierbarkeiten  $\alpha_{aM}$  des Moleküls  $M$ ).



Die Strukturfunktion wird durch die translatorische Diffusion der Teilchen ebenfalls zeitabhängig:

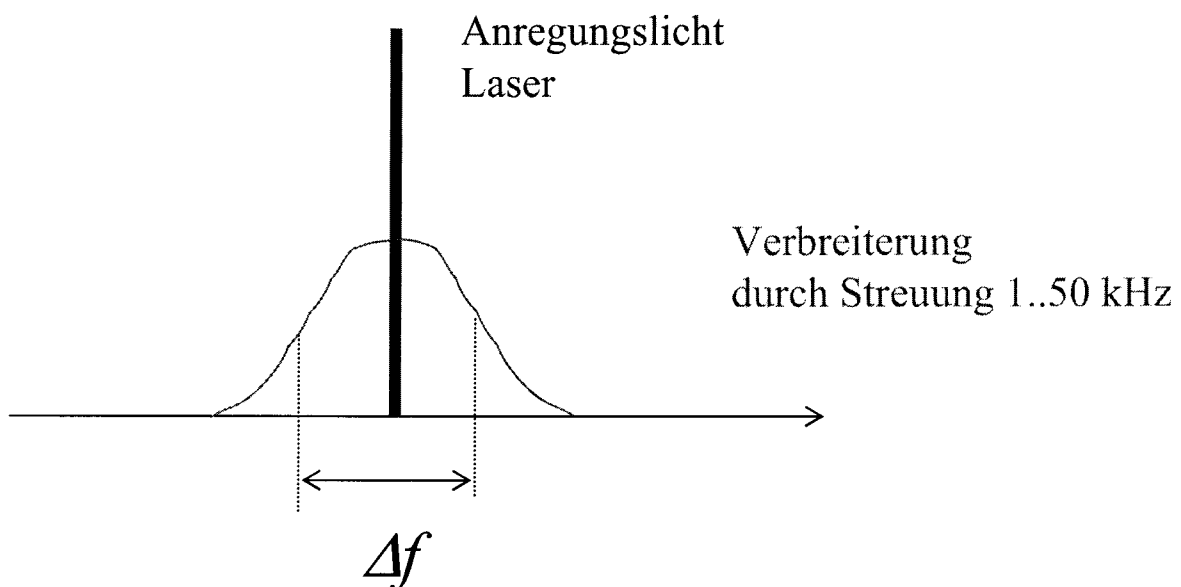
$$I(\vec{q}, t) \approx \sum_{M, M'} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{MM'}(t)}$$

$$\vec{r}_{MM'} = \vec{r}_M - \vec{r}_{M'}$$

Abstandsvektor der Moleküle M und M'

Aus der Untersuchung der zeitlichen Fluktuationen des differentiellen Streuquerschnitts kann Information über dynamische Vorgänge in der Probe gewonnen werden.

Eine zeitliche Änderung der Intensität des Streulichts entspricht einer spektralen Verbreiterung der Linie (vgl. Dopplereffekt)



## 2.1. Autokorrelationsfunktionen(AKF) in der DLS

a) AKF der komplexen Amplitude  $\underline{E}_0(t)$  des Streulichts

$$\underline{E}_0(t) \equiv E_0(t)e^{i\varphi(t)}$$

Die komplexe Amplitude enthält die reelle Amplitude  $E_0(t)$  und die reelle Phase  $\varphi(t)$  des Streulichts

$$\Gamma_E(\tau) \equiv \langle \underline{E}_0(t) \underline{E}_0^*(t + \tau) \rangle \equiv \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle g_1(\tau)$$

Der zeitliche Mittelwert der komplexen Amplitude  $\underline{E}_0$  des Streulichts verschwindet auf Grund der stochastischen Anordnung und Bewegung der Streuteilchen

$$\langle \underline{E}_0(t) \rangle \equiv \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} \underline{E}_0(t + \tau) d\tau = 0$$

Die normierte AKF  $g_1(\tau)$  erfüllt die Bedingungen

$$g_1(0) = 1$$

$$g_1(\tau \rightarrow \infty) \rightarrow 0$$

In einfachen Situationen gilt

$$g_1(\tau) = e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}$$

mit der Korrelationszeit  $\tau_c$

Die **Spektraldichte**  $S(\omega)$  der Fluktuationen des Streulichts bei der Winkelfrequenz  $\omega$  ist definiert als die Fouriertransformierte der AKF

$$S(\omega) \equiv \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} d\tau e^{-i\omega\tau} g_1(\tau)$$

Bei Exponentialabfall der AKF

$$g_1(\tau) = e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}$$

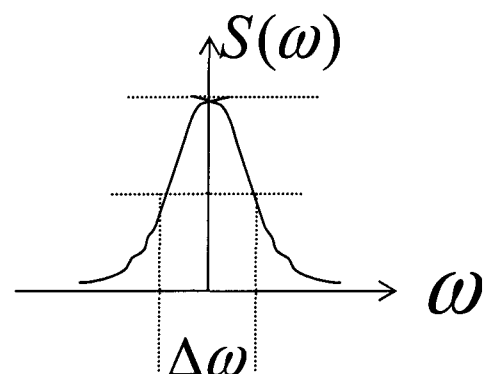
ist die Spektraldichte eine Lorentzkurve

$$S(\omega) \equiv \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} d\tau e^{-i\omega\tau} e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}} = \frac{1}{\pi} \cdot \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}$$

Die Halbwertsbreite der Lorentzkurve beträgt

$$\Delta\omega = \frac{2}{\tau_c} = 2\pi\Delta f$$

$$\Delta f = \frac{1}{\pi\tau_c}$$



Für  $\tau_c = 32 \mu\text{s}$  ist  $\Delta f = 10 \text{ kHz}$

b) AKF der Intensität  $I(t) \equiv |\underline{E}_0(t)|^2$  des Streulichts

$$\Gamma_I(\tau) \equiv \langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle = \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \cdot |\underline{E}_0(t + \tau)|^2 \rangle$$

PMT führt „optische Mischung“ des Streulichts durch, wobei die hohen Frequenzen ( $\approx 10^{14}$  Hz) ausgemittelt und die niedrigen Frequenzen ( $1 \dots 10^6$  Hz) herausgefiltert werden. Daher tritt in obiger Gl. nur die komplexe Amplitude auf.

Die komplexe Amplitude des Streulichts sei eine stochastische Größe, für die die folgende Beziehung gilt:

$$\underline{E}_0(t + \tau) = \underline{E}_0(t)g_1(\tau) + \tilde{\underline{E}}_0(t)\sqrt{1 - g_1^2(\tau)}$$

Die stochastische Amplitude  $\tilde{\underline{E}}_0(t)$  besitzt die gleichen Eigenschaften wie  $\underline{E}_0(t)$  und ist völlig unkorreliert zu  $\underline{E}_0(t)$ :

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0(t) \rangle = 0$$

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0^2(t) \rangle = \langle \underline{E}_0^2(t) \rangle$$

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0(t)\underline{E}_0(t) \rangle = 0$$

Damit erhält man eine wichtige Beziehung zwischen den AKF der Intensität und der Amplitude, („Siegert“-Relation)

$$\begin{aligned} \Gamma_I(\tau) &= \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \cdot \left[ |\underline{E}_0(t)|^2 g_1^2(\tau) + |\tilde{\underline{E}}_0(t)|^2 (1 - g_1^2(\tau)) \right] \rangle = \\ &= \langle |\underline{E}_0(t)|^4 \rangle g_1^2(\tau) + \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 (1 - g_1^2(\tau)) \end{aligned}$$

$\Gamma_I(\tau) = A + Bg_1^2(\tau)$	Siegert-Relation
-------------------------------------	------------------

$$A \equiv \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 = \Gamma_I(\infty)$$

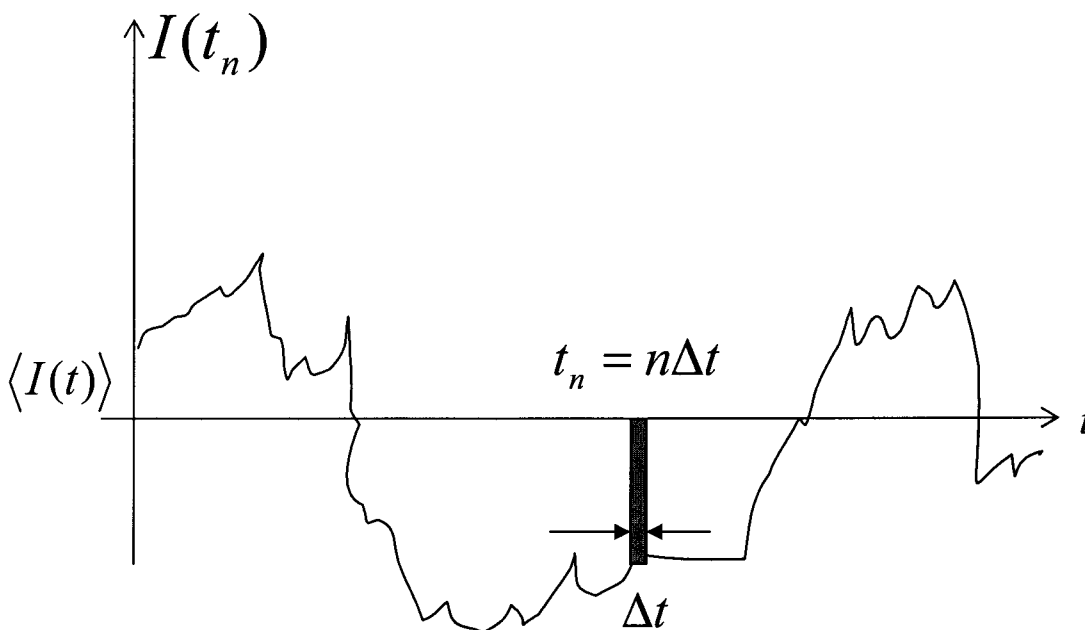
$$B \equiv \langle |\underline{E}_0(t)|^4 \rangle - \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 = \Gamma_I(0) - \Gamma_I(\infty)$$

Misst man mit dem PMT die AKF  $\Gamma_I(\tau)$  der Intensität des Streulichts, dann kann man bei Gültigkeit der Siegert-Relation die AKF  $g_1(\tau)$  der Streulichtamplitude bestimmen:

$$g_1^2(\tau) = \frac{\Gamma_I(\tau) - \Gamma_I(\infty)}{\Gamma_I(0) - \Gamma_I(\infty)}$$

### Messung der AKF $\Gamma_I(\tau)$ mit dem Korrelator

Bei der DLS ist das Streuvolumen klein (Größenordnung  $0,2 \text{ mm}^3$ ) und die Registrierzeit  $\Delta t$  eines Signalpunktes durch den PMT  $5 \text{ ns} \dots 100 \mu\text{s}$ . Dann erhält man starke Intensitätsfluktuationen:



$$\Gamma_I(\tau = M \cdot \Delta t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N I(t_n) \cdot I(t_{n+M})$$

Diese Operationen werden vom Korrelator durchgeführt

$N$  liegt gewöhnlich in der Größenordnung  $10^5$   
 $\tau$  etwa im Bereich  $10 \text{ ns}$  bis  $1000 \text{ s}$

## 2.2 Translatorische und rotatorische Diffusion

Die komplexe Amplitude des in Analysatorrichtung liegenden elektrischen Feldes am Detektor zur Zt.  $t$  ist die Summe der von allen Teilchen  $M$  an den Orten  $\vec{r}_M(t)$  mit der Polarisierung  $\vec{\alpha}_M$  erzeugten  $E$ -Feld-Komponenten:

$$\vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}(\vec{R}, t) \approx \frac{E_0}{R} \frac{\pi}{\lambda^2} \sum_M \vec{e}_A \vec{\alpha}_M(t) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}\vec{r}_M(t)}$$

Es wurden hierbei die Retardierungseffekte nur in erster Näherung berücksichtigt und wie bisher Effekte des inneren Feldes vernachlässigt.

Die AKF dieses elektrischen Feldes wird damit zu

$$\Gamma_E(\vec{q}, t) = \left\langle \vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}(\vec{R}, t) \circ \vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}^*(\vec{R}, 0) \right\rangle \approx$$

$$\approx A \left\langle \sum_{MM'} \vec{e}_A \vec{\alpha}_M(t) \vec{e}_P \circ \vec{e}_A \vec{\alpha}_{M'}(0) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}[\vec{r}_M(t) - \vec{r}_{M'}(0)]} \right\rangle$$

Die hierbei eingeführte Konstante  $A$  ist für die weiteren Betrachtungen ohne Belang.

$$A \equiv \frac{E_0^2 \pi^2}{R^2 \lambda^4}$$

Der Exponentialterm auf der rechten Seite enthält die translatorische Bewegung der Teilchen, während das Produkt der Polarisierbarkeiten die rotatorischen und intramolekularen Bewegungen der Teilchen enthält.

### **Annahme:**

Intramolekulare und rotatorische Bewegungen seien unabhängig von der translatorischen Bewegung, so dass die Mittelungen separat betrieben werden können.

Hat man es nur mit rotatorischer und translatorischer **Diffusion** der Teilchen zu tun und sind diese entkoppelt, dann gilt für die AKF des elektrischen Feldes bei hinreichend großer Verdünnung von  $N_M$  gleichen Teilchen im Probenvolumen

$$\Gamma_E(\vec{q}, t) \approx AN_M C_{\text{rot}}(t) C_{\text{trans}}(\vec{q}, t)$$

mit der Rotationskorrelationsfunktion

$$C_{\text{rot}}(t) = \langle \vec{e}_A \vec{\alpha}(t) \vec{e}_P \circ \vec{e}_A \vec{\alpha}(0) \vec{e}_P \rangle$$

und der Translationskorrelationsfunktion

$$C_{\text{trans}}(t) = \langle e^{-i\vec{q}[\vec{r}(t) - \vec{r}(0)]} \rangle \equiv \langle e^{-i\varphi(t)} \rangle$$

### a) Auswertung der Translationskorrelationsfunktion

Der Startpunkt der translatorischen Diffusion sei der Koordinatenursprung:

$$\vec{r}(0) = 0$$

Die Phase  $\varphi(t) = \vec{q}\vec{r}(t)$  ist bei isotroper Diffusion mit dem

Diffusionskoeffizienten  $D$  eine Gauß'sche Zufallsgröße mit verschwindendem Mittelwert  $\langle \varphi(t) \rangle = 0$

und der Varianz

$$\begin{aligned} \langle \varphi^2(t) \rangle &= \langle (q_x x(t) + q_y y(t) + q_z z(t))^2 \rangle = \\ &= q_x^2 \langle x(t)^2 \rangle + q_y^2 \langle y(t)^2 \rangle + q_z^2 \langle z(t)^2 \rangle = q^2 \cdot 2Dt \end{aligned}$$

wegen

$$\langle x^2(t) \rangle = \langle y^2(t) \rangle = \langle z^2(t) \rangle = 2Dt$$

Die bedingte Wahrscheinlichkeit dafür, dass z. Zt.  $t$  die Phase  $\varphi$  beobachtet wird, wenn z. Zt.  $t = 0$  die Phase null war, ist damit gegeben durch

$$p(\varphi, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi \cdot q^2 2Dt}} e^{-\frac{\varphi^2}{2 \cdot q^2 2Dt}}$$

Mit dieser Verteilung kann die Translationskorrelationsfunktion berechnet werden:

$$\langle e^{-i\varphi(t)} \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} d\varphi p(\varphi, t) e^{-i\varphi} = \frac{1}{\sqrt{4\pi q^2 Dt}} \int_{-\infty}^{+\infty} d\varphi e^{-\frac{\varphi^2}{4q^2 Dt}} e^{-i\varphi} = e^{-q^2 Dt}$$

Das Integral auf der rechten Seite wurde ausgewertet unter Verwendung des Integrals

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\alpha x^2 - i\beta x} dx = \sqrt{\frac{\pi}{\alpha}} e^{-\frac{\beta^2}{4\alpha}}$$

Die Translationskorrelationsfunktion fällt demnach exponentiell mit der Zeit ab, wobei die Abfallzeitkonstante winkelabhängig ist:

$$C_{\text{trans}}(t) = e^{-q^2 Dt} = e^{-t \frac{16\pi^2 D}{\lambda^2} \sin^2 \theta}$$

Bei größeren Streuwinkeln erfolgt der Abfall schneller.  
Die Diffusionskoeffizienten für Biomoleküle in wässrigen  
Lösungen liegen bei  $D \approx 10^{-12} \dots 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ .



Nach Stokes/Einstein ist der translatorische Diffusionskoeffizient  $D$  mit dem Teilchenradius  $R$  und der Viskosität  $\eta$  des Mediums verbunden:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (\text{Kugelförmige Teilchen})$$

Diese Beziehung wird ausgenutzt, um die Radienverteilung von z. B. Vesikeln oder Nanopartikeln zu bestimmen. Die Kalibrierung erfolgt an Lösungen mit bekanntem Teilchenradius

## b) Auswertung der Rotationskorrelationsfunktion

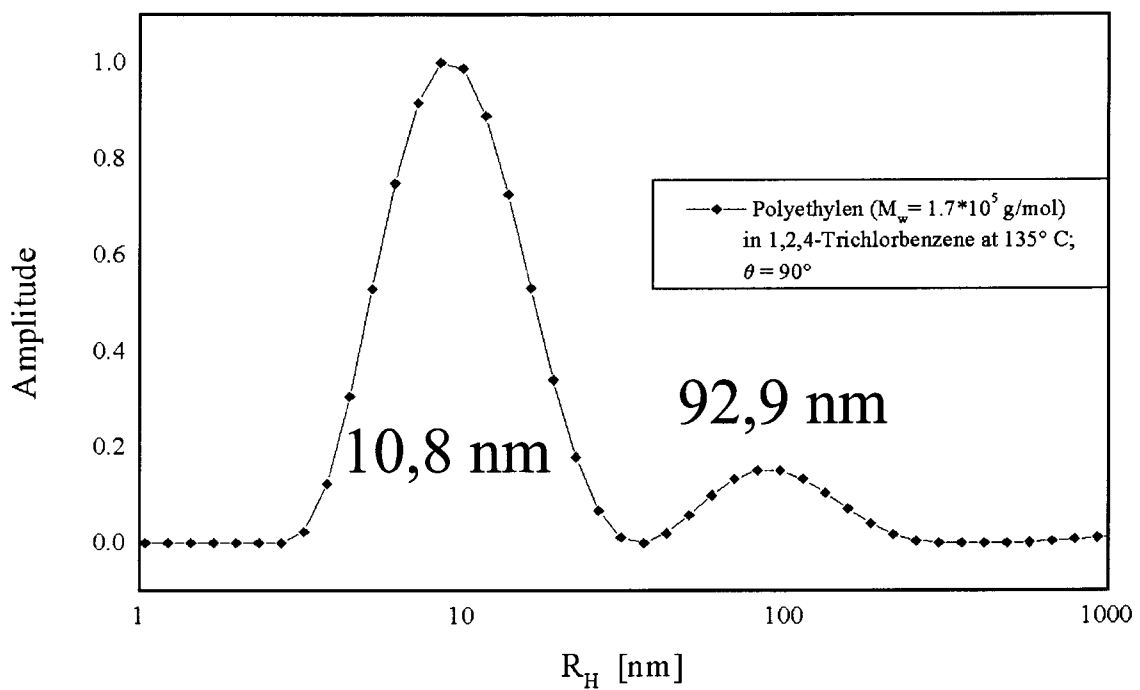
Bei anisotropen Molekülen führt die Umorientierung zu einem zusätzlichen Abfall der Korrelationsfunktion  $\Gamma_E(t)$

Die bedingte Wahrscheinlichkeit dafür, dass z. Zt.  $t$  die Symmetrieachse der Polarisierbarkeit des Moleküls die Orientierung  $\Omega$  besitzt, wenn sie z. Zt.  $t = 0$  die Orientierung  $\Omega_0$  hatte, ist gegeben durch den „Propagator“

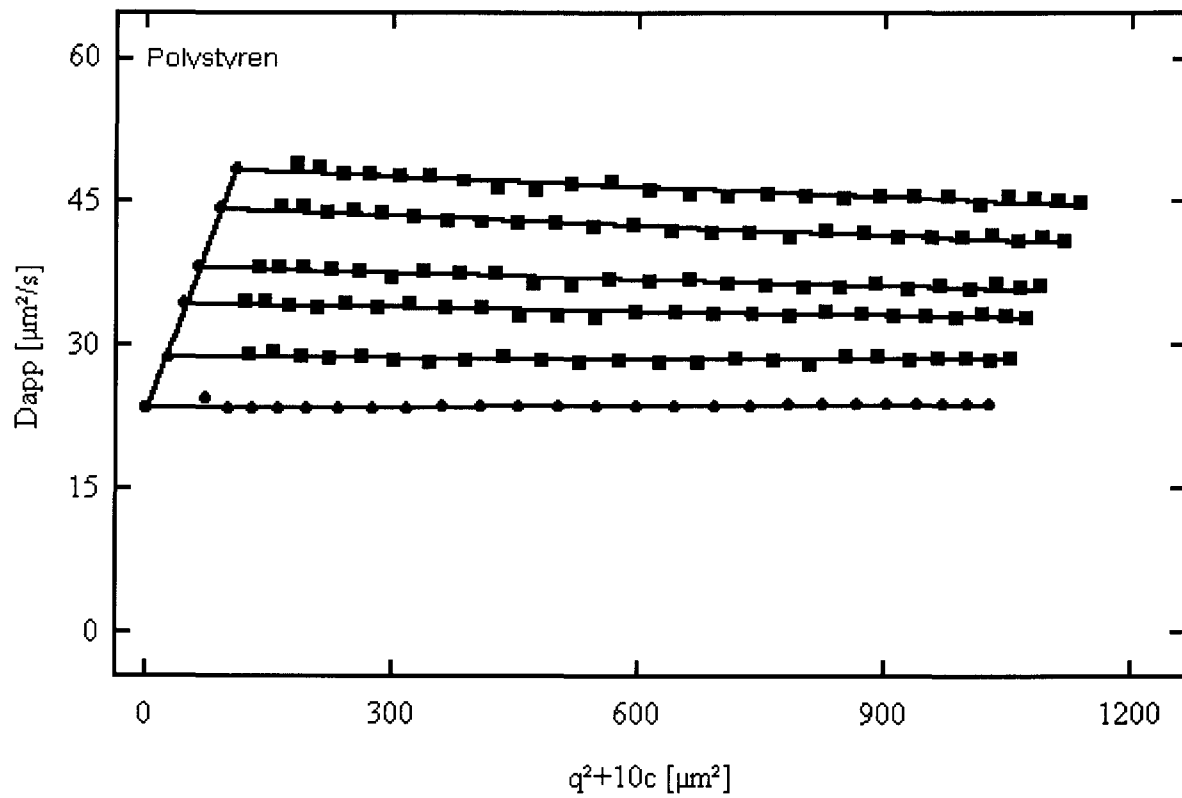
$$p(\Omega, \Omega_0, t) = \sum_{\ell, m} Y_{\ell, m}^*(\Omega_0) Y_{\ell, m}(\Omega) e^{-\frac{t}{\tau_\ell}}$$

Kugelfunktionen

**Beispiel:** Bestimmung der Radienverteilung von PolyethylenMolekülen mit  $M_w = 1,7 \cdot 10^5$  g/mol mittels DLS (*M. Helmstedt*)



# Dynamischer ZIMM-Plot (*M. Helmstedt*)



Dz(c): 23.32  $\mu\text{m}^2/\text{s}$

Dz( $q^2$ ): 23.49  $\mu\text{m}^2/\text{s}$

kD: 0.0988  $\text{dm}^3/\text{g}$

$C\langle S^2 \rangle$ : 1.15e-5  $\mu\text{m}^2$

C:\Messdat\Ringversuch\RINGPR31.DAT

$$\frac{1}{\tau_\ell} = \frac{D_r}{R^2} \ell(\ell + 1)$$

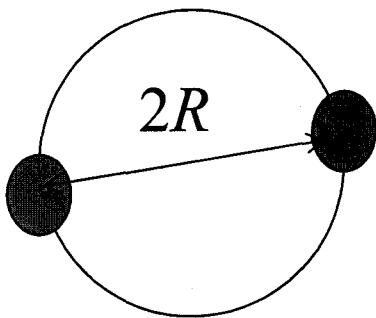
Abfallzeitkonstanten

Teilchenradius  $R$

$$D_r = \frac{k_B T}{8\pi\eta R}$$

Rotations-Diffusionskoeffizient

Für ein kugelförmiges Teilchen mit zwei Polarisierbarkeitszentren im Abstand  $2R$  gilt



$$C_{\text{rot}}(q, t) = \sum_{n=0}^{\infty} (4n + 1) [j_{2n}(qR)]^2 e^{-2n(2n+1) \frac{D_r}{R^2} t}$$

sphär. Besselfunktionen

Man erkennt, dass multiexponentieller Abfall auftritt. Die Analyse ist kompliziert.