

Analytische Ultrazentrifugation - Diffusion

Zusätzlich zu den Kräften, denen ein Partikel im Zentrifugalfeld ausgesetzt ist (Zentrifugalkraft, Auftrieb, Reibung), unterliegt das Partikel der ungerichteten und der gerichteten (wechselseitigen) Diffusion. Dabei ist die ungerichtete Diffusion infolge der BROWNSchen Molekularbewegung der untergeordnete Vorgang gegenüber der wechselseitigen Diffusion, die durch das Konzentrationsgefälle an der Sedimentationsfront bestimmt wird. Die Diffusion führt zu einer Verbreiterung der Sedimentationsfront, die eine breitere s -Verteilung vortäuscht.

In Abb. 1 ist der zeitliche Verlauf der Diffusion dargestellt. Die linke Abbildung zeigt die differentielle Verteilung einer monomodalen Spezies in der Zellradius-Domäne. Die zu verschiedenen Zeitpunkten registrierten Scans wurden zur besseren Vergleichbarkeit übereinandergelegt; in der Realität wandert der Schwerpunkt der Verteilung zum Zellboden, also nach rechts. Die rechte Abbildung zeigt die in die s -Domäne umgerechneten Daten. Die

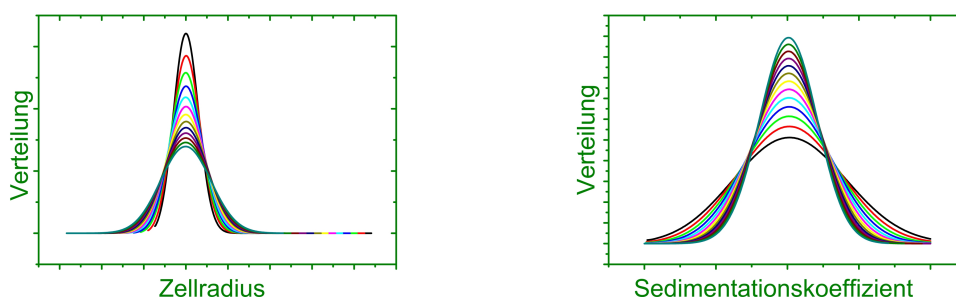


Abbildung 1: Diffusionsverbreiterung im zeitlichen Verlauf eines Sedimentationsgeschwindigkeitsexperiments anhand der Rohdaten (Zellradiusdomäne, links) und der ausgewerteten s -Verteilungen (s -Domäne, rechts). Die Rohdaten wurden zur besseren Vergleichbarkeit auf den Mittelpunkt der Verteilung normiert. Die zeitliche Folge ist: schwarz, rot, grün, ...

wesentliche Aussage der Abb. 1 besteht in der Reihenfolge der Scans: In der Zellradius-Domäne ist die Verteilung anfangs schmal und verbreitert sich mit fortschreitender Zeit. In der s -Domäne ist die Verteilung anfangs breit und wird mit der Zeit schmaler. Hieran zeigt sich, dass die Sedimentation die Diffusion überwiegt, wie im folgenden Abschnitt genauer beschrieben wird.

Bei bestimmten Experimenten kann es erforderlich sein, den Effekt der Diffusion zu berücksichtigen. Dazu bestehen prinzipiell zwei Möglichkeiten:

- Die Diffusion kann *experimentell* unterdrückt werden, beispielsweise durch hohe Drehzahlen und kleine Laufzeiten.
- Die Diffusion kann *in der Auswertung* eliminiert werden, wozu jedoch Annahmen gemacht werden müssen.

Der Effekt der Diffusionsverbreiterung kann jedoch auch gezielt genutzt werden, um Diffusionskoeffizienten zu bestimmen. Hierzu existieren *klassische* und *modernere* Varianten, die gemeinsam im Artikel über *Diffusionsverbreiterung* diskutiert werden. Dieser Artikel beschränkt sich auf die physikalische Beschreibung des Phänomens.

Es soll jedoch schon hier festgestellt werden, dass alternative Methoden zur Messung von Diffusionskoeffizienten existieren, die genauer und einfacher in der Anwendung sind (dynamische Lichtstreuung, Feldflußfraktionierung). Unter bestimmten Voraussetzungen kann jedoch die Analytische Ultrazentrifuge auch in dieser Hinsicht nützlich sein.

Einfluß der Diffusion auf die Sedimentationskoeffizientenverteilung

Die wechselseitige Diffusion *einer* Teilchensorte entlang einer Ortskoordinate x wird durch das 2. FICKSche Gesetz beschrieben, nach dem die zeitliche Veränderung der Konzentration c_i vom Diffusionskoeffizienten D und dem Konzentrationsgradienten bestimmt wird:

$$\left(\frac{\partial c_i}{\partial t}\right)_x = D \left(\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}\right) \quad (1)$$

Der Index i bezieht sich auf Lösemittel bzw. Gelöstes. Die Gleichung setzt voraus, dass der Diffusionskoeffizient unabhängig vom Ort ist; eine häufig nicht zulässige Näherung. Aus der Lösung dieser Differentialgleichung läßt sich der mittlere Betrag des Weges \bar{x} berechnen, den ein Teilchen mit dem Diffusionskoeffizienten D nach t Sekunden zurückgelegt hat:

$$\bar{x} = \sqrt{\langle x^2 \rangle} = \sqrt{\int_0^\infty \frac{c_2}{c_{02}} x^2 dx} = \sqrt{2Dt} \quad (2)$$

Darin ist c_2 die Konzentration des Gelösten zum Zeitpunkt t und c_{02} zum Zeitpunkt $t = 0$ am Ort x . In erster Näherung hängt demnach die Diffusion von Teilchen um eine Strecke \bar{x} aus der Sedimentationsfront heraus von der Quadratwurzel der Zeit ab. Demgegenüber ist die *Sedimentationsgeschwindigkeit* der Zeit *direkt* proportional. Bei großen t wird also die Sedimentation gegenüber der Diffusion überwiegen. So würde bei unendlicher Laufzeit in einer unendlich langen Meßzelle eine Sedimentationskoeffizientenverteilung vorliegen, deren Breite der Polydispersität entspräche.

In der Realität muß das 2. FICKSche Gesetz jedoch in der Weise verallgemeinert werden, dass der Diffusionskoeffizient nicht als konzentrationsunabhängig angenommen wird. Dies ergibt den Ausdruck:

$$\left(\frac{\partial c_i}{\partial t}\right)_x = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c_i}{\partial x}\right) \quad (3)$$

Die Fundamentalgleichung der Ultrazentrifugation, die LAMMSche Differentialgleichung, berücksichtigt die Ortsabhängigkeit der Transportvorgänge und verknüpft die Diffusion und die Sedimentation. Dabei wird als Ortskoordinate die radiale Position r verwendet:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left[r \cdot D \frac{\partial c}{\partial r} - s \omega^2 r^2 c \right] \quad (4)$$

Aus der LAMM-Gleichung ist die unterschiedliche Abhängigkeit der Sedimentation und der Diffusion von der Zeit nicht unmittelbar zu erkennen; zudem ist sie nicht geschlossen lösbar. Es sind zahlreiche Versuche unternommen worden, handhabbare Lösungen zur LAMMSchen Differentialgleichung zu finden. Eine gängige Näherung stammt von FUJITA :

$$c_2(r, t) = \frac{c_{02} e^{-\tau}}{2} \cdot \left[1 - \Phi \left(\frac{\tau - z}{2\sqrt{\varepsilon\tau}} \right) \right] \quad (5)$$

mit den Abkürzungen

$$\tau = s\omega^2 t; \quad z = 2 \ln \frac{r}{r_m}; \quad \varepsilon = \frac{2D}{s\omega^2 r_m^2} \quad (6)$$

Sie gibt die Konzentration c_2 der Partikel zu einer gegebenen Zeit t und an einem gegebenen Zellradius r in Abhängigkeit vom Sedimentationskoeffizienten s , dem Diffusionskoeffizienten D , dem Meniskus r_m , der Winkelgeschwindigkeit ω und der Anfangskonzentration c_{02} an. $\Phi(x)$ ist die Gaußsche Fehlerfunktion, die eine gute Beschreibung der Sedimentationsfront liefert.

Es erweist sich als sinnvoll, eine relative Konzentration w einzuführen, die mit Werten zwischen 0 und 1 angibt, welcher massengewichtete Anteil der Plateaukonzentration am jeweiligen Punkt der Sedimentationsfront erreicht wurde. Dabei entspricht w bei üblicher Normierung auf 1 dem Funktionswert der $G(s)$ -Funktion, die im Abschnitt über Sedimentation eingeführt wird.

Definiert man s_w^* als den apparenten Sedimentationskoeffizienten bei der relativen Konzentration w , so erhält man unter Verwendung der inversen Fehlerfunktion $\Phi^{-1}(x)$ folgende Beschreibung der Diffusionsverbreiterung:

$$s_w^* = s - \frac{2\sqrt{D}}{r_m\omega^2} \cdot \Phi^{-1}(1 - 2w) \cdot \frac{1}{\sqrt{t}} \quad (7)$$

Die Gleichung (7) zeigt:

- dass sich die Sedimentationsfront bei $w = 0,5$ nicht verändert,
- dass der Einfluß der Diffusion nahe dem oberen und unteren Plateau stärker wird,
- dass der Einfluß der Diffusion bei hohen Drehzahlen kleiner wird,
- dass die Diffusionsverbreiterung umgekehrt proportional zur Quadratwurzel der Zeit ist,
- dass die Diffusionsverbreiterung der Quadratwurzel des Diffusionskoeffizienten proportional ist.

Wie bereits gesagt, kann Gl. (7) in zweierlei Hinsicht verwendet werden:

- Sie kann verwendet werden, um den Einfluß der Diffusion aus s -Verteilungen zu eliminieren.
- Sie dient zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten aus der Diffusionsverbreiterung.

Auf den zweiten Aspekt wird im Artikel über *Diffusionsverbreiterung* eingegangen. Tabelle 1 zeigt die rechnerische Diffusionsverbreiterung für die Sedimentation eines Polystyrol-Latex mit einem Durchmesser von 50 nm (also mit einem relativ *kleinen* Diffusionskoeffizienten!) in Wasser ($s = 83$ S) bei verschiedenen Drehgeschwindigkeiten.

Drehzahl [rpm]	t [s]	Δs [S]	Δs [%]
1000	$1,69 * 10^6$	43,9	53
3000	$1,88 * 10^5$	14,6	18
10000	$1,69 * 10^4$	4,4	5
30000	1880	1,5	2
50000	677	0,9	1

Tabelle 1: Diffusionsverbreiterung bei $w = 0,2$ bzw. $0,8$ in Abhängigkeit von der Drehzahl nach Wanderung der Sedimentationsfront um einen cm. t gibt die dafür benötigte Zeit an. Die Tabelle zeigt, dass sich die Sedimentationsfront bei kleinen Drehzahlen um ein Vielfaches verbreitert.

Das Beispiel zeigt, dass s -Verteilungen durch die Diffusionsverbreiterung erheblich verfälscht werden können. Dabei wird zwar der *mittlere* Sedimentationskoeffizient richtig bestimmt, nicht aber die *Verteilung*. Für weitere Auswertungen werden jedoch oft die gesamten Verteilungen berücksichtigt. Sie täuschen in der Folge zu breite Verteilungen vor.

Experimentell läßt sich die Diffusionsverbreiterung minimieren, indem die Laufzeiten kurz und die Drehzahlen groß gehalten werden. Dies ist jedoch systembedingt nicht immer möglich. Dann müssen die Daten anhand eines geschätzten Diffusionskoeffizienten nach Gl. (7) rechnerisch korrigiert werden. Hierbei genügt bereits eine grobe Schätzung.