

Einführung in die Analytische Ultrazentrifugation

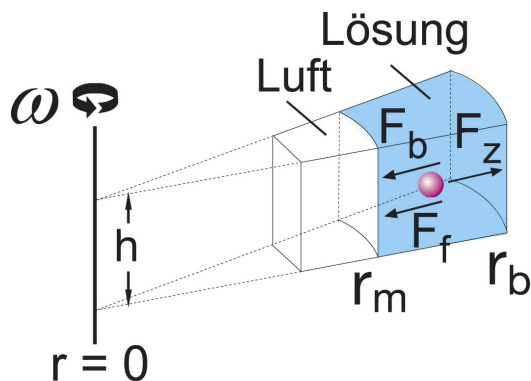
Die Analytische Ultrazentrifugation wurde in den zwanziger Jahren des 20. Jahrhunderts entwickelt. Ursprünglich wurden mit ihrer Hilfe Teilchengrößenverteilungen von Goldsolen bestimmt. In der Folge wurde sie vor allem in der Biochemie zur Bestimmung von Molmassen und Sedimentationskoeffizienten eingesetzt. Nachdem sie in den siebziger Jahren durch andere, modernere Methoden (Lichtstreuung, Gelpermeationschromatographie, Gelelektrophorese) verdrängt wurde, hat in den vergangenen Jahren die Kolloidforschung und die Erforschung komplizierter, wechselwirkender Systeme in der Biochemie das Interesse an dieser Methode wieder geweckt, so dass sich neben den traditionellen Anwendungsgebieten neue Einsatzmöglichkeiten eröffnet haben. Vor allem folgende Eigenschaften machen die AUZ für die Kolloidforschung wertvoll:

1. Die AUZ ist eine *Absolutmethode*.
2. Mit der AUZ können *Gemische* untersucht werden; sie arbeitet dispersiv.
3. Die AUZ macht *geometrische* (Größe, Form, Struktur) und *thermodynamische* Parameter (Gleichgewichtskonstanten G , H , S) zugänglich.
4. Die maximale Drehzahl beträgt derzeit 60000 U/min, entsprechend dem 250000fachen der Erdbeschleunigung. Damit ist die AUZ über einen weiten Bereich von Teilchengrößen (1 bis über 1000 nm) und -dichten einsetzbar. Es können beliebige Lösemittel verwendet werden.
5. Die Detektion ist aufgrund verschiedener, i. a. synchron zu betreibender optischer Systeme variabel.
6. Sie trennt komplexe Gemische mit hoher statistischer Sicherheit, da alle sedimentierenden Teilchen registriert werden, so dass Auflösungen im Ångström-Bereich möglich sind.

In der Industrie werden bereits weitgehend automatisierte Maschinen zur Produktkontrolle (z. B. bei Pigmenten und Latices) eingesetzt. In der Grundlagenforschung liegt der Einsatzschwerpunkt weiterhin in der Biochemie.

Kräfte in der Sedimentationszelle

Ein Teilchen im Sedimentationsfeld ist im wesentlichen drei Kräften ausgesetzt: der Zentrifugalkraft F_z wirken die Auftriebskraft F_b und die Reibungskraft F_f entgegen. Zusätzlich unterliegt das Teilchen der Diffusion, die an anderer Stelle diskutiert wird.



Da die Kräfte nur entlang einer Raumachse wirken, müssen sie nicht als Vektoren beschrieben werden.

Abbildung 1: Kräfte in der Zentrifugenmeßzelle

Die Zentrifugalkraft F_z ist dem Schwerfeld proportional:

$$F_z = \omega^2 r \cdot m, \quad (1)$$

dabei ist m die Masse des Partikels, ω die Winkelgeschwindigkeit des Rotors und r der radiale Abstand des Partikels von der Rotationsachse. Die Zentrifugalkraft nimmt also im Verlaufe der Sedimentation zu. Ihr entgegen wirkt die Auftriebskraft F_b nach ARCHIMEDES:

$$F_b = -\omega^2 r \cdot m_{01}, \quad (2)$$

darin ist m_{01} die Masse des vom Partikel verdrängten Lösemittels. Weiterhin ist auch die Reibungskraft F_f , die der Geschwindigkeit u des Teilchens proportional ist, der Zentrifugalkraft entgegengerichtet:

$$F_f = -f \cdot u \quad (3)$$

Darin ist f der Reibungskoeffizient. Das Gleichgewicht der drei Kräfte stellt sich sehr schnell (< 1 ms) ein, so dass ein stationärer Zustand erreicht wird:

$$F_z + F_b + F_f = 0 \quad (4)$$

Die Masse des verdrängten Lösemittels ergibt sich als Produkt der Lösemitteldichte ρ und des Teilchenvolumens V_P . Letzteres kann auch über seine Masse m und sein partielles spezifisches Volumen \bar{v} ¹ ausgedrückt werden:

$$m_{01} = V_P \cdot \rho_1 = m \bar{v} \rho \quad (5)$$

¹Für das partielle spezifische Volumen hat sich in der UZ-Literatur die Bezeichnung \bar{v} durchgesetzt - thermodynamisch korrekt wäre die Bezeichnung \tilde{V}_2 .

Aus den Gln. (1) bis (4) erhält man damit folgenden Ausdruck:

$$\frac{m(1 - \bar{v} \varrho)}{f} = \frac{u}{\omega^2 r} \equiv s \quad (6)$$

Das Verhältnis der Sedimentationsgeschwindigkeit zur radialen Beschleunigung ist also konstant und wird als Sedimentationskoeffizient s bezeichnet. Er hat die Dimension einer Zeit; als Einheit ist das *Svedberg* [S] gebräuchlich: $10^{-13} s = 1 S$.

Der Reibungskoeffizient f läßt sich nach EINSTEIN durch den Diffusionskoeffizienten D ausdrücken:

$$f = \frac{kT}{D}, \quad (7)$$

wodurch (6) übergeht in die SVEDBERG-Gleichung

$$M = \frac{s RT}{D(1 - \bar{v} \varrho)} \quad , \quad (8)$$

welche eine Berechnung der Molmasse aus den beiden enthaltenen Transportgrößen s und D erlaubt. Verwendet man für f den Reibungskoeffizienten einer Kugel gleicher Masse f_0 und setzt nach STOKES

$$f_0 = 6 \pi \eta R_h \quad , \quad (9)$$

so erhält man mit R_h den Radius der reibungsäquivalenten Kugel. Darin ist η die Viskosität des Lösemittels. Damit geht Gl. (7) über in die STOKES-EINSTEIN-Beziehung

$$D = \frac{kT}{6 \pi \eta R_h} \quad , \quad (10)$$

und man erhält aus Gl. (6)

$$s = \frac{m(1 - \bar{v} \varrho)}{6 \pi \eta R_h} \quad , \quad (11)$$

woraus sich für hohe Verdünnungen der Radius der reibungsäquivalenten Kugel berechnen läßt. Handelt es sich bei dem sedimentierenden Partikel um eine kompakte Kugel, so setzt man für seine Dichte $\varrho_P = 1/\bar{v}$ und ersetzt die Masse m durch das Produkt von ϱ_P und dem Volumen ($\frac{4}{3} \pi R_h^3$). Damit erhält man für den Durchmesser d der Kugel:

$$d^2 = \frac{18 \eta s}{\varrho_P - \varrho} \quad (12)$$

Dabei ist ρ die Dichte und η die Viskosität des Lösemittels, ρ_P die Partikeldichte und s der Sedimentationskoeffizient.

Für komplexere Systeme ist die SVEDBERG-Gleichung (8) ebenfalls gültig, nicht jedoch die darauf folgenden Gleichungen. So müssen z. B. für nicht sphärische oder gequollene Partikel andere Ausdrücke gefunden werden. Es ist gebräuchlich, die von der kompakten Kugel abweichenden Reibungseigenschaften nicht absolut zu beschreiben, sondern anhand des Reibungskoeffizientenverhältnisses f/f_0 , welches angibt, *um wieviel langsamer als die kompakte Kugel gleicher Dichte und Masse* das fragliche Objekt sedimentiert.

Die Definition der Reibungskoeffizientenverhältnisses lautet

$$\frac{f}{f_0} = \frac{M(1 - \bar{v}\rho)}{N_A \cdot 6\pi\eta s} \cdot \sqrt[3]{\frac{4\pi N_A}{3\bar{v}M}} \quad (13)$$

Bei modernen Auswertungsverfahren wird er als anpaßbarer Parameter verwendet. Globale Anpassungen der Gesamtheit der Meßdaten an Näherungslösungen der LAMMSchen Differentialgleichung, welche alle Sedimentations- und Diffusionsprozesse beschreibt, liefern dann nicht nur eine Sedimentationskoeffizientenverteilung, sondern auch ein Ergebnis für f/f_0 und damit eine Molmassen- bzw. Durchmesserverteilung.