

UZ-Gleichgewichtsexperiment

Ziel des Experiments

Das Sedimentationsgleichgewichtsexperiment dient der Bestimmung von Molekulargewichten. Das Meßprinzip besteht darin, daß ein stationärer Zustand innerhalb der Meßzelle erreicht wird, bei dem keine Transportprozesse mehr stattfinden. Zwar kann die Molmasse auch anhand der Svedberg-Gleichung (siehe Einführung) berechnet werden, jedoch sind zur Auflösung der Gleichung zwei Transportgrößen, nämlich die Sedimentationskonstante und der Diffusionskoeffizient, erforderlich. Letzterer ist häufig nicht bekannt, zudem summieren sich die experimentellen Fehler aus diesen beiden Größen.

Beim Sedimentationsgleichgewichtsexperiment wird dieses Problem vermieden; die Molmasse wird unabhängig von Annahmen über Form und Größe erhalten. Zur Beschreibung des stationären Zustands ist ein eigener Formalismus notwendig, der im folgenden erläutert wird.

Durchführung des Gleichgewichtsexperiments

Das System wird einem *niedrigen* Sedimentationsfeld ausgesetzt. Das Feld bewirkt die Sedimentation der Partikel zum Zellboden hin; damit erhöht sich dort die Konzentration an Partikeln. Dies hat zur Folge, daß die Diffusion vom Boden entgegen dem Sedimentationsfeld immer stärker zunimmt, denn die Diffusion ist konzentrationsabhängig. Nach hinreichender Laufzeit bildet sich ein stationärer Zustand aus. Im Gleichgewicht liegt innerhalb der Meßzelle ein exponentielles Konzentrationsprofil vor (Abb. 1). Dieses Profil gibt unter Verwendung der experimentellen Parameter Aufschluß über die Molmasse.

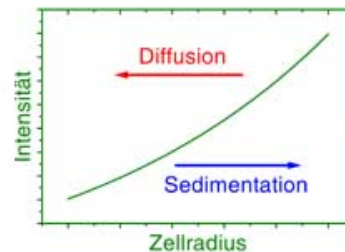


Abbildung 1: Konzentrationsprofil im Gleichgewicht

Im folgenden werden zwei Auswertungsverfahren beschrieben. Beide beziehen sich auf Systeme, die nur eine Spezies enthalten. Für multimodale bzw. polydisperse Gemische sind die Auswerteverfahren entsprechend zu erwei-

tern. Für komplexere Systeme, z. B. selbstaggregierende Moleküle, sind andere Verfahren anzuwenden.

Mathematische Beschreibung

Das Sedimentationsgleichgewicht wird anhand einer Massenbilanz beschrieben. Bilanziert wird ein Volumenelement, das sich zwischen den Abständen r und $r + dr$ von der Rotationsachse befindet (Abb. 2). Die Sedimentation

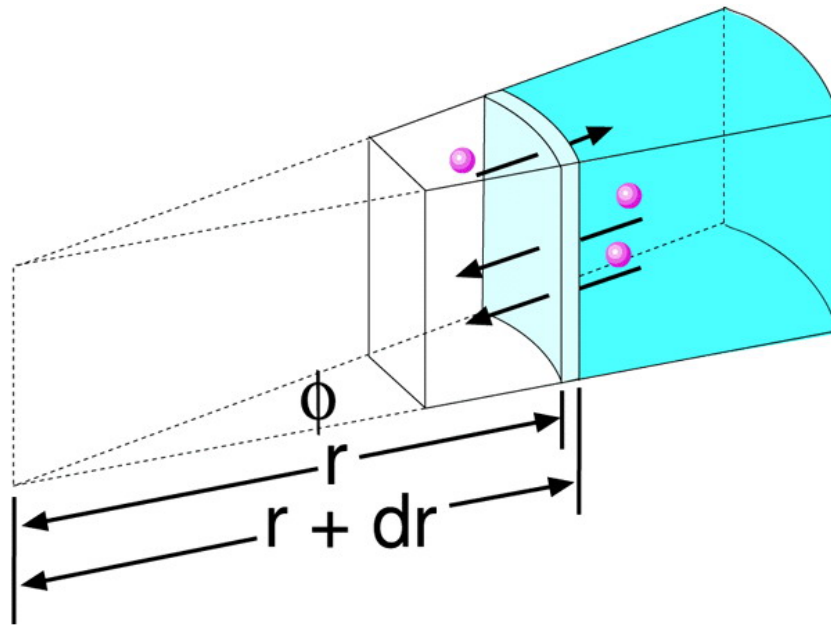


Abbildung 2: In ein Volumenelement ein- und austretende Massenflüsse

bewirkt den Eintritt von Partikeln am Zellradius r und den Austritt beim Zellradius $r + dr$. Aufgrund der Diffusion treten am Zellradius $r + dr$ Teilchen ein und am Zellradius r aus. Diese Betrachtung ist Grundlage für die Herleitung der Lammschen Differentialgleichung, einer Fundamentalgleichung der Ultrazentrifugation. Für die Herleitung des Sedimentationsgleichgewichtes genügt es jedoch, das Volumenelement auf eine Fläche A zu reduzieren. Diese beträgt

$$A = \phi r a. \quad (1)$$

Darin ist ϕ der Öffnungswinkel der sektorförmigen Zelle und a ihre Höhe. In die Fläche A sedimentiert in der Zeiteinheit eine Masse

$$\frac{dm_s}{dt} = c \cdot s\omega^2 r \cdot A \quad (2)$$

hinein. Darin ist c die Konzentration des Gelösten. Die Diffusion in Gegenrichtung beschreibt das zweite FICKSche Gesetz; demnach ist der Massenfluß in Gegenrichtung

$$\frac{dm_D}{dt} = -D \cdot \frac{\partial c}{\partial r} \cdot A. \quad (3)$$

Im Gleichgewicht ergibt sich aus der Gleichsetzung von Gl. (2) und Gl. (3) der folgende Zusammenhang:

$$\frac{dm_D}{dt} = -\frac{dm_s}{dt} \quad \Rightarrow \quad \frac{s}{D} = \frac{\frac{1}{c} \partial c}{r \partial r \cdot \omega} = \frac{M \cdot (1 - \bar{v} \rho)}{RT} \quad (4)$$

Darin ist \bar{v} das partielle spezifische Volumen des Gelösten, ρ_1 die Dichte des Lösemittels und ω die Kreisfrequenz des Rotors. M ist die Molmasse und D der Diffusionskoeffizient des Gelösten. Mit

$$r \partial r = \frac{1}{2} d(r^2) \quad (5)$$

und

$$\frac{1}{c} \partial c = d \ln c \quad (6)$$

erhält man nach Umstellen:

$$M = \frac{2RT}{(1 - \bar{v} \rho_1) \omega^2} \cdot \frac{d(\ln c)}{d(r^2)} \quad (7)$$

Im Gleichgewicht bildet sich also in der Meßzelle ein exponentielles Konzentrationsprofil aus. Eine Auftragung des Logarithmus der Konzentration über das Quadrat des Zellradius r ergibt eine Gerade, aus deren Steigung die Molmasse der Teilchen zugänglich ist.

Für polydisperse Systeme wird die Molmasse als Gewichtsmittel M_w erhalten:

$$M_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i} = \frac{\sum c_i M_i}{\sum c_i} \quad (8)$$

Darin ist n_i die Häufigkeit, c_i die Konzentration und M_i die Molmasse der Teilchensorte i .

Gl. (7) läßt sich auch thermodynamisch herleiten. Die Freie Energie eines Teilchens in der Meßzelle ist eine Funktion des Drucks, der Konzentration und des Abstands von der Rotationsachse. Im Gleichgewicht ist $dF = 0$, das vollständige Differential lautet:

$$dF = \frac{\partial F}{\partial r} dr + \frac{\partial F}{\partial p} dp + \frac{\partial F}{\partial c} dc \quad (9)$$

Für die drei Differentiale lassen sich folgende Ausdrücke einsetzen:

$$\frac{\partial F}{\partial r} = -M \omega^2 r; \quad \frac{\partial F}{\partial p} = M \bar{v} \quad \frac{\partial F}{\partial c} = \frac{RT}{c} \quad (10)$$

Außerdem ist

$$dp = \rho \omega^2 r dr, \quad (11)$$

so daß man folgenden Ausdruck erhält:

$$dF = -M \omega^2 r dr + M \bar{v} \rho \omega^2 r dr + \frac{RT}{c} dc = 0 \quad (12)$$

Gl. (12) läßt sich nach Gl. (7) umstellen.

Gl. (7) gilt für eine Lösung nur *einer* Teilchensorte; die Lösung muß sich zudem thermodynamisch ideal verhalten, d. h. der Aktivitätskoeffizient des Gelösten muß 1 sein. Für mehrmodale Gemische und nichtideales Verhalten müssen andere, kompliziertere Funktionen verwendet werden, die ein zugrundeliegendes Modell erfordern (Summen von Exponentialfunktionen). Eine modellunabhängige Auswertungsmethode zur Bestimmung von Molmassen aus dem Sedimentationsgleichgewicht wurde von SCHOLTE vorgeschlagen; die Auswertung ist jedoch kompliziert und erfordert aufwendige Rechnungen.

Eine einfache Alternative bietet die von CREETH und HARDING abgeleitete, modellunabhängige M^* -Funktion

$$M^*(r) = \frac{c(r) - c_m}{kc_m (r^2 - r_m^2) + 2k \int_{r_m}^r r (c(r) - c_m) dr} \quad (13)$$

mit dem Zellradius r , dem Zellradius bzw. der Konzentration des Gelösten am Meniskus r_m bzw. c_m und der Konstanten $k = (1 - \bar{v} \rho_1) \omega^2 / 2 RT$, welche das partielle spezifische Volumen des Gelösten \bar{v} , die Dichte des Lösemittels ρ_1 und die Kreisfrequenz des Rotors ω enthält. Die wichtigste Eigenschaft dieser Funktion ist ihr Wert am Zellboden:

$$M^*(r = r_b) = M_{w,app} \quad (14)$$

Ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen Gl. (13) und Gl. (7) besteht darin, daß die gegen Rauschen sehr empfindliche Differentiation durch die wesentlich stabilere Integration ersetzt wurde. Dies ist bei der praktischen Arbeit vorteilhaft.

Sowohl bei der Verwendung von modellabhängigen Fitfunktionen als auch bei der M^* -Funktion resultiert eine *apparente* Molmasse $M_{w,app}$, die durch Messen einer Konzentrationsreihe auf unendliche Verdünnung extrapoliert werden muß. Es existieren auch Verfahren, die einen globalen Fit an die exponentiellen Profile der gesamten Konzentrationsreihe vornehmen.

Ist die Konzentration am Meniskus von Null verschieden, so ist bei Verwendung der M^* -Funktion der Parameter c_m in Gl. (13) ungleich Null und muß separat ermittelt werden. Bei modellabhängigen Fits äußert sich dies anhand eines zusätzlichen Freiheitsgrads für die Basislinie. Man kann die Drehzahl so hoch wählen, daß die Lösung am Meniskus keine Partikel enthält („*meniscus depletion*“), wodurch dieses Problem umgangen wird ($c_m = 0$). Dabei kann es jedoch zur vollständigen Sedimentation eines Teils des Materials kommen, und es besteht die Gefahr, zu niedrige Molmassenmittelwerte zu bestimmen. Somit ergibt sich gerade bei hohen Molmassen und polydispersen Systemen die Notwendigkeit, die Drehzahl für dieses Experiment sorgfältig zu wählen.