

A II/9. előadás összefoglalása a tankönyv fejezetei alapján: VI/1. Szedimentációs és elektroforetikus módszerek

VI/1.1. Szedimentációs módszerek

Szedimentáció, magyarul ülepedés: ennek alapján részecsketömeg, alak meghatározás. Tömeg mérésére elfogadott módszer, hogy a szóban forgó tömegnek egy ismert erő hatására bekövetkező gyorsulását mérik meg. Oldatban lévő molekulák esetén – ha a ható erő a nehézségi erő – ez a módszer nem célravezető, mert a környező oldószermolekulák termikus mozgása a nehézségi erő hatását elnyomja. Önként kínálkozik az a megoldás, hogy a gravitációs erő helyett nagyobb, mesterségesen előidézett erőket alkalmazzanak. Ilyen körülmények például gyors forgatással biztosíthatók.

VI/1.1.1. Szedimentációs sebességi módszer

A súrlódási erő (mozgató erő) a nehézségi erő és a felhajtóerő különbsége.

Alapegyenlet: $mg - V\rho_0g = F_s$. Centrifugában g helyett $r\omega^2$ gyorsulás.

A Stokes törvényből $F_s = 6\pi\eta r v$ (gömb alakú részecskékre). Általánosan $F_s = f v$, ahol f az ún. alakfaktor, ami a mozgékonyság reciprok értéke, és amelynek ismerete szükséges a tömeg meghatározásához.

VI/1.1.2. Szedimentációs egyensúlyi módszer

Boltzmann–eloszlás alkalmazása. A sűrűséggradiens szerepe.

Nagy sűrűségű, kis molekulatömegű anyagok (például CsCl, CsBr stb.) centrifugálásakor az egyensúly beálltakor sűrűséggradiens keletkezik. Ha a ultracentrifugálást ilyen oldószemben végezzük, akkor a makromolekulák ott állnak meg, ahol az oldószert sűrűsége a saját sűrűségükkel azonos.

VI/1.2. Elektroforézis és izoelektromos-fokuszálás

A részecskéknél, molekuláknál elektromos erőter hatására bekövetkező transzlációs mozgását elektroforézisnek nevezik.

A Ze töltésű molekulára elektromos erőterben ható erő: $ZeE = F_s$

VI/1.2.1. Szabad elektroforézis

Elektroforetikus mozgékonyság: $u_{el} = uZe$

VI/1.2.2. Gélelektroforézis

VI/1.2.3. Izoelektromos fokuszálás

pH-gradiens szerepe.

Ismeretes, hogy olyan makromolekulák, amelyekben savas, ill. bázikus tulajdonságú csoportok találhatók, a közeg pH-változásának hatására töltésüket megváltoztathatják.

Ha az elektroforézis pH-gradiensben játszódik le, a makromolekulák mindaddig mozognak, amíg nettó töltéssel rendelkeznek. Pályájuk mentén a pH úgy változik, hogy a makromolekulák nettó töltése egyre csökken. A mozgás megszűnik, amint az izoelektromos pontjuknak megfelelő pH-jú helyre érnek.