**ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ.**

**Седиментация.** При определении массы частиц обычным способом наблюдают их движение под действием силы тяжести. Неизвестную массу при этом находят исходя из законов Ньютона: отношение масс двух тел равно обратному отношению их ускорений, приобретаемых под действием одной и той же силы. Однако в случае небольших частиц такой способ опре--деления массы невозможен, т.к. случайные соударения с молекулами окружа-ющей среды вследствие теплового движения сильно искажают действие силы тяжести. Для иллюстрации сравним разность потенциальных энергий частицы массой 2·10-22 кг (по порядку величины соответствует массе одной молекулы) при изменении ее положения по высоте на 1 см с энергией ее теплового движения:

ΔWп = mgh = 2·10-22·9,8·10-2 = 2·10-23 Дж.

В тоже время энергия теплового движения при 200 С составляет:

WT = kT = 1,38·10-23·293 = 4·10-21 Дж,

т.е. WT  в 200 раз больше, чем ΔWп . Кроме этого следует учесть выталкиваю-щую силу среды, которая уменьшает эффективную массу молекул. Это озна-чает, что для одной молекулы невозможно экспериментально обнаружить проявление силы тяжести.

 Возникшее затруднение можно преодолеть с помощью центрифугирования – метода, который позволяет искуственно увеличить потенциальную энергию частиц до значений, превышающих энергию теплового движения kT. Достигается это путем сообщения исследуемым материалам вращатель-ного движения с постоянной угловой скоростью ω. При этом частицы ве-щества по воздействием искусственной силы тяжести совершают радиальное перемещение.

 Процесс, происходящий в центрифуге, называется сепарацией - разде-лением неоднородных систем (суспензий, эмульсий, шламов и т.п.) на фрак-ции по какому то свойству (например, размеру) или совокупности свойств. Этот разделение является проявлением инерционных свойств частиц.

 Центрифугирование используется:

1. для выделения различных фракций из суспензий и эмульсий;
2. при определении молярных масс полимеров;
3. при дисперсионном анализе смесей;
4. при определении формы и размеров молекул.

 Рассмотрим для примера центрифугирование суспензии. Пусть твердая частица объемом V, массой m1, с плотностью вещества ρ взвешена в жид-кости плотностью ρж и вместе с ней равномерно вращается в центрифуге вокруг оси ОО с угловой скоростью ω. Расстояние от оси вращения до части-цы – r. Центростремительная сила, действующая на эту частицу

 Fц.с. = m1ω2r (1)

|  |  |
| --- | --- |
|  | Центростремительная сила, действующая на такой же объем жидкости (выталкивающая сила) (2)Разность этих сил. (3) |

Величина m' = m(1- ρж /ρ) называется эффективной массой частицы в среде с плотностью ρж при центрифугировании.

 Из (3) видно, что если F2 < F1, то ΔFцф <0 (ρж < ρ), т.е. результирующая сила направлена от оси вращения. Это означает, что выталкивающей силы недостаточно, чтобы удержать твердую частицу на круговой троектории радиуса r и она по инерции будет сдвигаться к периферии. Если же F2 > F1, то ΔFцф >0 (ρж > ρ), т.е. результирующая сила направлена к оси вращения и частица под действием этой силы будет двигаться к оси вращения.

 Главным параметром, определяющим эффективность центрифугирования является, так называемый, фактор разделения:

 , (4)

где R – радиус ротора центрифуги, ω – угловая скорость его вращения, g – ускорение свободного падения.

 Трудность в практическом использовании уравнения (3) заключается в определении истинного значения плотности материала твердых частиц. Особенно сложно этот сделать если частицы пористые. Существует несколько способов обойти это затруднение. Рассмотрим для примера один из них.

 **Метод седиментационного равновесия.** При достаточно долгом вращении центрифуги распределение частиц в пространстве барабана станет больцмановским:

  (5)

Обозначим через n1 и n2 концентрацию частиц на расстояниях r1 и r2 от оси вращения. Энергии частиц на указанных расстояниях, соответственно – W1 и W2 , тогда на основании (5) имеем:

 (6)

Это уравнение показывает, что распределение частиц зависит от соотношения между энергией искусственно созданного гравитационного поля в центрифуге и энергией теплового движения – kT. Т.к. температура раствора по объему центрифуги одинакова, то и кинетическая энергия частиц одинакова. Это означает, что разность W1 – W2 представляет собой разность потенциальных энергий частиц. Эта разность равна работе, которую необходимо совершить против результирующей силы, m΄ω2 r, чтобы переместить частицу от r1 до r2. Теперь получим:

 (7)

Подставляя (7) в (6), получим:

  (8)

Решая (8) относительно m΄, можно найти массу частицы m. Преимущество данного метода заключается в том, что не требуется знать ничего, кроме эффективной массы.

 **Пример:** Предположим, что ротор центрифуги вращается со скоростью 103 рад/с, температура раствора – 300 К, молекулярная масса центрифугируемого вещества – 105 (это соответствует массе молекулы m = 1,6·10-22кг), значение (1- ρж/ρ)=0,25. Вычисления эффективной массы дает: m΄= 4·10-23кг. Теперь отношение концентраций частиц, которые находятся на расстояниях 10 и 9,8 см от оси вращения будет равно:

, откуда 

Видно, что для этой системы концентрация меняется очень быстро. Это затруднит проведение точных измерений.

 Хорошие результаты дает метод седиментационного равновесия при центрифугировании в **градиенте плотности.** Такой градиент можно получить, если центрифугировать раствор соли с большой плотностью, например, CsCl. При этом между верхней и нижней частью кюветы возникает градиент плотности. Если в такой раствор поместить исследуемое вещество, плотность молекулы которого лежит в промежутке между крайними значениями плотности раствора, то такие молекулы будут стремится занять в кювете положения, соответствующие минимуму их энергии, т.е. места, где ρвещества = ρраствора. В этом случае эффективная масса, вычисленная по формуле будет равна нулю. Этот метод обеспечивает разрешение достаточное для того, например, чтобы отделить ДНК, содержащую изотоп азота 15, от нормальной ДНК с N15