

Centrifugace

Centrifugace ^{[1][2][3]} slouží k rozdělení částic pomocí odstředivé síly. Často jde o urychlení sedimentace. Zatímco při sedimentaci se částice rozdělují podle své hustoty vlivem gravitačního zrychlení, při centrifugaci na ně působí mnohem větší odstředivé zrychlení. Rozdělení směsi proto probíhá mnohem rychleji.

V nejjednodušších případech se centrifugace používá k **oddělení pevných částic ze suspenze**, např. k odstranění sraženin či krvinek z plné krve. Pomocí centrifugace je také možné rozdělit směsi nemísitelných kapalin. S využitím vysokých rychlostí, jichž se dosahuje ve vysokootáčkových centrifugách a ultracentrifugách, lze také separovat jednotlivé **součásti buněk** z buněčného lyzátu nebo rozdělit **směsi makromolekul**.

Centrifugační zrychlení

Lze nahlédnout, že rozdělení směsi při centrifugaci bude probíhat tím rychleji, čím rychleji se bude točit rotor centrifugy. V praxi se většinou pracuje s veličinou označovanou jako **relativní centrifugační síla** (*relative centrifugal force, RCF*). *Udává, kolikrát je odstředivé zrychlení vyšší než tíhové zrychlení (g) a zpravidla se uvádí v násobcích g.*

Představme si, že stejnou směs rozdělíme do dvou zkumavek. Jednu postavíme do stojánku a směs v ní necháme volně sedimentovat, druhou budeme centrifugovat při 10 000× g. Znamená to, že na částice v centrifugované zkumavce bude působit odstředivé zrychlení deset tisíckrát větší než tíhové zrychlení, které způsobuje sedimentaci ve volně stojící zkumavce.

Snadno lze odvodit, že relativní centrifugační síla závisí na poloměru rotoru centrifugy a počtu otáček:

$$RCF = 1,12 \cdot n^2 \cdot r \cdot 10^{-5}$$

kde RCF je relativní centrifugační síla, n je počet otáček rotoru za minutu a r je poloměr rotoru v centimetrech.

Rychlost, kterou se budou jednotlivé částice ve směsi během centrifugace pohybovat, se uvádí jako tzv. **sedimentační rychlost**. Za idealizovaných podmínek je úměrná odstředivému zrychlení (tedy relativní centrifugační síle) a rozdílu hustoty částice a prostředí, v němž je dispergována. Dále závisí na velikosti částice a viskozitě směsi.

Namísto sedimentační rychlosti se často pracuje se **sedimentačním koeficientem** – veličinou, která popisuje chování konkrétní částice bez ohledu na podmínky centrifugace. Sedimentační koeficient vlastně odpovídá sedimentační rychlosti v poli o jednotkovém zrychlení (tj. asi 10× menším, než je tíhové zrychlení). Udává se v sekundách, popřípadě se používá násobná jednotka Svedberg (1 Svedberg = 1 S = 10⁻¹³ s).

V literatuře se můžeme setkat s údajem, že podjednotky ribosomu mají „velikost“ 30 S a 50 S. Je tak vlastně popsáno jejich chování při ultracentrifugaci buněčných frakcí. Velmi zhruba lze říci, že pokud bychom nechali sedimentovat např. podjednotku 30 S ve volně stojící zkumavce, tj. při tíhovém zrychlení asi 10 ms⁻², klesala by rychlostí

$$30 \cdot 10^{-13} \text{ s} \cdot 10 \text{ ms}^{-2} = 3 \cdot 10^{-11} \text{ ms}^{-1}, \text{ což je necelý milimetr za rok.}$$

Ve skutečnosti by nesedimentovaly vůbec, neboť proti sedimentaci by působila difuze. Je zjevné, že pro oddělení podjednotek ribozomů je potřeba dosáhnout zrychlení většího o několik řádů.

Centrifugy

Pokud pro zpracování materiálu postačují malé relativní centrifugační síly (do 20 000× g či ještě méně), lze použít poměrně jednoduché **nízkoobrátkové** centrifugy. Pro sedimentaci velmi malých částic se používají **ultracentrifugy**, jejichž rotor pracuje ve vakuu, čímž se zamezí jeho brždění vzduchem a zahřívání. Součásti ultracentrifug musejí odolávat obrovským silám a jsou proto velmi náročné na výrobu; cena ultracentrifug je proto vysoká.

Mezi nízkootáčkovými centrifugami a ultracentrifugami stojí tzv. **vysokootáčkové centrifugy**. Pracují bez vakua, lze však pomocí nich dosáhnout zrychlení až kolem 100 000× g.

Centrifugování při vyšších otáčkách by kvůli tření o vzduch vedlo k zahřívání vzorku, navíc biologické vzorky často musí být zpracovávány při nízkých teplotách. Centrifugy proto bývají často vybaveny chlazením.

Praktické poznámky

Centrifugované vzorky je do rotoru potřebné vkládat tak, aby byl rotor vyvážen. Odstředivé síly, kterými jednotlivé vzorky působí na hřídel rotoru, se musí vzájemně vyrušit. V praxi to znamená, že je třeba vzorky do rotoru vkládat tak, aby v protilehlých pozicích byly vždy dvě stejně těžké zkumavky. Čím větší rychlost otáčení se použije, tím

přesněji musí být rotor vyvážen. Při nízkých otáčkách postačí použít pro všechny vzorky zkumavky stejného typu a napipetovat do nich stejné objemy vzorků. Při ultracentrifugaci se zkumavky váží a objem vzorku se upravuje tak, aby protilehlé zkumavky měly přesně stejnou hmotnost.

Odkazy

Související články

- Sedimentace erytrocytů

Reference

1. KODÍČEK, Milan. *Biochemické pojmy. Výkladový slovník* [online]. VŠCHT Praha, ©2007. [cit. 2009-10-28]. <http://147.33.74.135/knihy/uid_es-002/ebook.html>.
2. LABÍK, Stanislav, Michal BUREŠ a Pavel CHUCHVALEC, et al. *Příklady z fyzikální chemie online. Disperzní systémy*. [online]. ©2008. Poslední revize 2008-12-10, [cit. 2009-10-28]. <<http://old.vscht.cz/fch/prikladnik/prikladnik/p.html>>.
3. VÁVROVÁ, Jaroslava. *Datový standard MZ ČR. Odstředování (centrifugace)* [online]. ©2009. [cit. 2009-10-28]. <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/JVACO.htm>.



Centrifuga