

В. Я. ЧЕРНЯК

**БЫСТРОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВЕСА  
БИОПОЛИМЕРОВ МЕТОДОМ НЕРАВНОВЕСНОГО  
НИЗКОСКОРОСТНОГО УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ**

**НЕИДЕАЛЬНЫЕ РАСТВОРЫ ГОМОЛОГЕННЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ.**

*(Представлено академиком А. Н. Белозерским 11 I 1972)*

В последние годы усиленно развивается теория и практика методов седиментационного равновесия. Однако, несмотря на замечательные достижения, эти методы все еще требуют большой продолжительности опыта на ультрацентрифуге. Время, необходимое для достижения равновесия, возрастает с увеличением молекулярного веса полимера, достигая 80—120 час. для частиц с  $M \approx 50 \cdot 10^6$  (1). В данном сообщении мы показываем, что решение уравнения переноса гомогенного вещества в неидеальных растворах, помещенных в центробежное поле, можно представить в таком виде, который позволяет численными методами определять «истинный» молекулярный вес и параметр, характеризующий неидеальность раствора, в непродолжительных низкоскоростных неравновесных опытах на ультрацентрифуге с абсорбционной и интерференционной оптической системой. Предлагаемое решение содержит как частный случай седиментационное равновесие. В то же время, в отличие от известных методов «приближения к равновесию» (различных вариантов метода Арчибалда), здесь отпадает необходимость измерять концентрацию и ее градиент непосредственно на изображениях мениска или дна ячейки, не требуется также экстраполировать экспериментальные кривые к этим границам.

Поток растворенного вещества  $J$  через единицу поверхности поперечного сечения ячейки ультрацентрифуги имеет вид (2)

$$J(r, t) = s\omega^2 r C(r, t) - D \frac{\partial C}{\partial r}, \quad (1)$$

где  $C$  — весовая концентрация растворенного вещества,  $r$  — расстояние от оси вращения ротора,  $s$  — коэффициент седиментации,  $D$  — коэффициент диффузии,  $\omega$  — угловая скорость вращения ротора,  $t$  — время от начала опыта. Это уравнение удобно преобразовать к виду

$$\frac{\partial \ln C}{\partial (r^2)} = \frac{1}{2} q - \frac{J}{2DrC}, \quad (2)$$

где введено обозначение  $q = s\omega^2 / D$ . В рассматриваемом случае неравновесной седиментации поток  $J$  обращается в нуль только на мениске ( $r_m$ ) и на дне ( $r_b$ ) ячейки (граничные условия (3))

$$J(r, t) = 0 \quad \text{при} \quad r = r_m, \quad r = r_b, \quad t > 0, \quad (3)$$

$$J(r, t) \neq 0 \quad \text{при} \quad r_m < r < r_b. \quad (4)$$

В неидеальных растворах параметр  $q$  зависит от концентрации. Для двухкомпонентных разбавленных растворов незаряженных макромолекул

имеем (4)

$$q = q_c = \frac{M_c \omega^2 (1 - \bar{V} \rho)}{RT} = \frac{M_0 \omega^2 (1 - \bar{V} \rho)}{RT [1 + C (\partial \ln y / \partial C)]} = \frac{q_0}{1 + C (\partial \ln y / \partial C)}, \quad (5)$$

где индексом  $c$  обозначены кажущиеся значения  $q$  и молекулярного веса  $M$ , получающиеся в результате измерений при конечной концентрации, индексом 0 — при бесконечном разбавлении раствора;  $\bar{V}$  — парциальный удельный объем полимера;  $\rho$  — плотность раствора;  $y$  — коэффициент активности растворенного вещества;  $T$  — абсолютная температура;  $R$  — универсальная газовая постоянная. Концентрация биополимеров в опытах на ультрацентрифугах с интерференционной оптикой обычно не превышает  $3 \cdot 10^{-3}$  г/см<sup>3</sup>, а с абсорбционной оптикой еще на один — три порядка ниже. Поэтому для большинства биополимеров (даже со значительно асимметричными молекулами) нетрудно подобрать такие условия опыта, при которых произведение  $C (\partial \ln y / \partial C)$  мало и не превышает по порядку величины  $1 \cdot 10^{-1}$ . Это позволяет переписать (5) без существенной погрешности в более удобном для дальнейшего виде

$$q_c = q_0 (1 - k_M C), \quad k_M = \frac{\partial \ln y}{\partial C}. \quad (6)$$

(Именно такая форма учета концентрационной зависимости чаще всего используется на практике.) Подставив (6) в уравнение (2), проинтегрируем его в пределах от  $r_m$  до  $r$  при условии, что концентрация на мениске  $C(r_m, t) = C_m(t)$  не обращается в нуль в течение всего опыта. Получаем

$$\ln C(r, t) = \ln C_m(t) + \frac{1}{2} q_0 (r^2 - r_m^2) - \frac{q_0 k_M}{2} \int_{r_m}^r C d(r^2) + \Phi(r, t), \quad (7)$$

где

$$\Phi(r, t) = - \int_{r_m}^r \frac{J(r, t)}{DC(r, t)} dr. \quad (8)$$

Чтобы исключить из расчета прилегающий к мениску участок, на котором экспериментальная кривая  $C(r, t)$  всегда значительно искажена, выберем координату  $\hat{r} > r_m$ , начиная с которой функция  $C(r, t)$  регистрируется уже с нормальной для данной оптической системы точностью, и представим интеграл в правой части (7) в виде суммы двух интегралов

$$\int_{r_m}^r C d(r^2) = \int_{r_m}^{\hat{r}} C d(r^2) + \int_{\hat{r}}^r C d(r^2). \quad (9)$$

Функция  $\Phi(r, t)$  из уравнения (7) в отсутствие равновесия отлична от нуля во всем столбе жидкости между мениском и дном, но обращается в нуль на мениске вместе со своей первой производной по координате (по определению (8) и в силу краевого условия (3)):

$$\Phi(r_m, t) = (\partial \Phi / \partial r)_{r=r_m} = 0.$$

Принимая это во внимание, разложим  $\Phi(r, t)$  в ряд Тейлора вблизи  $r_m$ . В результате этих преобразований формула (7) приобретает вид

$$\begin{aligned} \ln C(r, t) = \ln C_m(t) - \frac{q_0 k_M}{2} \int_{r_m}^{\hat{r}} C d(r^2) - \frac{q_0 k_M}{2} \int_{\hat{r}}^r C d(r^2) + \frac{q_0}{2} (r^2 - r_m^2) + \\ + \frac{1}{2!} \Phi_m''(t) \cdot (r - r_m)^2 + \dots \end{aligned} \quad (10)$$

Далее заменим координату  $r$  новой безразмерной переменной  $\xi = (r - r_m) / r_m$ ,  $r = r_m(1 + \xi)$ .

Учитывая, что  $\frac{\partial^k}{\partial r^k} = \frac{1}{r_m^k} \frac{\partial^k}{\partial \xi^k}$ , получаем вместо (10) новое выражение

$$\begin{aligned} \ln C(\xi, t) = \ln C_m(t) - q_0 k_M r_m^2 \int_0^{\xi} (1 + \xi) C d\xi - \\ - q_0 k_M r_m^2 \int_{\xi}^{\infty} (1 + \xi) C d\xi + q_0 r_m^2 \xi + \frac{1}{2} q_0 r_m^2 \xi^2 + \frac{1}{2!} \Phi_m''(t) \xi^2 + \dots \end{aligned} \quad (11)$$

которое можно записать в более компактной форме

$$\ln C(\xi, t) = a_{-1} \psi(\xi, t, \hat{\xi}) + \sum_{i=0}^{\infty} a_i(t) \xi^i. \quad (12)$$

Здесь

$$\psi(\xi, t, \hat{\xi}) = \int_{\hat{\xi}}^{\xi} (1 + \xi) C d\xi \quad (13)$$

и коэффициенты

$$a_{-1} = -q_0 k_M r_m^2, \quad (14)$$

$$a_0(t) = \ln C_m(t) - q_0 k_M r_m^2 \int_0^{\xi} (1 + \xi) C d\xi, \quad (15)$$

$$a_1 = q_0 r_m^2, \quad (16)$$

$$a_2(t) = \frac{1}{2} (q_0 r_m^2 + \Phi_m''(t)), \quad (17)$$

$$a_i(t) = \frac{1}{i!} \Phi_m^{(i)}(t), \quad i = 3, 4, \dots \quad (18)$$

Соотношение (16) позволяет исключить из формулы Сведберга отношение  $s/D$  и выразить «истинный» молекулярный вес  $M_0$  через единственный коэффициент ряда (12)  $a_1$

$$M_0 = \frac{RT a_1}{(1 - \bar{V} \rho) r_m^2 \omega^2}. \quad (19)$$

Параметр  $k_M$ , характеризующий неидеальность раствора, согласно (14) и (16) выражается отношением коэффициентов  $a_{-1}$  и  $a_1$

$$k_M = -a_{-1} / a_1.$$

При равновесии функция  $\Phi(r, t)$  обращается в нуль при всех  $r_m \leq r \leq r_b$  вместе со всеми своими производными. Поэтому ряд (12) обрывается на члене с  $i = 2$ , и легко убедиться, что, вернувшись к переменной  $r$  и положив  $\hat{r} = r_m$ , мы получаем обычное для седиментационного равновесия соотношение с учетом неидеальности раствора в форме (5).

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
21 XII 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> F. C. Bancroft, D. Freifelder, J. Mol. Biol., 54, 537 (1970). <sup>2</sup> T. S. Svedberg, K. O. Pedersen, The Ultracentrifuge, Oxford, 1940. <sup>3</sup> W. J. Archibald, Phys. Rev., 54, 371 (1938). <sup>4</sup> H. Fujita, Mathematical Theory of Sedimentation Analysis, N. Y.—London, 1962.