

из резонаторов и обычных типов поглотителей (например, пористые и волокнистые структуры) с более высокочастотными характеристиками поглощения.

Ситуация меняется, если падающий N -импульс имеет фронт конечной толщины (в среде присутствует диссипация). Этот случай показан на рис. 5. Здесь кривая 1 — это падающий импульс, его спектр определяется формулой (4), где принято, что $\Gamma=0,03$, $z=0$. Частотные зависимости характеристик резонатора использованы такие же, что и в предыдущем случае. Поскольку из-за учета диссипации спектр ударной волны ограничен, то интервал частот, на которых происходит поглощение, полностью его покрывает. Это приводит к тому, что поглощение происходит по всему фронту ударного импульса, как это видно из формы отраженного импульса (рис. 5, кривая 2). Учет диссипации не вызывает качественного изменения формы прошедшей волны (рис. 5, кривая 3). Как и в прежнем случае, прошедшая волна не будет ударной, а при соответствующем выбранном коэффициенте прохождения ее фронт будет значительно более пологим, чем у падающего импульса.

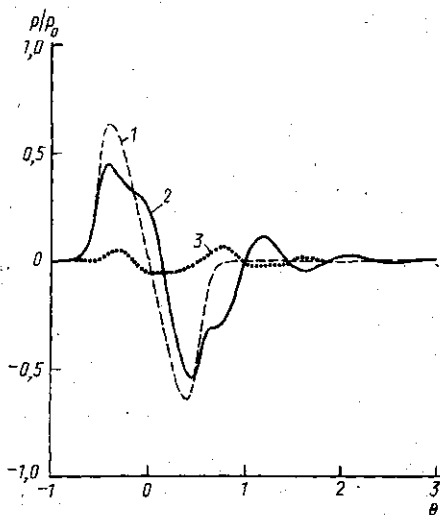


Рис. 5

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 93-02-15453) и Центра фундаментального естествознания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maglieri D. J. // J. Acoust. Soc. Am. 1992. 92. N 4(2). P. 2328.
2. Pierce A. D. // Advances in Nonlinear Acoustics. World Scientific. 1993. P. 7.
3. Велижанина К. А., Дудкин Д. А. // Акуст. журн. 1989. 35, № 1. С. 151.
4. Дудкин Д. А. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. М. (МГУ), 1988.
5. Khirnykh K. The development of non fibred-filled resonant sound absorbing systems: Ph. D. January 1992, Institute of environmental engineering, South bank polytechnic, London.
6. Лапшин Е. А. // Методы и алгоритмы в численном анализе. М., 1984. С. 183.
7. Руденко О. В., Хирных К. Л. // Акуст. журнал. 1990. 36, № 3. С. 300.

Поступила в редакцию
29.03.95

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1995. Т. 36, № 6

УДК 538.955:547.962

АНОМАЛИЯ КОЭФФИЦИЕНТА ВРАЩАТЕЛЬНОЙ ПОДВИЖНОСТИ ЗАРЯЖЕННЫХ ПРОТЕИНОВ, ИССЛЕДОВАННАЯ МЕТОДОМ ЭПР

Ю. М. Петрусевич, Е. Е. Берловская

(кафедра физики низких температур)

Влияние поверхностных зарядов макромолекул биополимеров, изменяющих динамику вращательного броуновского движения в растворах, объясняется механизмом аномальной диффузии. Показано, что экспериментальные данные, полученные ме-

тодом ЭПР, лучше согласуются с теорией аномальной диффузии, чем с обычной теорией Стокса—Эйнштейна—Дебая.

Изучение броуновского движения заряженных макромолекул до сих пор привлекает внимание. Используя метод ЭПР, можно получить информацию о времени вращательной корреляции макромолекул в растворе.

Несомненный интерес представляет описание динамических свойств макромолекул белков в водном растворе, особенно в области малых концентраций белка, где наблюдается аномалия коэффициента вращательной подвижности [1]. Белок можно рассматривать как броуновскую частицу, обладающую значительным зарядом и аномально большим дипольным моментом. Теория вращательной броуновской диффузии заряженных макромолекул была дана в работе [2], где было решено так называемое модифицированное уравнение Ланжевена:

$$dI\Omega(t)/dt = M^f(t) + M^{el}(t) - \xi I\Omega, \quad (1)$$

где Ω — угловая скорость вращения i -й молекулы; I — ее момент инерции, ξ — тензор вязкого трения, $M^f(t)$ — момент случайных сил, действующих на частицу со стороны растворителя, $M^{el}(t)$ — момент, обусловленный электрическим взаимодействием заряженных броуновских частиц. Последний момент можно представить в виде суммы двух слагаемых, M^{qp} и M^{pp} , связанных с заряд-дипольным и диполь-дипольным взаимодействием:

$$M^{el} + M^{qp} + M^{pp} = \sum [p_i \{E_{i,j}^q + E_{i,j}^p\}], \quad (2)$$

где q_i — заряд, а p_i — дипольный момент i -й макромолекулы.

Коэффициент вращательной диффузии D_r , являющийся нулевым моментом функции автокорреляции угловой скорости, определяется соотношением

$$D_r = (1/3) \lim_{\delta \rightarrow 0} \int_0^{\infty} \langle \Omega_i(0) \Omega_i(t) \rangle e^{-st} dt. \quad (3)$$

Расчет, проведенный в работе [2] методом преобразования Лапласа, сводится к определению функций корреляции для заряд-дипольного и диполь-дипольного взаимодействий. При этом

$$D_r = D_r^0 + \frac{1}{3I^2\xi^2} \left[\int_0^{\infty} \langle M^{qp}(0) M^{qp}(t) \rangle + \int_0^{\infty} \langle M^{pp}(0) M^{pp}(t) \rangle \right]. \quad (4)$$

Окончательный результат расчета [2] приводит к соотношению

$$D_r = D_r^0 \left\{ 1 + C \left[\frac{0,16p^4}{12e^2 (kT)^2 r^6} + \frac{1,04p^2q^2}{6e^2 (kT)^2 r^4} \right] \right\}. \quad (5)$$

Здесь ϵ — диэлектрическая проницаемость среды, p — дипольный момент броуновской частицы, q — ее заряд, C — концентрация макромолекул,

$$D_r^0 = \frac{kT}{\xi_0} = \frac{1}{I(l+1)\tau_r^0} \quad (6)$$

— коэффициент вращательной диффузии незаряженной макромолекулы, а τ_r^0 — время корреляции ее вращательного движения при $C=0$. В случае спектроскопии ЭПР и ЯМР коэффициент $l=2$, а $D_r^0=1/(6\tau_r^0)$.

Таким образом, полученное соотношение (5) для D_r показывает, что диффузионный коэффициент растет при увеличении концентрации макромолекул и увеличении их поверхностного заряда.

Исходя из выражения (6), получаем для времени вращательной корреляции τ_r следующее выражение:

$$\tau_r = \tau_r^0 \left(1 - C \left\{ \int_0^{\infty} \langle M^{qp}(0) M^{qp}(t) \rangle + \int_0^{\infty} \langle M^{pp}(0) M^{pp}(t) \rangle \right\} \right), \quad (7)$$

где $\tau_r^0 = V\eta(kT)$ по уравнению Стокса—Эйнштейна—Дебая. Это соотношение хорошо выполняется для незаряженной сферической молекулы, характерные размеры которой существенно больше размеров молекул растворителя. Таким образом, существует прямая связь между τ_r и η .

В обычной записи спектров ЭПР в виде первой производной спектра поглощения как функции магнитного поля интенсивность линий обратно пропорциональна квадрату их ширины. Поэтому путем несложных преобразований для экспериментальных значений времени вращательной корреляции можно получить

$$\tau = K_{m_1 m_2} \Delta H_{m_2} \left\{ (I_{m_2}/I_{m_1})^{1/2} - 1 \right\},$$

где I_m — интенсивность соответствующих компонент спектра, K_{m_1, m_2} — константы. Для $m = -1, +1$ величина $K = \sqrt{3}/4B$. Для нитроксильных радикалов используются стандартные значения компонент g -тензора и A -тензора. Таким образом, расчет τ можно производить по следующим формулам:

$$\tau_1 = 665 \Delta H_{-1} \left\{ (I_{-1}/I_1)^{1/2} - 1 \right\} \text{ (пс)},$$

$$\tau_2 = 673 \Delta H_0 \left\{ (I_0/I_1)^{1/2} - 1 \right\} \text{ (пс)}.$$

Здесь ΔH — расстояние в гауссах между экстремумами линий спектра; I_{-1}, I_0, I_1 — амплитуды компонент спектра ЭПР, τ выражено в пикосекундах.

Эти формулы использовались нами при расчете времен вращательной корреляции иминоксильного радикала в водно-спиртовых растворах при исследовании механизма диэлектрического трения [3].

Так, для используемой в работе молекулы 16-DOXYL-stearic acid ($I_{1,14}$) величины $\tau_1 = 61,1$ пс, $\tau_2 = 61,2$ пс. Эти значения получены для водного раствора при рН 7 и $T = 20^\circ \text{C}$.

В настоящее время не существует строгих количественных теорий, которые были бы применимы для всего диапазона подвижности метки. По крайней мере, для расчета подвижности макромолекул белков, имеющих ЭПР-метку, приходится работать с временами вращательной подвижности в диапазоне τ порядка 10^{-9} — 10^{-6} с, при которых теория имеет только качественный характер. Однако сегодня хорошо развиты методы компьютерного моделирования.

В указанном выше диапазоне подвижности метки возможно использование метода Стоуна [4] для расчета T_2 . При этом скорость поперечной релаксации каждой линии выражается формулой

$$[T_2(m)]^{-1} = \tau \left\{ [3I(I+1) + 5m^2] + b^2/40 + 4(\Delta\gamma B_0)^2/45 - 4b\Delta\gamma B_0 m/15 \right\}, \quad (8)$$

$$T_2(0)/T_2(m) = 1 - 4\tau b \Delta\gamma B_0 T_2(0) m/15 + \tau b^2 T_2(0) m^2/8,$$

Подставляя $m = \pm 1$, получим

$$T_2(0)/T_2(-1) - T_2(0)/T_2(1) = 8\tau b \Delta\nu B_0 T_2(0)/15.$$

В это выражение включены лишь линейные члены по m . С другой стороны, выражение $T_2(0)/T_2(-1) + T_2(0)/T_2(1) = 2 + 2\tau b^2 T_2(0)/8$, полученное из (8), включает в себя квадратичные члены по m . Экспериментальные значения $T_2(0)/T_2(\pm 1)$ получаются из измерений полуширин соответствующих линий спектров ЭПР. В указанных выше формулах

1) $\Delta\nu$ является значением анизотропии g -фактора:

$$\Delta\nu = -(\beta/h) [g_{zz} - (g_{xx} + g_{yy})/2] \quad (\text{с}^{-1} \cdot \text{Гс}^{-1})$$

где g_{zz} является значением g вдоль оси Z ;

2) b — значение анизотропии сверхслабого взаимодействия:

$$b = (4\pi/3) (A_{zz} - A_{xx}) \quad (\text{с}^{-1});$$

3) A_{zz} — константа сверхслабого взаимодействия в герцах вдоль оси Z (вообще значения A_{zz} и A_{xx} зависят от полярности растворителя);

4) T_2 — время спин-спиновой релаксации, связанное с полушириной линии $\Delta\nu$:

$$(T_2)^{-1} = \Delta\nu \sqrt{3} \cdot 2,8 \cdot 10^6 \quad (\text{с}^{-1}),$$

где $\Delta\nu$ — ширина линии в гауссах.

Соотношения (8) справедливы, когда тепловое движение является достаточно слабым и существуют различия в ширинах линий, причем $\omega^2 \tau^2 \gg 1$. В случае вращательного движения белков $\tau_r \sim 10^{-8}$ с. При этом теория Стоуна дает лишь качественное описание экспериментов. Для численного расчета τ_r макромолекулу белков следует использовать метод Мак-Коннелла [5], в котором время вращательной корреляции τ_r рассчитывается по формуле

$$\tau_r = \frac{a}{(1-S)^{-b}}, \quad (9)$$

где $S = A'_z/A_z$.

Здесь A_z — константа сверхтонкого взаимодействия (СТВ) в направлении оси вращения макромолекулы в очень вязком растворе, например растворе глицерина, A'_z — константа СТВ в условиях броуновского движения макромолекул в воде, $b = -1,16$; $a = 8,5 \cdot 10^{-10}$ (из данных, полученных Мак-Коннеллом для броуновской диффузии при ширине центральной линии спектра ЭПР иминоксильного радикала $\Delta H_0 = 5$ Гс).

Результаты эксперимента

Эксперименты проводились при температуре $T = 40^\circ \text{C}$. В качестве объекта исследования был взят раствор альбумина (HSA фирмы «Serva») в воде. Для изменения ионной силы использовали раствор NaCl. Все измерения были проведены на ЭПР-спектрометре PS-100X фирмы Адани.

Для определения вязкости раствора η глицерин—вода при 40°C были использованы справочные данные [6], приведенные в таблице.

Результаты измерения ширины центральной линии спектра ЭПР раствора альбумина от вязкости представлены на рис. 1. В этих экспериментах молярная концентрация добавляемого в раствор альбуми-

на иминоксильного радикала (16-DSA) не превышала молярную концентрацию белка. При этом иминоксильный радикал полностью связывался с макромолекулой, и спектр ЭПР отражал характер изучаемой броуновской диффузии.

Концентрация глицерина, %	0	5	10	15	20	25	30
Вязкость раствора, сП	0,63	0,70	0,79	0,88	1,03	1,20	1,365

Из результатов эксперимента видно, что ширина линии спектра ЭПР ΔH линейно зависит от вязкости η . Из этого следует, что молекулярное трение действительно определяет для белковых растворов ширину центральной линии спектра ЭПР.

Для точного расчета τ_r были проведены вычисления по методу Мак-Коннелла. Эксперименты проводились с 1% раствором HSA в воде и в 90% растворе глицерина. Данные эксперимента подтвердили применимость метода Мак-Коннелла для расчета τ_r в соответствии с формулой (9). При подстановке в эту формулу значений экспериментальных данных $A_z=64,12$ Гс и $A_z'=59,8$ Гс и констант $a=8,5 \cdot 10^{-10}$ и

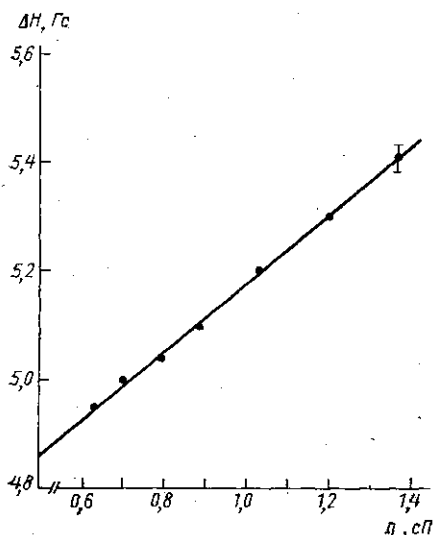


Рис. 1. Зависимость ширины центральной линии спектра ЭПР раствора альбумина от вязкости

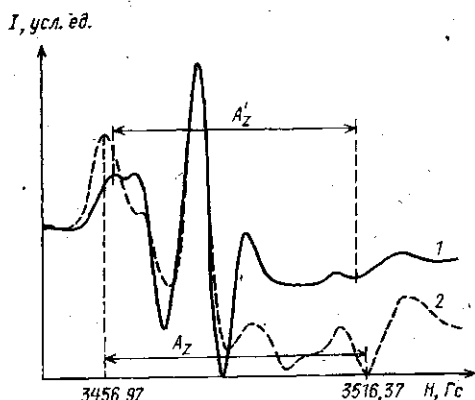


Рис. 2. Спектр ЭПР 1% раствора HSA в воде (1) и раствора HSA в 90% глицерине (2)

$b=-1,16$, было получено $\tau_r=19,5 \pm 0,5$ нс, что находится в хорошем согласии со значениями τ_r , полученными другими методами [7]. На рис. 2 представлены спектры ЭПР 1% раствора HSA в воде и в 90% глицерине.

Для изучения зависимости ширины линии раствора альбумина в воде при изменении его концентрации и ионной силы был проведен ряд экспериментов. Измерения проводились при значениях ионной силы $\mu=0,01$ и $0,2$ моль/л. Данные эксперимента представлены на рис. 3. Концентрация белка менялась от $0,5\%$ до 8% . При этом ширина линии изменялась от $4,93$ до $5,17$ Гс. В результате проведенных экспериментов была обнаружена аномалия коэффициента вращательной

диффузии: в области малых концентраций белка (от 0,5% до 4%) наблюдалось увеличение ширины центральной линии спектра ЭПР.

Из рис. 3 видно, что минимум ширины центральной линии спектра ЭПР наблюдается при концентрации белка около 4%. При дальнейшем возрастании концентрации белка ширина линии увеличивается в соответствии с классической теорией Стокса—Дебая—Эйнштейна [8].

Как было показано выше, по формуле (7) уменьшение концентрации белка в растворе должно приводить к увеличению времени корреляции τ_r в так называемой области аномальной диффузии. Как видно из рис. 3, аномальная диффузия для альбумина возникает при концентрациях белка, меньших 4%. Отметим, что увеличение времени вращательной корреляции при малых концентрациях белка связано с сильным межмолекулярным электростатическим взаимодействием. Последнее подтверждается также в эксперименте, когда ионная

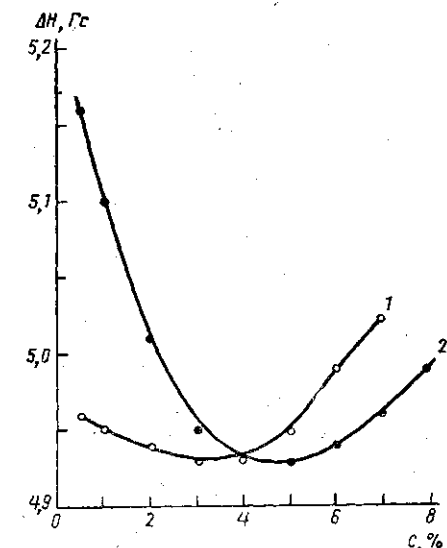


Рис. 3. Зависимость ширины центральной линии спектра ЭПР раствора альбумина в воде от его концентрации и ионной силы: $\mu=0,01$ (1) и 0,2 моль/л (2)

сила раствора увеличивалась до 0,2 моль/л. При этом компенсация поверхностного заряда белка противоионами соли приводит к выключению сильного электростатического взаимодействия между макроионами и практической независимости ширины центральной линии ЭПР от концентрации белка в области аномальной диффузии.

Выводы

Показано, что ширина центральной линии спектра ЭПР раствора альбумина с иминоксильным радикалом $I_{1,14}$ линейно возрастает с ростом вязкости раствора в диапазоне от 0,5 до 1,5 сП. При этом ширина линии изменяется от 4,9 до 5,5 Гс. Такое малое изменение ширины линии потребовало разработки методики точных измерений.

Обнаружено увеличение ширины центральной линии в области малых концентраций белка (от 0,5% до 3%). Последнее можно объяснить механизмом аномальной диффузии, когда энергия электростатических взаимодействий заряженных белковых макроионов оказывается сравнимой с тепловой энергией броуновского движения.

Выключение электростатического взаимодействия при повышении ионной силы раствора (при добавлении соли NaCl) привело к практической независимости ширины линии от концентрации белка в области малых его концентраций.

Рассчитанные по теории Мак-Коннелла времена вращательной корреляции для раствора альбумина с концентрацией 4% дают значения $\tau_r \approx 20$ нс, что близко к величинам, полученным другими методами радиоспектроскопии (ЯМР, диэлектрической релаксации).

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрова Г. П., Петрусевич Ю. М.//Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1994. 35, № 3. С. 45.
2. Бриллиантов Н. В., Квяткевич А. И., Петрусевич Ю. М., Ревокатов О. П.//ДАН. 1989. 304, № 2. С. 340.
3. Петрусевич Ю. М., Берловская Е. Е.//Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1994. 35, № 5. С. 56.
4. Stone T. J., Buckman T., Nordio P. L., McConnell H. M.//Proc. Nath. Acad. Sci. (U. S.) 1965. 54. P. 1010.
5. Метод спиновых меток. Теория и применение/Под ред. Л. Берлинера. М., 1979.
6. Справочник физико-химических величин. М., 1986.
7. Петрусевич Ю. М. Взаимодействие биополимеров в растворе и их молекулярная подвижность: Автореф. дис. ... д-ра физ.-мат. наук. М. (МГУ), 1992.
8. Hubbard J. B., Wolynetz P. G.//J. Chem. Phys. 1978. 69, N 3. P. 998.

Поступила в редакцию
10.03.95

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1995. Т. 36, № 6

УДК 541.121/123.2

РАВНОВЕСИЕ ЖИДКОСТЬ — ЖИДКОСТЬ В МИКРОЭМУЛЬСИОННОЙ СИСТЕМЕ ВОДА/АЭРОЗОЛЬ ОТ/ДЕКАН

С. В. Казаков, Н. И. Чернова, Е. В. Яблонская

(кафедра молекулярной физики и физических измерений;
кафедра физики низких температур)

Фазовая диаграмма псевдобинарной смеси «растворитель/капли» для тройной микроэмульсионной системы вода/аэрозоль ОТ/*n*-декан получена при значении мольного отношения воды и сурфактанта $\Omega=35,6$. Обнаружено, что кривая сосуществования (КС) имеет типичный для бинарных смесей вид несимметричной кривой расслаивания с нижней критической точкой. Показано, что асимметрия КС обусловлена самоорганизацией молекул компонентов, а форма симметризованной КС удовлетворительно описывается уравнением простого скейлинга, параметры которого подтверждают принадлежность микроэмульсии к классу универсальности изингоподобных систем.

В последнее десятилетие возрос интерес исследователей к физике растворов амфифильных молекул, в частности к физике микроэмульсий и мицеллярных растворов [1—3]. Обозначились новые перспективные области применения растворов сурфактантов. Внимание к таким системам связано с биофизическими приложениями. В настоящее время интенсивно исследуются процессы самосборки различных биологических структур [4, 5]. В литературе также широко обсуждаются вопросы об активности ферментов [6] и структурно-динамических свойствах белков в микроэмульсионных каплях [7], о различных структурных свойствах внутрикапельной и объемной воды [8, 9].

Микроэмульсионные системы образуют сложные фазовые диаграммы (ФД) [10]. Многообразие изотропных и анизотропных (в том числе жидкокристаллических) фаз, их свойства в конечном счете определяют области применения микроэмульсий. Свойства систем, в которых наблюдается надмолекулярная самоорганизация, определяются положением их состояния на ФД, его удаленностью от критических точек расслаивания.

Микроэмульсионные системы, обнаруживающие фазовое расслоение, могут быть описаны с точки зрения гипотезы универсальности [3, 11, 12]. К ним применимы подходы, развитые в теории критических явлений чистых жидкостей и бинарных растворов. Кривая равновесия