

УДК 678.01 : 53

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ  
РАСТВОРОВ СТЕРЖНЕВИДНЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ ДЛИН И ПОЛИДИСПЕРСНОСТИ**

*Ж. Маршаль, Е. Маршаль*

Нами предложен метод определения размеров и кривой распределения по коэффициентам полимеризации полярных палочкообразных макромолекул по диэлектрическому поглощению, наблюдаемому в их растворах при наложении электрического поля, частота которого обусловливает вращение макромолекул около некоторой поперечной оси. Как будет видно, этот, в принципе, общий метод основан на использовании распределения времен релаксации  $\tau$  палочек, рассчитываемого по спектру диэлектрического поглощения. Таким образом, он обладает тем преимуществом, что позволяет обходиться без каких бы то ни было предварительных гипотез о распределении  $\tau$ , связанных с включением в расчеты произвольной априорной формы этого распределения.

Здесь мы рассмотрим простейшую теоретическую интерпретацию метода, ограничившись случаем разбавленных растворов полимеров (концентрация  $\ll 1\%$ ) с непрерывным и узким распределением степеней полимеризации ( $M_w/M_n \leq 1,25$ ). Предполагается также, что коэффициенты полимеризации достаточно велики, так что степень вытянутости (осевое отношение) палочек достаточна для того, чтобы можно было воспользоваться наиболее простым математическим выражением молекулярных параметров при расчетах. Эти условия очень часто реализуются в случаях, например, полимеров биологического происхождения или синтетических полипептидов, полученных анионной полимеризацией, которая является в настоящее время важным источником макромолекул, могущих приобрести в растворе конформацию жестких палочек [1—6]. К этому следует добавить, что приводимый ниже расчет можно видоизменить и для более сложных случаев.

#### Расчет

Напомним, что когда диэлектрические потери связаны с вращением одинаковых палочек в достаточно разбавленном растворе, изменение диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  в функции от частоты электрического поля выражается формулой:

$$\Delta\epsilon' = \epsilon' - \epsilon_\infty = \frac{\epsilon_0 - \epsilon_\infty}{1 - \omega^2\tau^2} = \frac{\Delta\epsilon_0}{1 + \omega^2\tau^2},$$

где  $\Delta\epsilon_0$  и  $\tau$  определяются следующим образом:

$$\Delta\epsilon_0 = \frac{4\pi}{3} \cdot N \cdot \frac{d_s}{M} \cdot w \cdot \frac{\mu^2}{3kT} \cdot \frac{(\epsilon_s + 2)^2}{3} = \text{const} \frac{w\mu^2}{M}.$$

Здесь  $w$  — весовая доля растворенного вещества с молекулярным весом  $M$ ;  $d_s$  — плотность растворителя при  $T^\circ \text{ К}$ ;  $\mu$  — дипольный момент стержневидной частицы;  $N$  — число Авогадро.

$$\tau = \frac{\pi \eta_s}{6kT} \cdot \frac{l^3}{(\ln 2p - 0,8)}$$

(согласно Бюргерсу) [7]. Здесь  $l$  — длина палочки;  $p$  — степень вытянутости (осевое отношение);  $\eta_s$  — вязкость растворителя при  $T^\circ \text{ К}$ .

Обобщение выражения для  $\Delta\epsilon'$  на случай диэлектрических потерь в растворах тем более просто, что коэффициент полимеризации  $n$  этих палочкообразных макромолекул достаточно высок для того, чтобы  $M$  и  $\mu$  были ему пропорциональны и, с другой стороны, изменялись в настолько узких пределах, что  $\tau$  оказывается практически пропорциональным  $n^3$ . Следовательно, написав

$$\left. \begin{aligned} M &= m_0 n, \\ l &= l_0 n, \\ \mu &= \mu_0 n, \end{aligned} \right\} \text{и } \tau = Bn^3,$$

получим

$$\Delta\epsilon' = A \sum_{n=1}^{\infty} w(n) \cdot n \frac{1}{1 + \omega^2 B^2 n^6},$$

где  $w(n)$  — весовая доля растворенного вещества с коэффициентом полимеризации  $n$ .

Если теперь охарактеризовать полидисперсность образца непрерывной численной функцией распределения  $f(n)$  ( $f(n)dn$  — число макромолекул, коэффициент полимеризации которых заключается между  $n$  и  $(n + dn)$ , то выражения для  $w(n)$  и  $\Delta\epsilon'$  примут вид:

$$w(n) = \frac{\int_0^{\infty} n f(n) dn}{\int_0^{\infty} f(n) dn}, \quad \Delta\epsilon' = \frac{Aw \int_0^{\infty} \frac{n^2 f(n) dn}{1 + \omega^2 B^2 n^6}}{\int_0^{\infty} n f(n) dn}.$$

Взяв отношение  $\Delta\epsilon'/\Delta\epsilon_0$ , мы исключим величины  $A$  и  $w$  и получим следующее выражение, которое будет использовано в дальнейшем:

$$\frac{\Delta\epsilon'}{\Delta\epsilon_0} = \int_0^{\infty} \frac{n^2 f(n) dn}{1 + \omega^2 B^2 n^6} / \int_0^{\infty} n^2 f(n) dn.$$

Покажем теперь, что функция  $f(n)$  может быть легко определена из опыта. Для этого положим

$$n/n_0 = x,$$

где  $n_0$  — произвольное число, и введем в выражение для  $\Delta\epsilon'/\Delta\epsilon_0$  функцию  $\psi(x)$ , определяемую из условия

$$\psi(x) dx = f(n) dn.$$

Введем далее средний квадрат параметра  $x$

$$\langle x^2 \rangle = \int_0^{\infty} x^2 \psi(x) dx$$

в выражение для  $\Delta\epsilon'/\Delta\epsilon_0$ ; получим

$$\frac{\Delta\epsilon'}{\Delta\epsilon_0} = \frac{1}{\langle x^2 \rangle} \int_0^\infty \frac{x^2 \psi(x) dx}{1 + \omega^2 K x^6},$$

где  $K = B^2 n_0^6$ .

Умножая обе части этого отношения на  $\omega^{2/3}$ , чтобы получить функцию

$$\varphi(s) = \frac{\Delta\epsilon'}{\Delta\epsilon_0} \omega^{2/3},$$

исчезающую при  $\omega \rightarrow 0$  и при  $\omega \rightarrow \infty$ , и, производя новую замену переменных,

$$\omega = e^{s/2} \text{ и } x = e^{t/6},$$

получим новое выражение для  $\varphi(s)$  в классической форме:

$$\varphi(s) = \frac{1}{\langle x^2 \rangle} \int_{-\infty}^{+\infty} g(t) h(s-t) dt,$$

где  $g(t) = \frac{1}{6} e^{-t/6} \psi(e)^{-t/6}$  — функция, подлежащая определению, а

$$h(s-t) = \frac{e^{(s-t)/3}}{1 + K e^{s-t}}.$$

Воспользовавшись преобразованием Фурье  $\Phi(r), G(r), H(r)$  соответственно для  $\varphi(s), g(t)$  и  $h(s)$ , получим [8]:

$$\Phi(r) = \frac{1}{\langle x^2 \rangle} G(r) H(r).$$

С помощью нового преобразования Фурье для отношения  $\Phi(r)/H(r)$  окончательно получится  $g(t)$  и в результате  $\psi(x)$ .

Зная  $\psi(x)$ , можно охарактеризовать полидисперсность исследуемого образца полимера, вычислив графическим интегрированием отношение:

$$\frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} = \frac{\bar{x}_w}{\bar{x}_n},$$

т. е. средневесового  $\bar{M}_w$  и среднечисленного молекулярного веса  $\bar{M}_n$ , определяемых стандартными выражениями

$$\bar{M}_w = \frac{m_0 \int_0^\infty n^2 f(n) dn}{\int_0^\infty n f(n) dn}, \quad \bar{M}_n = \frac{m_0 \int_0^\infty n f(n) dn}{\int_0^\infty f(n) dn}.$$

Однако, зная  $\psi(x)$ , мы можем также получить и кривую распределения коэффициентов полимеризации (или длин палочек)  $f(n)*$ , если предварительно вычислить значение  $n_0$ , зависящие от произвольно приданного  $K$  значения, для того чтобы построить кривую  $h(s-t)$ . Это значение можно получить, если известно значение  $\bar{M}_w$  из отношения:

$$n_0 = \frac{\bar{n}_w}{\bar{x}_w} = \frac{\bar{M}_w}{m_0 \bar{x}_w},$$

используя при этом значение  $\bar{x}_w$ , вычисленное посредством графического интегрирования.

\* Отметим, что подобным же способом можно рассчитать весовую функцию распределения при помощи функции  $\varphi(s) = (\Delta\epsilon'/\Delta\epsilon_0)\omega^{2/3}$ .

Рассмотрим для дальнейших расчетов выражение для  $K$ :

$$K = B^2 n^6 \left[ \frac{\pi \eta_s l_0^3 n_0^3}{6kT (\ln 2p - 0,8)} \right]^2.$$

Как видно, вводя в это выражение среднее значение осевого отношения  $p$  цилиндрических частиц, из которых состоит образец полимера, можно определить значение  $l_0$  доли, вносимой каждым мономерным звеном в длину палочки. Величина  $p$  непосредственно получается из экспериментального значения характеристической вязкости  $[\eta]$  в данном растворителе в соответствии с формулой Симха [9] и Садрона [10]:

$$[\eta] = \frac{v}{M} \Lambda (p),$$

где инкремент вязкости

$$\Lambda (p) = \frac{14}{15} + \frac{p^2}{15 (\ln 2p - 1,8)} + \frac{p^2}{5 (\ln (2p - 0,8))},$$

а  $v$  — гидродинамический объем молекул в растворе.

Известно, что определение  $l_0$  представляет большой интерес, так как эта величина непосредственно определяется конфигурацией макромолекул, например спиральной конфигурацией в случае полипептидов.

#### Приложение к исследованию полидисперсности и морфологии полипептидов, имеющих в растворе стержневидную конфигурацию

Предлагаемый метод непосредственно применим в описанной выше простой форме для исследования неэлектролитических полипептидов в органических растворителях. Мы исследуем в настоящее время поли- $\gamma$ -бензил- $L$ -глутамат и поли- $D,L$ -фенилаланин в хлороформе, в котором оба эти полипептида хорошо растворимы при добавке  $\sim 0,5\%$  формамида, разрушающего агрегаты. Гидродинамические свойства палочкообразных молекул поли- $\gamma$ -бензил- $L$ -глутамата в этом растворителе были продемонстрированы Доти с сотрудниками [6], изучавшими изменение его характеристической вязкости в функции от молекулярного веса. Аналогичное исследование было проведено с поли- $D,L$ -фенилаланином в нашей лаборатории [5].

Мы показали [1, 2], что поведение палочкообразных молекул обоих этих полипептидов в хлороформе должно быть ответственным за существование полосы диэлектрического поглощения в изучавшихся растворах в диапазоне частот ниже нескольких мегагерц.

Пытаясь интерпретировать экспериментальные результаты, выявляющие у всех исследованных образцов полидисперсность времен релаксации, мы прежде всего приняли, что полидисперсность слишком мала, чтобы оказывать заметное влияние на диэлектрические потери [2—4]. Поэтому мы предположили, что, помимо основного явления, обусловленного одним лишь временем релаксации, т. е. вращением палочек вокруг поперечной оси, существует и некоторый вторичный эффект. Он связан с деформациями или неправильностями (нарушениями жесткости) в спиральной структуре макромолекул, нарушающими осевую симметрию и проявляющимися в возможности вращения макромолекул и относительно большой оси. Уже этой предварительной интерпретации спектра диэлектрического поглощения оказалось достаточно, чтобы показать, что спиральные структуры двух исследованных полипептидов соответствуют двум различным моделям [3, 4]. Однако систематические измерения, проведенные на большом числе образцов, показали, что такой анализ не является удов-

петворительным, так как спектры диэлектрического поглощения на самом деле весьма чувствительны к полидисперсности  $\tau$ .

Из этого следовало, что мы недооценили влияние полидисперсности, преувеличив значение возможных дефектов структуры макромолекулярных спиралей. Поэтому вклады  $l_0$  мономерных звеньев обоих полипептидов, вносимые в длину стержневидных молекул, имеют при подобном методе оценки лишь ориентировочное значение [2—4].

Мы пересмотрели затем все наши экспериментальные результаты в соответствии с методом, изложенным в настоящей статье. (Заметим, что мы получили кривые распределения  $\psi(x)$ , произведя преобразования Фурье по методу Бекерса и Липсона [11]; результаты оказались удовлетворительными, и применение электронной счетной машины не представлялось необходимым.) Мы сравнили значения отношений  $\bar{M}_w / M_n$ , характеризующих полидисперсность образцов, полученные при помощи данного метода, с результатами измерений коэффициента диффузии, техника которых хорошо известна. Полученное вполне удовлетворительное согласие привело нас к заключению, что, вопреки нашим первоначальным предположениям, дефекты структуры спиралей в действительности играют лишь ничтожную роль. Из этого следует, что форма спиральных кривых диэлектрического поглощения чрезвычайно чувствительна даже к незначительной полидисперсности образца.

Значения отношений  $\bar{M}_w / M_n$  в наших опытах чаще всего оказываются между 1,05 и 1,1. Максимальное значение 1,20 наблюдалось у одного из образцов поли-DL-фенилаланина с  $M_w = 81\,000$ .

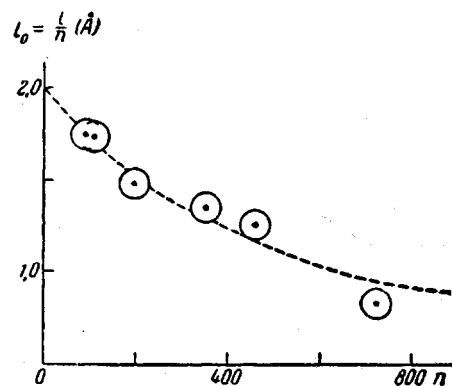
Эти результаты показывают, что предлагаемый метод можно использовать для определения с высокой степенью точности молекулярно-весовых распределений умеренно полидисперсных синтетических полипептидов.

К сожалению, пока еще было бы преждевременным приводить конкретные результаты оценок основного параметра  $l_0$ , ибо для этого необходимо более точное определение молекулярного веса наших образцов. В этих целях в настоящее время проводятся дополнительные исследования седиментации в ультрацентрифуге и броуновской диффузии обоих полипептидов.

### Дополнение

После того, как настоящая работа была сдана в печать, описанный выше метод был приложен к исследованиям образцов поли- $\gamma$ -бензил-L-глутамата с молекулярными весами от 20 000 до 170 000. Опыты были проведены в хлороформе с добавкой 0,5% формамида для разрушения агрегатов в диапазоне весовых концентраций  $w$  от  $3 \cdot 10^{-4}$  до  $12 \cdot 10^{-4}$ , где можно пренебречь взаимодействиями макромолекул.

Было установлено, что вклад  $l_0 = l/n$  одной мономерной единицы в длину спиральной макромолекулы систематически возрастает с уменьшением коэффициента полимеризации  $n$ . Этот вклад стремится к некоторому пределу порядка 2 Å, что хорошо видно из рисунка.



Зависимость  $l_0 = l/n$  от коэффициента полимеризации  $n$

Эта переменность величины  $l_0$  означает, что спиральные макромолекулы поли- $\gamma$ -бензил-L-глутамата не могут рассматриваться как абсолютно жесткие палочки, потому что в этом случае величина  $l_0$  должна была бы сохранять постоянство для любой заданной спиральной модели. Поскольку эффект гибкости уменьшается с уменьшением коэффициента полимеризации, истинное значение  $l_0$  в рассматриваемом растворителе представляет собой предельную величину, близкую к 2 Å, а не к 1,5 Å, как обычно принимается в литературе. В действительности существует модель полипептидной спирали, спираль 3<sub>10</sub> в обозначениях Брэгга [12–13], согласующаяся с этим результатом.

Наконец, мы охарактеризовали степень гибкости макромолекул, расчитав, на основе модели «червеобразной» цепи Порода [14], персистентную длину порядка 200 Å.

Заметим в заключение, что в настоящее время ведутся работы по аналогичному исследованию поли- $\alpha$ -фенилаланина.

### Выводы

1. Предложен метод определения размеров и распределения размеров полярных стержневидных макромолекул по диэлектрическому поглощению, наблюдаемому в их растворах при наложении электрического поля, вызывающего вращение молекул относительно поперечной оси. Метод применен к специальному классу полипептидов, полученных полимеризацией ангидридов Лейкса и обладающих узким молекулярно-весовым распределением ( $M_w / M_n \leq 1,25$ ).

2. Учет полидисперсности выявляет некоторые аномалии диэлектрического поведения поли- $\gamma$ -бензил-L-глутамата, которые не могут быть объяснены в предположении, что молекулы этого полипептида являются жесткими идеальными моно- $\alpha$ -спиралями. Экстраполяция гидродинамической длины макромолекул к коэффициенту полимеризации, равному 1, дает значение линейного вклада мономерного звена (в длину  $\alpha$ -спирали) 2 Å, вместо 1,5 Å, согласно теории. На этом основании делается заключение, что, во всяком случае в исследованном растворителе — хлороформе, молекулы имеют конформацию 3<sub>1</sub> — спирали (с тремя мономерными звеньями на один виток), причем эта спираль характеризуется конечной гибкостью, которой соответствует персистентная длина порядка 200 Å.

Центр исследований макромолекул  
Страсбург, Франция

Поступила в редакцию  
16 IX 1963

### ЛИТЕРАТУРА

1. J. Marchal, Ch. Lapp, G. Spack, Arch. Sci., 11, 97, 1958 (fasc. spec.: Colloque Ampere, Paris).
2. E. Marchal, J. Marchal, Comp. rend., 248, 100, 1958.
3. E. Marchal, J. Marchal, Arch. sci., 12, 24, 1959 (fasc. spec.: Colloque Ampere, Londres).
4. E. Marchal, J. Marchal, Comp. rend., 250, 2197, 1960.
5. Ch. Lapp, J. Marchal, Comp. rend., 247, 86, 1958; 248, 2351, 1959.
6. P. Doty, A. M. Holtzer, J. H. Bradbury, E. R. Blout, J. Amer. Chem. Soc., 76, 4493, 1954; P. Doty, J. H. Bradbury, A. M. Holtzer, J. Amer. Chem. Soc., 78, 947, 1956.
7. J. M. Burgers, Verh. d Kon. Nederl. Akad. v. Wetensch., Afd. Naturk. (Eerste Seerie), D, 16, № 4, 111, z. 15, 1938.
8. P. M. Morse, G. Feshbach, Methods of Theoretical Physics, N. Y., McGraw Hill, 1953, 465.
9. R. Simha, J. Phys. Chem., 44, 25, 1940.
10. J. J. Hermans, Flow Properties of Disperse Systems, 1938, 178.
11. C. A. Beckers, H. Lipson, Acta crystall. 5, 673, 1952.
12. Bragg W. L., Kendrew J. C., Perutz M. F., Proc. Roy. Soc., A203, 321, 1950.
13. J. Donohue, Proc. Nat. Acad. Sci., 39, 470, 1953.
14. G. Porod, Monatsh. 80, 251, 1949.

**UTILIZATION OF THE DIELECTRIC PROPERTIES OF SOLUTIONS  
OF ROD-LIKE MACROMOLECULES FOR THE DETERMINATION OF  
THEIR LENGTH AND POLYDISPERSITY**

*J. Marchal, E. Marchal*

**S u m m a r y**

A method has been proposed for determining the sizes and size distributions of polar rod-like macromolecules on the basis of the dielectric absorption observed in their solutions on applying an electric field that causes the molecules to rotate about their transverse axis. The method has been applied to a special class of polypeptides, prepared by polymerization of leucine anhydrides and possessing a narrow molecular weight distribution ( $M_w/M_n \leq 1.25$ ). On accounting for the polydispersity, certain anomalies have been revealed in the dielectric behavior of poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamate, which can not be explained by the assumption that molecules of this polypeptide are ideal rigid mono- $\alpha$ -helices. Extrapolation of the hydrodynamic lengths of the macromolecules to the degree of polymerization = 1 gives for the linear contribution of the monomer unit (to the length of the  $\alpha$ -helix) a value of 2 instead of 1.5 Å as required by theory. On this basis it has been concluded that in any case in the given solvent (chloroform) the molecules possess the conformation of a 3-helix (three monomer units per turn). The helix is characterized by finite flexibility, corresponding to a persistent length of the order of 200 Å.