〔22〕 高分子電解質の電気泳動

第4報 電気易動度の不均一性の推定について

(1958年8月1日受理)

細野正夫*

要 旨 電気易動度および拡散係数に関し不均一系の電気泳動図から能率法により(それらの因子に濃度依存性がないものとして)その分配函数を同時に推定する方法を導いた。

1. 結 言

電気泳動実験において観察される泳動図形はイオンの電気易動度、拡散係数などの濃度依存性および不均一性により影響される。試料が均一でその電気易動度に濃度依存性がない場合には、図形は拡散にのみ支配されるが、電気易動度に濃度依存性があるときにはそのために図形はゆがめられ、またその寄与のしかたに応じて上昇界面または下降界面は泳動時間の経過とともに一方はより鋭く、他方はより平坦な図形となる。電気易動度の濃度依存性のために泳動図形がより尖鋭となることは一種の分離効果を意味し、拡散による混合の効果に対し逆の現象である。Longsworth¹⁾は適当な強さの電場において、これらの効果がつり合い、その図形は泳動時間に対し不変となり定常状態に達することを実験的に示し、また拡散と泳動に関する連続の式からそれを定量的に解析しうることを示した。この図形は濃度、拡散係数、電気易動度およびその濃度依存性によって定まる。したがってこれらの因子に関し不均一な系の図形は当然、均一な系について得られるものとは異なる。拡散と泳動に関する連続の式の一般解法が困難であるとすれば、実験的に実現可能な条件下での解により、それを追求することに期待がかけられても良いであろう。Hoch²⁾はこの現象を利用してタンパクの均一性に関する知見を得ようとした。しかし Longsworth も指摘しているようにその図形があとの解析に耐えうるような普通の実験条件(副次的に起る現象の影響が無視できるような実験条件)で定常状態となることはまれのようなものである。また試料が連続的に不均一である場合には、各々の成分が定常状態に達していることを判定するのは実際問題として困難である。したがってこの方法は試料の均一性を検討することには利用できても、不均一性を定量する方法としては妥当であるとはいえないであろう。

添加塩濃度を高くし、高分子電解質の濃度を低くすると高分子イオン間相互作用が小さくなり、その電気易動

度の濃度依存性は小さくなるだろう。したがってその原因による泳動図形の変形は、拡散や電気易動度の不均一性によって生じる変形に比して無視できるようになるだろう。試料が均一の場合にはその図形は(その電気易動度に対応した泳動速度で移動する座標系で考えて)普通の拡散の式で解析できるようになる。またこの場合には高分子イオン間相互作用が小さいのであるから、不均一試料の泳動図形はそれぞれの成分に対応する図形が重畳(算術和)されたものであるとすることが許されよう。Alberty³⁾はこの考えに従って、拡散係数の不均一性の影響が無視でき、かつ電気易動度分布が Gauss 分布に従うような場合の泳動図形の式を導いて、その分布を性格づけているパラメーターである標準偏差の比較からタンパクの不均一性の推定を試みた。しかし彼の取扱では電気易動度分布は Gauss 分布に限られており一般的でない。また拡散係数の不均一性の問題についても明らかでない。

本報告の目的は、高分子イオン間相互作用が小さくて拡散係数や電気易動度の濃度依存性の影響が不均一性の影響に比して無視できるような実験条件下で得られた泳動図形の能率と試料の拡散係数、電気易動度についての能率との一般的関係を誘導し、さらに能率法による分配函数の推定の問題に結びつけることにより、Albertyの研究において果されえなかった一般的取扱を試みるにある。そこでは Alberty の得た結果が著者らの取扱のどの部分に対応したものであるかが明らかにされるであろう。また拡散係数および電気易動度が特定の分配函数を持つとき実験において得られると推定される泳動図形の形および能率の問題についても言及されるであろう。

2. 拡散および電気泳動の連続の式

Longsworth¹⁾、Hoch²⁾ によれば拡散および電気泳動の連続の式は次式で与えられる。

$$\frac{\partial C}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial \xi} \left\{ D \frac{\partial C}{\partial \xi} - K V_0 (C^0 C - C^2) \right\} \quad (1)$$

$$V = V_0(1 + KC)$$

* 京都大学化学研究所(大阪府高槻市古曾部)

$\xi: V_0(1+KC_0)$ なる速度で移動する座標系で考えた距離, $C: \xi$ における濃度, C_0 : 初濃度, V : 濃度 C における泳動速度, K : 電気易動度または泳動速度の濃度依存係数, $V_0: KC \ll 1$ となったときの泳動速度, D : 拡散係数, t : 時間

ここでは簡単のため電気易動度の濃度依存性は1次式で表わしうと考えた。(1)式から明らかなように K の正負により上昇界面側または下降界面側でその相対的流量 J が

$$J = D \frac{\partial C}{\partial \xi} - KV_0(C_0C - C^2) = 0 \quad (2)$$

となるような場合が生じることがわかる。さて(1)式で $K=0$ とするとわかるように電気易動度の濃度依存性が無視できる場合には(1)式は

$$\frac{\partial C}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial \xi} \left(D \frac{\partial C}{\partial \xi} \right) \quad (3)$$

となりよく知られた拡散の式となる。初めに界面を形成した位置を原点とし、その座標を x とすると $x = \xi + uEt_E$ である。ここに u : 電気易動度, E : 電場の

強さ, t_E : 泳動時間である。界面を形成してから Δt 時間拡散させたのち泳動させたものとし $t_D = t_E + \Delta t$ とすれば(3)式の解は屈折率(n)変化に換算して

$$\frac{\partial n}{\partial x} = \frac{m_0}{2\sqrt{\pi Dt_D}} \exp \{ -(x - uEt_E)^2 / 4Dt_D \} \quad (4)$$

となる。ここに m_0 は図形の面積である。(4)式は高分子イオン間相互作用が小さくて、拡散係数および電気易動度の濃度依存性が無視できるような実験条件下での電気泳動において、濃度勾配を屈折率勾配に変換して得られる均一試料の泳動図形を与える式である。

3. 混合物の泳動図形の能率と試料の拡散係数および電気易動度の能率の關係

均一試料の泳動図形(その高さを $\partial n / \partial x = y$ として)の最初の界面の位置を原点とし原点の回りの n 次の能率を

$${}_{ij}m_n = \int_{-\infty}^{\infty} x^n y_{ij} dx \quad n \geq 0 \quad (5)$$

で定義する。この試料の拡散係数を D_i , 電気易動度を u_j とする。(4)式を(5)式に代入して

$$\begin{aligned} {}_{ij}m_n &= \frac{{}_{ij}m_0}{2\sqrt{\pi D_i t_D}} \int_{-\infty}^{\infty} x^n \exp \{ -(x - u_j E t_E)^2 / 4D_i t_D \} dx \\ &= \frac{{}_{ij}m_0}{\sqrt{\pi}} \left(2\sqrt{D_i t_D} \right)^n \int_{-\infty}^{\infty} \left(z + \frac{u_j E t_E}{2\sqrt{D_i t_D}} \right)^n \exp(-z^2) dz, \quad \left(z = \frac{x - u_j E t_E}{2\sqrt{D_i t_D}} \right) \\ &= \frac{{}_{ij}m_0}{\sqrt{\pi}} \left(2\sqrt{D_i t_D} \right)^n \times \left\{ \begin{array}{ll} \sum_{r=0}^p {}_{2p}C_{2r} \bar{m}_{2r} \left(\frac{u_j E t_E}{2\sqrt{D_i t_D}} \right)^{2(p-r)}, & n = 2p \\ \sum_{r=0}^p {}_{2p+1}C_{2r+1} \bar{m}_{2r} \left(\frac{u_j E t_E}{2\sqrt{D_i t_D}} \right)^{2(p-r)+1}, & n = 2p+1 \end{array} \right\} \quad (6) \end{aligned}$$

$$\bar{m}_n = \int_{-\infty}^{\infty} z^n e^{-z^2} dz = \begin{cases} \Gamma\left(\frac{n+1}{2}\right) & n: \text{偶数} (n=0 \text{ を含む}) \\ 0 & n: \text{奇数} \end{cases}$$

となる。(6)式から

$$\left. \begin{aligned} {}_{ij}m_1 &= {}_{ij}m_0 \{ u_j E t_E \} \\ {}_{ij}m_2 &= {}_{ij}m_0 \{ 2D_i t_D + u_j^2 E^2 t_E^2 \} \\ {}_{ij}m_3 &= {}_{ij}m_0 \{ 6D_i t_D \cdot u_j E t_E + u_j^3 E^3 t_E^3 \} \\ {}_{ij}m_4 &= {}_{ij}m_0 \{ 12D_i^2 t_D^2 + 12D_i t_D \cdot u_j^2 E^2 t_E^2 + u_j^4 E^4 t_E^4 \} \\ &\dots \dots \dots \text{etc} \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

✓ が得られる。(a)混合物の泳動図形は高分子イオン間相互作用が小さくて、成分による図形の重畳によって表わすことができる。また(b)各成分の濃度、屈折

率の關係における比例定数(k)は同一であるとする。拡散係数が D_i 電気易動度が u_j である成分の濃度(分率)を C_{ij} とすれば

$$\int y_{ij} dx = {}_{ij}m_0 = k C_{ij}$$

であるから、混合物の泳動図形の面積、 n 次の能率を ${}_{mix}m_0, {}_{mix}m_n$ とすれば

$$\left. \begin{aligned} {}_{mix}m_0 &= \int y_{mix} dx = \int \sum_i \sum_j y_{ij} dx \\ &= \sum_i \sum_j \int y_{ij} dx = \sum_i \sum_j {}_{ij}m_0 = k \sum_i \sum_j C_{ij} \\ {}_{mix}m_n &= \int x^n y_{mix} dx \\ &= \sum_i \sum_j \int x^n y_{ij} dx = \sum_i \sum_j {}_{ij}m_n \end{aligned} \right\} (8)$$

となる。 y_{mix} は混合物の泳動図形の高さである。(c) 混合物を拡散係数という因子でみたときの分配関数を $f(D, d, D)$ 電気易動度という因子でみたときの分配関数を $g(u, du)$ とすると

$$\left. \begin{aligned} \sum_i \sum_j C_{ij} &= \iint f(D) g(u) dD du \\ \sum_i \sum_j C_{ij} \phi(u, D) &= \iint f(D) g(u) \phi(u, D) dD du \end{aligned} \right\} (9)$$

である。したがって、たとえば $\phi = Du$ とすると

$$\frac{\sum_i \sum_j C_{ij} D_i u_j}{\sum_i \sum_j C_{ij}} = \frac{\iint f(D) g(u) D \cdot u \cdot dD du}{\iint f(D) g(u) dD du} = \frac{\int D f(D) dD}{\int f(D) dD} \frac{\int u g(u) du}{\int g(u) du} \quad (10)$$

となる。

$$\begin{aligned} {}_{mix}D_n^n &= \frac{\sum C_i D_i^n}{\sum C_i} = \frac{\int D^n f(D) dD}{\int f(D) dD} \\ {}_{mix}u_n^n &= \frac{\sum C_j u_j^n}{\sum C_j} = \frac{\int u^n g(u) du}{\int g(u) du} \end{aligned}$$

とし、(8)、(9)、(10)式を参照して(7)式から

$$\left. \begin{aligned} {}_{mix}m_1/{}_{mix}m_0 &= Et_L {}_{mix}u_1 \\ {}_{mix}m_2/{}_{mix}m_0 &= 2t_D {}_{mix}D_1 + E^2 t_E^2 {}_{mix}u_2^2 \\ {}_{mix}m_3/{}_{mix}m_0 &= 6t_D {}_{mix}D_1 \cdot Et_E {}_{mix}u_1 \\ &\quad + E^3 t_E^3 {}_{mix}u_3^3 \\ {}_{mix}m_4/{}_{mix}m_0 &= 12t_D^2 {}_{mix}D_2^2 \\ &\quad + 12t_D {}_{mix}D_1 \cdot E^2 t_E^2 {}_{mix}u_2^2 + E^4 t_E^4 {}_{mix}u_4^4 \\ &\quad \dots \text{etc} \end{aligned} \right\} (11)$$

が得られる。(11)式は混合物の泳動図形の能率と試料の拡散係数および電気易動度の分配関数に関する能率との関係を与える。 ${}_{mix}D, {}_{mix}u$ を実験から求めるには、たとえば $({}_{mix}m_1/{}_{mix}m_0) - t_E, ({}_{mix}m_2/{}_{mix}m_0)/t_D - t_E^2/t_D$ などの直線関係を利用すればよい。 ${}_{mix}D, {}_{mix}u$ が混合物の泳動図形の解析から同時に求めうることがわかった。

4. 能率法によって分配関数を推定する方法

試料の不均一性を知るという目的に対しては分配関数

を完全に知るということは必ずしも必要なことではない。適当に選ばれたいくつかの能率の間の関係で、その目的を達することが多い。その意味では本報告の主たる目的は3節に述べられた事柄によって果されているといえよう。しかし十全を期する意味で分配関数に関する能率からもとの分配関数を推定する方法について一言しておく。分配関数 $f(x)$ を

$$f(x) = \sum_{n=0}^{\infty} a_n \phi_n(x) \quad (12)$$

なる形に展開したとき $\phi_n(x)$ が次のような性質をもつものであったとする。(a) $\phi_n(x)$ はある定められた算法を n 回操作することを意味し $\phi_n(x) = \phi_n(x) \phi_0(x)$ ($\phi_0(x)$ はある定まった函数)なる形に変形できる。(b) $\phi_n(x)$ は x の n 次の多項式である。(c) $\int_a^b \phi_m(x) \phi_n(x) \phi_0(x) dx = \delta_{mn} A_n$ (a, b : 考えている分函数の下限および上限, A_n : x に無関係なある定数)としたとき $m=n$ で $\delta_{mn}=1$, $m \neq n$ で $\delta_{mn}=0$ なる直交性がある。これから

$$a_n = \int_a^b \phi_n(x) f(x) dx / A_n \quad (13)$$

が得られる。 $\phi_n(x)$ は x の n 次の多項式であるから(13)式の分子は n 次までの能率の和で表現できる。これを(12)式でいえば能率から分配関数がわかったことになる。上の3条件を満足し、かつ著者らに与えられている視野において使用しうるものとして次の3つの函数をあげることができると考える。(i) $\phi_0(x) = \exp(-x^2/2)/\sqrt{2\pi}$, $\phi_n(x)$ = Hermite 多項式 $A_n = n!$, (a, b) = $(-\infty, \infty)$ (ii) $\phi_0(x) = x^a \exp(-x)$, $\phi_n(x)$ = Laguerre 多項式, $A_n = \Gamma(a+n+1)/n!$, (a, b) = $(0, \infty)$ (iii) $\phi_0(x) = a^x e^{-a}/x!$, $\phi_n(x) = \sum_{i=0}^n (-1)^{n-i} \binom{n}{i} (x)_i! a^{-i}$, $A_n = n!/a^n$ (a, b) = $(0, \infty)$ (a, a は定数)このうち(i)(ii)は変数 x が連続の場合、(iii)は x が不連続で正の整数であるような(たとえば重合度)場合に使用する。(i)で表わした(12)式はCharlierのA型級数(iii)で表したそれはCharlierのB型級数と呼ばれる。不均一試料の拡散実験からこの方法によって分子量分配関数を推定する計算例については既に報告した⁴⁾。

5. 拡散係数および電気易動度に関する分配関数を仮定したときの混合物の電気泳動図形の能率

拡散係数および電気易動度に関する分配関数が既知のときは(11)式により電気泳動図形の能率が求められるから、それにより4節の方法を応用してどのような泳動図形となるか知ることができる。ここでは簡単のためわい度および尖鋭度により図形の定性的知識を述べるにとどめる。(11)式で

$$m_n = \text{mix} m_n / \text{mix} m_0, \delta_n = (2t_D)^n \sum C_i D_i^n / \sum C_i,$$

$$\theta_n = (Et_E)^n \sum C_j u_j^n / \sum C_j$$

とすると

$$\left. \begin{aligned} m_1 &= \theta_1, m_2 = \delta_1 + \theta_2, m_3 = 3\delta_1\theta_1 + \theta_3, \\ m_4 &= 3\delta_2 + 6\delta_1\theta_2 + \theta_4 \\ \dots \text{etc} \end{aligned} \right\} (14)$$

したがって平均値 θ_1 の回りの泳動図形の n 次の能率

μ_n は

$$\left. \begin{aligned} \mu_1 &= 0, \mu_2 = \delta_1 + (\theta_2 - \theta_1^2), \mu_3 = \theta_3 - 3\theta_2\theta_1 + 2\theta_1^3, \\ \mu_4 &= 3[\delta_2 + 2\delta_1(\theta_2 - \theta_1^2) \\ &\quad + \theta_4 - 4\theta_3\theta_1 + 6\theta_2\theta_1^2 - 3\theta_1^4] \\ \dots \text{etc} \end{aligned} \right\} (15)$$

となる。わい度 β_1 および尖鋭度 β_2 は

$$\beta_1 = \mu_3^2 / \mu_2^3, \beta_2 = \mu_4 / \mu_2^2$$

で定義される。 β_1 は図形の対称性を、 β_2 はとがりの程度を表わす。 β_1 が正または負となると平均値に対し正の側または負の側にひずんだ図形となり、左右対称のときは0となる。 β_2 の符号は正で、その値が大きいかほどとがった図形である。

5.1 拡散係数が一定で、電気易動度分布が Gauss 分布の場合 電気易動度分布を $g(u) = (\sqrt{2\pi}\sigma_u)^{-1} \exp\{-(u-u_1)^2/2\sigma_u^2\}$ とする。 $(u_1$: 平均値, σ_u : 電気易動度に関する標準偏差) これより $\theta_2 = \theta_1^2 + E^2 t_E^2 \sigma_u^2$, $\theta_3 = 3\theta_1 E^2 t_E^2 \sigma_u^2 + \theta_1^3$, $\theta_4 = \theta_1^4 + 6\theta_1^2 E^2 t_E^2 \sigma_u^2 + 3E^4 t_E^4 \sigma_u^4$ を得る。 $Et_E \sigma_u = \bar{\sigma}_u$ として、泳動図形の平均値の回りの能率およびこれより求めたわい度、尖鋭度は(15)式より

$$\begin{aligned} \mu_2 &= \delta_1 + \bar{\sigma}_u^2 & \beta_1 &= 0 \\ \mu_3 &= 0 & \beta_2 &= 3 \\ \mu_4 &= 3(\delta_1 + \bar{\sigma}_u^2)^2 \end{aligned}$$

となる。 μ_2 に関する式は、Alberty³⁾の論文における(6)式に対応する。Gauss 分布では $\beta_1=0$, $\beta_2=3$ となるから、逆に考えて、この場合の泳動図形は Gauss 分布になることがわかる。これは Alberty の得た興味ある計算結果を別の視野から眺めていることになる。

5.2 拡散係数および電気易動度の分布がともに

Gauss 分布の場合 拡散係数に関する分布を $f(D) = (\sqrt{2\pi}\sigma_D)^{-1} \exp\{-(D-D_1)^2/2\sigma_D^2\}$, 電気易動度に関する分布を $g(u) = (V\sqrt{2\pi}\sigma_u)^{-1} \exp\{-(u-u_1)^2/2\sigma_u^2\}$ とする(σ_D : 拡散係数に関する標準偏差, $\bar{\sigma}_D = 2t\sigma_D$)。このときは

$$\begin{aligned} \mu_2 &= \delta_1 + \bar{\sigma}_u^2 & \beta_1 &= 0 \\ \mu_3 &= 0 & \beta_2 &= 3\{1 + \bar{\sigma}_D^2/\delta_1 + \bar{\sigma}_u^2\} \\ \mu_4 &= 3(\delta_1 + \bar{\sigma}_u^2)^2 + 3\bar{\sigma}_D^2 \end{aligned}$$

となる。泳動図形は左右対称で、かつ Gauss 分布に比していくらかとがったものとなることが知られる。

5.3 拡散係数が一定で電気易動度に関する分布が Poisson 分布の場合 電気易動度分布を $g(u) = e^{-\lambda} \lambda^u / u! (u=0, 1, 2, \dots, \infty)$ とする($\lambda=u_1$)。このとき

$$\begin{aligned} \mu_2 &= \delta_1 + Et_E \theta_1 & \beta_1 &= \frac{Et_E}{\theta_1} \{(\delta_1 / Et_E \theta_1) + 1\}^{-8} \\ \mu_3 &= E^2 t_E^2 \theta_1 & \beta_2 &= 3 + \frac{Et_E}{\theta_1} \{(\delta_1 / Et_E \theta_1) + 1\}^{-2} \\ \mu_4 &= 3(\delta_1 + Et_E \theta_1)^2 + E^3 t_E^3 \theta_1 \end{aligned}$$

となる。Poisson 分布では、平均値を λ とすると $\beta_1 = 1/\lambda$, $\beta_2 = 3 + 1/\lambda$ となる。 $Et_E/\theta_1 = 1/\lambda_1$, $\delta_1/Et_E \theta_1 = 2t_D D/E^2 t_E^2 u_1$ であるから泳動時間がある程度大きいあるいは拡散の影響が無視できるような場合には $\delta_1/Et_E \theta_1 \ll 1$ となって問題にしている泳動図形はほぼ Poisson 分布となることがわかる。

他の分配函数による同様な試みは重複を避けるため省略する。また実際に実験から得られる泳動図形に対する不均一性の解析は別の機会に試みたい。

文 献

- 1) L.G. Longworth: *Chem. Rev.*, **11**, 171(1932); *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1755(1943); *ibid.*, **66**, 449(1944)
- 2) H. Hoch: *Biochem. J.*, **46**, 199(1950)
- 3) R.A. Alberty: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 1675(1948)
- 4) 桜田, 細野: 京都大学工学研究所彙報, **4**, 104(1953); 高化, **12**, 469(1955)

Electrophoresis of Polyelectrolytes

IV. Determination of the Homogeneity of the electrophoretic Mobility with the Method of Moments

By Masao Hosono*

A general method for the estimation of the electrophoretic mobility distribution and of the diffusion constant distribution in heterogeneous polyelectrolytes has been developed for the case in which the electrophoretic mobility and the diffusion constant do not depend on the concentration.

* Institute Research For Chemical, Kyoto University (Takatsuki, Osaka)