
© Л.В. САХАРОВА

L_Sakharova@mail.ru

УДК 004.942

**ЧИСЛЕННЫЙ АНАЛИЗ ИНТЕГРО-ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЗАДАЧИ
ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ФОКУСИРОВАНИЯ
В «ГИПЕРГАУССОВСКИХ» РЕЖИМАХ**

АННОТАЦИЯ. Статья посвящена математическому анализу так называемых «негауссовских» режимов интегро-дифференциальной задачи изоэлектрического фокусирования (ИЭФ). Посредством численного тестирования установлен факт: «негауссовские» режимы являются свойством математической задачи, а не результатом вычислительной погрешности.

SUMMARY. The article is devoted to the mathematical analysis of so-called “non-Gaussian” regimen on the base of mathematical modeling by Isoelectric Focusing (IEF). By means of numerical testing the fact was establish: phenomena of “non-Gaussian” regimen is property of mathematical problem, no result of calculating errors.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. «Негауссовские» режимы, Гауссовское распределение.

KEY WORDS. “Non-Gaussian” -regimen, Gaussian distribution.

Введение. Гауссовское распределение является одним из важнейших и наиболее часто встречающихся распределений в естественных науках. Теория Гауссовского распределения лежит в основе математической теории изоэлектрического фокусирования (ИЭФ) — эффективного и универсального метода фракционирования и анализа белков [1]. Практика подтверждает, что Гауссовское распределение применимо к широкому классу так называемых амфолитов-носителей (амфотерных кислот с высокой буферной емкостью). Распределение концентрации компонент смеси имеет Гауссовский вид: $C = C_0 \exp(-pEx^2 / 2D)$, где C — концентрация, E — напряженность поля, D — коэффициент диффузии. Гауссовское распределение концентраций амфолитов было получено при компьютерном моделировании ИЭФ многими зарубежными исследователями [2-4]. С другой стороны, ими же было получено искажение Гауссовского распределения [5-7]: при высоких плотностях электрического тока распределение концентраций на графиках приобретает «платообразную форму», существенно отличающуюся от классического Гауссовского (а также распределений Хи-квадрат, Стьюдента и пр.).

При высоких плотностях тока соответствующая начально-краевая задача приобретает ряд особенностей, затрудняющих решение и приводящих к неконтролируемому накоплению вычислительной погрешности. Поэтому возникает закономерный математический вопрос (оставшийся за рамками работ [5-7], являющихся прикладными электрохимическими исследованиями): не являются ли наблюдаемые «гипергауссовские» режимы результатом систематического на-

копления погрешности? Корректен ли математически вывод о существовании «гипергауссовских» режимов ИЭФ? Ответить на этот вопрос помогло представленное в настоящей статье исследование математической модели ИЭФ аналитическим и численными методами.

Теоретические обоснования

Физическая и математическая постановка задачи. Водный раствор N амфолитов помещен в электрофоретическую камеру (ЭК), представляющую собой цилиндр длиной l и радиусом r . Для каждого амфолита известны его коэффициенты миграции μ_k , константы диссоциации реакций $K_1^{(k)}$ и $K_2^{(k)}$, а также общие количества m_k , $k=1, \dots, N$. Температура T внутри ЭК считается постоянной. Под действием постоянного тока плотности J в ЭК сформировано распределение концентраций амфолитов, приведшее к стационарному распределению концентрации ионов водорода pH . В данной модели рассмотрено продольное осевое сечение ЭК, представляющее собой прямоугольник l и шириной $2r$ (рис. 1).

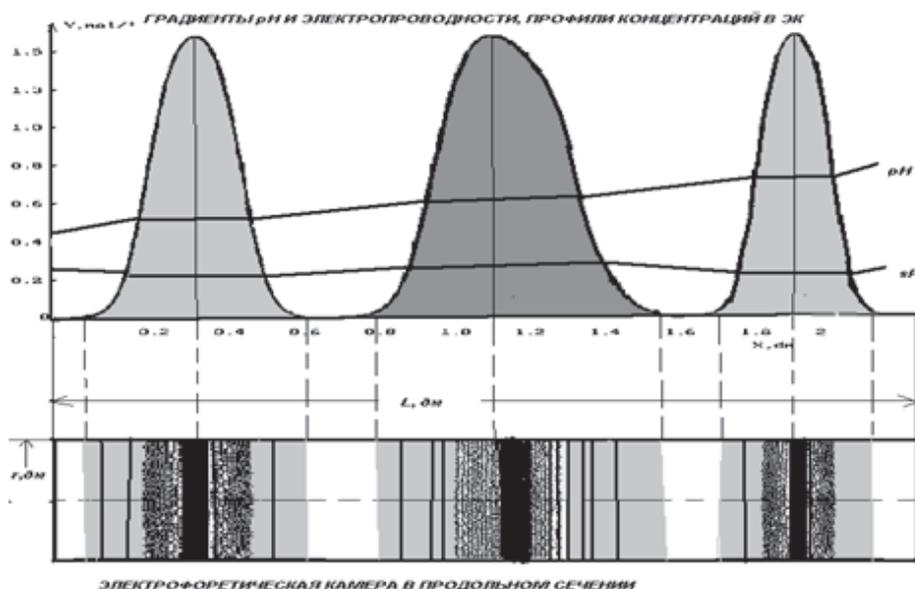


Рис. 1. Внизу: продольное (осевое) сечение ЭК со стационарным распределением трех амфолитов;верху: соответствующие профили концентраций и график pH

Предполагается, что в водном растворе диссоциация k -го амфолита протекает по схемам: $NH_3^+RCOOH \Leftrightarrow NH_2RCOOH + H^+$, $NH_2RCOOH \Leftrightarrow NH_2RCOO^- + H^+$, где NH_3^+RCOOH , NH_2RCOO^- , NH_2RCOOH — положительный, отрицательный и «нейтральный» ионы амфолита, молярные концентрации которого обозначены ξ_1^k , ξ_{-1}^k , ξ_0^k . Общая, или, так называемая, аналитическая концентрация амфолита определяется формулой: $\xi_k = \xi_1^k + \xi_0^k + \xi_{-1}^k$. Помимо приведенных реакций диссоциации амфолитов в водном растворе следует учитывать реакцию автопротолиза воды: $H_2O \Leftrightarrow OH^- + H^+$, приводящую к уравнению: $OH^- = k_w^2/H$, где H — концентрация ионов водорода, OH^- — концентрация гидроксил-ионов

и $k_w^2 = 10^{-14}$ константа автодиссоциации воды. В сделанных предположениях (при отсутствии потока вещества через границы ЭК) распределение концентраций $\xi_k(x)$ и распределение $pH(x)$ описывается следующей одномерной интегро-дифференциальной задачей (искомые функции не зависят от ординаты и картина неизменна в любом осевом сечении ЭК):

$$-\varepsilon \cdot d\xi_k / dx + \xi_k (\alpha_1^k - \alpha_{-1}^k) E = 0, \quad k = 1, 2, \dots, N; \quad (1)$$

$$J = \sum_{k=1}^N \left[-D_k \cdot d / dx \left((\alpha_1^k - \alpha_{-1}^k) \xi_k \right) + \mu_k (\alpha_1^k + \alpha_2^k) \xi_k E \right] - D_H \cdot dH / dx + \mu_H H E + \\ + D_{OH} d(OH) / dx + \mu_{OH} \cdot OH \cdot E; \quad (2)$$

$$\sum_{k=1}^N (\alpha_1^k - \alpha_{-1}^k) \xi_k + H - OH = 0; \quad (3)$$

$$\pi r^2 \cdot \int_0^l \xi_k(x) dx = m_k, \quad k = 1, 2, \dots, N, \quad (4)$$

$$\alpha_1^k = H^2 \left(K_1^{(k)} \cdot K_2^{(k)} + K_1^{(k)} \cdot H + H^2 \right)^{-1}, \quad \alpha_2^k = K_1^{(k)} \cdot K_2^{(k)} \left(K_1^{(k)} \cdot K_2^{(k)} + K_1^{(k)} \cdot H + H^2 \right)^{-1}.$$

Здесь: $\varepsilon = RT/F$ — стандартный электрохимический параметр, где величины R , T и F — соответственно универсальная газовая постоянная, температура и число Фарадея; E — напряженность электрического поля; μ_H , μ_{OH} — подвижности ионов водорода и гидроксил ионов; D_k , D_H , D_{OH} — коэффициенты диффузии ионов, $D_k = \varepsilon \mu_k$. Уравнение (1) есть уравнение массопереноса, полученное на основании уравнения потока амфолита. Соотношение (2) представляет собой обобщенный, то есть с учетом диффузии, закон Ома (плотность тока является суммой плотностей токов всех ионов, включая ион водорода и ион гидроксила). Уравнение (3) есть уравнение электронейтральности. Интегральное условие (4) соответствует закону сохранения массы вещества, в соответствии с которым суммарное количество всех трех форм амфолита неизменно и равно m_k .

Основная математическая трудность численного интегрирования системы (1)-(4) заключается в том, что: а) при решении системы дифференциальных уравнений (1) относительно концентраций необходимо определять величину H из алгебраического уравнения (3); б) вместо обычных краевых условий приходится использовать интегральные условия (4). Тем не менее, для низких и средних значений J задача решается стандартными асимптотическими и численными методами и дает классические Гауссовские распределения концентраций [8-10].

Для больших значений J , как следует из уравнений (1), перед функциями ξ_k появляется большой параметр J/ε ($\varepsilon \approx 0,0257$). Это приводит к дополнительным трудностям: в) слабые изменения ξ_k вызывают существенные изменения производных, что может привести к неконтролируемому накоплению вычислительной погрешности; г) в «гипергауссовских» режимах (рис. 2 е, ф) в области «плато» (а также за пределами области фокусирования амфолита) производные

расчетных функций близки к нулю и вероятно «зацикливание» метода Рунге-Кутты, сопровождаемое выходом на неверное решение-константу; д) в остальных точках производные расчетных функций, наоборот, стремятся к бесконечности, что может вызвать резкий скачок решения, вплоть до выхода его на отрицательные (лишенные физического смысла) решения; е) за пределами области фокусирования амфолита его концентрация стремится к нулю, что может привести к обнулению искомым функций при недостаточной точности вычислений. Таким образом, предварительный анализ задачи и имеющихся результатов численного решения задачи математического моделирования ИЭФ в «гипергауссовских» режимах позволяет сделать вывод: для задачи в стандартной формулировке велик риск неконтролируемого накопления погрешности.

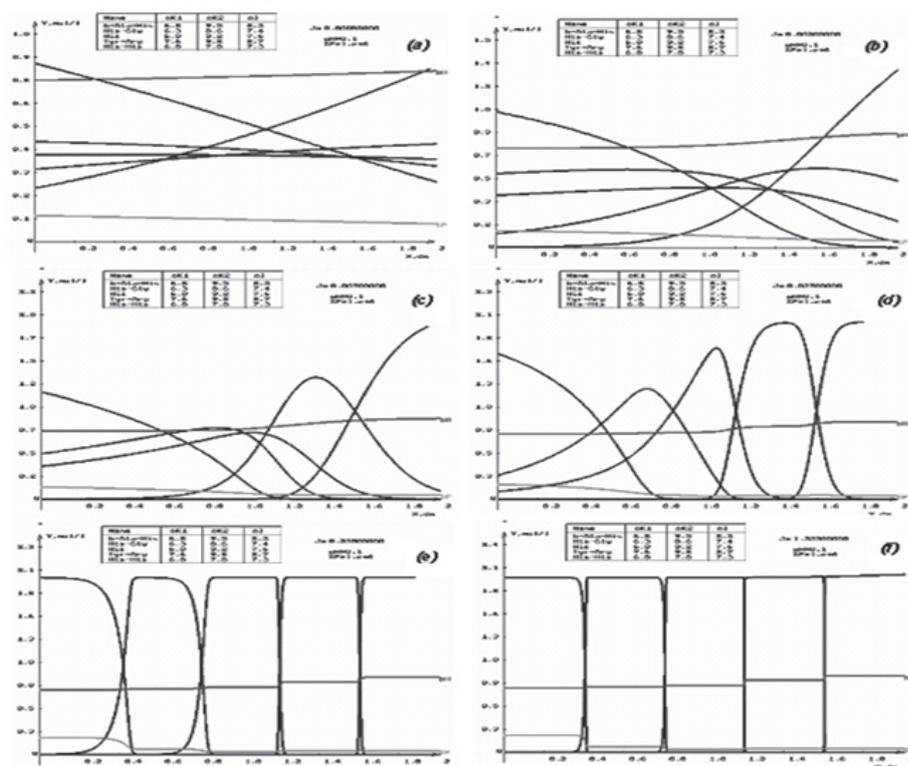


Рис. 2. ИЭФ системы из пяти стандартных амфолитов с $pH > 7$: *His—His*, *His—Gly*, *His, β —Ala—His*, *Tyr—Arg*

Преобразование системы. Автором было доказано, что исходная интегродифференциальная задача (1)–(4) относительно $N+2$ неизвестных функций H , E , $\xi_k(x)$, $k = 1, 2, \dots, N$ может быть сведена к краевой задаче относительно $2N$ неизвестных функций $a_k(x)$, $n_k(x)$, $k = 1, 2, \dots, N$:

$$\varepsilon \frac{da_k}{dx} \frac{1}{a_k} = \frac{\varphi'_k(\psi) J}{\varphi_k(\psi) \sigma}, \quad (5)$$

$$dn_k(x)/dx = a_k \varphi_k(\psi), \quad (6)$$

$$\sigma = \sum_{k=1}^n \mu_k a_k (\varphi_k''(\psi) - (\varphi_k'(\psi))^2 / \varphi_k(\psi)) + \mu ch(\psi - \psi_0), \quad (7)$$

$$\varphi_k(\psi) = \delta_k + ch(\psi - \psi_k), \quad (8)$$

$$\psi = 0.5 \ln \left(1 + \sum_{k=1}^n a_k \exp(\psi_k) \right) - 0.5 \ln \left(1 + \sum_{k=1}^n a_k \exp(-\psi_k) \right), \quad (9)$$

$$n_k(0) = 0, \quad (10)$$

$$n_k(1) = m_k / \pi r^2, \quad (11)$$

$$\psi_k = 0.5 \ln(K_1^{(k)} K_2^{(k)}) - \ln k_w, \quad \delta_k = 0.5 (K_1^{(k)} / K_2^{(k)})^{1/2},$$

$$\psi_0 = 0.5 (\ln \mu_{OH} - \ln \mu_H), \quad \mu = \sqrt{\mu_H \mu_{OH}}.$$

$$\xi_k(x) = 2_k a_k(x) \varphi_k(\psi), \quad (12)$$

$$H = k_w \exp(\psi). \quad (13)$$

Как результат, удалось избавиться от трудностей численного интегрирования (а) и (б), указанных выше. Чтобы избежать проблем (в)-(е) были предприняты шаги: 1) дополнительная замена переменной; 2) составление оптимизационных алгоритмов с контролем выхода на неверные решения. Неизвестная функция была представлена в виде экспоненциальной зависимости:

$$c_k = b_k \cdot (x), \exp(F_k(x)/\varepsilon), \quad k = 1, 2, \dots, N, \quad (14)$$

где b_k — постоянный параметр. Экспоненциальная форма решения «отсекала» выход на лишние физического смысла, отрицательные решения. Сомножитель $1/\varepsilon$ обеспечивал «сглаживание» расчетной функции: малым изменениям $F_k(x)$ соответствовали существенные изменения функции c_k . Для функций $F_k(x)$ была получена краевая задача с условиями (10), (11):

$$\frac{dF_k}{dx} = \frac{\varphi_k'(\psi) J}{\varphi_k(\psi) \sigma}, \quad (15)$$

$$dn_k(x)/dx = \varphi_k(\psi) b_k \exp(1/\varepsilon F_k(x)), \quad (16)$$

$$\sigma = \sum_{k=1}^n \mu_k (\varphi_k''(\psi) - (\varphi_k'(\psi))^2 / \varphi_k(\psi)) b_k \exp(1/\varepsilon F_k(x)) + \mu ch(\psi - \psi_0), \quad (17)$$

$$\psi = 0.5 \ln \left(1 + \sum_{k=1}^n a_k \exp(1/\varepsilon F_k(x) + \psi_k) \right) - 0.5 \ln \left(1 + \sum_{k=1}^n a_k \exp(1/\varepsilon F_k(x) - \psi_k) \right), \quad (18)$$

где параметры $\mu_k, \mu_0, \psi_k, \psi_0$ определены формулами (14)-(17). Функции $\xi_k(x)$ и H могут быть определены из уравнений (8), (12), (13). Для решения задачи (15)-(18), (10), (11) были разработаны два оптимизационных алгоритма, обеспечивающих необходимую точность решения. Первый оптимизационный алгоритм был основан на модифицированных методах Рунге-Кутты и Ньютона и обеспечивал эффективное решение начально-краевой задачи при заданной плотности тока J . Второй оптимизационный алгоритм, реализующий метод движения по параметру, позволял выполнять расчеты в широком диапазоне плотностей тока, выбирать оптимальный шаг движения по плотности тока, а также контролировать процесс накопления вычислительной погрешности, отсекая при этом возможные выходы на неверные решения (возникающие в случае выбора слишком большого шага). Алгоритмы были реализованы на языке программирования *Turbo Pascal* с использованием стандартного модуля *Graph*.

Тестирование модели асимптотическими методами. Принятые меры к минимизации вычислительной погрешности еще не дают основания с полной уверенностью говорить, что в данном случае удалось избежать систематических ошибок и наблюдаемые «гипергауссовские» режимы существуют в действительности. Поэтому для проверки адекватности построенной расчетной модели был использован асимптотический метод тестирования. Автором было установлено, что, если при рассматриваемой плотности тока J система (15)-(18) имеет «платообразное» («негауссовское») решение, то значения функций $F_k(x)$ при $x = 0$ определяются асимптотической формулой:

$$F_k(0) = \varepsilon \ln a_k^0 - J \sum_{i=1}^{k-1} h_i \Phi_k(\psi_i, a_i^0), \quad (20)$$

где $\Phi_k(\psi, a) = \frac{\varphi'_k(\psi)}{\varphi_k(\psi)} \frac{1}{\sigma}$, $a_k^0 = \frac{M_k}{h_k(\delta_k + 1)}$, $M_k = \frac{m_k}{2k\pi r^2}$, $h_k = m_k l \cdot \left(\sum_{i=1}^N h_i \right)^{-1}$.

Результаты исследований и их обсуждение

Расчеты проводились в предположениях: длина ЭК, $l = 2$ (дм); радиус ЭК $r = 0,2$ (дм); $T = 298$ (К). Плотность тока измерялась в А/дм.кв. Рассмотрена система из пяти стандартных амфолитов с $pH > 7$: *His—His*, *His—Gly*, *His*, β —*Ala—His*, *Tyr—Arg* (табл. 1, характеристики взяты из [1]). Исходные количества амфолитов одинаковы, $M_k = 0,1$ (моль). Как следует из табл. 2, имеет место неравномерность распределения амфолитов по константам диссоциации $K_1^{(k)}$, $K_2^{(k)}$ и изоэлектрическим точкам: $pI = 0,5(K_1^{(k)} + K_2^{(k)})$.

Таблица 1

Характеристики амфолитов

№	Амфолит	$pK_1^{(k)}$	$pK_2^{(k)}$	pI	ΔpK	Подвижность $\times 10^{-4}$
1	<i>His—His</i>	6.80	7.80	7.30	1.00	1.49
2	<i>His—Gly</i>	6.27	8.57	7.42	2.30	2.40
3	<i>His</i>	6.00	9.17	7.59	3.17	2.85
4	β — <i>Ala—His</i>	6.83	9.51	8.17	2.68	2.30
5	<i>Tyr—Arg</i>	7.55	9.80	8.68	2.25	1.58

Как следует из приведенных графиков, при плотности тока $J=0,0005$ расщепление незначительно, и ни один из амфолитов не достиг еще своего изоэлектрического состояния (рис. 2 а). При плотности тока $J=0,002$ на профиле $\beta\text{-Ala-His}$ отчетливо проявляется максимум, указывающий на достижение амфолитом изоэлектрической точки (рис. 2 б), прослеживается появление максимума на профиле His . При $J=0,007$ (рис. 2 с) изоэлектрического состояния достигают все пять амфолитов, причем профиль $\beta\text{-Ala-His}$ имеет вид стандартного гауссовского распределения, в то время как профили His-Gly и His асимметричны; график pH монотонно возрастает. При $J=0,027$ (рис. 2 d) на профиле Tyr-Arg появляется плато, утрачивает сходство с гауссовским распределением, а значит, система входит в «негауссовский» режим, характеризующийся «негауссовскими» распределениями концентраций. При $J=0,235$ (рис. 2 е) такие «плато» видны уже на всех профилях; амфолиты расщепляются на полосы одинаковой ширины; профили имеют вид правильных прямоугольников для His , $\beta\text{-Ala-His}$, Tyr-Arg . Наконец, при $J=1,323$ (рис. 2 f) профили всех амфолитов имеют вид прямоугольников, внутри которых pH и σ постоянны.

Для данной системы проводилось асимптотическое тестирование по формуле (20). Таблица 2 показывает, что для $J=1.307$ расчетные и асимптотические значения имеют расхождение в пятом знаке после запятой.

Таблица 2

Расчетные и асимптотические значения $F_k(x)$ при $J=1.307$

Величины	$F_1(0)$	$F_2(0)$	$F_3(0)$	$F_4(0)$	$F_5(0)$
Расч.	-0.0067712	-1.0472041	-2.7635703	-50.2134548	-180.505632
Асимп.	-0.0067679	-1.0471994	-2.7635745	-50.213453	-180.505631

Этот факт указывает на высокую точность вычислений в «гипергауссовских» режимах.

Поскольку вычисление расчетных величин $F_k(0)$ не зависит от вычисления асимптотических величин $F_k(0)$, то можно сделать **основной вывод**: феномен «гипергауссовских» режимов является свойством математической (и соответствующей физической) задачи, а не результатом накопления вычислительной погрешности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Righetti, P.G. Isoelectric focusing: Theory, Methodology and Application. Elsevier Biomedical Press, New York-Oxford: Elsevier, 1983. 386 p.
2. Mosher, R.A., Thorman, W. The condensation of ampholytes in steady state moving boundaries. Analysis by computer simulation // Electrophoresis. 1985. №7. P. 595-400.
3. Mosher, R.A., Bier, M., Righetti, P.G. Computer simulation of immobilized pH gradients at acid and alkaline extremes: A quest for extended pH intervals // Electrophoresis. 1985. № 7. P. 59-66.
4. Zilberstein, G.V., Baskin, E.M., Bukshpan, Sh. Parallel processing in the isoelectric focusing chip // Electrophoresis. 2003. №24. P. 3735-3744.

5. Thormann, W., Huang, T., Pawliszyn, J., Mosher, R.A. High-resolution computer simulation of the dynamics of isoelectric focusing of proteins // *Electrophoresis*. 2004. №25. P. 324-337.

6. Thormann, W., Mosher, R.A. High-resolution computer simulation of the dynamics of isoelectric focusing using carrier ampholytes: The post-separation stabilizing phase revisited // *Electrophoresis*. 2002. №23. P. 1803-1814.

7. Thormann, W., Mosher, R.A. High-resolution computer simulation of the dynamics of isoelectric focusing using carrier ampholytes: Focusing with concurrent electrophoretic mobilization is an isotachophoretic process. Research Article // *Electrophoresis*. 2006. №27. P. 968-983.

8. Бабский В.Г., Жуков М.Ю., Юдович В.И. Математическая теория электрофореза: Применение к методам фракционирования биополимеров. Киев: Наукова думка, 1983. 202 с.

9. Жуков М.Ю. Массоперенос электрическим полем. Ростов н/Д: Изд-во Рост. ун-та, 2005. 216 с.

10. Sakharova, L.V., Vladimirov, V.A., Zhukov, M.Yu. Anomalous pH-gradient in Ampholyte Solution. — arXiv: 0902.3758v1 [physics.chem-ph] 21 Feb 2009.