

# 一种测量液体中粒子的扩散系数和大小的光散射方法

李 明 吴冠英 戴长生 蔡锦凤 李子尧 章 东 吴存恺

(中国科学院安徽光机所激光光谱开放实验室, 合肥)

## A light scattering method for measuring molecular intradiffusion coefficients and diameters of particles in liquid

*Li Ming, Wu Guangying, Dai Changsheng, Cai Jinfeng, Li Ziyao, Zhang Dong, Wu Cunkai*  
(Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Academia Sinica, Hefei)

**Abstract:** A light scattering method for measuring molecular intradiffusion coefficients and diameters of particles in liquid is reported. The diameter of a hemoglobin molecule has been successfully measured and the merits and demerits of this method are discussed.

**Key words:** thermodynamics, diffusion coefficient, light scattering

### 一、引 言

研究化学大分子或生物大分子(如血红蛋白)的大小、形状和结构是人们感兴趣的问题之一。近十几年来,发展了一些测定技术<sup>[1]</sup>,例如粘度测定、电泳、超速离心、光散射等,都能测定出大分子的分子量或它的形状。为了研究生物和化学大分子及其反应的动力学性质,往往需要测定大分子的扩散系数。用于测量粒子扩散系数的光子相关技术近年来得到了突飞猛进的发展<sup>[2]</sup>。本文提出了一种利用计算机控制时间的光散射技术测量大分子的扩散系数和分子大小的方法。利用这种装置我们测量了冻干羊血红蛋白的物理半径。我们所用的光学系统、记录及处理过程都比原先的方法简便得多。

### 二、实验装置与理论背景

#### 2.1 测定大分子的扩散系数

首先,给出测定大分子扩散系数的实验装置示意图(见图1)。样品池被激光经斩波后照明,光电二极管输出信号通过锁相放大进入计算机处理系统,加样时间与计算机开始工作时间同步。散射角 $\theta$ 一般小于 $5^\circ$ ,加样管与激光束距离 $x_0$ 可根据测试的扩散系数范围选定。加样方式可根据实验室条件选定,加样后利用计算机把散射光强按时间函数记录下来。

我们知道在稀薄溶液情形下光电二极管所接收到的光强 $I(t)$ 正比于入射光强 $I_0$ 和样品中粒子的浓度 $C$ ,即

$$I(t) \propto C(x_0, t) I_0 \quad (1)$$

根据 Fick 定律, 我们有

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2} \quad (2)$$

式中  $D$  为扩散系数, 于是

$$C(x_0, t) = C_0 (\pi Dt)^{-\frac{1}{2}} \exp(-x_0^2/4Dt) \quad (3)$$

其中  $C_0$  为常数,  $x_0$  为垂直距离。因此, 散射光强可表示为

$$I(t) = A (\pi Dt)^{-\frac{1}{2}} \exp(-x_0^2/4Dt) \quad (4)$$

其中  $A$  是正比于  $I_0$  和  $C_0$  的常数。

通过(4)式我们可以根据计算机记录的函数形状求出所测分子的相对扩散系数。

由于(4)式过于复杂, 我们提出一种较为简便的处理方法。首先, 求出散射光强达到最大值时所需的时间  $T$ 。

$$\frac{\partial I(t)}{\partial t} = -\frac{A}{2} (\pi D)^{-\frac{1}{2}} t^{-\frac{3}{2}} \exp(-x_0^2/4Dt) + A (\pi Dt)^{-\frac{1}{2}} \frac{x_0^2}{4D} t^{-2} \exp(-x_0^2/4Dt) \quad (5)$$

散射光强达到最大时, (5)式应等于 0。

$$\frac{A}{2} (\pi D)^{-\frac{1}{2}} T^{-\frac{3}{2}} = A (\pi DT)^{-\frac{1}{2}} \frac{x_0^2}{4D} T^{-2}$$

$$D = x_0^2 / (2T) \quad (6)$$

所以, 我们只需记录下散射光强达到最大值的时间  $T$  就可很容易地得到扩散系数  $D$ 。

## 2.2 测定大分子的颗粒半径

测定大分子颗粒半径的实验装置与测定扩散系数的基本相同, 但加样管位于样品盒液面正中央。通过散射光强与时间的关系我们可以得到大分子的沉降速度  $U$ 。

大分子进入液体时, 受到三个力的作用, 液体对它的浮力、自身的重力和粘滞力。

$$\begin{cases} F_{\text{浮力}} = \frac{4}{3} \pi a^3 \rho_1 g \\ F_{\text{重力}} = \frac{4}{3} \pi a^3 \rho_2 g = Mg \\ F_{\text{粘滞力}} = C_D \frac{1}{2} \rho_1 U^2 \pi a^2 \quad [3] \end{cases} \quad (7)$$

其中  $a$  为大分子半径,  $\rho_1$  为液体密度,  $M$  为大分子分子量,  $g$  为重力加速度,  $G$  为质子质量,  $U$  为沉降速度,  $C_D$  为常数。这三个力将达到平衡, 因此我们有:

$$C_D \frac{1}{2} \rho_1 U^2 \pi a^2 + \frac{4}{3} \pi a^3 \rho_1 g = Mg \quad (8)$$

通过(8)式, 我们可以得到粒子半径的信息。

## 三、实验结果与讨论

我们测量了冻干羊血红蛋白粒子的半径, 实验测得曲线如图 2。

实验采用的  $x_0$  为 22 mm, 冻干羊血红蛋白的分子量为 64500<sup>[3]</sup>,  $U = x_0/57s$ 。将数据代

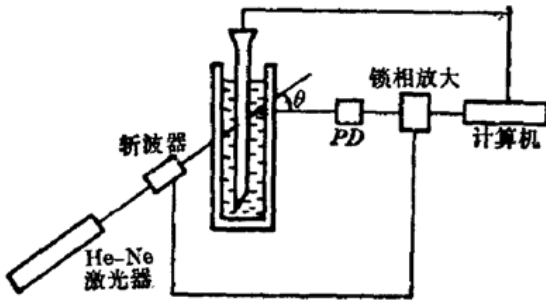


图 1

入(8)式, 通过计算机处理我们测得粒子半径约为 26.2 nm。利用这种方法, 我们便克服了静态光散射只能测量生物大分子浓度<sup>[4]</sup>的缺点。

对一般大分子  $D$  为  $10^{-6} \sim 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ <sup>[6]</sup> 量级,  $U$  一般大于  $10^{-2} \text{ cm/s}$ , 所以扩散对测量半径的影响极小。我们实验采用的是水溶液  $\rho_1=1$ 。如果沉降速度太小, 可以选择比重较小的液体。

在实验中我们在滴管附近加一细铜丝网, 用来缓冲初速度或减少底部反射引起的非自由扩散的影响。由于血红蛋白大分子的比重较水的比重大得多, 非平衡的加速过程可忽略。我们还可以适当增加测量点与滴管的距离以保证实验所需的精度。经查阅有关文献[7]得知血红蛋白半径为 10 nm 量级, 这与我们的测量结果吻合。我们的测量方法不仅简便快速, 而且在同一实验装置上同时给出粒子的半径和扩散系数的信息。在测量扩散系数方面, 我们的方法比光子相关方法<sup>[5]</sup>和全息方法有装置简单得多的优点, 比起基于激光束通过不均匀介质发生偏转的测量方法也具有背景噪声小、直观等优点。

由于光散射对外界条件(温度、振动)较为敏感, 所以在实验过程中要求外界条件保持相对稳定。

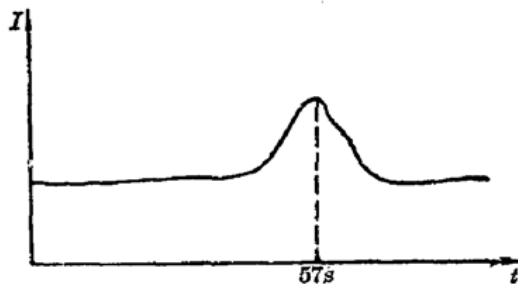


图 2

### 参 考 文 献

- 1 R. Chang, *Physical Chemistry with Applications to Biological Systems* (Macmillan Publishing Co. Inc., 1977)
- 2 B. J. Berne, R. Pecora, *Dynamic Light Scattering* (Wiley-Interscience, New York, 1976)
- 3 L. M. Milne-Thomson, *Theoretical Hydrodynamics* (Macmillan, New York, 1968)
- 4 D. H. Tycko *et al.*, *Appl. Opt.*, **24**(9), 1355(1985)
- 5 G. W. Euliss, C. M. Sorensen, *J. Chem. Phys.*, **80**(10), 4767(1984)
- 6 R. 张, 物理化学及其在生物体系中的应用(科学出版社, 北京, 1986)
- 7 F. W. 普赖斯, 基础分子生物学(上海科技出版社, 上海, 1985)

(收稿日期: 1988年6月7日)