ПРИМЕНЕНИЕ РАССЕЯНИЯ СВЕТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВЕСА

Изучение молекулярного рассеяния света может служить удобным методом для определения молекулярного веса и размеров больших молекул в растворах. Теоретические основы этого метода с большой ясностью рассмотрены в работе П. Дебая, опубликованной в 1944 г.[1]. Характеристика рассеяния существенно зависит от того, имеем ли мы дело с большими или с малыми частицами. При этом под «малыми» разумеются частицы линейные, размеры которых не превосходят 1/10 — 1/20 длины волны; эти максимальные размеры соответствуют молекулярному весу между 10 и 100 миллионами.

В случае малых частиц рассеянный свет характеризуется следующими двумя признаками (для параллельного первичного пучка): а) интенсивность света, рассеянного вперёд и назад, одинакова, б) интенсивность рассеяния пропорциональна λ^{-4} (если пренебречь добавочными малыми эффектами, обусловленными дисперсией). Простейший случай рассеяния малыми частицами есть случай идеального газа малой плотности, изученный Рэлеем. Если такой газ содержит n молекул в $см^3$ и поляризуемость каждой молекулы равна α,

то «мутность» τ газа, обусловленная рассеянием, равна

$$\tau = \frac{8\pi}{3}\left(\frac{2\pi}{\lambda}\right)^4 n\alpha^2. \tag{1}$$

При этом под «мутностью» разумеется коэффициент ослабления параллельного пучка вследствие рассеяния:

$$-dI = \tau I\, dx. \tag{2}$$

Уравнение (1) можно применить для определения числа частиц n в 1 $см^3$. Для этого нужно знать поляризуемость α, вместо которой можно воспользоваться показателем преломления μ, так как α и μ связаны соотношением

$$\mu - 1 = 2\pi n\alpha. \tag{3}$$

Из (1) и (3) получаем:

$$\tau = \frac{32\pi^3}{3}\,\frac{(\mu-1)^2}{\lambda^4}\cdot\frac{1}{n}. \tag{4}$$

Таким образом, для определения n нужно сделать два измерения: измерение «мутности» и измерение показателя преломления.

В случае жидкостей дело обстоит значительно сложнее, так как молекулы жидкости настолько близки друг к другу, что их взаимным влиянием пренебрегать уже нельзя. А. Эйнштейн в работе 1910 г.[2] обошёл эти трудности следующим образом. Он рассматривал рассеяние как результат местных тепловых флуктуаций плотности жидкости благодаря которым среда становится оптически неоднородной. Величину этих флуктуаций Эйнштейн вычислял путём сравнения тепловой энергии kT с работой, которую необходимо затратить для того, чтобы вызвать эти изменения плотности внешним давлением. При таком рассмотрении отпадает необходимость в детальной молекулярной теории и результат, который получил Эйнштейн, может быть представлен в форме

$$\tau = \frac{32\pi^3}{3}\cdot\frac{1}{\lambda^4}\,\frac{kT}{\varkappa}\left(\mu\frac{\partial\mu}{\partial p}\right)^2,$$

где p — гидростатическое давление, а $\varkappa$ — сжимаемость.

В случае растворов имеется другая причина для иррегулярных колебаний показателя преломления, это именно местные изменения концентрации. Теорию этих флуктуаций Дебай строит по образцу теории флуктуаций плотности Эйнштейна, вводя вместо давления p осмотическое давление P и вместо объёма v — концентрацию c. Работа, которую в этом случае следует сравнивать с тепловой энергией kT, есть работа, которую необходимо затратить извне (например, при помощи воображаемого полупроницаемого поршня) для того, чтобы вызвать обратимое изменение концентрации. В результате оказывается, что интенсивность рассеяния, вызванного флуктуациями концентрации, пропорциональна

$$\frac{kT}{\lambda^4}\,\frac{\left(c\dfrac{\partial\varepsilon}{\partial c}\right)^2}{c\dfrac{\partial P}{\partial c}},$$

где ε — диэлектрическая постоянная, которую можно заменить квадратом показателя преломления. Далее, в случае растворов разность показателей преломления раствора и растворителя пропорциональна концентрации. Окончательное выражение для τ таково:

$$\tau = \frac{32\pi^3}{3}\cdot\frac{\mu_0^2(\mu-\mu_0)^2}{\lambda^4}\cdot\frac{1}{c\dfrac{\partial}{\partial c}\left(\dfrac{P}{kT}\right)}. \tag{5}$$

Наконец, для очень разведённых растворов, для которых имеет место соотношение Вант Гоффа

$$P = nkT,$$

формула (5) принимает простой вид:

$$\tau = \frac{32\pi^3}{3} \cdot \frac{\mu_0^2 (\mu - \mu_0)^2}{\lambda^4} \cdot \frac{1}{n}. \tag{6}$$

Эта формула показывает, что путём измерения «мутности» τ и разности показателей преломления $\mu - \mu_0$ можно определить n, а зная n и концентрацию, — определить массу отдельной частицы, т. е. молекулярный вес.

Для того чтобы этот метод можно было применять практически, нужно чтобы рассеяние, вызываемое флуктуациями концентрации, было велико по сравнению с флуктуациями плотности. Можно ожидать, что это будет иметь место в случае, когда растворённое вещество имеет достаточно высокий молекулярный вес. Дебай даёт следующую таблицу, иллюстрирующую влияние размеров частиц на мутность, обусловленную рассеянием:

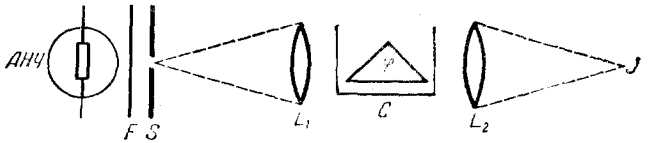
Вещество	τ ($см^{-1}$)	D
Азот	$8{,}9 \cdot 10^{-8}$	100 *км*
Вода	$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	1 *км*
1%-раствор белкового вещества (овальбумин) .	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	3 *м*

Величина D, помещённая в последнем столбце, есть толщина слоя, вызывающего ослабление света в e раз. Из таблицы следует, что белки, т. е. вещества, важные для биологии, являются особенно подходящим объектом для применения метода рассеяния. Другую группу важных для техники веществ, к которым целесообразно применять этот метод, образуют высокополимеры (каучук и др.).

В опубликованной в 1946 году работе П. П. Дебая (сына) описывается аппаратура, при помощи которой метод рассеяния применялся для определения размеров частиц высокополимеров. Для определения τ в большинстве случаев оказалось более выгодным измерять рассеяние под определённым углом, нежели ослабление света. Последнее для концентраций, с которыми приходится иметь дело, вообще говоря, очень мало. Что касается разности показателей преломления $\mu - \mu_0$, то она также требует тщательного измерения. Порядок её величины — 0,001 для 1%-раствора. При измерении рассеяния применялась охлаждаемая воздухом ртутная лампа среднего давления (тип АН4) и монохроматический фильтр. Прибор представлял собою фотоэлектрический фотометр (фотоэлементы RCA 929) с усилителем постоянного тока. Благодаря применению четырёх фотоэлементов можно было в быстрой последовательности измерять а) рассеяние под углом 90°; б) ослабление света; в) распределение рассеяния по углам.

Установка для определения $\mu - \mu_0$ очень проста и удобна. Прецизионная щель S освещается (см. рисунок) ртутной лампой через фильтр F. Изображение щели при помощи линз L_1 и L_2 получается приблизительно на расстоянии 190 *см*; положение этого изображения измеряется окулярным нитяным микро-

метром. В сосуд C наливается растворитель, а в полую призму P — раствор. Если показатели преломления растворителя и раствора неодинаковы, то изображение щели смещается. При не слишком большой величине разности $\mu - \mu_0$ величина смещения пропорциональна этой разности. С этим несложным прибором быстро и удобно можно было измерять $\mu - \mu_0$ с точностью до 0,000003.



В работе Остера[4] (из Рокфеллеровского Института для Медицинских Исследований) метод рассеяния был использован для определения молекулярного веса вирусов. Автор, очевидно не знакомый с теоретической работой П. Дебая, также использует теорию рассеяния Эйнштейна, но для случая смесей *), на основании которой он получает следующее выражение для молекулярного веса:

$$M = 1{,}69 \cdot 10^{22} \frac{D\lambda^4}{c\left(\frac{d\varepsilon}{d\cdot}\right)^2},$$

где c — концентрация (г $см^{-3}$) и D — оптическая плотность раствора, обусловленная рассеянием. Заменяя ε через μ^2 и полагая $\frac{\partial\mu^2}{\partial c} \cong 2\mu_0 \frac{\mu - \mu_0}{c}$, он приводит формулу к виду, удобному для применений. Измерения, необходимые для вычисления M, состоят в определении μ_0 и $\mu - \mu_0$ (это выполнялось при помощи погружного рефрактометра) и в спектрофотометрическом (очевидно, визуальном) определении D для различных λ и c. Таким путём изучались два вируса: вирус инфлуэнцы и вирус, задерживающий рост томатов. Для этих вирусов получились значения M соответственно 322 миллиона и 9 миллионов. Для вируса инфлуэнцы размеры частиц получились равными 97 $m\mu$, что хорошо согласуется с измерениями при помощи электронного микроскопа. Молекулярный вес вируса томата, определённый из рассеяния света, находится в согласии с определениями путём ультрацентрифугирования и диффузии.

Ввиду развития, которое получила за последнее время фотометрия и спектрофотометрия, метод рассеяния несомненно приобретёт в ближайшее время широкие применения.

Э. Шпольский

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. P. Debye, J. Appl. Physics **15**, 338 (1944).
2. A. Einstein Ann. d. Phys. **33**, 1275 (1910).
3. P. P. Debye J. Appl. Physics **17**, 392 (1946).
4. Gerald Oster Science **103**, 306, 1946.

*) В работе П. Дебая имеется указание на то, что результаты Эйнштейна для случая смесей могут быть перенесены на растворы. Однако, применённый Дебаем метод флуктуаций концентраций изящнее и проще.