

生物医学光子学·

低强度激光准弹性光散射实验研究^{**}

李绍新, 邢 达, 谭石慈

(华南师范大学激光生命科学研究所, 广东 广州 510631)

摘要:建立了小型实用的低强度激光准弹性光散射实验装置,并侧重考虑了其光源、样品池和探测器的选择和设计。实验结果表明,用低功率的 He-Ne 管能够满足实验要求;设计的双层折射率样品匹配池能减少杂散光;用梯度折射率单模光纤代替针孔光阑能极大地提高散射光的收集、传输效率。分析得出,引起实验结果偏差的原因是基线测量的误差和样品中偶然的灰尘的影响。

关键词:准弹性光散射;线宽;粒径测量

中图分类号: O432.2; R318.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-0086(2003)05-0551-04

Experimental Study on Quasi-elastic Light Scattering with Low intensity Lasers

LI Shao-xin, XING Da, TAN Shi-chi

(Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: A novel compact system for quasi-elastic laser light scattering experimental with low-intensity laser was designed and established. During the designation the selection of light source, sample cell and detector were carefully considered according to the purpose of the applications. A bilayer index match cell can largely decrease scattering from windows and a gradient-index single mode fiber replacing the pinhole diaphragm greatly improve the collecting and transmitting efficiency of scattering photons from pumping zone. The result of experiment indicates that, the system can well meet the experimental requirements at the present designation model. The some deviation on experiment result is caused by the error of baseline and the affection of occasional dust in sample.

Key words: quasi-elastic laser light scattering; line width; particle size measurement

1 引言

准弹性光散射技术是 20 世纪 70 年代发展的实验技术^[1~3],利用该方法能快速、准确地测定溶液中高分子或胶体质点的平均扩散系数,从而得知其大小或流体力学半径及其分布,其应用遍及生物、物理和化学等诸多领域^[4~7]。目前,科研中的光子相关谱仪使用大功率的光源和笨重的水冷系统,不适用工业现场的检测。本文建立了一小型实用的低强度激光准弹性光散射实验装置。该装置通过设计双层折射率样品匹配池减少了杂散光;用梯度折射率单模光纤代替针孔光阑极大地提高了散射光的收集、传输效率。

实验表明,用低功率 He-Ne 管测量的结果在误差范围内。该装置能够实现工业现场的检测。

2 原理

图 1 示悬浮液中某两个粒子被波长为 λ 的单色平面光照射,它们的散射光在空间 P 点处形成干涉。由于粒子在液体中做布朗运动,即每个颗粒的位置随时间在不停的变化,从而引起该点处的干涉光强度的起伏。在实际的测量时,测量区中有大量的散射颗粒,因此某一时刻在该点处的干涉光强度是所有参与散射颗粒共同作用的结果。设散射颗粒为全同粒子,即单分散体系,且粒子间没有相互作用力,在点 P 处

* 收稿日期:2002-09-23 修订日期:2003-01-17

* 基金项目:广东省自然科学基金团队资助项目(015012);国家杰出青年科学基金资助项目(69725009)

随时间起伏的光强为 $I_s(t)$,则其归一化自相关函数为

$$G^{(2)}(\tau) = \langle I_s(t) I_s(t + \tau) \rangle / \langle I_s(t) \rangle^2 \quad (1)$$

式中, $I_s(t)$ 、 $I_s(t + \tau)$ 为在时刻 t 和时刻 $t + \tau$ 所接收到的所测颗粒的散射光强信号; τ 为延迟时间;角括号表示对一段时间的平均。在自拍模式下,电场的归一化自相关函数 $g^{(1)}(\tau)$ 为

$$g^{(1)}(\tau) = \langle E_s(t) E_s^*(t + \tau) \rangle / \langle E_s(t) \rangle \quad (2)$$

式中 $E_s(t)$ 是散射光场。对于无限稀溶液,散射场服从高斯分布,由 Siegert 关系^[2] 有

$$G^{(2)}(\tau) = A[1 + \exp(-2\tau)] \quad (3)$$

式中, A 是基线常量; τ 是空间相干因子,与仪器的探测面积大小有关; τ 是线宽,与扩散系数 D 的关系为

$$\tau = Dq^2 \quad (4)$$

其中 q 为散射波矢的模

$$q = \frac{4}{\lambda} n_0 \sin \frac{\theta}{2} \quad (5)$$

式中, n_0 为介质(溶剂)的折射率; λ 为光在真空中的波长。

根据 Stokes-Einstein 关系式

$$D = \frac{k_B T}{6 \pi \eta r} \quad (6)$$

可以求出球形粒子的半径 r 。式中, k_B 是 Boltzman 常数; T 是绝对温度; η 是液体的粘稠系数。

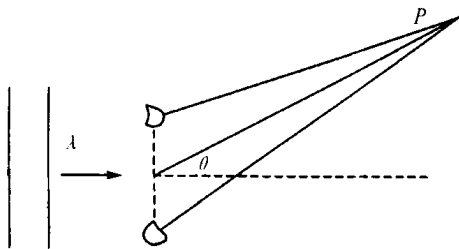


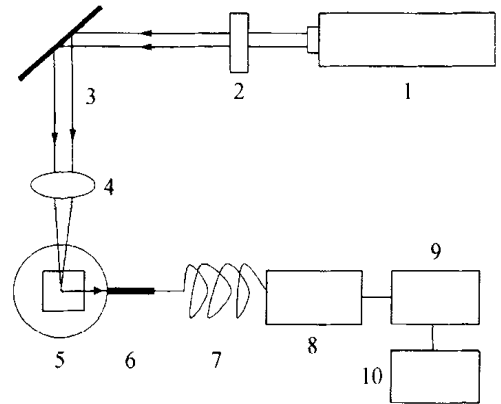
图1 计算两个粒子散射光强度的几何位置关系

Fig.1 Geometry situation of two particle scattering intensity

3 仪器装置

图2是组装建立的光子相关谱仪结构示意图。选用功率为2 mW的 He-Ne 管做光源;样品池是自行设计的双层折射率样品匹配池,其中间放置四面透光的石英皿盛放样品。散射光由具有梯度折射率探头的单模光纤收集传输。自相关器是美国 Correlator 公司开发的 Flex99R-160B 型数字相关器,272 通道,多个采样时间。此光谱仪在 15~90 温度范围内进行光散射测量。样品的用量为 1 ml。散射光经过单模

光纤耦合进光电倍增管进行光放大,由单光子计数系统可进行静态光散射测量;单光子计数器的信号经过自相关器处理后可得到散射光强时间自相关函数。



1 Laser, 2 Polarization, 3 Prism, 4 Focus lens, 5 Cell and temperature control, 6 Gradient lens, 7 Single-module fiber, 8 Single photon detector or module, 9 Autocorrelator, 10 Computer

图2 光子相关谱仪结构示意图

Fig.2 Photon correlation spectroscopy schematic diagram

在建立装置过程中,基于实验的要求,做了如下的设计安排。

首先是光源的选取。选用几 mW 的 He-Ne 管做光源的考虑为:以水做溶剂的样品对此波长的光无吸收峰,也不受吸收产生荧光,在此波长下光电倍增管有较高的量子效率;He-Ne 管输出的功率稳定,不会因为入射光强的涨落本身给线宽测量带来误差;基横模 TEM_{00q}光斑均匀,光束截面上光通量密度的分布为理想的高斯型、光束截面上各点电场间无相移,是完全的空间相干光,光束的发散角最小,便于聚焦成最小的光斑。

其次是样品池的设计问题。设计了一个双层折射率样品匹配池,池的外层内壁采用涂黑的金属 Al 吸收池内的杂散光及在池壁上的反射光;折射率匹配液采用甘油,因为甘油和石英的折射率(1.47)最接近,这样可以有效的减少入射光在石英壁上的反射;在池的底部加了循环水恒温装置,实验时保证样品池中的温度变化控制在 0.1 内,有效防止了散射液的对流而影响相关函数。

以往的采集光路部分使用 2 个相距一定距离的针孔光阑,直接收集、传输散射光给 PMT。这其中有缺点为,散射光的采集效率低下,不得不提高入射光的功率。本文做了改进:用 1 根单模梯度折射率光纤来收集、传输散射光,极大地提高了散射光的收集效

率。因而用低功率的激光器也能测出很精确的自相关曲线。

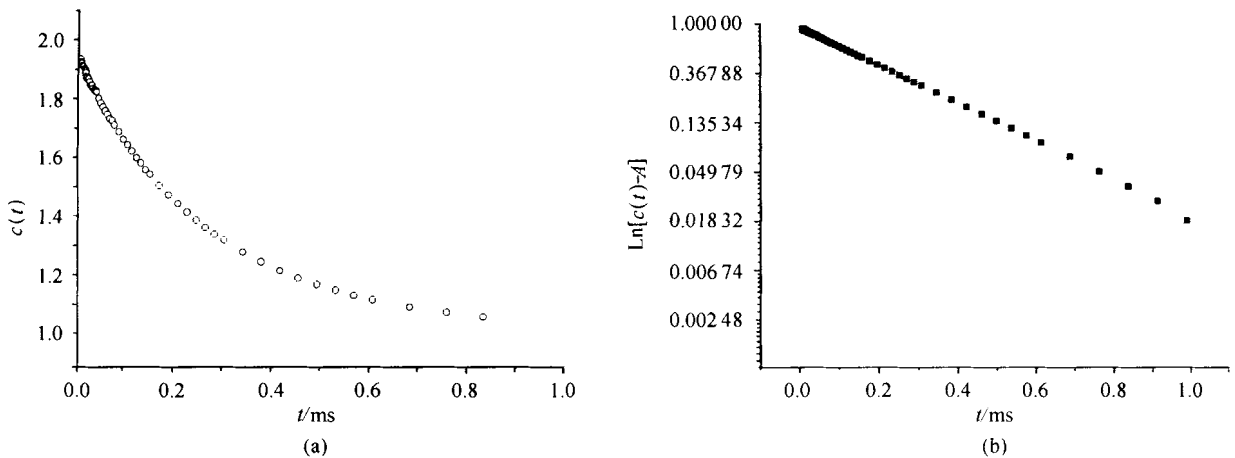
最后,对于一般的实验要求,64通道的相关器就够了。通道数越多可以增加实验点数,减少统计误差并扩大延迟时间范围。为了适合于研究宽分布的多分散性体系,采用了具有多个采样时间的相关器,以便测出的相关函数曲线包括很宽的延迟时间范围。

4 实验与结果

用本实验系统测试了德国 SIGMA 公司生产的标准聚苯乙烯球。取聚苯乙烯球乳液(标称 0.100 μm,浓度 10%)4 μl,加三蒸水 2 ml 稀释。将稀释液离心(10000 g)30 min。轻取溶液的上部部分测试。图 3(a)是测得的光强-光强自相关曲线,图 3(b)是扣除基线后所做的光强自相关的对数图。由于采用的相关器具有多个采样时间,最初的采样时间是 150 ns。在这样短的时间内采集 1 个光子的几率是很小的,因此

光电倍增管内后脉冲的影响相对较大,导致相关函数出现峰值,必须去掉前面的几个函数值。去掉了最初的 16 个通道点后,所取的延迟时间从 4.8 μs 到 0.8 ms。从图像看出,是很平滑的单指数衰减曲线。通过单指数衰减拟合,拟合出的 χ^2 值为 1.88148E-5,说明拟合是非常成功的,也说明了仪器的测量非常精确。对数图是一直线,进一步说明自相关曲线是单指数衰减曲线。直线的尾部有几个点发生了偏移而向下弯曲,主要原因是由于偶然的灰尘或者大颗粒的影响使基线有微小的增大;延迟时间增加到一定的程度后光强的相关性变得非常微小,相关系数对基线的误差极其敏感,因此基线微小的增大将使取了对数的函数尾部骤然的下降。因此,在实验时基线的测量要非常小心,否则将会使测量的结果发生很大的误差甚至错误。

由对数图的斜率知道了线宽,最后根据式(6)求出粒子的粒径来 0.101 μm。与标称值相差极小,误



Measure time $t = 300$ s, $T = 300$ K, Delay time $t = 1.0$ ms, $\rho = 0.85$ cps, $P = 2$ mW

图 3 (a) Latex 的光强自相关曲线; (b) Latex 的光强自相关对数图

Fig. 3 (a) The intensity correlation curve of latex; (b) The intensity correlation logarithm table

差在 1% 内。

利用本系统还测试了人血清白蛋白的粒径大小,通过双指数拟合出的结果比文献[8]的结果偏大。这是由于(6)式成立的条件是单分散性球形粒子,若不满足此条件,则求出的是平均尺寸。实验中,白蛋白具有一定的尺寸分布,同时还有灰尘的影响,大粒子散射光所占的权重比小粒子大,因此拟合出的小粒子平均尺寸大小比考虑粒径分布后拟合出的结果偏大。对多分散性体系的测量,可参阅文献[9~12]。

参 考 文 献:

[1] 左 策. 激光散射原理及在高分子科学中的应用[M].

河南:河南科学技术社,1994.

[2] B Chu. Laser light scattering [M]. New York: Academic Press, 1974.
 [3] Zhou Zukang. Dynamic light scattering [J]. Chemistry, 1986, 10: 34-39. (in Chinese)
 [4] Zhang Weibin, Zhuang Rongwei. Experiment study of dynamic light scattering [J]. Journal of Huaqiao University, 1997, 18(1): 16-20. (in Chinese).
 [5] J Pencer, et al. Osmotically induced shape changes of large unilamellar vesicles measured by dynamic light scattering [J]. Biophys. J., 2001, 81(5): 2716-2728.
 [6] R Bar-Ziv, et al. Localized dynamic light scattering probing

- single particle dynamics at the nanoscale[J]. Phys. Rev. Lett. ,1997 ,**78**(1) :154-157.
- [7] A Papish , et al. Dynamic light scattering study of calr odulin-target peptide complexes[J]. Biophys. J. ,2002 ,**83** (3) :1455-1464.
- [8] A K Gaigalas , et al. Diffusion of bovine serum albumin in aqueous solutions [J]. J. Phys. Chem. ,1992 ,**96** (5) : 2355-2359.
- [9] D E Koppale. Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: the method of cumulants[J]. J. Chem. Phys. ,1972 ,**57**(11) :4814-4820.
- [10] S W Provencher. A fourier method for the analysis of exponential decay curves[J]. Biophys. J. ,1976 ,**16**(1) :27-41.
- [11] S W Provencher. An eigenfunction expansion method for the analysis of exponential decay curves[J]. J. Chem. Phys. ,1976 ,**64**(7) :2772-2777.
- [12] S W Provencher. A constrained regularization method for inverting data represented b linear algebraic or integral equations[J]. Computer Phys. Commun. ,1982 ,**27** (1) : 213-227.

作者简介:

李绍新 (1972 -) ,男 ,湖南常德人 ,华南师范大学激光生命科学研究所在读硕士研究生 ,研究方向为利用准弹性光散射进行生物分子测量及遗传算法的应用.