

适用于水溶液测定的渗透计

(中国医学科学院 中国科学院化学研究所)

王琳芸 余世誠

通常的 Zimm-Meyerson 式渗透计,对水溶性高聚物(包括天然高分子如蛋白质等)的分子量测定,由于水的表面张力大,溶液池和溶剂池的水柱相差几个毫米时,测量毛细管中水柱的移动往往不敏感,故需要在水柱上加一段甲苯使水柱能自由升降,对 Zimm-Meyerson 渗透计来说,这一段甲苯改正的计算很不方便。Adair^[1]使用火棉胶制成的囊状膜,用线扎在毛细管上测定蛋白质的分子量,囊状膜内置溶液,上置一段缓冲液再加一段甲苯,防止甲苯使蛋白质变性。后来这种渗透计的测定装置有很多改进^[2,3,4]。Hepp^[5]设计一种在外加压力下测定蛋白质分子量的渗透计,后来也有很多改进^[6,7,8,9],本文介绍此型渗透计的一种新的设计。

渗透计用有机玻璃块制成,厚 1.5 厘米,长、宽各 8 厘米,上下两块如图 1(见封底内页),上为溶液池,下为溶剂池,溶液池与溶剂池的接触面上刻有同心圆槽,溶液池和溶剂池的接触面和侧面均须磨平。溶液池上有三个有机玻璃的管道,中间的一个接压力计,旁边的两个配有内衬橡皮垫的有机玻璃螺旋帽,为注入溶液时赶走气泡用。溶剂池也有三个有机玻璃的管道,背后的一个接 U-形管,两侧的两个也配有内衬橡皮垫的有机玻璃的螺旋帽,为注入溶剂时赶走气泡用。

毛细管用汞水和甲苯两次选择,压力计系通玻管,带有活塞内贮水银,固定在有机玻璃板上。盛溶剂的 U-形管系厚壁的硬质玻管,短臂连接溶剂池,长臂的上部是毛细管长 15 厘米供测定渗透压用,毛细管下部接一支管供注入甲苯用,用一铜质三通活塞控制,活塞上涂少量淀粉和甘油的混合物以防漏。渗透计、压力计和 U-形管用橡皮管连接成密闭系统,整个仪器固定在一可上下移动的铜架上,如图 2 所示(见封底内页)。测定时整个仪器放入恒温槽。

实 验 方 法

半透膜:

用表面无甘油的玻璃纸,在 50% ZnCl_2 中 25° 浸泡 30 分钟,此条件需严格控制因氯化锌浓度,浸泡时间与温度对膜的溶胀程度有关^[10,11]。取出后经水、稀盐酸、蒸馏水漂洗,最后保存在蒸馏水中备用。市售玻璃纸表面往往有甘油及脂肪酸可经下列方法处理除去^[12]。

- 无水乙醇:水 60:40 的混合液浸泡一小时。
- 含有 1% NH_4OH 的上述溶液浸泡数小时。

处理过的玻璃纸膜,它的渗透速率有显著的增加,但用酚试剂检验,可知清蛋白分子并不透过这种半透膜。

测定方法:

渗透计夹紧后,溶液池(上池)先用待测溶液洗涤三次,然后注满,注意勿使产生气泡,用配有橡皮垫的螺旋帽关闭两边的通气孔道。U-形管和连三通活塞的支管先注入适量甲苯,然后在 U-形管的短臂注入溶剂,用橡皮管连接溶剂池(下池),从溶剂池的侧管注入溶剂,操作时注意勿产生气泡,同样用螺旋帽关闭溶剂池的两个测管,用橡皮管将毛细管的上端和溶液池的中管与水银压力计的两臂相连,整个仪器放入空气恒温槽用动平衡法(或称速率终点法)进行测定。

当在溶液上外加压力 P 适等于溶液的渗透压时, 溶剂透过半透膜的速率为零, 所以在几个不同的外加压力下测定溶剂的透过速率 $\frac{dh}{dt}$, 在 $\frac{dh}{dt}$ 对 P 的图上用内插法求得 $\frac{dh}{dt} = 0$ 时的 P 值, 即渗透压。实验时加压力于溶液池, 调节毛细管内甲苯液面与溶液池中管内溶液面同样高度, 目的是为了消除两方的液柱高度差引起对毛细管内液面流动的影响。最后关闭活塞, 整个仪器成密闭系统, 若在渗透池上的外加压力大于溶液的渗透压, 则毛细管内的甲苯液面向上移动, 若外加压力小于溶液的渗透压则甲苯液面向下移动, 在我们的实验中, 都采用大于渗透压的外加压力, 关闭活塞后五分钟测定毛细管内液面的移动速率, 用一可读到 1/10 秒的停錶记录时间, 水银柱高度和毛细管内的液面高度可用能读到 1/20 毫米的测高仪读取。在用同一压力下重复测定 3—5 次, 每次相差不超过 0.01 厘米, 测毕打开所有活塞, 分别地在不同的外加压力下测定渗透速度。

实 驗 結 果

我們用上述渗透計, 在一个浓度用动平衡法测定牛血清清蛋白和人血清清蛋白的分子量。清蛋白在 0.5M NaCl 中比浓渗透压的浓度依赖性极小^[13]所以可以从一个浓度的渗透压数据按 $\pi/C = RT/\bar{M}_n$ 計算数均分子量。結果如表 1 和图 3。

表 1 动平衡法测定清蛋白在 0.5 M NaCl 中的渗透压数据, 25°C

牛血清清蛋白 外加压力 (水柱, 厘米)	浓度 1.10×10^{-2} g/毫升 流速 (毫米/分)	人血清清蛋白 外加压力 (水柱, 厘米)	浓度 1.62×10^{-2} g/毫升 流速 (毫米/分)
12.8	0.60	15.6	0.50
21.6	1.20	26.8	1.00
31.8	1.90	34.8	1.40
40.6	2.55	46.4	2.00
		50.3	2.20
		62.6	2.80
$\pi = 4.3$ $\bar{M}_n = 6.5 \times 10^4$		$\pi = 6.2$ $\bar{M}_n = 6.6 \times 10^4$	

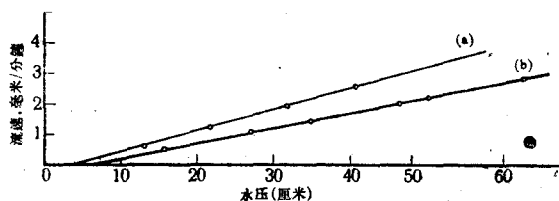


图 3 动平衡法测定清蛋白的分子量(0.5 M NaCl)

a. 牛血清清蛋白; b. 人血清清蛋白

所用两种清蛋白, 均經 Cohn. 10 低温乙醇法分离, 并經正丙醇甘氨酸緩冲液提純, 清蛋白的浓度用双縮脲試剂显色法测定。

我們对这两种清蛋白进行了多次重复测定如表 2。

平均的 $\bar{M}_n = 6.6 \times 10^4$

平均的 $\bar{M}_n = 6.5 \times 10^4$

血清清蛋白分子量文献值是 6.9×10^4

表 2

牛 血 清 清 蛋 白			人 血 清 清 蛋 白		
浓 度 c 克/毫升 $\times 10^2$	渗 透 压 π 克/厘米 ^{2}	$\bar{M}_n \times 10^{-4}$	浓 度 c 克/毫升 $\times 10^2$	渗 透 压 π 克/厘米 ^{2}	$\bar{M}_n \times 10^{-4}$
0.81	3.1	6.6	1.23	5.0	6.7
0.81	3.0	6.8	1.43	5.4	6.2
0.93	3.6	6.5	1.58	6.0	6.7
1.10	4.3	6.5	1.47	6.0	6.3
1.34	5.0	6.8	1.62	6.2	6.6

参 考 文 献

- [1] G. S. Aden, Proc. Roy Soc. **A 108**, 627 (1925).
 [2] H. B. Bull, J. Biol. Chem. **137**, 143 (1941).
 [3] J. T. Edsall, The Protein 第一卷, 第二部份, 599 (1953).
 [4] H. B. Oakley, Trans. Faraday Soc. **31**, 136 (1953).
 [5] Q. Hepp, Z. ges. exptl. Meg. **99**, 709 (1936).
 [6] I. S. Rehm, Science **100**, 364 (1944).
 [7] F. R. McCann., & S. Rothman, J. Polymer Soc **18**, 151 (1955).
 [8] H. Kämmerer, W. Kern und G. Henscr, J. Polymer Sci. **28**, 331 (1958).
 [9] G. Scatchard, Am. Scientist **40**, 61 (1952).
 [10] J. McBain, J. Phys. Chem. **40**, 1157 (1936).
 [11] W. B. Seymour, J. Biol. Chem. **134**, 701 (1940).
 [12] S. R. Carlet & B. R. Record, J. Chem. Soc. **1**, 660 (1939).
 [13] H. Gutfreund, Trans. Faraday Soc. **50**, 628 (1954).

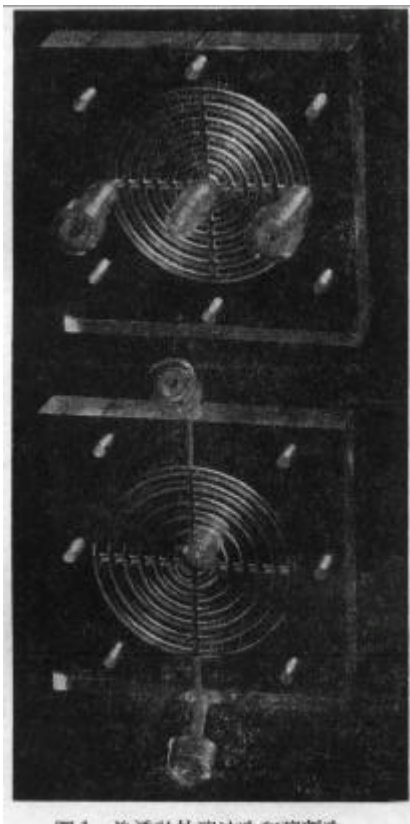


图 1 渗透计的溶液池和溶剂池

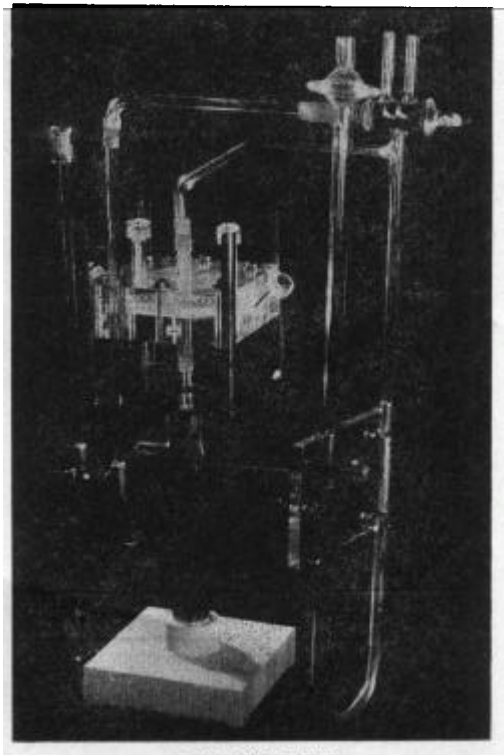


图 2 渗透计装置