

## КОЛЕБАНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТОРАССЕЯНИЯ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ БЕЛКОВ

ЧЕРНИКОВ Ф. Р.

Методом светорассеяния в воде, водных растворах электролитов и белков обнаружены периодические колебания амплитудой 10—40%. В глицерине и ксилоле это явление отсутствует. В воде зарегистрированы колебания с периодом от десятков секунд до десятков минут, введение неорганических ионов и белков сужает спектр этих колебаний в пределах отмеченного диапазона, давая характерный для каждого из них колебательный процесс. Установлено, что постоянное и переменное магнитные поля заметно меняют параметры обнаруженных колебаний уже при  $\sim 80$  А/м. Исходя из теории молекулярного рассеяния света, регистрируемые колебания можно связать с динамикой структуры исследуемых сред.

При исследовании физических основ функционирования протоплазмы большое внимание уделяется изучению физических свойств воды, в частности ее структуры и структурной динамики. Один из показателей, отражающих структурные параметры воды,—ее светорассеивающие свойства. Несмотря на длительную историю их исследования, различия коэффициента светорассеяния для воды у разных авторов достигают 20—30% [1], и приводимая в справочной литературе величина  $1,3 \cdot 10^{-6}$  может рассматриваться лишь в качестве общепринятой. Основной причиной расхождения результатов измерения светорассеяния чистой воды считаются ошибки, связанные с прямой засветкой, а также с примесями, повышающими рассеяние и дающими флуоресценцию. В нашем исследовании обнаружен еще один фактор, не связанный с погрешностями техники измерения и существенно влияющий на величину светорассеяния.

*Методика.* Для исследования использовали бидистиллированную воду, получаемую в стеклянном бидистилляторе. Перед заполнением кюветы воду фильтровали через ацетатный фильтр фирмы «Сарториус» с диаметром пор 0,2 мкм. Для исследования приготавливали 0,3 М растворы электролитов («Ч.Д.А.») и разбавленные растворы гемоглобина, иммуноглобулина и химотрипсина фирмы «Серва». Исследуемые образцы помещали в кювету цилиндрической формы диаметром 7 мм, объемом 4 мл с фторопластовой пробкой. Перед заполнением ее промывали детергентом «7Х» фирмы «Флоу лабораториус» и разбавленным раствором соляной кислоты, а затем многократно прополаскивали бидистиллированной водой.

Светорассеяние измеряли на установке «Система 4300» фирмы «Малверн», которая состоит из источника света (гелий-неоновый лазер), фотодетектора (ФЭУ), блока коррелятора (К 7023) и измерительного бокса. Стандартный измерительный бокс заменен боксом собственного изготовления, выполненным из дерева со всеми основными размерами стандартного бокса. Его внутренняя полость имеет цилиндрическую форму диаметром 70 мм и покрыта черным сукном, в центре по оси бокса располагается измерительная кювета. В плоскости зондирующего луча бокс на протяжении полуокружности имеет щель высотой 3 мм. Термостатирование осуществляется с помощью продувки бокса воздухом заданной температуры. Воздух берется из центральной магистрали и термостатируется авторегулируемым нагревателем с блоком электронного управления (фирмы «Малверн»). Источником света служил гелий-неоновый оптический квантовый генератор (ОКГ) с длиной волны 638 нм. Мощность излучения, фокусируемого на кювету, составляла 0,4 мВт, она контролировалась измерителем мощности 4445 фирмы «Спектра-физикс».

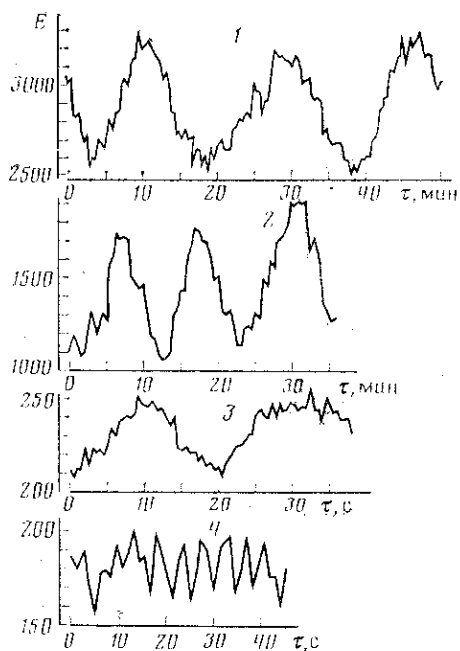


Рис. 1

Рис. 1. Виды колебаний уровня рассеянного света в воде,  $E$  — уровень рассеянного света (количество фотонов);  $\tau$  — время

Рис. 2. Колебания уровня рассеянного света в глицерине (1), ксилоле (2) и темного тока ФЭУ (3); обозначения см. рис. 1

Рис. 3. Колебания уровня рассеянного света в растворах  $KCl$  (1),  $KH_2PO_4$  (2),  $NaOH$  (3),  $NaH_2PO_4$  (4),  $KHCO_3$  (5),  $NaHCO_3$  (6), обозначения см. рис. 1

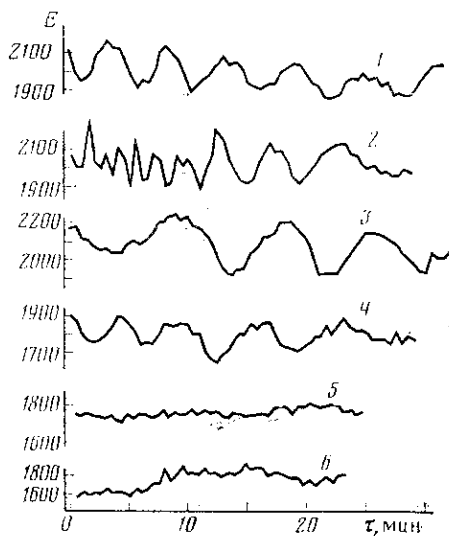


Рис. 3

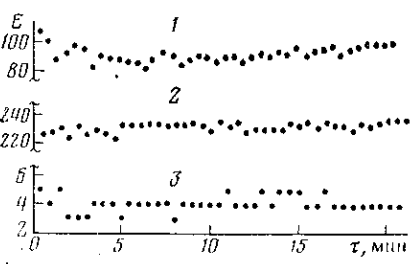


Рис. 2

Рассеяние измеряли под углом  $90^\circ$  в режиме счета фотонов. Дискретный сигнал подавался на блок коррелятора, осуществлявшего счет импульсов (фотонов) за определенный интервал времени (обычно 5 с) через заданный промежуток времени (обычно 30 с). Интенсивность рассеянного света выражается в числе импульсов (за соответствующий интервал времени). Магнитное поле в объеме измерительной кюветы формировалось с помощью катушек Гельмгольца (диаметр 80, высота 40 мм), расположенных в измерительном боксе и соосных с кюветой. Источниками тока служили: источник постоянного тока ТЕС-13 и звуковой генератор Г6-26. Напряженность магнитного поля оценивали по величине тока в катушке.

**Результаты и обсуждение.** При исследовании рассеянного света в воде (рис. 1), глицерине, ксилоле и темнового тока ФЭУ (рис. 2) обнаруживается флуктуирующий характер регистрируемого сигнала. При этом по виду флуктуаций вода резко отличается от глицерина, ксилола и темнового тока ФЭУ. В воде в пределах регистрируемого отрезка времени наблюдается колебательный процесс с хорошо выраженными периодами, величина которых различается в разных экспериментах, проводившихся в разные дни. Большинство регистрируемых периодов равно 30—45, 15—20, 1—6 мин и десятки секунд, имеются также колебания с периодом 1 ч и более. Амплитуда в разных экспериментах меняется от 10 до 40% от среднего, обычно колебания с большим периодом имеют и большую амплитуду.

Как следует из изложенного, эти колебания не являются следствием режима работы ФЭУ или ОКГ, дальнейшие эксперименты показали, что они не связаны также с реакцией среды на зондирующее излучение. Фаза, частота и амплитуда колебаний не имеют связи с моментом начала засветки и не зависят от ее режима. Колебания, регистрируемые после длительной ( $\geq 1$  ч) засветки образца и регистрируемые сразу (через 1—2 с) после попадания луча на кювету, не отличаются друг от друга. Переход от непрерывного режима засветки к прерывистому (засветка в течение 3 с на момент регистрации с перерывом на 27 с) также не влиял на параметры регистрируемых колебаний. Фаза, частота и амплитуда колебаний не зависят также от мощности зондирующего луча (в пределах изменяющейся в эксперименте мощности). В процессе выхода ОКГ на стационарный режим в течение 1 ч (повышение мощности от 0,08 до 0,4 мВт) увеличивается только средний уровень рассеянного света, частота же и амплитуда его колебаний не меняются.

Проводилась съемка зоны прохождения луча в кювете в режиме голографической интерферометрии (второй подсвечивающий гелий-неоновый ОКГ, экспозиция 1 с через 15 и 30 с). Показано отсутствие оптических неоднородностей в этой зоне, связанных с изменением температуры или конвекцией. В зоне же микротермопары (в контрольной кювете), нагретой до  $\sim 0,1^\circ\text{C}$ , четко прослеживалась темная зона, отражающая повышение температуры, причем картина конвективных токов отсутствовала. Полученные данные свидетельствуют о том, что нагрев воды до уровня  $0,1^\circ\text{C}$  в локальной области, который в зоне луча даже не достигается, не достаточен для возникновения конвекции в нашей кювете. Это совпадает с теоретическими оценками условий возникновения конвекции [2].

Дополнительным свидетельством против связи обнаруженных колебаний с конвективными токами вследствие температурных градиентов служит наличие одинаковых колебаний в столбах воды высотой 40 и 4 мм в кюветах диаметром 7 и 2 мм, во всех случаях условия возникновения конвекции значительно различаются.

В то же время на параметры описанных колебаний заметное влияние оказывают примеси. Введение различных неорганических ионов вызывает характерные для каждого из них колебательные режимы (рис. 3). Так, ионы калия (в составе различных соединений) дают более короткие периоды колебания, чем ионы натрия. В растворах, содержащих ион  $\text{НСO}_3^-$ , подобные колебания отсутствуют. Это обстоятельство является дополнительным свидетельством того, что описываемое явление в воде не связано с влиянием зондирующего луча.

Растворы белков разного типа также обладают характерным для каждого из них видом колебательного процесса (рис. 4). Так, в растворе гемоглобина наблюдаются колебания с периодом 15—20 мин., на которые наложены колебания меньшей амплитуды с периодом 1—3 мин. В растворе химотрипсина регулярность флуктуаций выражена слабо и трудно выделить доминирующий период. В растворе иммуноглобулина регистрируется длиннопериодический (30 мин) высокоамплитудный процесс.

Большое влияние на параметры указанных процессов оказывает магнитное поле. В воде (рис. 5, кривая 2) и растворах белков (рис. 4, кривая 2) наложение поля надпороговой величины приводит к увеличению частоты и амплитуды колебаний, причем с увеличением напряженности магнитного поля частота колебаний увеличивается. Для постоянного поля пороговая величина лежит в области 80—120 А/м, а поля напряженностью 400 А/м оказывают уже выраженное влияние. Изменения возникают сразу (в течение 30—60 с) после приложения поля, а после его снятия начинается процесс уменьшения амплитуды и увеличения периода. Для низкочастотного переменного магнитного поля пороговая величина лежит ниже 80 А/м.

Таким образом, в воде и водных растворах наблюдается «спонтанный» процесс периодического изменения светорассеивающих свойств, не

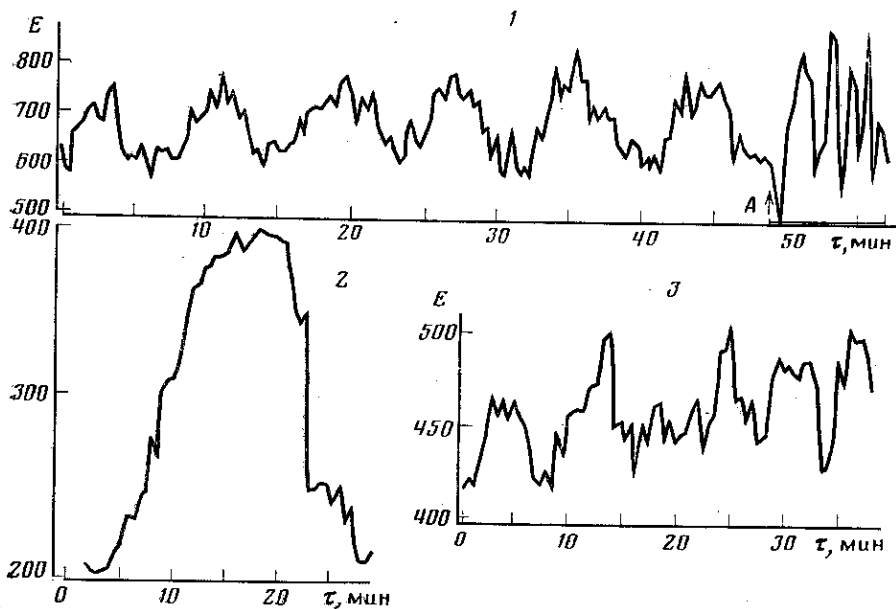


Рис. 4. Колебания уровня рассеянного света в растворах гемоглобина (1), иммуноглобулина (2), химотрипсина (3); А — действие постоянного магнитного поля ( $\sim 400$  А/м), обозначения осей см. рис. 1

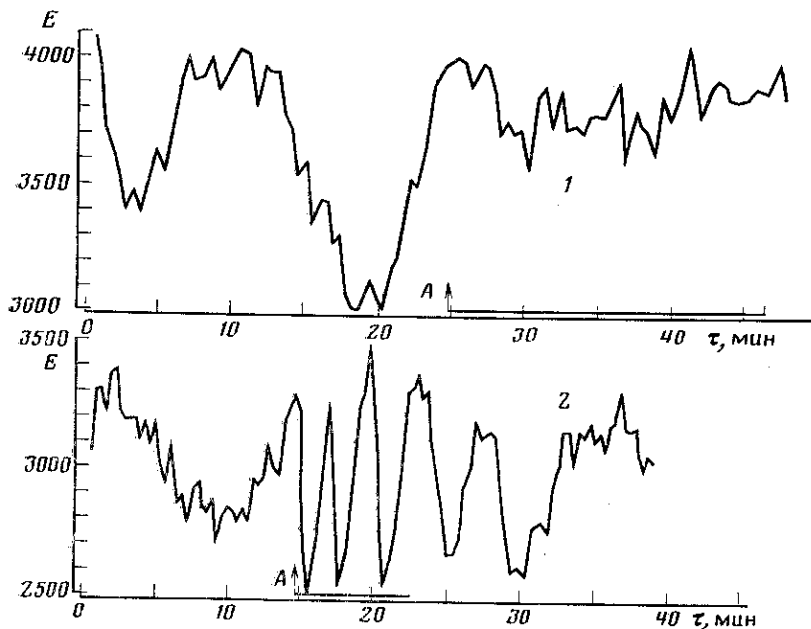


Рис. 5. Влияние постоянного магнитного поля на уровень светорассеяния в воде,  $H=80$  (1), 400 А/м (2); А — действие магнитного поля, обозначения осей см. рис. 1

являющийся реакцией среды на зондирующее излучение. Против индуцирования колебаний лучом лазера свидетельствует, во-первых, отсутствие данного явления в средах, мало отличающихся по величине поглощения этой области спектра от чистой воды, во-вторых, отсутствие влияния на его параметры режима засветки и, наконец, отсутствие в области зондирующего луча оптических неоднородностей на голографической интерферограмме, а также отсутствие зависимости колебаний от геометрии столба воды.

Можно предполагать с достаточным основанием другую физическую основу обнаруженного явления. В соответствии с теорией молекулярного рассеяния света в жидких средах рассеяние происходит на оптических неоднородностях, связанных с флуктуациями температуры, плотности и структуры в локальных областях среды [3, 4]. Согласно двухструктурным моделям [5], основные идеи которых сохраняются и в более адекватных континуальных моделях [6], вода имеет локальные различия структуры с постоянной динамикой взаимных переходов (мерцающие кластеры). Исходя из этого, увеличение и уменьшение уровня рассеянного сигнала можно связать с увеличением и уменьшением числа структурных неоднородностей, и в нашей работе показана временная упорядоченность подобных структурных переходов. Ионы электролитов и макромолекулы, влияя на структуру воды, вносят заметные изменения в эту динамику. По своей природе выявленные колебания можно отнести, по-видимому, к колебаниям типа фликкер-шумов, широко распространенных в природе. К ним, в частности, относятся колебания активности ферментов, с которыми описанные в работе колебания могут быть непосредственно связаны [7].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Kratohvil J. P., Kerker M., Oppenheimer L. E.* J. Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 914.
2. *Бояринцев Д. И.* Журн. техн. физики, 1950, т. 20, вып. 9, с. 1084.
3. *Кросиньяни Б., Ди Порто П., Бертолотти М.* Статистические свойства рассеянного света. М.: Наука, 1980.
4. *Cohen G., Eisenberg H. J.* Chem. Phys., 1965, v. 43, p. 3881.
5. *Самойлов О. Я.* Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. М.: Изд-во АН СССР, 1957.
6. *Наберухин Ю. И.* Журн. структур. химии, 1981, т. 22, № 6, с. 62.
7. *Шноль С. Э., Намиот В. А., Жвирблис В. Е. и др.* Биофизика, 1983, т. 28, № 1, с. 153.

Поступила в редакцию  
1.VII.1985

### DYNAMICS OF LIGHT SCATTERING INTENSITY IN AQUEOUS SOLUTIONS OF PROTEINS

CHERNIKOV F. R.

Periodical fluctuations of the amplitude by 10—40% were discovered in water and water solutions by the light scattering method. This phenomenon was absent in glycerol and xylol. The fluctuations in water had the periods from tens of seconds up to tens of minutes. Inorganic ions and proteins narrowed the spectrum of these fluctuations. The constant and alternating magnetic field of the magnitude close to 80 A/m changed the parameters of these fluctuations. According to the theory of molecular light scattering the recorded fluctuations could be related to the structure dynamics of the studied media.