



第1章

分析超速离心技术的基本原理

1.1 发展简史

1908年,Perrin通过制备均匀分散的稳定乳液,在重力场下实现沉降平衡,并通过测量不同位置的粒子浓度,得出了阿伏伽德罗常数(Perrin,1926)。1913年,Dumansky等人(1913)首次尝试利用离心法测量粒子的尺寸,但由于圆柱体离心池中的对流问题而未能成功。1922年,瑞典科学家Svedberg研究了不同胶体颗粒在重力场中的沉降,并发展了一种根据粒子浓度在不同时间和不同位置的变化检测粒径分布的方法。但对小于100nm的粒子,仅在地球重力场作用下,其沉降较慢,无法准确测量粒子尺寸。因此,Svedberg和Rinde(1923b)提出了在离心场中使用这种方法来研究更小尺寸的胶体颗粒。

1923年,Svedberg在威斯康星大学访问期间,与Nichols一起研制了配备有光学检测系统的离心机,成功观测到尺寸在20~150nm范围的粒子在离心场中的沉降(Svedberg et al.,1923a)。然而,由于溶液在圆柱体离心池中存在沿着管壁的对流问题,他们没能给出关于沉降速度简单而精确的计算(Pedersen,1976)。为此,Svedberg等人进行了一系列改进:一是设计了扇形样品池以减少溶液对流;二是向仪器中通入压力约20mmHg的氢气用于散热,以提高温度均匀性,减少由温度差引起的对流;三是采用油涡轮驱动的方法。最终,他们成功发明了分析超速离心(analytical ultracentrifugation, AUC)技术(Svedberg et al.,1924)。该技术最初用于研究胶体金等胶体颗粒的沉降行为,后应用于蛋白质的表征(Svedberg et al.,1926a,b; Svedberg et al.,1928)。通过在低转速下的沉降平衡实验和在高转速下的沉降速度实验,证明了蛋白质具有确定的分子量。由于Svedberg在分散体系中的杰出贡献,包括通过实验验证了爱因斯坦-布朗运动理论,他于1926年获得诺贝尔化学奖。

早期的AUC仪器使用拍照曝光方式测量粒子在样品池不同径向位置的吸

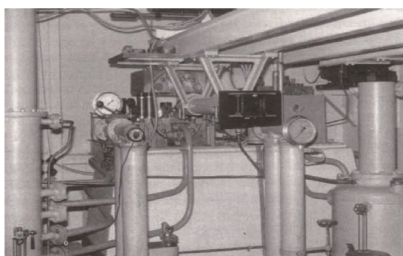
收(Svedberg et al., 1940)。1928年, Lamm 发展了一种称为 Lamm 尺度的方法, 检测不同径向位置的折光指数梯度。随后, Lamm(1929)又提出了描述溶液中粒子沉降和扩散行为的 Lamm 方程。1930年代, 纹影检测器(schlieren optical system)被设计出来, 用于检测不同径向位置的折光指数梯度(Philpot, 1938; Longsworth, 1939; Svensson, 1939, 1940)。

1940年, Svedberg 和 Pedersen 合著了超速离心领域的经典著作《超速离心》(*The Ultracentrifuge*)(Svedberg et al., 1940)。1947年, 由 Pickels 设计的 Spinco Model E 分析型超速离心机首次亮相, 该仪器采用电机驱动。值得注意的是, 在1947年之前, 全球仅有大约8台基于 Svedberg 设计的油涡轮驱动的分析型超速离心机, 以及大约相同数目的基于 Beams 和 Pickels 设计的空气涡轮驱动的分析型超速离心机(Beams et al., 1935)。在此基础上, 瑞利干涉检测器和光电扫描吸收检测器也相继问世(Richards et al., 1959; Hanlon et al., 1962), 提升了仪器检测分析能力, 有效促进了 AUC 技术的推广应用。

20世纪50—70年代被认为是 AUC 的黄金年代, 它被广泛应用于蛋白质、核糖体、DNA 以及病毒等方面的研究, 全世界安装投用了大约2000台 AUC 设备(Schachman, 1989)。Watson 和 Crick 于1953年提出 DNA 双螺旋模型(Watson et al., 1953), 但关于 DNA 复制的机理争议不断。1958年, Meselson 和 Stahl 基于氯化铯密度梯度平衡分析超速离心法(density gradient equilibrium-analytical ultracentrifugation, AUC-DGE)证实了 DNA 的半保留复制机理(Meselson et al., 1957, 1958), 该实验也被誉为“最美生物学实验”(Holmes, 2001)。在该实验中, Meselson 和 Stahl 首先采用氮源仅为 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 的培养基培养大肠杆菌。经过14代后, 新复制产生的 DNA 均为 ^{15}N 标记。随后, 他们将这些带有 ^{15}N 标记的 DNA 和原本仅含 ^{14}N 的 DNA 进行氯化铯 AUC-DGE 实验。结果表明, 在离心场下, 由于这两种 DNA 的密度不同, 它们分布在不同的径向位置。这一实验结果验证了 AUC-DGE 可用于分离和鉴别 ^{14}N DNA 和 ^{15}N DNA。接下来, 他们将大肠杆菌的培养基迅速换成 ^{14}N 氮源的培养基进行传代培养, 并观察传不同代后的 DNA 密度。经一次细胞分裂后, DNA 提取液的 AUC-DGE 离心图谱呈单一条带, 其密度恰好介于 ^{14}N DNA 与 ^{15}N DNA 之间, 即同时含有 ^{15}N 和 ^{14}N 子链的杂合分子条带, 从而排除了全保留复制模型。第二次细胞分裂后, 离心图谱出现两条带: 一条位于杂合分子位置; 另一条则是密度较低的轻带, 对应于完全由 ^{14}N 子链构成的 DNA。随着培养代数的增加, 杂合分子条带逐渐减弱, 轻带逐渐增强, 说明细胞新合成的 DNA 仅含 ^{14}N 。这一连续变化有力验证了 DNA 的半保留复制机制(Meselson et al., 1958)。AUC 还在发现 80S 酵母核糖体单位(Chao et al., 1956)以及 30S、50S 核糖体亚

单位和 70S 核糖体之间的关系中发挥了关键作用(Tissières et al., 1958)。

之后,由于 AUC 设备在 Spinco Model E 基础上没有更大的改进,数据获取仍然基于摄影,处理相对繁琐,AUC 在科研领域的应用随着尺寸排阻色谱(size exclusion chromatography, SEC)、凝胶电泳、激光光散射等新技术的出现而逐渐减少,到 20 世纪 80 年代,仅有少数实验室继续使用 AUC 开展研究(Schachman et al., 1999)。贝克曼库尔特有限公司(Beckman Coulter, Inc., 简称贝克曼公司)于 1991 年和 1996 年先后推出了 Optima XL-A 和 Optima XL-A/XL-I 型分析型超速离心机,并配备了紫外可见光吸收检测器和瑞利干涉检测器,改进了样品检测方法,实现了数据收集和分析的高度自动化(Schachman, 1989; Furst, 1997)。同时计算机性能和软件处理数据能力不断提升,一批数据分析软件如 SEDFIT、UltraScan 和 SEDANAL 可对沉降数据进行深入分析,得出精确结果(Stafford, 1992; Carruthers et al., 2000; Schuck, 2000; Brown et al., 2006),使 AUC 作为“第一原则分析方法”重新焕发生机。AUC 的应用无需标准样品校准仪器,可以分析粒径在 1~5000nm 范围粒子的分子量、大小、形状和密度等信息,因而被广泛应用于蛋白质、核酸、聚多糖、合成高分子以及纳米颗粒等研究领域。图 1.1 展示了不同时期的分析型超速离心机。



(a) Svedberg分析型超速离心机部分组件



(b) 贝克曼Model E



(c) 贝克曼Optima XL-A



(d) 贝克曼Optima AUC

图 1.1 不同时期的分析型超速离心机照片

1.2 实验原理

在溶液或胶体分散体系中,溶质粒子因受到溶剂分子的热运动而发生布朗运动。布朗运动受溶质粒子大小、溶液温度以及黏度影响。若溶质与溶剂密度不同,在外力作用下,溶质会因与溶剂的密度差发生沉降或上浮的定向运动。这种运动与其分子量、大小、形状、密度等有关。当溶质粒子的尺寸小于 100nm 时,粒子沉降所涉及的重力势能差相对于热能 $k_B T$ 较小,此时粒子处于接近均匀分布状态。当对溶液施加较强的外力,如离心力,溶质粒子所受外力可抗衡热运动,从而出现定向运动。我们用相对离心场来表示离心场的大小,相对离心场等于离心加速度除以地球的重力加速度 g ($g \approx 9.81 \text{ m}^2/\text{s}^2$)。在 AUC 实验中,离心加速度为 $\omega^2 r$, ω 表示转子的角速度 (rad/s), 径向位置 r (即粒子与旋转轴间的距离) 范围为 5.7~7.2cm。如果使用样品池径向中间位置, $r = 6.5 \text{ cm}$, 调节转速为 1000~60 000 rpm^①, 可以产生的离心场为 70g~260 000g。在足够强的离心场下,粒子会发生沉降,通过光学检测器检测分析溶液中粒子随时间及径向距离的浓度变化 $c(r, t)$, 可以获得粒子的沉降系数、扩散系数及分子量等信息。根据实验模式, AUC 实验主要分为沉降速度 (sedimentation velocity, SV) 和沉降平衡 (sedimentation equilibrium, SE) 实验, 其主要区别在于粒子在离心场下的运动行为不同。在 AUC-SV 实验中, 粒子的沉降大于扩散, 导致粒子持续向远离轴心的方向运动, 直到达到样品池的底部。而在 AUC-SE 实验中, 粒子的沉降与扩散达到平衡, 使得粒子在不同位置的浓度保持不变。下面将对 AUC-SV 和 AUC-SE 实验的原理和数据分析进行介绍。

1.2.1 Svedberg 方程

在两组分体系中, 假设溶液或者分散体系中的粒子的密度为 ρ_p , 粒子的质量为 m_p , 溶剂密度为 ρ_s 。在离心场中沉降时, 粒子同时受到离心力 (F_s)、浮力 (F_b) 和摩擦力 (F_f) 的作用。

离心力 F_s 的表达式为:

$$F_s = m_p \omega^2 r \quad (1.1)$$

其中, ω 表示转子的角速度 ($\omega = \text{转速} \times 2\pi/60$, 单位为 rad/s), r 表示粒子与旋转轴之间的距离。离心力 F_s 的方向指向样品池的底部, 其大小与离心加速度 $\omega^2 r$ 成正比。

^① rpm 为国际上 AUC 领域常用转速单位, 即 r/min (转每分)。

粒子在溶剂中受到的浮力 F_b 可以根据阿基米德定律计算。在稀溶液中, 溶液密度 ρ 和溶剂密度 ρ_s 近似。当粒子加入溶液中, 引起溶液体积增加 v , 因此排出的溶剂质量为 $m_s = \rho_s v$ 。粒子在离心场中所受到的浮力 F_b 等于 m_s 和离心加速度 $\omega^2 r$ 的乘积, 方向与离心力 F_s 相反, 其表达式为:

$$F_b = -m_s \cdot \omega^2 r = -\rho_s v \cdot \omega^2 r \quad (1.2)$$

粒子在沉降过程中受摩擦力 F_f 的作用, 其与运动速度 u 成正比, 方向与粒子运动方向相反:

$$F_f = -fu \quad (1.3)$$

其中, f 为粒子与溶剂间的摩擦系数, 与粒子尺寸、形状及溶剂特性有关。在稀溶液中, 沉降和扩散的摩擦系数通常相等, 可根据爱因斯坦-萨瑟兰方程计算得出:

$$f = \frac{k_B T}{D} = \frac{RT}{DN_A} \quad (1.4)$$

其中, R 为摩尔气体常数, k_B 为玻耳兹曼常数, T 为绝对温度(单位为 K), D 表示扩散系数(单位为 m^2/s), N_A 为阿伏伽德罗常数。

当 AUC 设备启动后, 粒子开始加速定向运动。随着粒子速度增加, 摩擦力增大, 在极短的时间内, 粒子受到的离心力、浮力和摩擦力达到平衡, 因此,

$$F_s + F_b + F_f = m_p \omega^2 r - \rho_s v \omega^2 r - fu = 0 \quad (1.5)$$

整理可得沉降系数(sedimentation coefficient) s 的定义表达式:

$$s \equiv \frac{u}{\omega^2 r} = \frac{m_p (1 - \rho_s v / m_p)}{f} = \frac{M(1 - \bar{v} \rho_s)}{N_A f} \quad (1.6)$$

其中, 沉降系数 s 表示单位离心场下的速度, 其单位 S 以 Théodor Svedberg 命名, $1S = 10^{-13} s$ 。粒子的摩尔质量 M 可表示为 $M = N_A m_p$, 其中 $1 - \bar{v} \rho_s$ 是浮力因子, $M(1 - \bar{v} \rho_s)$ 为经过浮力校正的有效摩尔质量。 $\bar{v}$ 为粒子的偏比容(partial specific volume), 代替 v/m_p , 其物理意义是由于粒子的加入导致溶液体积的增量, 其定义为 $\bar{v} = (\partial v / \partial m)_{T, p}$, 单位为 mL/g 。需要注意的是, 随着粒子径向沉降, 其与旋转轴的距离 r 逐渐增加, 受到离心力也在增加, 因此沉降中, 粒子的沉降速度会有所增加。

结合式(1.4)和式(1.6), 可得到著名的 Svedberg 方程:

$$M = \frac{sRT}{D(1 - \bar{v} \rho_s)} \quad (1.7)$$

Svedberg 方程阐述了粒子的摩尔质量(M)与扩散系数(D)和沉降系数(s)之间的关系, 提供了一种测量粒子的摩尔质量的方法。须注意, s 和 D 受溶质

浓度、溶液温度和溶剂性质影响,因此分析时须采用同一温度、相同溶剂的数据,并且将溶质浓度外推到无限稀释,以消除浓度因素影响。

对于球形粒子,假设其密度为 ρ_p ,其摩尔质量 M 可表示为

$$M = \frac{4}{3}\pi\left(\frac{d_p}{2}\right)^3 \rho_p N_A \quad (1.8)$$

其中 d_p 是粒子的直径。结合式(1.6)和式(1.8)以及斯托克斯定律 $f = 3\pi\eta_s d_p$ (其中 η_s 为溶剂的黏度),可以得到粒子直径 d_p 的表达式:

$$d_p = \sqrt{\frac{18\eta_s \cdot s}{\rho_p - \rho_s}} = \sqrt{\frac{18\eta_s}{\rho_p - \rho_s} \cdot \frac{u}{\omega^2 r}} \quad (1.9)$$

因此,通过 AUC 实验中测得的沉降系数,可以得到粒子的直径。同样,在重力场下,通过测量已知大小的小球在一定时间内沉降的距离,只需要将离心加速度 $\omega^2 r$ 替换成重力加速度 g ,就可以根据类似式(1.9)的式子计算黏度 η_s ,这就是落球式黏度计的原理。

1.2.2 Lamm 方程

由于体系中浓度不均匀,粒子在离心场中沉降的同时还会发生扩散,特别是在沉降界面处,由于浓度梯度最大,扩散更为显著,因此沉降界面并不垂直,而是一个渐变的界面。同时考虑沉降与扩散这两个因素对浓度的影响,可得到描述粒子浓度(c)随着时间(t)和径向位置(r)变化的方程,即 Lamm 方程。

如图 1.2 所示,假设存在一个扇形池以角速度 ω 旋转,其中的体积元 dV 位于距离旋转轴中心为 r 和 $r+dr$ 的位置。

对于样品池厚度为 a ,距离旋转轴中心为 r 的截面,因为夹角 φ 非常小,截面面积 A 可以近似表示为:

$$A \approx ra\varphi \quad (1.10)$$

粒子在离心场中,单位时间内由于沉降作用通过该截面的粒子质量为:

$$\frac{dm_s}{dt} = c \cdot A \cdot u = c \cdot ra\varphi \cdot s\omega^2 r \quad (1.11)$$

其中 c 和 u 是粒子的浓度和速度,利用沉降系数的定义 $s \equiv u/\omega^2 r$ 得到表达式。而单位时间内,由于粒子浓度梯度引起的扩散的粒子质量可以根据 Fick 第一定律表示为:

$$\frac{dm_D}{dt} = -D \cdot ra\varphi \frac{\partial c}{\partial r} \quad (1.12)$$

其中, dm_D/dt 表示单位时间内由于扩散作用通过界面的粒子质量, $\partial c/\partial r$ 表示截面处的浓度梯度, D 为扩散系数。因此,在沉降和扩散共同作用下,距旋转轴

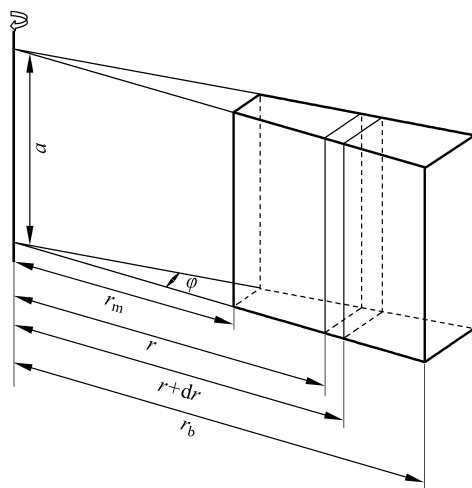


图 1.2 分析超速离心扇形池的示意图

φ 为夹角,通常为 2.4° ; a 表示样品池中的光程,即样品溶液的厚度,通常为 12mm 或者 3mm。 r_m 和 r_b 分别对应样品液面和底部与转轴的距离。授权改编自 Mächtle 和 Börger(2006) © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006

距离为 r 的截面处,单位时间通过的粒子净质量为:

$$\frac{dm_{in}}{dt} = \frac{dm_s}{dt} + \frac{dm_D}{dt} = cra\varphi s\omega^2 r - Dra\varphi \frac{\partial c}{\partial r} = ra\varphi \left(cs\omega^2 r - D \frac{\partial c}{\partial r} \right) \quad (1.13)$$

距转轴为 $r+dr$ 的界面处,单位时间内通过的粒子净质量为:

$$\frac{dm_{out}}{dt} = \frac{dm_{in}}{dt} + \frac{\partial (dm_{in}/dt)}{\partial r} dr \quad (1.14)$$

对于两个界面之间的体积 $V = ar\varphi dr$,单位时间内的净粒子质量和净浓度变化分别为:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{dm_{in}}{dt} - \frac{dm_{out}}{dt} \quad (1.15)$$

即:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{dm}{dt \cdot V} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left[\left(D \frac{\partial c}{\partial r} - \omega^2 r s c \right) r \right] \quad (1.16)$$

这就是 Lamm 方程。该方程是由 Svedberg 的学生 Ole Lamm 于 1929 年提出 (Lamm, 1929)。在稀溶液中,可假设 D 和 s 都与浓度无关,式(1.16)可变为:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial c}{\partial r} \right) - s\omega^2 \left(r \frac{\partial c}{\partial r} + 2c \right) \quad (1.17)$$

该方程表明,浓度随时间的变化包括两项,第一项与扩散(D)相关,第二项与沉降(s)相关。

1.2.3 沉降速度实验

沉降速度实验通常在较高的离心场下进行,其中 Lamm 方程式(1.17)中的沉降项主导了扩散项。溶质分子的沉降速度受其质量、密度、大小和形状的影响。以大豆蛋白 11S 球蛋白沉降实验为例,当转速为 35 000rpm 时,在离心场下沉降 60min 后,不同径向位置的吸光度分布如图 1.3 所示。在实验开始时,溶质分子在不同径向位置的吸光度(浓度)是均匀的。随着实验的进行,溶质分子以一定速度向底部沉降,可将溶液分为 a/b/c/d 四个区域。

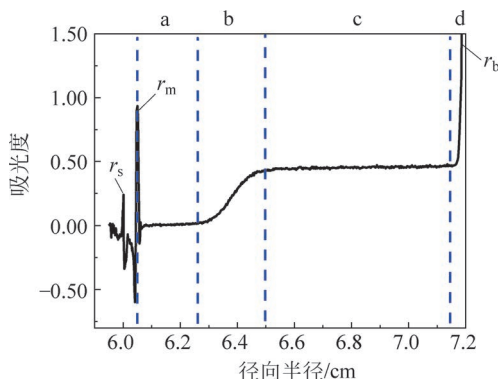


图 1.3 沉降速度实验中,不同径向位置的吸光度分布图

11S 球蛋白样品,检测波长 $\lambda=280\text{nm}$,转速 $\omega=35\,000\text{rpm}$,离心时间 $t=60\text{min}$ 。 r_s 对应于参比液液面与转轴的距离, r_m 和 r_b 分别对应着样品溶液的液面和底部

区域 a,溶质已经完全沉降,只剩下溶剂分子。

区域 b,溶质浓度逐渐增加,是一个过渡区域,称为沉降界面区,随着沉降时间增加,该界面向样品池底部移动,如图 1.4 所示。在该界面区的样品浓度分布受样品的扩散和多分散性影响。例如,如果体系中的粒子为单分散且没有扩散现象,则边界区将呈陡增的特征。

区域 c 中溶质浓度保持均匀,被称为平台区,若实验中出现多个平台,则说明溶液中含有多种具有不同沉降系数的溶质。

区域 d 表示样品池的底部区域,溶质在该区域逐渐积累,溶质反向扩散明显,在数据分析时需去除此部分数据。

在实验中,为了区分样品液面的位置,通常会稍微多加一些溶剂到参比池中。例如对于 12mm 的中心件,样品池中的样品加入量为 $400\mu\text{L}$,参比池中参比液的加入量为 $410\mu\text{L}$ 。在实验中,若溶质密度小于溶剂,则溶质会上浮,采集的数据与前述情况相反。图中还显示,即使大豆 11S 球蛋白粒子具有均一的分

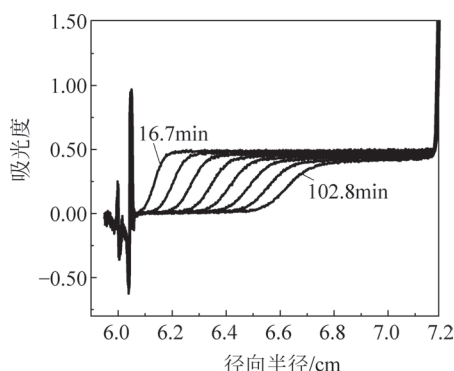


图 1.4 沉降速度实验中,不同时间点、不同径向位置的吸光度分布图

11S 球蛋白样品,检测波长 $\lambda = 280\text{nm}$,转速 $\omega = 35\,000\text{rpm}$,时间间隔 $\Delta t = 12.3\text{min}$

子量,在沉降过程中,由于溶质分子的扩散作用,沉降界面会逐渐展宽。因此,对于具有均一分子量的样品,可以通过测量沉降界面的展宽来计算样品的扩散系数。

1.2.3.1 沉降系数

前文已提到,沉降系数 s 被定义为单位离心场下的沉降速度 u ,即 $s \equiv u/\omega^2 r$ 。由于 $u = dr/dt$,可以将沉降系数 s 表示为 $(dr/dt)/\omega^2 r$,这个表达式可以进一步转化为:

$$\ln \frac{r}{r_m} = s \int_0^t \omega^2 dt = s \omega^2 t \quad (1.18)$$

其中, r_m 为溶液液面位置, r 是沉降界面的中点位置,亦可以用浓度梯度分布的二次矩(second moment)的平方根来表示(Goldberg, 1953),二次矩的方法适用于使用纹影光学检测器测得的浓度梯度数据(折光指数梯度),特别适用于沉降界面不对称或具有多个峰的情况。用二次矩方法确定在假想没有扩散和分散的情况下的界面位置,这样计算得到的等效界面移动可以用来确定重均沉降系数。具体的计算公式如下:

$$\langle r^2 \rangle = \frac{\int_{r_m}^{r_p} \frac{dc}{dr} r^2 dr}{\int_{r_m}^{r_p} \frac{dc}{dr} dr} \quad (1.19)$$

其中, r_p 是平台区某一位置。通常如果样品是单一的,且粒子之间没有相互作用,可以将不同时间点测得的吸光度曲线进行拟合和微分处理,以得到相应的微分曲线。根据微分曲线峰的中心位置确定对应沉降界面的中心位置 r 。根据式(1.18),如果 ω 恒定,测得不同时刻的 r 值,以 $\ln(r/r_m)$ 为纵坐标,对 $\omega^2 t$ 作

图,斜率即为沉降系数 s 。将图 1.4 中的数据处理并作图,如图 1.5 所示,根据斜率可以得到大豆 11S 球蛋白的沉降系数为 11.15S。使用该方法得到的沉降系数与使用常用的 SEDFIT 软件拟合得到的结果 11.14S 非常接近。

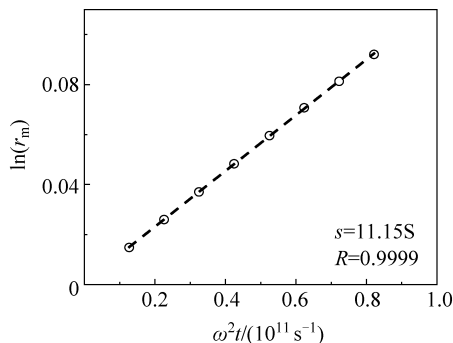


图 1.5 由图 1.4 中的数据,根据式(1.18)计算 11S 球蛋白样品沉降系数 s

1.2.3.2 沉降系数的浓度依赖性

沉降速度实验测得的粒子的沉降系数通常与粒子浓度相关。正是因为沉降系数表现出对浓度的依赖性,所以在 20 世纪 50 年代,早期错误的术语“沉降常数”(sedimentation constant)逐渐被更为准确的术语“沉降系数”(sedimentation coefficient)所取代。这种依赖性的强弱取决于溶质分子的性质。对于球形粒子,依赖性较弱;而对于无规线团形状的高分子量分子,依赖性较强。沉降系数的浓度依赖性可以用式(1.20)或式(1.21)表示(Harding et al., 1985),

$$s(c) = \frac{s_0}{1 + k_s c} \quad \text{或} \quad s_0(1 - k_s c), \quad k_s c \ll 1 \quad (1.20)$$

$$\frac{1}{s(c)} = \frac{1}{s_0}(1 + k_s c) \quad (1.21)$$

其中, s_0 为理想状态下的沉降系数,即将浓度外推到零时的沉降系数,也称为无限稀释时的沉降系数。 $s(c)$ 是浓度为 c 时的沉降系数,而 k_s 为浓度相关系数。需要注意的是,上述公式只在稀溶液范围内适用。可以通过在一系列不同浓度下测得的沉降系数,根据式(1.20)将 $s(c)$ 对浓度作图并进行线性拟合,以获得 s_0 和 k_s 的值。也可根据式(1.21)使用浓度 c 时的沉降系数的倒数 $1/s(c)$ 对浓度 c 作图,并进行线性拟合,以获得 s_0 和 k_s 的值。沉降系数的浓度依赖性主要由以下三种因素决定(Schachman, 1959; Mächtle and Börger, 2006): 1) 溶液的黏度 η_s , 随着粒子浓度的增加,溶液的黏度 η_s 也会增大,根据式(1.6)以及斯托克斯定律,当 η_s 增加时,沉降系数 s 会减小; 2) 溶液的密度,例如,当溶液中不