

液相扩散系数测量方法研究进展

杨勇祥^{1,2}, 封加栋², 朱志刚¹, 陆峰^{1,2*}

¹上海理工大学健康科学与工程学院, 上海

²海军军医大学(第二军医大学)药理学系药物分析学教研室, 上海

收稿日期: 2025年5月16日; 录用日期: 2025年5月28日; 发布日期: 2025年6月30日

摘要

液相扩散系数是描述不同溶液扩散过程的基础性数据, 其大小与物质的结构和溶质的浓度紧密相关。液相扩散系数的测量对于众多应用领域具有十分重要的研究价值。传统测量液相扩散系数的方法分别存在测量时间久、精度低或耗时长等问题。近年来, 得益于光学、光(波)谱学技术的日益成熟, 液相扩散系数的测量方法发展迅速, 不断朝着精确、灵敏、快速的方向发展。本文对光干涉法、动态光散射法、荧光相关光谱法、核磁共振扩散序谱法这四种基于光学、光(波)谱学的测量液相扩散系数方法的原理、特点及最新应用进展进行了综述与比较, 为液相扩散系数测量方法的发展提供参考。

关键词

液相扩散系数, 光干涉法, 动态光散射法, 荧光相关光谱法, 核磁共振扩散序谱法

Research Progress on Measurement Methods of Liquid Diffusion Coefficient

Yongxiang Yang^{1,2}, Jiadong Feng², Zhigang Zhu¹, Feng Lu^{1,2*}

¹School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai

²Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Naval Medical University (The Second Military Medical University), Shanghai

Received: May 16th, 2025; accepted: May 28th, 2025; published: Jun. 30th, 2025

Abstract

The liquid diffusion coefficient is the fundamental data for depicting the diffusion process of various solutions, and its magnitude is closely associated with the structure of the substance and the concentration of the solute. The measurement of liquid diffusion coefficient holds significant research value

*通讯作者。

文章引用: 杨勇祥, 封加栋, 朱志刚, 陆峰. 液相扩散系数测量方法研究进展[J]. 流体动力学, 2025, 13(2): 115-125.
DOI: 10.12677/ijfd.2025.132011

in numerous application fields. However, the traditional approaches for measuring liquid diffusion coefficient have certain issues, such as lengthy measurement duration, low accuracy or extended time requirements. In recent years, thanks to the increasingly mature technology of optics and optical (wave) spectroscopy, the measurement method of liquid diffusion coefficient has advanced rapidly and has been evolving towards the direction of accuracy, sensitivity and rapidity. In this paper, the principles, characteristics, and recent applications of four methods based on optical and optical (wave) spectroscopy for measuring liquid-phase diffusion coefficient, namely optical interferometry, dynamic light scattering, fluorescence correlation spectroscopy, and nuclear magnetic resonance diffusion sequence spectrometry, are reviewed and compared, providing a reference for the development of liquid diffusion coefficient measurement methods.

Keywords

Liquid Diffusion Coefficient, Optical Interference Method, Dynamic Light Scattering Method, Fluorescence Correlation Spectroscopy Method, Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

液相扩散系数(diffusion coefficient, D)是一个基本的物性参数, 在研究传质过程、计算传质速率中发挥着重要作用, 广泛应用于物理、化学、化工、医药和环保等领域中[1]-[3]。当前, 液相 D 值数据主要通过实验测量获取。由于液体的分子结构密度大于气体分子的结构密度, 其排列规则程度又不及固体分子, 因此液相扩散系数的测量方法比较复杂, 导致液相 D 值数据相对匮乏, 有待研究更多更好的测量方法。

D 值测量的传统方法主要包括膜池法[4]、泰勒分散法[5]等, 然而它们存在测量时间久、测量精度不高、实验操作繁琐等问题。近年发展的拉曼光谱法[6]、CT 检测法[7]、Boltzmann-Matano 法[8]等部分克服了传统方法的上述问题, 但仍不能实现低浓度溶液 D 值的精确测量。随着研究的不断深入, 基于光学、光(波)谱学的方法逐渐成为测量液相 D 值的主流方法, 这些方法具有灵敏度高、精度好、操作简单等优点, 这对众多应用领域的研究大有裨益。本文主要对基于光学、光(波)谱学的光干涉法、动态光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)法、荧光相关光谱(Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS)法、核磁共振扩散序谱(Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy, DOSY)法等四种测量技术的原理、特点以及应用进行综述, 以期对测量液相 D 值的方法选择提供参考, 并对方法未来研究进行了展望。

2. 光干涉法

2.1. 光干涉法的原理和特点

光干涉法是一种基于扩散溶液的浓度空间分布, 扩散过程中溶液浓度的变化导致不同时刻折射率不同, 入射光经过不同折射率的溶液产生干涉条纹, 通过分析干涉条纹的尺度特征计算出某一时刻折射率的空间分布, 再结合 Fick 第二定律计算 D 值。1952 年, Longworth [9]首次拍摄出了一副清晰的干涉条纹图像, 并对其作出了相应的理论解释和计算推导。1971 年, 得益于全息技术的发展, Becsey 等[10]将全息干涉法应用到液相 D 值的测量中。近些年, Anand 等人[11]发明了数字全息干涉技术, 利用 CCD 相机作为探测器, 可以实时获取干涉条纹。随着计算机技术和装备制造业的不断发展, 数字全息干涉技术也得到了重大发展, 液相 D 值测量的精确度和灵敏度大大提高。

数字全息干涉法的装置示意图如图 1 所示, 激光源发射激光通过空间滤波器和光束扩展器, 空间滤波器可以降低激光的高频噪声, 光束扩展器可以放大光束直径(可使得光束能量分布均匀), 被放大的光束再通过光阑和平面镜后进入分束器中, 分束器将光束分裂成参考光束和物体光束, 物体光束透过扩散池以后被平面镜送入另一个分束器中, 同时参考光束也被平面镜反射至分束器中, 和物体光束在分束器中组成干涉条纹, 最后通过 CCD 相机将干涉条纹全程记录并通过计算机进行分析处理[12] [13]。在扩散过程中, 液体浓度的变化改变了物体光束透过溶液的光程长度, 最终导致物体光束在不同时间形成相位差。

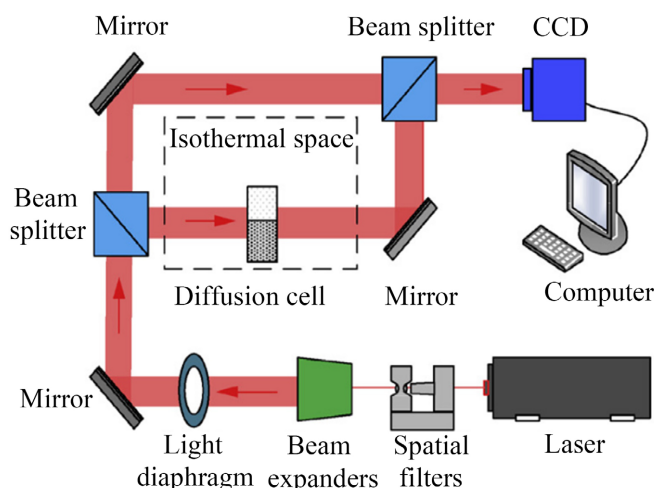


Figure 1. Schematic diagram of the device for digital holographic interferometry [14]

图 1. 数字全息干涉法装置示意图[14]

光干涉法具有高灵敏度、测量时间短、高精度等优势, 可在数分钟或者 30 分钟内获取 D 值, 光干涉法对于非挥发液体的 D 值检测误差范围在 0.1%, 挥发液体的误差范围在 1%, 可检测的 D 值范围在 $10^{-12} \text{ m}^2/\text{s} \sim 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, 因此光干涉法已广泛应用于液相 D 值测量。光干涉法在整个测量过程中能够实施非接触式检测, 保证待测物不被污染。光干涉法是一种实时检测手段, 几乎不存在滞后时间对实验产生不良影响, 也无需使用基准物, 仅依靠待测物自身的物理属性即可产生干涉条纹。但光干涉法测量液相 D 值时, 应保证待测物具有较高的透明度, 降低因待测物浑浊而造成的激光散射影响, 确保实验获取的干涉图像清晰稳定。在处理实验数据时, 通常采用最小二乘法, 然而拟合的精密程度有待进一步提升。

2.2. 光干涉法在测量液相 D 值中的应用

近些年来由于全息影像技术的发展, 越来越多的学者使用该技术来测量 D 值。例如, Chikode 等人[15]使用双曝光全息干涉法测定尿素溶液在 27°C 下蒸馏水溶液中的 D 值, 并通过尿素溶液的浓度和 D 值来进一步预测尿素溶液在土壤中的运动状态, 用来研究植物的早期生长。又如 Gomes 等人[16]通过全息干涉法在 -10°C 至 25°C 的范围内测量了蛋白质内的 α -胰凝乳蛋白酶原、卵清蛋白和免疫球蛋白 G 的扩散速率, 研究表明了蛋白质的构象可能与 D 值有着进一步的关联。Jia 等人[17]通过数字全息干涉测量法检测了环己烷中的三种烷烃(正庚烷、正辛烷和异辛烷)的互扩散体系, 研究了温度和溶液浓度对 D 值的影响程度。Jia 等人采用了 Zhang [18]模型、Okino [19]模型、Vignes [20]模型预测了三种二元混合物的互扩散系数, 相对偏差绝对平均值分别为 2.97%、3.89%和 6.18%, 表明 Zhang 模型是三种模型中一致性最好的。Rives 等人[21]利用数字干涉测量法检测了氨在水中的扩散过程, 并实现了扩散全程的可视化。结果表明, 数字干涉测量法提供了有关物质吸收过程的全新数据, 有助于开发验证传热和传质模型。

与传统方法相比较,光干涉法在实验精度与测量时间方面有显著提高,同时除扩散系数外,光干涉法可同步获取溶液的浓度分布、温度梯度、流动速度场等信息,适用于多物理场耦合研究(如热扩散、对流扩散共存体系)。但在整个实验过程中,光路的搭建作为一个极为关键(甚至是极为严苛)的环节,需要保障参照光束和物体光的偏振方向、光强大小以及光程距离的一致性,同时还应当尽可能保证实验在避光的环境中开展。

3. 动态光散射(DLS)技术

3.1. DLS 技术的原理和特点

DLS 是一种光强随时间变化波动的检测技术,该技术可以通过光强的变化过程反映溶液的扩散过程。进行 DLS 检测时,待测样品中的颗粒由于布朗运动引发散射光强随机涨落现象,通过时域自相关函数分析该波动信号的衰减特性,可以定量表征颗粒的平动扩散动力学行为,进而根据 Stokes-Einstein 方程推导出 D 值[22]。1910 年, Einstein [23]提出了连续介质假说,为 DLS 研究分子运动奠定了基础。1955 年, Forrester 等人[24]引入了光学混频技术解决了 DLS 技术中的频移问题,显著提高了测量的精度和可靠性。近些年,数字相关器的出现使得 DLS 测量液相 D 值不再仅限于频谱分析,可以直接计算自相关函数来研究液相 D 值。

DLS 技术的检测过程如图 2 所示,首先由激发器发射激光,激光透过焦距为 2 m 的透镜后,通过分束器,激光被分为反射光束和透射光束,透射光束再次经过透镜和偏振分束器,以此确保透射光束的稳定性,再由反射镜将透射光束反射至扩散池中,形成参考光。同时,反射光束通过折射镜透过中性密度过滤器和偏振分束器与参考光形成混频信号。混频信号透过小孔并经过反射镜被光纤束束器接收,探测信号被分成两部分撞击雪崩光电二极管以此来抑制脉冲效应所引起的时间滞后现象,最后使用数字相关器将电信号进行拟合分析得到扩散引起的浓度变化,进而计算 D 值。

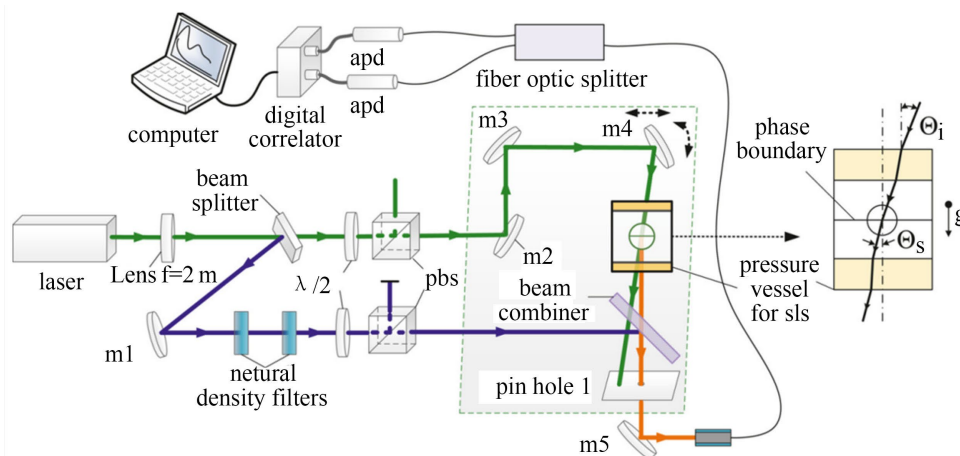


Figure 2. Schematic diagram of the dynamic light scattering technology device [25]

图 2. 动态光散射技术装置示意图[25]

DLS 技术是一种直接对溶液中的颗粒或分子进行原位测量,无需添加荧光标记或者改变样品的化学环境,适用于生物大分子(核酸、蛋白质)研究。DLS 技术凭借其快速、无标记、高灵敏度和对纳米颗粒的直接关联能力,成为液相 D 值测量的主流技术,通常可检测的 D 值范围为 $10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ 至 $10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 且误差范围控制在 $\pm 3\%$ 以内。同时, DLS 仪器商业化的普及性进一步推动了其在众多领域中的应用。但 DLS 技术对于多分散体系的分辨能力有限,难以区分分子尺寸相近的组分。同时,散射光信号的解耦和杂散光

信号的影响可能会导致测量的精度降低。

3.2. DLS 技术在测量液相 D 值中的应用

DLS 技术因其检测时间快、需要样品少、非侵入式等优点, 广泛应用于液相中胶体、高分子、纳米颗粒的 D 值分析与检测[26]。例如, Ye 等人[27]利用 DLS 技术研究蛋白质的 D 值、聚集度、溶液粘度等因素, 用 D 值的比值来表征蛋白质在高浓度下的稳定性, 比较了盐酸精氨酸和氯化钠在不同 pH 条件下对高浓度蛋白质相互作用的影响。Parada 等人[28]利用 DLS 技术测量了人体血清的 D 值并得出与人体心脏代谢健康指标具有相关性的结论。Winzor 等人[29]利用 DLS 技术和传统的边界扩展法探讨了液相 D 值对浓度依赖性的问题。研究发现, 两种方法在测量浓度依赖性的结果上存在一定的差异, 尤其在不同的热力学约束条件下(如恒温或恒压条件), 并通过理论分析以及考虑蛋白质电荷和离子强度的影响, 解释了这一差异性。

相比于传统测量方法, DLS 非侵入式的测量优势可以最大程度保护溶液的完整性, 不对实验过程产生干扰; 对比光干涉法, DLS 技术的测量范围更宽, 所需实验样本量更少。同时, DLS 技术不需要构建溶液的浓度差, 可在高温高压条件下测量。但与其他技术相比, DLS 技术需要样品具有足够的透明度和较低的浓度, 避免多重散射干扰测量结果。

4. 荧光相关光谱(FCS)技术

4.1. FCS 技术的原理和特点

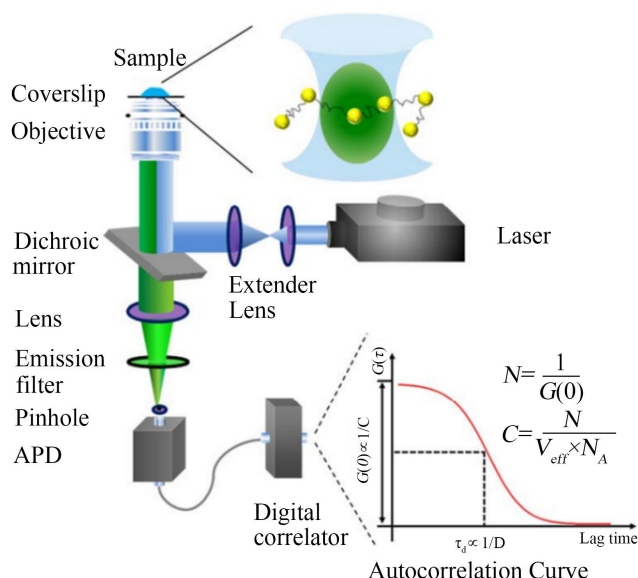


Figure 3. Schematic diagram of the fluorescence correlation spectroscopy (FCS) device [34]

图 3. 荧光相关光谱技术(FCS)装置示意图[34]

FCS 技术是一种将荧光信号的波动作为信息载体, 通过数理统计荧光信号的波动过程, 最后对整个过程中随时间的变化进行相关函数分析, 得到待测物的扩散变化。1972 年, Magde 等人[30]最早提出了 FCS 的概念, 用于研究解离平衡反应的化学反应速率和转动扩散的 D 值。1993 年, 共聚焦技术的出现使得 FCS 技术的灵敏度得到了质的提升, Rigler 等人[31]将共聚焦技术与 FCS 技术相结合, 使得 FCS 技术可以达到单分子级别的检测, 从此打开了 FCS 技术在生命科学领域的应用大门。FCS 技术能够检测到极少

量荧光分子的扩散行为,适用于研究生物体内微量分子的扩散行为,如蛋白质、核酸等分子的扩散行为,为研究细胞结构、跨膜运动、生物分子间相互作用等提供了新思路。

FCS 的检测过程如图 3 所示,激光器发射激发光至检测微区,检测微区的荧光物质受到激发光的照射产生荧光,产生的荧光沿着激发光的反方向传播至物镜被收集,透过二向色镜后,被收集的荧光穿过针孔聚集在雪崩光电二极管中。当扩散发生时,发出荧光的待测物不断出入检测微区,造成荧光信号的波动且被探测器所接收到。在荧光信号被采集后,一般有两种方法对荧光信号进行处理。一种方法通过光子计数直方图来分析,对这些波动信号采用松柏分布处理,最终获取检测分子的平均亮度和浓度[32]。另一种方式是采用自相关函数分析,获取分子的浓度和扩散速度等信息[33]。

FCS 技术是一种具有高灵敏度、高时空分辨率、样品消耗量小、检测时间快的测量液相 D 值的技术。FCS 技术配合共聚焦显微镜可检测单分子的扩散行为,检测浓度可低至 pmol/L、单次检测时间可在数秒或者数分钟内完成、检测 D 值范围可低至 10^{-14} m²/s 且误差低至±1%。通过快速光子计数(MHz 采样率),可捕捉亚毫秒级的扩散行为,适用于快速分子运动。同时,FCS 技术能够在细胞体内进行定量检测,不仅可以测量待测物的浓度变化,还可以确定生物分子的亲和力、分子间的相互作用。因此,FCS 技术在生化、医药、材料和环境等领域发挥着重要作用[35]。但 FCS 技术依赖于荧光标记,可能会改变分子尺寸、电荷或相互作用,导致测量的液相 D 值偏离真实值。FCS 技术对于高浓度样品检测时,可能会产生淬灭效应,导致液相 D 值的测量出现偏差。

4.2. FCS 技术在测量液相 D 值中的应用

近年来,FCS 技术凭借高灵敏度和对复杂生物环境的适应性,成为了测量液相 D 值的重要工具。例如,Ghimire 等人[36]利用 FCS 技术研究了不同电荷分子在自组装有机纳米管(ONTs)中的扩散行为,重点探讨了静电和非静电相互作用对扩散过程的影响,通过分析三种荧光染料(阴离子的磺酰罗丹明 B、两性离子/阳离子的罗丹明 B、阳离子的罗丹明 123)在 bolaamphiphile 基有机纳米管中的动态行为,揭示了不同电荷分子在自组装有机纳米管中的扩散行为受静电与非静电相互作用调控,并证实纳米管的均匀扩散特性,为其在药物递送和污染物吸附中的应用提供了关键依据。Vesga 等人[37]利用 FCS 技术定量分析溶液中游离蛋白在载有蛋白质囊泡溶液中的扩散情况,进一步拓展了膜-蛋白质的分配理论并揭示了蛋白质-膜解离的自发过程以及与相同或者不同脂质囊泡的重新结合过程。Barbotin 等人[38]开发了一种基于全内反射-荧光相关光谱法(Total Internal Reflection-Fluorescence Correlation Spectroscopy, TIR-FCS)的测定方法,该方法可以确定细菌的尺寸、曲率以及结构是如何影响扩散现象。通过 TIR-FCS 技术,Barbotin 等人测定了不同温度下尼罗红在枯草芽孢杆菌和金葡萄球菌的 D 值,进而判断不同温度对枯草芽孢杆菌和金葡萄球菌的膜流动性影响。

相对于 DLS 技术难以进行单分子层面分析,FCS 技术可检测到单个或极少数荧光标记分子的信号,灵敏度极高。同时,FCS 技术观测体积微小,通常在飞升(fL)量级,仅需极少量样品就能完成测量。这对于珍贵生物样品,如难以获取的临床活检组织提取物、少量合成的特殊材料等,优势明显。但 FCS 技术往往稳定性不佳,在长时间的照射过程中,荧光分子可能会产生光漂白现象,导致荧光信号减弱,影响测量准确性与持续性。

5. 核磁共振扩散序谱(DOSY)技术

5.1. DOSY 技术的原理和特点

核磁共振技术(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)是一种可以测定化合物结构和成分的有效技术,而 DOSY 技术是在 NMR 基础之上的一种高级拓展,提升了其对复杂化合物的分析能力。DOSY 技术基于

分子在磁场中的运动对核磁共振信号产生影响, 当分子在磁场中发生扩散运动时, 分子的位置会随时间发生变化, 使得核磁共振信号发生衰减, 通过 Stejskal-Tanner 方程分析衰减信号, 即可计算得出 D 值。

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = -\gamma^2 g^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) D \quad (1)$$

其中, S 是施加梯度磁场后的信号强度, S_0 是施加梯度磁场前的信号强度, γ 是旋磁比(每种原子核的特征常数), g 是梯度场的强度, δ 是梯度脉冲的持续时间, Δ 则是两个梯度磁场脉冲之间的时间间隔, D 为扩散系数。

自 1950 年 Hahn 首次提出对回波信号的观测, 并解释了在磁场中扩散过程对回波信号的影响, 为 NMR 技术研究 D 值奠定了基础[39]。随着脉冲场梯度(Pulsed Field Gradient, PFG)技术的问世, PFG-NMR 技术迅速成为了测量液相 D 值的重要技术。1992 年, Morris 和 Johnson 提出了将扩散维度引入到 PFG-NMR 技术中, 即扩散序谱(Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy, DOSY) [40], DOSY 是一种直观展现 D 值的伪二维谱, 其中横轴代表化学位移, 纵轴代表 D 值。DOSY 技术可以将不同分子的回波信号依据 D 值的大小进行排列, 因此 DOSY 技术十分适合于混合物中的分子检测。但 DOSY 技术普遍存在谱峰重叠的问题, Gorenstein 等人提出了 3D-DOSY 技术, 在 DOSY 的基础之上, 引入一个新的化学位移坐标, 组成 3D-DOSY [41]。此后 3D-DOSY 技术快速发展, 大部分的二维谱图都可以与 DOSY 技术结合, 例如: 交换谱(EXSY)、异核单量子相关谱(HSQC) [42]、异核多量子相关谱(HMQC) [43]、同核化学位移相关谱(COSY) [44]、全相关谱(TOCSY) [45]等。

梯度脉冲场是 DOSY 技术的基础, 图 4 所示是 DOSY 基础的脉冲梯度自旋回波序列工作原理, 在一条序列的前后施加两个极性和大小一致的梯度脉冲, 这两个脉冲的梯度时间是 δ , 脉冲强度为 g 。磁化矢量在经过一定的等待时间以后处于平衡状态, 此时受到一个 90° 的射频脉冲作用, 磁化矢量平衡状态被打破, 在 xy 平面沿着 y 轴形成一个磁化带。经过第一个梯度脉冲的影响后, 磁化矢量迅速散相形成螺旋状, 在这一过程中粒子的位置被编码, 经过时间 Δ 的扩散以后, 磁化矢量被第二个 180° 的脉冲作用以后发生反转, 磁化矢量迅速重聚形成回波。记录粒子第二次的位置信息, 最终经过时间 2τ , 记录核磁共振的信号强度。在这一过程中, 通过梯度脉冲的强度、作用时间以及回波信号的衰减便可计算得出 D 值。

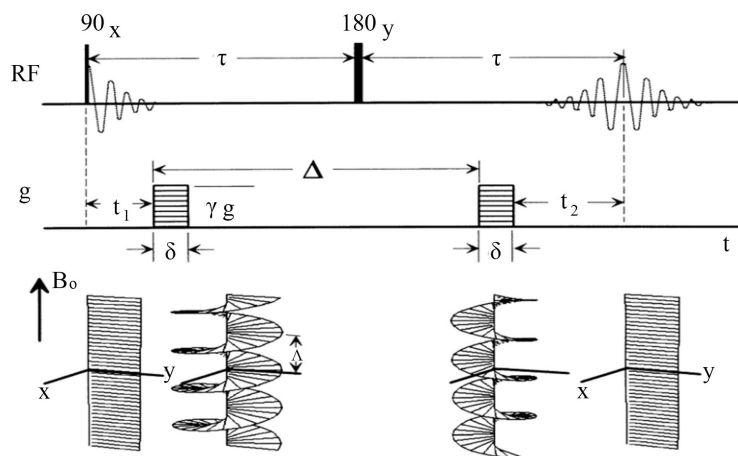


Figure 4. Schematic diagram of the pulse gradient spin echo sequence (PGSE) [46]

图 4. 脉冲梯度自旋回波序列(PGSE)示意图[46]

DOSY 技术是基于分子水平的检测技术, 分子的平移运动通过脉冲梯度序列进行空间编码, 并在分子的平移运动与梯度强度之间建立起数学关系。DOSY 技术可以直接基于分子固有的核磁信号检测, 避

免荧光标记物或同位素示踪对样品的影响。同时, DOSY 技术适应性广泛, 适用于水溶液、有机溶液(如 DMSO、 CDCl_3)和离子液体, 可以满足不同的化学体系要求, DOSY 技术的检测范围在 $10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ ~ $10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ 之间, 相对误差为 $\pm 2\%$ 。然而 DOSY 技术在测量过程中也面临一些不小的挑战, 如分子扩散的时间越长, 弛豫时间就越久, 导致信号易失真。在检测过程中由于梯度场的作用容易导致涡流效应, 这使得信号强度出现失真问题。在检测混合物时, 由于谱宽较窄, 导致混合物的谱峰容易出现重叠的现象[47]。

5.2. DOSY 技术在测量液相 D 值中的应用

DOSY 技术具有检测时间快、精确度高等优势, 是目前检测液相 D 值的一个重要方法, 已在药物化学、生物化学、食品安全等领域发挥着重要作用。如 Smirnov 等人[48]研究了金和铂纳米颗粒对 L-络氨酸在水溶液中的结构和动态性能的影响。通过 DOSY 技术分析证实了, 当铂纳米颗粒存在时, L-络氨酸分子的流体力学半径增加, 导致 L-络氨酸分子的扩散系数降低。而当金纳米颗粒存在时, L-络氨酸分子的流体力学半径减少, 导致 L-络氨酸分子的扩散系数增加。de Carvalho 等人[49]使用 DOSY 技术区分了不同来源但结构相似的 β -葡聚糖(如酵母、海藻和蘑菇中的 β -葡聚糖)的连接模式。通过测量分子在溶液中的 D 值进一步分析多糖的分子量分布和结构差异, 为后续生物活性研究奠定了可靠的化学基础。Wang 等人[50]利用 DOSY 技术分析了微藻中的多磷酸盐, 通过测定多磷酸盐的 D 值来测定微藻中多磷酸盐的单个链长和链长分布。相比之下, 传统的 ^{31}P NMR 技术只能估计整个多聚磷酸盐池的平均链长, 因此 DOSY 技术加深了我们对藻类生物量中多聚磷酸盐代谢的认识。

DOSY 技术已经广泛应用于生物分子动力学[51]的研究中, 为揭示溶液中分子的相互作用和动态行为提供了有力工具。DOSY 法可以通过测量混合物的扩散系数, 分离鉴别混合物的组成, 提供分子尺寸、分子量、聚集状态的具体信息。然而随着混合物体系复杂程度的增加, DOSY 技术的分辨能力和灵敏度是制约未来扩大其应用范围的关键所在[52]。

6. 小结

本文介绍了光干涉法、DLS 技术、FCS 技术、DOSY 技术这四种基于光学、光(波)谱学的液相 D 值测量技术。它们在检测原理上大相径庭, 各具特点, 可以适用于不同的检测对象和检测环境。

光干涉法能够实时、动态、非接触式地完成对待测物的测量, 保证待测物不被污染。在待测物的浓度梯度稳定的情况下, 能够实现对待测物的高精度测量。同时, 光干涉法可用于三元溶液的扩散检测。但该方法对实验平台的要求很高, 需要在避光的环境中进行测量, 且需要配置不同浓度梯度, 导致实验的工作量较大。DLS 法适用于多种液体体系测量, 包括高分子溶液、聚合物溶液等。同样, DLS 技术具有非侵入式、高灵敏度、测量速度快等优势。但 DLS 法同样对实验平台要求较高, 需要在避光环境中进行检测, 否则可能会产生一定的散射噪声, 同时它需要样品具有足够的透明度和较低的浓度, 避免多重散射干扰测量结果。FCS 可以在细胞活体内进行定量检测, 通过扩散现象反映出生物细胞的结构特征。但 FCS 技术对于分子尺寸较大或者扩散速率极端的分子, 检测精确度不高, 且测量时间过长容易产生光漂白现象, 导致测量结果有较大误差。DOSY 测量精度高、测量范围广, 可以直接检测分子的自扩散系数, 同时 DOSY 能够在不同的环境中对分析物进行检测, 对于研究高温高压环境对分析物 D 值的影响有着明显优势。但 DOSY 技术需要的设备较为昂贵、维护成本高, 且相对于低浓度或扩散系数较小的检测物, 其检测灵敏度较低。

综上所述, 在研究不同的待测物质时需深入理解待测物的物理化学属性的基础上, 选择一种或几种合适的液相 D 值测量方法进行单独检测或交叉验证, 以期获得准确的液相 D 值, 为物理、化学、化工、医药和环保等领域的研究提供有效的物性参数。

参考文献

- [1] Wynne, A.C., Abbott, B.S., Niazi, R., Foley, K. and Walters, K.B. (2024) Experimental and Modeling Approaches to Determine Drug Diffusion Coefficients in Artificial Mucus. *Heliyon*, **10**, e38638. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38638>
- [2] Basilio, E., Addassi, M., Al-Juaied, M., Hassanizadeh, S.M. and Hoteit, H. (2024) Improved Pressure Decay Method for Measuring CO₂-Water Diffusion Coefficient without Convection Interference. *Advances in Water Resources*, **183**, Article ID: 104608. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2023.104608>
- [3] Salmi, T., Flory, T., Perez Sena, W., Eränen, K., Schmidt, C. and Wärnå, J. (2024) Determination of Effective Liquid-Phase Diffusion Coefficients by Tracer Method in Continuous Packed Columns. *Chemical Engineering Science*, **296**, Article ID: 120239. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2024.120239>
- [4] 杨楠, 刘雅晴, 孙丽存. 基于液芯柱透镜测量 L-丝氨酸液相扩散系数[J]. 激光与光电子学进展, 2025, 62(5): 167-174.
- [5] Toriumi, M., Katooka, R., Yui, K., Funazukuri, T., Kong, C.Y. and Kagei, S. (2010) Measurements of Binary Diffusion Coefficients for Metal Complexes in Organic Solvents by the Taylor Dispersion Method. *Fluid Phase Equilibria*, **297**, 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2010.06.003>
- [6] Huang, Y., Wu, C., Chen, Y., Chou, I. and Jiang, L. (2022) Measurement of Diffusion Coefficients of Hydrogen Sulfide in Water and Brine Using In-Situ Raman Spectroscopy. *Fluid Phase Equilibria*, **556**, Article ID: 113381. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2022.113381>
- [7] Silveira, A., Kardjilov, N., Markötter, H., Longo, E., Greving, I., Lasch, P., *et al.* (2022) Water Flow through Bone: Neutron Tomography Reveals Differences in Water Permeability between Osteocytic and Anosteocytic Bone Material. *Materials & Design*, **224**, Article ID: 111275. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.111275>
- [8] Wang, R., Meng, W., Zhang, Y., Li, D. and Pu, X. (2022) An Improved Method for Measuring the Concentration Dependence of Fick Diffusion Coefficient Based on Boltzmann Equation and Cylindrical Liquid-Core Lenses. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, **138**, Article ID: 106391. <https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2022.106391>
- [9] Longsworth, L.G. (1952) Diffusion Measurements, at 1°, of Aqueous Solutions of Amino Acids, Peptides and Sugars. *Journal of the American Chemical Society*, **74**, 4155-4159. <https://doi.org/10.1021/ja01136a059>
- [10] Becsey, J.G., Jackson, N.R. and Bierlein, J.A. (1971) Hologram Interferometry for Isothermal Diffusion Measurements. *The Journal of Physical Chemistry*, **75**, 3374-3376. <https://doi.org/10.1021/j100690a030>
- [11] Anand, A., Chhaniwal, V.K. and Narayanamurthy, C.S. (2006) Diffusivity Studies of Transparent Liquid Solutions by Use of Digital Holographic Interferometry. *Applied Optics*, **45**, 904-909. <https://doi.org/10.1364/ao.45.000904>
- [12] Su, Y., Jia, W., Chen, J., Cao, S., He, M. and Zhang, Y. (2024) A Novel Measurement Method for Measuring the Concentration-Dependent Mutual Diffusion Coefficients Based on Finite Volume Method. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **189**, Article ID: 107208. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2023.107208>
- [13] Eder, C. and Briesen, H. (2022) Interferometric Probing of Physical and Chemical Properties of Solutions: Noncontact Investigation of Liquids. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, **13**, 99-121. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-092220-123822>
- [14] Li, C., Liu, W., Peng, X., Shao, L. and Feng, S. (2019) Measurement of Mass Diffusion Coefficients of O₂ in Aviation Fuel through Digital Holographic Interferometry. *Chinese Journal of Aeronautics*, **32**, 1184-1189. <https://doi.org/10.1016/j.cja.2019.01.012>
- [15] Chikode, P.P., Sabale, S.R., Vhatkar, R.S. and Fulari, V.J. (2021) Determination of the Diffusion Coefficient of Urea Solution Using Double Exposure Digital Holographic Interferometry (DEDHI) to Study Plant Growth. *Optics and Spectroscopy*, **129**, 303-308. <https://doi.org/10.1134/s0030400x2103005x>
- [16] Gomes, D.C., Geraldes, V., Fegley, D. and Rodrigues, M.A. (2021) Mutual Diffusion of Proteins in Cold Concentration Gradients Measured by Holographic Interferometry. *Chemical Engineering Science*, **236**, Article ID: 116478. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116478>
- [17] Jia, W., Su, Y., Cao, S., Dong, A., Zhang, Y. and He, M. (2023) Mutual Diffusion Coefficients of Three Alkanes (N-Heptane, N-Octane and Isooctane) in Cyclohexane from 288.15 K to 308.15 K. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **184**, Article ID: 107086. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2023.107086>
- [18] Zhang, H., Zhan, T., Chen, J., Li, X., Zhang, Y. and He, M. (2022) Speed of Sound Measurement and Mixing-Rule Evaluation of (N-Butanol + N-Heptane) Binary Mixtures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **172**, Article ID: 106817. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2022.106817>
- [19] Okino, T. (2013) Ending of Darken Equation and Intrinsic Diffusion Concept. *Journal of Modern Physics*, **4**, 1495-1498. <https://doi.org/10.4236/jmp.2013.411180>
- [20] Vignes, A. (1966) Diffusion in Binary Solutions. Variation of Diffusion Coefficient with Composition. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, **5**, 189-199. <https://doi.org/10.1021/i160018a007>

- [21] Rives, R., Salavera, D., Campos, J. and Coronas, A. (2022) Development of Optical Digital Interferometry for Visualizing and Modelling the Mass Diffusion of Ammonia in Water in an Absorption Process. *Experimental Thermal and Fluid Science*, **130**, Article ID: 110509. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2021.110509>
- [22] Feng, X., Huang, G., Qiu, J., Peng, L., Luo, K., Liu, D., *et al.* (2023) Dynamic Light Scattering in Flowing Dispersion. *Optics Communications*, **531**, Article ID: 129225. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2022.129225>
- [23] Einstein, A. (1910) Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes. *Annalen der Physik*, **338**, 1275-1298. <https://doi.org/10.1002/andp.19103381612>
- [24] Forrester, A.T., Gudmundsen, R.A. and Johnson, P.O. (1955) Photoelectric Mixing of Incoherent Light. *Physical Review*, **99**, 1691-1700. <https://doi.org/10.1103/physrev.99.1691>
- [25] Courtial, X., Valtz, A., Chabab, S., Coquelet, C. and Arpentinier, P. (2022) Isothermal P, X, Y Data for the Nitrogen + Carbon Monoxide System at Five Temperatures from 100 to 130 K and Pressures up to 3.4 MPa. *Fluid Phase Equilibria*, **559**, Article ID: 113476. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2022.113476>
- [26] Kankanamge, C.J., Zhan, T., Piszko, M., Klein, T. and Fröba, A.P. (2023) Diffusion Coefficients in Binary Electrolyte Mixtures by Dynamic Light Scattering and Molecular Dynamics Simulations. *Electrochimica Acta*, **462**, Article ID: 142637. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.142637>
- [27] Ye, Y., Huo, X. and Yin, Z. (2021) Protein-Protein Interactions at High Concentrations: Effects of ArgHCL and NaCl on the Stability, Viscosity and Aggregation Mechanisms of Protein Solution. *International Journal of Pharmaceutics*, **601**, Article ID: 120535. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120535>
- [28] Parada, R., Campbell, E.B., Sandoval, D.F. and Cistola, D.P. (2023) Insulin Resistance as Monitored by Dynamic Light Scattering of Whole Human Serum: An Ancillary Study of Premier. *Metabolism*, **142**, Article ID: 155495. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155495>
- [29] Winzor, D.J., Dinu, V., Scott, D.J. and Harding, S.E. (2023) Retrospective Rationalization of Disparities between the Concentration Dependence of Diffusion Coefficients Obtained by Boundary Spreading and Dynamic Light Scattering. *European Biophysics Journal*, **52**, 333-342. <https://doi.org/10.1007/s00249-023-01664-x>
- [30] Magde, D., Elson, E. and Webb, W.W. (1972) Thermodynamic Fluctuations in a Reacting System—Measurement by Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Physical Review Letters*, **29**, 705-708. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.29.705>
- [31] Rigler, R., Mets, Ü., Widengren, J. and Kask, P. (1993) Fluorescence Correlation Spectroscopy with High Count Rate and Low Background: Analysis of Translational Diffusion. *European Biophysics Journal*, **22**, 169-175. <https://doi.org/10.1007/bf00185777>
- [32] Jiang, Y., Xu, B., Melnykov, A., Genin, G.M. and Elson, E.L. (2020) Fluorescence Correlation Spectroscopy and Photon Counting Histograms in Finite, Bounded Domains. *Biophysical Journal*, **119**, 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.05.032>
- [33] Wohland, T., Sim, S.R., Demoustier, M., Pandey, S., Kulkarni, R. and Aik, D. (2024) FCS Videos: Fluorescence Correlation Spectroscopy in Space and Time. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*, **1868**, Article ID: 130716. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2024.130716>
- [34] 杜治学. 基于荧光相关光谱技术的单细胞 PTEN 蛋白动力学及 p53-MDM2 相互作用的研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- [35] Smith, A.W. (2024) Recent Applications of Fluorescence Correlation Spectroscopy in Live Cells. *Current Opinion in Chemical Biology*, **81**, Article ID: 102480. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102480>
- [36] Ghimire, G., Espinoza, R., Xu, H., Nagasaka, S., Kameta, N., Masuda, M., *et al.* (2019) Diffusion Behavior of Differently Charged Molecules in Self-Assembled Organic Nanotubes Studied Using Imaging Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Langmuir*, **35**, 7783-7790. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b01022>
- [37] Vesga, A.G., Villegas, L., Vequi-Suplicy, C.C., Sorzano, C.O.S. and Requejo-Isidro, J. (2023) Quantitative Characterization of Membrane-Protein Reversible Association Using Fcs. *Biophysical Journal*, **122**, 2285-2300. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2023.01.026>
- [38] Barbotin, A., Billaudeau, C., Sezgin, E. and Carballido-López, R. (2024) Quantification of Membrane Fluidity in Bacteria Using TIR-FCS. *Biophysical Journal*, **123**, 2484-2495. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2024.06.012>
- [39] Hahn, E.L. (1950) Spin Echoes. *Physical Review*, **80**, 580-594. <https://doi.org/10.1103/physrev.80.580>
- [40] Morris, K.F. and Johnson, C.S. (1992) Diffusion-ordered Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, **114**, 3139-3141. <https://doi.org/10.1021/ja00034a071>
- [41] Gozansky, E.K. and Gorenstein, D.G. (1996) DOSY-NOESY: Diffusion-Ordered NOESY. *Journal of Magnetic Resonance, Series B*, **111**, 94-96. <https://doi.org/10.1006/jmrb.1996.0066>
- [42] Williamson, R.T., Chapin, E.L., Carr, A.W., Gilbert, J.R., Graupner, P.R., Lewer, P., *et al.* (2000) New Diffusion-Edited

- NMR Experiments to Expedite the Dereplication of Known Compounds from Natural Product Mixtures. *Organic Letters*, **2**, 289-292. <https://doi.org/10.1021/ol991239r>
- [43] Stchedroff, M.J., Kenwright, A.M., Morris, G.A., Nilsson, M. and Harris, R.K. (2004) 2D and 3D DOSY Methods for Studying Mixtures of Oligomeric Dimethylsiloxanes. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **6**, 3221-3227. <https://doi.org/10.1039/b403960b>
- [44] Wu, D., Chen, A. and Johnson Jr., C.S. (1996) Three-Dimensional Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy: The Homonuclear COSY-DOSY Experiment. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, **121**, 88-91. <https://doi.org/10.1006/jmra.1996.0142>
- [45] Viel, S. and Caldarelli, S. (2008) Improved 3D DOSY-TOCSY Experiment for Mixture Analysis. *Chemical Communications*, **44**, 2013-2015. <https://doi.org/10.1039/b802789g>
- [46] Gao, S., Yuan, J., Ye, F., Liu, Z., Zheng, A. and Xu, S. (2024) Applications of ^{129}Xe and PFG NMR Techniques on Adsorption and Diffusion of Molecular Sieve Materials. *Journal of Magnetic Resonance Open*, **21**, Article ID: 100180. <https://doi.org/10.1016/j.jmro.2024.100180>
- [47] Evans, R. (2020) The Interpretation of Small Molecule Diffusion Coefficients: Quantitative Use of Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, **117**, 33-69. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2019.11.002>
- [48] Smirnov, M., Gamov, G., Zyubin, A., Zozulya, A., Lyatun, I., Demishkevich, E., *et al.* (2025) Interaction of Gold and Platinum Nanoparticles with L-Tyrosine in Aqueous Solution: Conformational and Dynamic Changes. *Journal of Molecular Liquids*, **420**, Article ID: 126822. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.126822>
- [49] de Carvalho, M.M., Ellefsen, C.F., Eltvik, A.A., Hiorth, M. and Samuelsen, A.B.C. (2025) Chemical Structure Characterization of Polysaccharides Using Diffusion Ordered NMR Spectroscopy (DOSY). *Carbohydrate Polymers*, **349**, Article ID: 123021. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.123021>
- [50] Wang, L., Kuchendorf, C. and Willbold, S. (2019) Determination of Individual Chain Length and Chain-Length Distribution of Polyphosphates in Microalgae by ^{31}P -DOSY-NMR. *Algal Research*, **43**, Article ID: 101631. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101631>
- [51] Cao, R., Liu, X., Liu, Y., Zhai, X., Cao, T., Wang, A., *et al.* (2021) Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy to the Evaluation of Complex Food Constituents. *Food Chemistry*, **342**, Article ID: 128258. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128258>
- [52] 张鹏, 陈媛, 罗维. 核磁共振扩散序谱的研究及应用进展[J]. 分析测试学报, 2020, 39(9): 1050-1057.