

第一类鱼抗冻蛋白对冰晶生长界面层结构的影响

谢文静, 刘俊杰, 李前忠

内蒙古大学物理科学与技术学院, 呼和浩特 010021

收稿日期: 2010-03-29; 接受日期: 2010-05-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30560039), 内蒙古自然科学基金项目(200711020107)

通讯作者: 刘俊杰, 电话: (0471)4991463, E-mail: pyljj@imu.edu.cn

摘要: 根据冰晶在水溶液中生长的基本热力学性质, 应用多层界面模型, 分别得到了冰晶在纯水及抗冻蛋白溶液中生长界面层的吉布斯自由能。由冰晶生长界面层的吉布斯自由能, 分析了冰晶在三种不同第一类鱼抗冻蛋白分子溶液中, 热平衡状态下生长界面层的微观平衡结构, 发现冰晶在抗冻蛋白溶液中生长与其在纯水中生长相比, 界面层结构有明显变化, 结合抗冻蛋白后, 冰晶的生长界面由粗糙界面向光滑界面转变; 并讨论了结合抗冻蛋白后, 冰晶生长界面层微观平衡结构的变化对冰晶生长形态的影响。为理解冰晶在抗冻蛋白溶液及纯水中有不同的生长习性和生长形态这一实验事实, 提供了理论依据。

关键词: 冰晶; 抗冻蛋白; 界面层结构

中图分类号: Q61

引言

抗冻蛋白 (antifreeze protein, AFP) 又称热滞蛋白, 是一种具有特殊生物功能的蛋白质。实验研究发现, 当溶液中有一定量的抗冻蛋白分子存在时, 抗冻蛋白分子可以吸附到溶液中冰晶的某些晶面上, 并且与冰晶表面水分子相互作用, 使冰晶在抗冻蛋白溶液中的生长点温度低于其在纯水中的生长点温度, 即产生使冰晶生长点温度低于其熔点温度的热滞现象, 而且冰晶的生长习性和生长速率也与其在纯水中的生长有显著差异^[1-3]。一般情况下, 晶体生长系统存在晶体相和流体相, 两相之间存在微观界面层, 随着晶体-流体界面层中流体相分子转化为晶体相分子, 界面层向流体相中推进, 从而使晶体不断生长。水溶液环境中冰晶的生长过程就是界面层内液态水分子转化为固态水分子的过程, 由该过程引起的界面层吉布斯自由能的变化可以确定界面层平衡态的微观结构。晶体界面结构的理论模型中, 多层界面模型不限制界面的层数, 因此对所有类型的晶体-流体界面均可适用, 具有一般性。应用此模型可以确定热平衡条件下界面的层数, 并可根据非平衡状态下界面吉布斯自由能的变化, 推测出界面相变熵对界面平衡结构的影响。所以, 多层界面模型是一种比较好的研究实际晶体生长系统界面性质的理论模型。我们应用多层界面模型, 根据晶体在溶液中生长的基本热力学性质, 得到了冰晶生长界面层的吉布斯自由能随界面层中

晶相分子含量的变化，并通过分析吉布斯自由能改变量与界面层中晶相分子的比例关系，发现冰晶在抗冻蛋白溶液中生长时，与其在纯水中生长时界面层层数有明显变化。另一方面，根据晶体生长理论，在一定的生长驱动力作用下，界面生长机制和动力学规律取决于界面的微观结构。在水溶液中，当温度降低到冰点以下后，冰晶沿粗糙界面法线方向的生长速度较快，而沿光滑界面法线方向的生长缓慢^[9]，最后生长快的界面消失，生长慢的界面保留下来，决定了冰晶的形态。因此，在抗冻蛋白溶液中，结合了抗冻蛋白的冰晶界面的微观结构受抗冻蛋白的影响而发生变化，是导致冰晶的生长形态变化，并且造成冰晶生长速率与在纯水中的生长速率有明显差别的重要原因之一。研究结果为理解冰晶在抗冻蛋白溶液和纯水中有不同的生长习性和生长形态这一实验事实，提供了理论依据^[9]。

多层界面模型

晶体生长系统存在固体相和液体相，晶体生长过程就是固体 - 液体界面向液体中不断推进的过程，由此而产生微观界面层。界面类型可划分为粗糙界面和光滑界面。所谓粗糙界面，是指存在有厚度为几个分子间距的固 - 液界面层，这个界面层用分子的尺度来衡量是高低不平的，而光滑界面两侧的固 - 液两相是截然分开的。生长界面是光滑界面还是粗糙界面，决定于生长系统中固体相与液体相的热力学性质和晶体学性质，并且和系统的平衡温度有关^[9]。应用统计热力学基本原理结合数值计算，可以判断出固 - 液界面的平衡结构性质，即界面是光滑界面还是粗糙界面。

对于简单的晶体生长系统，其生长基元是单个分子，液体相与固体相共存时，其摩尔内能、摩尔熵与摩尔体积各不相同。我们假设固 - 液的生长界面是多层界面，界面的每一层内个晶格位置中属于固体相的分子数不同，该层所具有的吉布斯自由能也不相同，即界面层的自由能与固体相分子所占的比例有关。所以，基于界面层吉布斯自由能函数，利用吉布斯自由能判据，可得到界面层内的吉布斯自由能为最小值时，界面层内固体分子所占的比例，从而确定出界面的类型。在晶体生长系统中，晶体的生长基元是固体分子，流体的生长基元是液体分子。这里只考虑固体 - 固体分子间、固体 - 液体分子间、液体 - 液体分子间最近邻的相互作用，因此界面层内每个固体分子有四个水平键和两个非水平键，并且水平键能与非水平键能不一定相同。整个固 - 液界面是固体分子和液体分子相互接触的空间区域，在此区域内的全部分子都位于实际晶体的晶格座位上，空间区域由许多层组成，每层又由固体分子和液体分子组成，层与层的间距为晶体的面间距。

在多层界面模型中，将特定面的层数用 n 来表示，第 n 层界面所包含的分子座位数为 N ，其中含有 N_s 个固体分子和 N_l 个液体分子，即 $N_s + N_l = N$ 。如果我们定义 $C_n = \frac{N_s}{N}$ 作为第 n 层中固体分子所占分数，那么液体分子所占分数为 $(1 - C_n)$ 。对于多层界面结构， n 的变化范围可以是 $-\infty \leq n \leq \infty$ ，所对应的边界条件为 $C_{-\infty} = 1$ ， $C_{\infty} = 0$ 就意味着当 $n = -\infty$ 变化到 $n = +\infty$ 时，分子从完全的晶体相转变为完全的液体相。若 $C_5 = 1$ ， $C_5 = 0$ ，这就表示从 $n = 0$ 层向晶相数到第 5 层时完全为固体分子，从 $n = 0$ 层向液相数到第 5 层时完全为液体分子，因而界面层的厚度为 10 层分子的厚度，且在这一空间区域内，既有固体分子又有液体分子。假定固体分子仅能坐落在固体分子的顶部位置，第 $(n+1)$ 层晶格座位的固体分子必定位于第 n 层晶

格座位的固体分子上面。第 n 层与第 $(n+1)$ 层相比，由于固体分子向上朝液体方向的浓度逐渐减小，于是 $C_{n+1} \leq C_n$ ，这就意味着在完全的液体相中孤立的固体分子是不存在的。

因此，根据以上的假定，可以确定光滑界面具有下列性质：当 $-\infty < n < 0$ 时， $C_n = 1$ ；而当 $1 < n < +\infty$ 时， $C_n = 0$ 。说明光滑的生长界面在 $n=0$ 与 $n=1$ 处晶体相与液体相有明显的分界，这就意味着我们在讨论光滑界面的粗糙化过程中，可以将参考面选定在 $n=0$ 与 $n=1$ 之间。

在热平衡状态下，由于光滑界面的粗糙化而引起的界面吉布斯自由能的变化主要来源于三个方面：1) 由固体分子转变为液体分子，以及液体分子转变为固体分子所引起的界面自由能变化；2) 由于界面键能的变化而引起的能量变化；3) 由于界面层内固体分子和液体分子排列方式所引起的界面组态熵的改变。所以，界面自由能的变化量 ΔG 可用下式来表示：

$$\Delta G = \Delta G_{fs} + \Delta U - T\Delta S \quad (1)$$

式中右边第一项表示固体分子与液体分子间相互转化的自由能改变量，第二、第三项分别表示由界面键能的变化引起的内能增加，以及组态熵的变化而引起的界面自由能的变化。

冰晶在纯水中生长的界面层平衡结构

在冰晶生长系统中，晶体生长基元是冰分子，而液体的生长基元是水分子。在冰 - 水界面层结构中只考虑冰分子与水分子、冰分子之间，以及水分子之间最近邻的相互作用。

假设冰 - 水界面的每层含有 N 个结合位点，第 n 层中冰分子所占位点的分数用 $C_i^n = \frac{N_i^n}{N}$ 来表示，其中 N_i^n 是第 n 层中冰分子占据位点的个数，则水分子所占分数就是 $(1 - C_i^n)$ 。当 $n = -\infty$ 时，界面层内全部为冰分子，当 $n = +\infty$ 时，界面层内全为液态水分子。

对于热平衡状态下的自由能变化量 ΔG ，可由(1)式得到

$$\Delta G = \Delta G_{w-i} + \Delta U - T\Delta S \quad (2)$$

式中 ΔG_{w-i} 代表液相水分子与晶相冰分子之间互相转变而引起的界面自由能的变化。由此可得：

$$\Delta G_{w-i} = \frac{\partial G}{\partial N_i} \cdot \Delta N_i + \frac{\partial G}{\partial N_w} \cdot \Delta N_w \quad (3)$$

这里， ΔN_i 表示由于光滑界面的粗糙化而使晶相冰分子变为液相水分子的数目， ΔN_w 是在液相中水分子形成冰分子的数目。忽略晶相的冰分子与液相水分子的体积差异，就可以有：

$$\frac{\partial G}{\partial N_i} = \mu_i, \quad \frac{\partial G}{\partial N_w} = \mu_w$$

上式中， μ_i 表示冰分子的化学势， μ_w 表示水分子的化学势。在界面由光滑到粗糙化的过程中，显然在原始晶相第 n 层的位点被液相分子所占据的几率为 $1 - C_i^n$ ，由这部分分子所引起的化学势的变化为 $\Delta\mu = \mu_w - \mu_i$ ，而这些位点上原始的冰分子变成水分子的总数为 $\sum_{n=-\infty}^0 N(1 - C_i^n)$ ，

那么在 $0 \geq n \geq -\infty$ 的界面层中，冰分子转变为水分子导致的能量的变化量为 $\Delta\mu \sum_{n=-\infty}^0 N(1-C_i^n)$ 。

同样的方式，原始的液相中水分子转变为晶体相分子引起能量的改变为 $-\Delta\mu \sum_{n=-\infty}^0 NC_i^n$ 。根据以上的讨论并代入(3)式，可得到由于晶相冰分子和液相水分子的相互转化所引起的整个界面自由能的变化：

$$\Delta G_{w-i} = \Delta\mu N \left[\sum_{n=-\infty}^0 (1-C_i^n) - \sum_{n=1}^{\infty} C_i^n \right] \quad (4)$$

从能量的观点来看，光滑界面粗糙化的过程，正是固相的最近邻冰分子的水平键能 ϕ_{i-i} 和液相最近邻水分子的水平键能 ϕ_{w-w} ，被冰 - 水分子的水平键能 ϕ_{i-w} 所置换的过程。根据水平键形成方式，断裂一个冰 - 冰分子水平键和一个水 - 水分子水平键，可生成两个冰 - 水分子水平键。因此生成一个 ϕ_{i-w} 水平键能所引起内能的变化为：

$$\varepsilon = \frac{1}{2}(\phi_{i-i} + \phi_{w-w}) - \phi_{i-w} \quad (5)$$

界面层中出现冰 - 水分子键的几率为 $4C_i^n(1-C_i^n)$ ，即一个冰晶分子与周围水平方向上最近邻格点上的分子能成一个冰 - 水分子键的几率。因子“4”是沿冰晶非密堆积面方向同一界面层内水平方向上的最近邻格点数，于是可得：

$$\Delta U = 4N\varepsilon \sum_{n=-\infty}^0 C_i^n (1-C_i^n) \quad (6)$$

根据玻耳兹曼公式 $S = k \ln W$ ，式中 W 为微观组态数。对于光滑界面， $W=1$ ， $S=0$ ，这就说明(2)式中的 $T\Delta S$ 仅起因于光滑界面的粗糙化过程。现在我们考虑第 $(n+1)$ 层，根据前面的假定，“晶体分子仅能坐落在晶体分子的顶部位置”，那么只需考虑第 n 层的冰分子的顶部位置就可以。于是冰分子在第 n 层和第 $(n+1)$ 层的数目分别为 NC_i^n 、 NC_i^{n+1} ，而第 n 层与第 $(n+1)$ 层的冰分子数目之差就是水分子的数目。从而可得到第 $(n+1)$ 层的组态数：

$$\omega_{n+1} = \frac{(NC_i^n)!}{(NC_i^{n+1})! [N(C_i^n - C_i^{n+1})]!} \quad (7)$$

把(7)式代入玻耳兹曼公式得：

$$\Delta S = k \ln \prod_{n=-\infty}^{\infty} \omega_{n+1} = k \ln \prod_{n=-\infty}^{\infty} \frac{(NC_i^n)!}{(NC_i^{n+1})! (NC_i^n - C_i^{n+1})!} \quad (8)$$

考虑边界条件： $C_i^{-\infty} = 1$ ， $C_i^{+\infty} = 0$ ，并应用 Stirling 公式，可得：

$$\ln \prod_{n=-\infty}^{\infty} \frac{(NC_i^n)!}{(NC_i^{n+1})!} \approx N \ln N - N$$

$$\ln \prod_{n=-\infty}^{\infty} [N(C_i^n - C_i^{n+1})!]^{-1} = -N \ln N + N - N \sum_{n=-\infty}^{\infty} (C_i^n - C_i^{n+1}) \ln(C_i^n - C_i^{n+1})$$

所以(8)式可改写为：

$$T\Delta S = -kTN \sum_{n=-\infty}^{\infty} (C_i^n - C_i^{n+1}) \ln(C_i^n - C_i^{n+1}) \quad (9)$$

将(4)、(6)、(9)式代入到自由能的表达式(2)，可得到光滑界面粗糙化过程界面自由能的变化量：

$$\frac{\Delta G}{NkT} = \frac{\Delta\mu}{kT} \left[\sum_{n=-\infty}^0 (1 - C_i^n) - \sum_{n=1}^{\infty} C_i^n \right] + \frac{4\varepsilon}{kT} \sum_{n=-\infty}^{\infty} C_i^n (1 - C_i^n) + \sum_{n=-\infty}^{\infty} (C_i^n - C_i^{n+1}) \ln(C_i^n - C_i^{n+1}) \quad (10)$$

在平衡状态下，界面吉布斯自由能应取极小值，由极值条件 $\frac{\partial(\Delta G/NkT)}{\partial C_i^n} = 0$ ，可求得平

衡状态下 C_i^n 满足如下方程：

$$\frac{(C_i^n - C_i^{n+1})}{(C_i^{n-1} - C_i^n)} \exp(-2\alpha C_i^n) = \exp(-\alpha + \beta) \quad (11)$$

$$\alpha = 4\varepsilon/kT \quad (12)$$

$$\beta = \Delta\mu/kT \quad (13)$$

在平衡温度下， $\beta=0$ ，界面处于平衡状态。设 $\phi_{i-1} \approx \phi_{i-w}$ ，则 $\varepsilon \approx \frac{1}{2}(\phi_{i-1} - \phi_{w-w})$ 。在熔点附近，冰 - 水两相的热焓差 (结晶潜热) 为 $\Delta h = \frac{1}{2}Z(\phi_{i-1} - \phi_{w-w}) = 333 \text{ kJ/kg}^{[7]}$ 。Z 为三维晶格最近邻的分子数目，对于冰晶的非密堆积面 (如 $\{20\bar{2}1\}$ 面) 应取 6。所以 $\alpha = 4\varepsilon/kT \approx \frac{2}{3} \frac{\Delta h}{kT} = 1.75$ 。超越方程(11)式可根据边界条件赋初始值，然后再利用迭代法依次求得数值解，解得的冰晶的 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面在纯水中生长时，每层界面冰晶分子所占分数 C_i^n 与界面层 n 值的数值关系曲线如图 1 所示。由图 1 可以估计出明显界面层数约为 5。这表明冰晶在纯水中生长时，沿非密堆积面 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面方向生长的界面层结构约为 5 倍面间距的厚度。

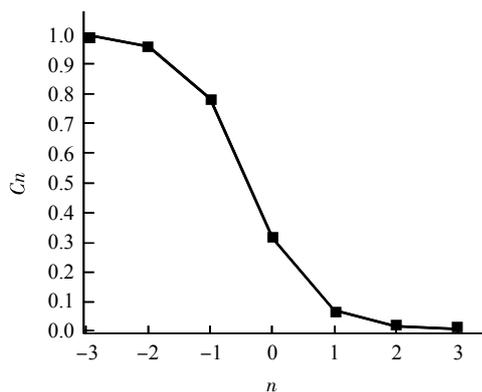


图 1 多层界面模型中，冰晶在纯水中生长时晶相水分子在每层所占比例

Fig.1 The proportion of crystal molecules (C_n) of each layer in multilayer model for ice crystal grows in the pure water

抗冻蛋白溶液中冰晶生长界面的微观结构

在抗冻蛋白溶液中，抗冻蛋白分子可以通过与冰晶相互作用吸附结合到冰晶的表层。由于抗冻蛋白分子与冰晶分子有相互作用，而且会占据冰 - 水界面层的结合位点，导致冰晶生长界面的吉布斯自由能发生变化，从而影响到冰晶生长界面的平衡结构。而界面层微

观平衡结构的改变，引起冰晶的生长习性变化^[8]。

假设冰晶生长界面的每层包括 N 个结合位点，对于特定的第 n 层有 N_{Λ}^n 个抗冻蛋白分子结合到冰晶表面，且每个抗冻蛋白分子占据第 n 层中的 m 个连续的结合位点。第 n 层抗冻蛋白分子的数目与此界面层内结合位点总数 N 的比值记为： $C_{\Lambda}^n = \frac{N_{\Lambda}^n}{N}$ ，冰晶分子所占分数仍以 C_i^n 表示，那么液相水分子的分数就应为 $(1 - C_i^n - mC_{\Lambda}^n)$ 。当 $n = -\infty$ 时，界面层内全部为冰分子，当 $n = +\infty$ 时，界面层内全为液态水分子和抗冻蛋白分子。

在抗冻蛋白溶液中，冰 - 水界面层结构中只考虑冰 - 冰分子、冰 - 水分子、水 - 水分子、冰 - 抗冻蛋白分子之间的最近邻的相互作用，忽略抗冻蛋白分子之间以及抗冻蛋白分子与液态水分子之间的相互作用。按照抗冻蛋白与冰晶结合的特点，可认为抗冻蛋白分子与同一界面层内的冰晶分子有水平的相互作用，与相邻界面层内的冰晶分子有非水平方向的相互作用。冰晶分子在占据位点时仍满足如下假设：冰晶分子仅能坐落在冰晶分子的顶部位置。在界面每层的溶液中，抗冻蛋白分子的位点浓度为一恒定值，可表示为： $\frac{mC_{\Lambda}^n}{1 - C_i^n} = c$ 。

那么每层抗冻蛋白分子和冰晶分子形成的非水平键的个数，与溶液（包括水分子和抗冻蛋白分子）和冰晶分子形成的非水平键的总数 N 的比值也近似为 c 。在光滑界面的情况下，抗冻蛋白分子和冰晶分子形成的非水平键总数为 mN_{Λ} ，其与冰晶分子的非水平键总数 N 的关系为： $\frac{mN_{\Lambda}}{N} = c$ 。因此可以近似认为，在 N 值较大时，界面由光滑到粗糙化的过程中，各分子间的非水平方向键的总数没有改变，只有水平方向键间的置换。

在抗冻蛋白溶液中，冰晶生长界面由光滑到粗糙化的过程吉布斯自由能变化为：

$$\Delta G_{\Lambda} = \Delta G_{w-i} + \Delta U_{\Lambda} - T\Delta S_{\Lambda} \quad (14)$$

等号右边第一项与(2)式第一项的物理意义相同，都是由于水分子在晶相与液相之间相互转变而引起的自由能变化量。在抗冻蛋白溶液中，

$$\Delta G_{w-i} = \Delta \mu N \left[\sum_{n=-\infty}^0 (1 - C_i^n - mC_{\Lambda}^n) - \sum_{n=1}^{\infty} C_i^n \right] \quad (15)$$

根据前面的假设，在抗冻蛋白溶液中，由于抗冻蛋白分子所占的位点浓度为一恒定值 c ，则可近似认为在 N 很大的条件下，界面由光滑到粗糙化的过程中，分子间的非水平键没有改变，仅仅是由于水平键的生成和断裂导致界面性质发生改变。所以，在忽略了抗冻蛋白分子间，以及抗冻蛋白分子与液相水分子间相互作用的情况下，由于生长界面中水平键能的变化所引起内能的变化即(14)式中右边第二项 ΔU_{Λ} ，

$$\Delta U_{\Lambda} = \sum_{n=-\infty}^{\infty} 4\varepsilon_1 N C_i^n (1 - C_i^n - mC_{\Lambda}^n) + (2m+2)\varepsilon_2 N C_i^n \cdot C_{\Lambda}^n \quad (16)$$

上式中， ε_1 是由于生成一个冰 - 水的水平键而引起的能量变化，所以 $\varepsilon_1 = \varepsilon$ 。在不考虑抗冻蛋白分子之间相互作用时，生成一个抗冻蛋白 - 冰晶分子的水平键为 $\phi_{i-\Lambda}$ ，则界面层内内能的改变量为 ε_2 ，可得到：

$$\varepsilon_2 = \frac{1}{2}\phi_{i-i} - \phi_{i-A} \quad (17)$$

(16)式中的“(2m+2)”表示在同一界面层内一个抗冻蛋白分子最近邻的位点数。

在抗冻蛋白溶液中，由于一个抗冻蛋白分子占据 m 个连续的位点，对于光滑界面，界面层的熵为：

$$S_0 = k \ln \left(\frac{(N/m)!}{N_A! [(N/m) - N_A]!} \right) \quad (18)$$

现在讨论粗糙化界面的熵值，第 n 层的组态数可写为：

$$\omega_n = \frac{(NC_i^{n-1})!}{(NC_i^n)! [N(C_i^{n-1} - C_i^n)]!} \cdot \frac{[N(1-C_i^n)/m]!}{(NC_A^n)! \left[\frac{N(1-C_i^n)}{m} - NC_A^n \right]!} \quad (19)$$

利用(18)式可求出界面层组态数 W，利用玻耳兹曼公式可得到粗糙生长界面的熵：

$$S = kT \sum_{n=-\infty}^{\infty} \ln \omega_n \quad (20)$$

因此在抗冻蛋白溶液中，冰晶的生长界面由光滑到粗糙化的过程引起的熵变可由(18)、(19)、(20)式得到：

$$\begin{aligned} \Delta S = Nk \sum_{n=-\infty}^{\infty} \{ & -(C_i^{n-1} - C_i^n) \ln(C_i^{n-1} - C_i^n) + [(1-C_i^n)/m] \ln [N(1-C_i^n)/m] - \\ & C_A^n \ln C_A^n - [(1-C_i^n - mC_A^n)/m] \ln [N(1-C_i^n - mC_A^n)/m] \} - S_0 \end{aligned} \quad (21)$$

上式计算中运用到了边界条件以及 Stirling 公式。

最后把(15)、(16)、(21)式得到的能量变化表达式代入到(14)式，将会得到在抗冻蛋白溶液中冰晶生长界面由光滑到粗糙化的过程中，吉布斯自由能的变化与界面层内的晶相水分子所占分数的函数关系式为

$$\begin{aligned} \frac{\Delta G}{NkT} = \beta [\sum_{n=-\infty}^0 (1-c)(1-C_i^n) \sum_{n=1}^{\infty} C_i^n] + \sum_{n=-\infty}^{\infty} \{ & \alpha_1(1-c)C_i^n(1-C_i^n) + \alpha_2 c C_i^n(1-C_i^n)/m + \\ & (C_i^{n-1} - C_i^n) \ln(C_i^{n-1} - C_i^n) + (1-C_i^n) [c \ln c + (1-c) \ln(1-c)]/m \} \end{aligned} \quad (22)$$

其中 $\alpha_2 = (2m+2)\varepsilon_2/kT$ 。

根据平衡状态下吉布斯自由能取极小值的条件 $\frac{\partial(\Delta G/NkT)}{\partial C_i^n} = 0$ 得到，在抗冻蛋白溶液中，

冰晶生长平衡系统中晶相冰分子占据位点比例满足下面的方程：

$$\frac{C_i^n - C_i^{n+1}}{C_i^{n-1} - C_i^n} = \exp \{ [(1-c)\alpha_1 + c\alpha_2/m](2C_i^n - 1) + [c \ln c + (1-c) \ln(1-c)]/m \} \quad (23)$$

结果与讨论

在抗冻蛋白溶液中，由于抗冻蛋白分子与冰晶表面有特异亲和性，溶液中的抗冻蛋白分子会吸附结合到冰晶表面，应用上述的理论模型，我们计算了三种抗冻蛋白分子 AFP9、

HPLC-6、AAAA2KE 的界面层数。根据实验所得结果，三种抗冻蛋白分子的氨基酸序列接近，空间结构都为 α 螺旋结构^[9,10]。三种抗冻蛋白分子都与冰晶表面的非密排面 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面结合，且结合位点 m 值可根据他们的空间结构和分子冰晶结合面的大小来取值^[11]。在这些抗冻蛋白溶液中，冰晶的生长形态都成“双金字塔”样^[5,7]。根据以上理论模型，通过计算冰晶在这些抗冻蛋白溶液中生长界面的粗糙化过程中吉布斯自由能的变化，可以得到在三种抗冻蛋白质溶液中冰晶生长的界面层数的变化。

冰晶在抗冻蛋白溶液中生长， ε_2 的取值由不同种类的抗冻蛋白的空间结构，以及与冰晶表面的亲和力决定。由于冰晶分子间的相互作用力为氢键，所以(17)式中 ϕ_{i-1} 即为冰晶分子间的氢键，键能大小为 $\phi_{i-1} = 19.7 \text{ kJ/mol}$ ^[12]。可将(17)式代入到 $\alpha_2 = (2m+2)\varepsilon_2/kT$ ，得到 $\alpha_2 = \frac{1}{kT}(\frac{2m+2}{2}\phi_{i-1} - \varepsilon_0)$ ，其中 ε_0 是每个抗蛋白分子与冰晶表面的水平键能之和，近似等于一个抗冻蛋白分子与冰晶表面的相互作用能的大小。根据 Jorov 等的计算，可得到 AFP9、HPLC-6、AAAA2KE 三种抗冻蛋白分子与冰晶表面相互作用能的大小分别为 27.3、20.6 和 14.7 kJ/mol^[13]。通过 Jorov 等的计算还可以得知，HPLC-6 和 AAAA2KE 分子与冰晶表面结合位点 m 值都为 4，进而推算出 AFP9 分子的 m 值为 7^[12,14]。将以上数据代入到(23)式后，可得到结合了抗冻蛋白分子的冰晶界面区域中每层的 C_n^i 与 n 的关系曲线。抗冻蛋白分子所占的位点浓度 c 取值分别为 0.15 和 0.40 时的结果，如图 2、图 3、图 4 所示。

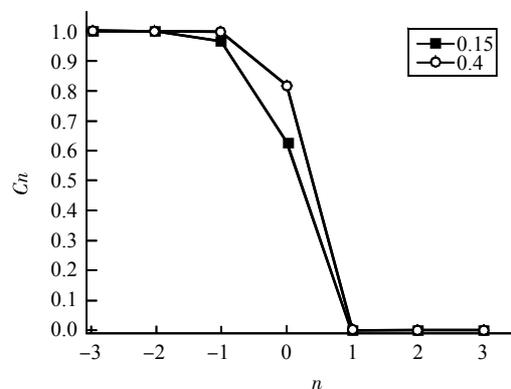


图 2 多层界面模型中，冰晶在 AFP9 溶液中生长时晶相水分子在每层所占比例 AFP9 所占位点的浓度取值分别为 0.4 和 0.15

Fig.2 The proportion of crystal molecules (C_n) of each layer in multilayer model for ice crystal grows in AFP9 solution The site concentration of AFP9 is 0.4 and 0.15 respectively

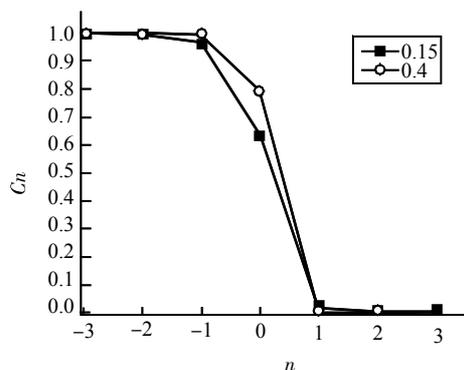


图 3 多层界面模型中，冰晶在 HPLC-6 溶液中生长时晶相水分子在每层所占比例 HPLC-6 所占位点的浓度取值分别为 0.4 和 0.15

Fig.3 The proportion of crystal molecules (C_n) of each layer in multilayer model for ice crystal grows in HPLC-6 solution The site concentration of HPLC-6 is 0.4 and 0.15 respectively

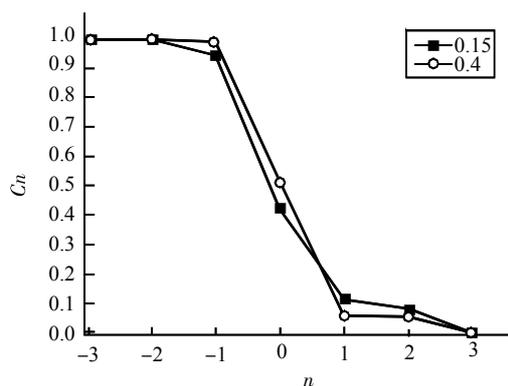


图 4 多层界面模型中, 冰晶在 AAAA2KE 溶液中生长时晶相水分子在每层所占比例 AAAA2KE 所占位点的浓度取值分别为 0.4 和 0.15

Fig.4 The proportion of crystal molecules (C_n) of each layer in multilayer model for ice crystal grows in AAAA2KE solution The site concentration of AAAA2KE is 0.4 and 0.15 respectively

表 1 所示结果为冰晶在 AFP9、HPLC-6、AAAA2KE 这三种抗冻蛋白溶液中界面生长过程中界面层数的数值计算结果。把表 1 中所示的结果与图 1 得到的结果比较可知, 冰晶在纯水中生长与在抗冻蛋白溶液中生长相比, 界面层数有明显变化。在纯水中冰晶生长的界面层大约为 5 层, 而在抗冻蛋白溶液中界面层数有明显的减少趋势。虽然, 三种抗冻蛋白 (AFP9, HPLC-6, AAAA2KE) 氨基酸序列接近, 空间结构都为 α 螺旋结构, 但分子大小

表 1 冰晶在抗冻蛋白溶液中生长的界面层结构

Table 1 The structure of the ice crystal interface layer in type - I AFP solution

Antifreeze protein	The number of binding sites m	ϵ_0 (kJ/mol)	The structure of interface layer	
			$c=0.15$	$c=0.4$
AFP9	7	27.3	≈ 3	≈ 2
HPLC-6	4	20.6	≈ 4	≈ 2
AAAA2KE	4	14.7	≈ 5	≈ 4

不完全相同, 而且它们与冰晶的结合位点数和结合能也各不相同。应用多层界面模型计算得到的结果表明, 抗冻蛋白溶液中冰晶生长的界面层吉布斯自由能与抗冻蛋白分子的结合位点个数, 以及抗冻蛋白分子与冰晶表面相互作用能的大小有关。所以, 三种抗冻蛋白分子结合到冰晶表面后, 冰水界面层的吉布斯自由能也各不相同, 进而导致三种抗冻蛋白溶液中冰晶生长界面层的微观平衡结构不同。另外, 随着抗冻蛋白溶液浓度的增加, 界面层结构也越趋近光滑。当界面只有两层时, 冰晶分子与液态水分子的分界面可以看成是一个平面, 晶体越过此面就会突然转变为液态, 这样的光滑界面为锐变界面。根据上面的计算分析可知, 冰晶在一定浓度的抗冻蛋白溶液中生长, 结合抗冻蛋白的特定晶面的生长界面层结构发生变化, 界面由粗糙界面转变为光滑的锐变界面。根据晶体生长动力学理论, 一般在低相变驱动力的情况下, 晶体的粗糙界面生长快, 光滑界面生长慢。冰晶在纯水中生长时, $\{20\bar{2}1\}$ 晶面为粗糙界面。在抗冻蛋白溶液中生长时, 抗冻蛋白分子结合到冰晶的 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面导致界面性质发生改变, 该晶面平衡结构的改变, 使冰晶生长的界面层由粗糙界面转变为光滑界面。而其它没有结合抗冻蛋白的晶面都没有变化, 这样, 在一定生长驱动力条件下, 冰晶的 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面的生长速率就会比其它晶面的生长速率小。达到稳定状态后,

只有 $\{20\bar{2}1\}$ 晶面保留下来，所以冰晶的生长形态就会呈现六棱双金字塔形态。对于热滞活性较小或无明显热滞活性的抗冻蛋白，通过热滞实验来研究它们与冰晶的结合特性是比较困难的。根据本文理论模型分析的结果，对于热滞活性较小或无明显热滞活性的抗冻蛋白，可以通过研究其对冰晶生长形态的影响来研究它们与冰晶的结合特性。另外可以设计不同的抗冻蛋白分子的变通分子，选择性地结合到冰晶的不同晶面，影响其界面平衡结构，从而控制冰晶的生长或溶解的形态。这里需要说明的是，我们讨论的实际上是冰晶表面的平衡态结构，然而冰晶生长过程是存在驱动力的，所以上分析适用于接近平衡态的低相变驱动力情况。抗冻蛋白对冰晶界面生长速率影响的定量结果，以及强的生长驱动力对界面结构有什么影响，是否可以改变界面性质，是需要进一步探讨的问题。

参考文献：

1. Li QZ, Luo LF. A study of the growth rate and growth habits of ice crystals in a solution of antifreeze (glyco) proteins. *Chem Phys Lett*, 1996, 263: 651~654
2. Feeney RE, Fink W. Investigation of the differential affinity of antifreeze glycoprotein for single crystal of ice. *J Cryst Growth*, 1991, 113: 417~429
3. Knight A, DeVries AL, Oolman LD. Fish antifreeze protein and the freezing and recrystallization of ice. *Nature*, 1984, 308: 295~296
4. Ramonde JA, Wilson PW, Devries AL. Inhibition of growth of nonbasal planes in ice by fish antifreezes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 881~885
5. Wilson PW, Gould M, DeVries AL. Hexagonal shaped ice spicules in frozen antifreeze protein solutions. *Cryobiology*, 2002, 44(3): 240~250
6. Flory PJ. Principles of polymer chemistry. London: Cornell Universit Press, 1953. 672~682
7. Grandum S, Yabe A, akagomi K, Tanaka M, Takemura F, Kobayashi Y, Frivik PE, Microscale. Analysis of ice crystal growth for a crystal surface containing adsorbed antifreeze proteins. *J Cryst Growth*, 1999, 205: 382~390
8. Liu JJ, Li QZ. Theoretical model of antifreeze protein-ice adsorption: Binding of large ligands to a two-dimensional homogeneous lattice. *Chem Phys Lett*, 2006, 422(1-2): 67~71
9. Sicheri F, Yang DSC. Ice-binding structure and mechanism of an antifreeze protein from winter flounder. *Nature*, 1995, 375: 427~431
10. Gronwald W, Chao H, Reddy DV, Devies PL, Sky BD, Sonnichse FD. NMR characterization of side chain flexibility and backbone structure in the type antifreeze protein at near freezing temperatures. *Biochemistry*, 1996, 35: 16698~16704
11. Cheng Y, Yang Z, Tan H. Analysis of ice binding sites in fish type-II antifreeze protein by quantum mechanic. *Biophys J*, 2002, 83(4): 2202~2210
12. Li LF, Liang XX, Li QZ. The thermal hysteresis activity of the type I antifreeze protein: A statistical mechanics mode. *Chem Phys Lett*, 2009, 472: 124~127
13. Jorov A, Zhorov BS, Yang DSC. Theoretical study of interaction of winter flounder antifreeze protein with ice. *Prot Sci*, 2004, 13: 1524~1537
14. Liu JJ, Li QZ. A theoretical model on thermal hysteresis activity of winter flounder protein 'HPLC-6'. *Chem Phys Lett*, 2003, 378(3-4): 238~243

The Effect of Type I Antifreeze Proteins on The Equilibrium Structure of Interfacial Layer of Ice Crystal

XIE Wenjing, LIU Junjie, LI Qianzhong

School of Physical Science and Technology, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China

This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30560039) and The Natural Science Foundation of Autonomous Region of Inner Mongolia (200711020107)

Received: Mar 29, 2010 **Accepted:** May 25, 2010

Corresponding author: LIU Junjie, Tel: +86(471)4991463, E-mail: pyljj@imu.edu.cn

Abstract: Based on the thermodynamic properties of ice crystal in aqueous solution and using multilayer model, Gibbs functions of interfacial layer of ice crystal in pure water and antifreeze protein solution were obtained respectively. Equilibrium structures of interfacial layer of ice crystal in three kinds of type I antifreeze protein solution were analyzed by using the Gibbs function. Equilibrium structures of interfacial layer of ice crystal in pure water and antifreeze protein solution were different. The effect on the shape of ice crystal that caused by change of equilibrium structure of interfacial layer of ice crystal was discussed. It is a theoretical evidence for understanding the experiment results that the growth habits and shape of ice crystals are different in antifreeze protein solution and pure water.

Key Words: Ice crystal; Antifreeze protein; Equilibrium structure of interface layer