

天然纤维素超显微结构的扫描隧道显微镜研究*

张玉忠 刘洁 高培基

(山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

时东霞 庞世瑾**

(中国科学院北京真空物理实验室 北京 100080)

摘要

用扫描隧道显微镜 (STM) 对天然纤维素脱脂棉的超显微结构进行了研究, 结果表明用 STM 可直接观察到脱脂棉的微纤丝和基原纤丝。另外, 还直接观察到了脱脂棉中纤维素分子的结晶区和非结晶区以及分叉状结构, 从而表明棉花纤维素是一种结晶不完全的多聚物。

关键词: STM 天然纤维素 微纤丝 结晶区 非结晶区 叉状结构

纤维素是由葡萄糖残基组成的、以纤维二糖为基本联结单位的天然高分子化合物^[1], 它是自然界里最丰富的可再生资源, 纤维素代谢则是生物圈碳循环的重要组成部分。据估计, 植物纤维的合成速率约为 4×10^{10} 吨/年^[2]。因此, 纤维素资源的利用和为此而进行的一系列研究引起了国际科学界的关注, 其中, 纤维素结构的研究一直是一个热门课题。对此, 学者们提出了种种模式^[3], 如 Meyer 与 Mark 最早提出的纤维素微胞结构理论以及五十年代以来的 Gerngross 模型、Frey - Wyssling 模型和 Hess 模型等等。但以往常用的研究手段主要是拉曼光谱、核磁共振以及 X 光衍射, 经过谱图分析、数据处理、计算机重构, 得到的多是一些间接的结果^[4]; 一般的扫描电子显微镜 (SEM) 因其分辨率低, 也不可能观察到纤维素的超显微结构。而其超显微结构的确定对于充分理解纤维素降解机制、有效利用纤维素资源是至关重要的。近年来, 扫描隧道显微镜的问世, 纳米生物学的兴起, 使生物大分子结构的直观探测成为可能, DNA 以及许多种蛋白质的空间结构相继被观察到, 我们也曾利用扫描隧道显微镜观察到藻胆蛋白^[5]和藻胆体^[6]的结构。本文把扫描隧道显微镜技术 (STM) 引入纤维素结构的研究, 成功地观察到棉花纤维的微细结构, 获得了高分辨率、高清晰度的形态结构图象。

1 材料和方法

实验以脱脂棉 (商品) 作材料, 实验前用酒精冲洗干净。将脱脂棉理成小束, 拉直平铺于刚揭开的高定向石墨片 (HOPG) 表面, 两端用双面导电碳胶固定。滴加酒精润湿、分散棉丝, 自然干燥。用电化学刻蚀法自制钨针尖, 采用恒流模式, 在室温、大气条件下用 STM (中科院化学所研制, CSPM9100) 进行观察。扫描时的隧道电流和偏压见图中的说明。

* 本项目为自然科学基金资助项目。 ** 联系人。

2 结果与讨论

棉花纤维是唯一的天然纯净纤维素材料,纤维素含量高达 95 - 97%,其结晶度大约为 70%,经过脱脂处理后是很好的研究纤维素结构及其生物降解的材料。

图 1 是脱脂棉的红外光谱,用 Perkin - Elmer 983 G 红外光谱仪测定,从中可以看出, 3342cm^{-1} 的峰是 -OH 峰, 1635cm^{-1} 和 1161cm^{-1} 峰分别是 C=O 和 C-O-C 基团的吸收峰, $1279 - 1368\text{cm}^{-1}$ 的峰是 CH- 和 CH_2 - 基团的吸收峰,该试验用的脱脂棉与标准纤维素具有相同的红外吸收光,从而表明实验用脱脂棉是纯的纤维素。

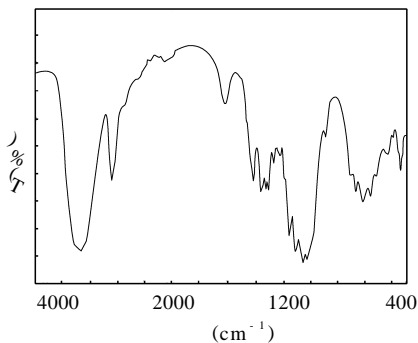


Fig. 1 Infrared spectrum of dewaxed cotton fiber.

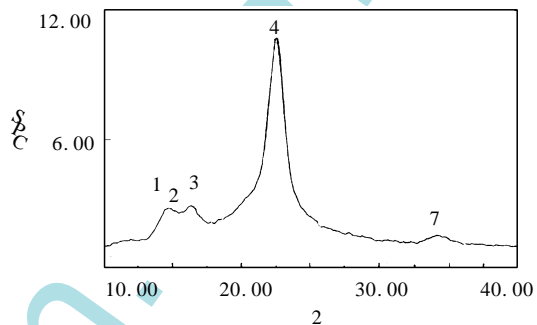


Fig. 2 X - ray diffraction spectrum of dewaxed cotton fiber.

X - 射线衍射用 D/MAX - RIS 衍射仪测定,用 Cu K_1 X - 射线 ($\lambda = 1.548\text{\AA}$)。测定时, 2θ 从 10 - 40 °, 结晶纤维素在这个范围内应有 7 个衍射峰,分别表为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 图 2 是实验用脱脂棉的 X - 射线衍射图谱,该结果与文献中报道的其它纤维素的 X - 衍射结果类似,由于棉花纤维素的结晶度较低,因此,峰 5 和峰 6 观察不到。

用 KYKY - 2000 型扫描电镜观察脱脂棉的表面形貌。从棉花纤维的 SEM 图片中可清楚的观察到纤丝,直径为 500nm 左右,它是组成纤维素的最大的结构单元,纤丝平行排列在一起,但由于 SEM 分辨率较低,加之实验时需在纤维素表面喷一层金膜,因此,从 SEM 图象中很难进一步观察到纤丝的精微结构。

图 4a 是脱脂棉纤维的 STM 图象,由于 STM 的扫描范围较小,因此,STM 针尖只能在棉花纤维表面的局部区域扫描。图中显示的是组成纤维素的微纤丝 (microfibril),微纤丝的宽度在几十纳米的范围内,而其长度远远超出扫描范围。从缩小扫描范围得到的图 4b 中可以观察到,微纤丝又由更细的结构——基原纤丝 (elementary fibril) 以平行排

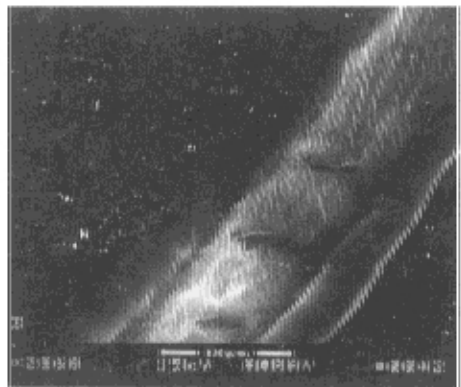


Fig. 3 SEM photograph of dewaxed cotton fiber (2860X, bar: 10 μm).

列方式组成, 基原纤丝的直径大约在 2-4nm 之间, 它的结构单元是以 β -1,4-糖苷键连接而成的纤维素分子。

由图 5a 可以清楚地看到, 在两个高度有序、平行排列的区域 (区域 A) 之间存在着间隔区 (区域 B); 间隔区里没有明显的有序结构, 而呈现一种模糊、杂乱的状态。结合文献资料^[3]可

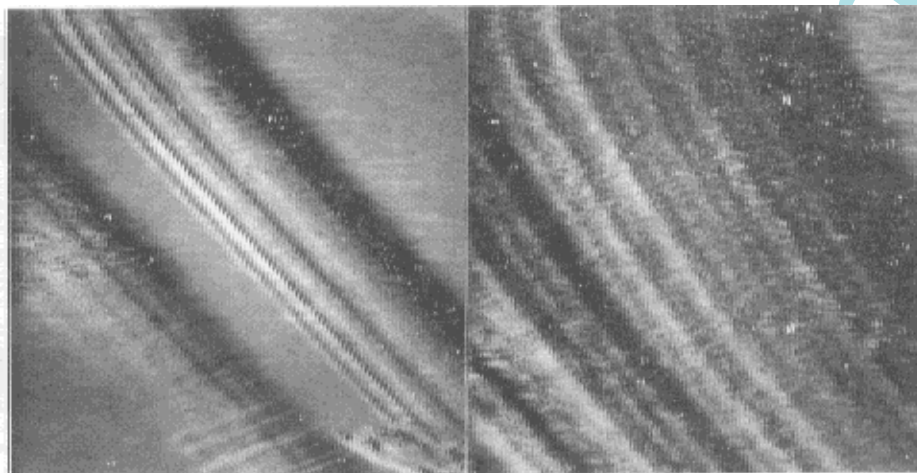
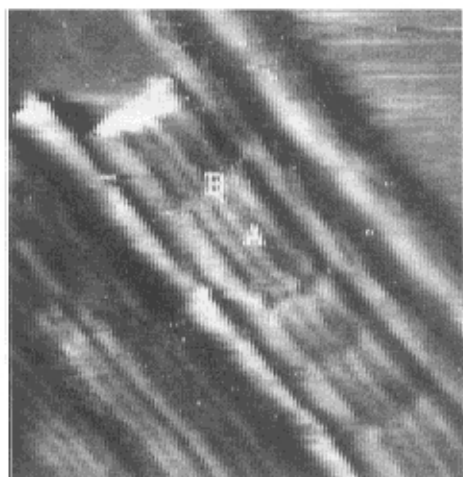
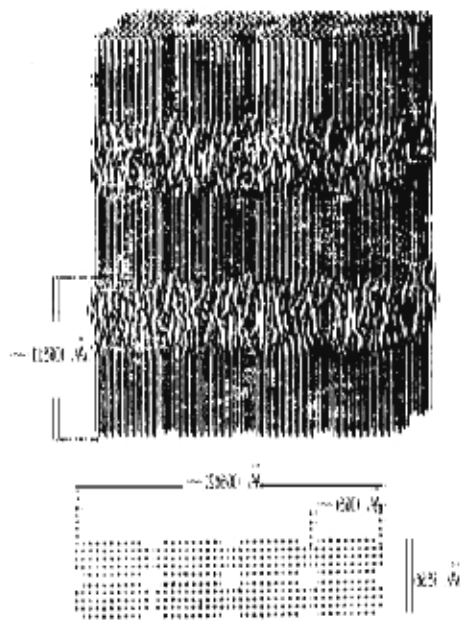


Fig. 4 STM images of dewaxed cotton fiber, $I_t = 0.28\text{nA}$, $V_{\text{bias}} = 420\text{mV}$, Scan area: a) $128\text{nm} \times 128\text{nm}$; b) $32\text{nm} \times 32\text{nm}$.



a



b

Fig. 5 STM image of dewaxed cotton fiber, $I_t = 0.31\text{nA}$, $V_{\text{bias}} = 508\text{mV}$. Scan area: $40\text{nm} \times 40\text{nm}$. (a): showing the amorphous region and the crystalline region; (b): The model structure.

以推断,高度有序的区域 A 应为棉花纤维的结晶区,中间间隔的无序区域 B 应为非结晶区,这表明纤维素确实是一种结晶不完全的多聚物。从图中还可观察到,结晶区与无定形区之间没有明显的界限,它们构成了一种逐渐过渡的连续结构。之所以出现这种情况,是由于一根微纤丝可以贯穿几个结晶区与无定形区。另外,图 5a 显示出结晶区的长度并非均一,其长度变化范围大约为 5 - 9nm。此结果与 Frey - Wyssling 模型是相近的(图 5b)。

图 6a 显示的是棉花纤维形成的叉状结构,而且这种叉状结构在纤丝与微纤丝结构单元中都存在。这又证明了微纤丝中的纤维素分子可以通过交叉而融合在一起,形成较其本身长得多的微纤丝;微纤丝也可以同样的方式形成更长的纤丝,进而构成长度比宽度大上百倍的纤维材料。

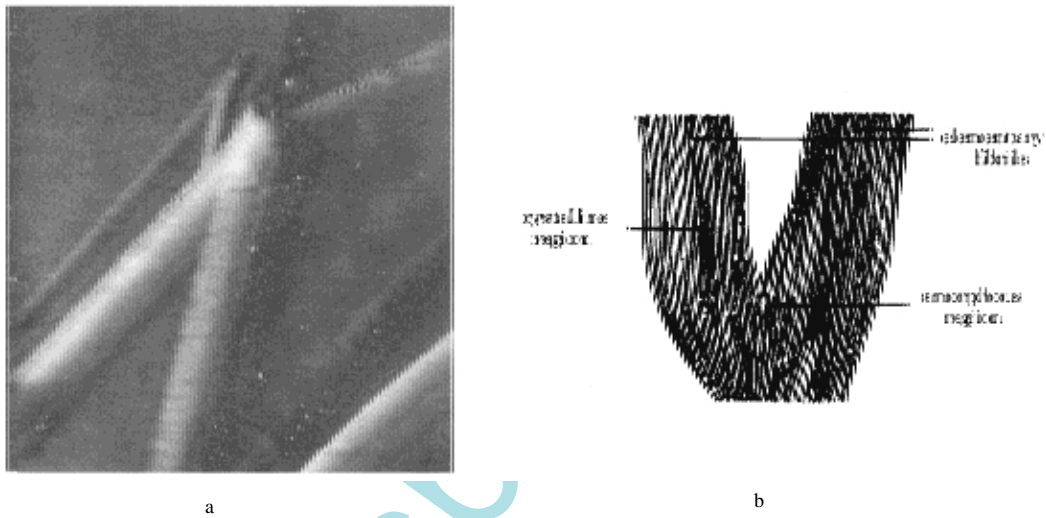


Fig. 6 The STM image of cotton fiber $I_t = 0.31 \text{ nA}$, $V_{\text{bias}} = 508 \text{ mV}$, Scan area: $40 \text{ nm} \times 40 \text{ nm}$, a): showing the cross structure of microfibrils. (b): The deduced model structure.

本世纪 20 年代以来,通过 X 光衍射等实验,提出了纤维素的物理结构模式,即纤维素超分子结构二相体系理论^[7]。按照这一被普遍承认的理论,纤维素首先在分子内和分子间形成大量氢键,进而构成刚性的不溶性微纤丝;在微纤丝形成过程中,有的区域中葡聚糖长链沿分子长轴平行排列,呈现一定的规律,形成高度有序的结晶区,其间又夹杂很多无序结构,形成交织的无定形区。另外,以 8000 个葡萄糖残基计,微纤丝中的纤维素分子的长度约为 4.12 微米,而实际上微纤丝的长度却大得多^[8],这样,微纤丝就不可能平行排列、贯穿整个长度,而只能交叉、融合形成叉状结构(图 6b)。可以看出,我们的实验结果是上述理论模式的直接验证。

X 光衍射手段以往常用于纤维素结构的研究,但它只适用于结晶结构;同时,由于纤维素叉状结构的重叠区域往往是无定形的,X 光衍射也无法探测。所以对于纤维素这样一种结晶不完全的化合物的结构分析,仅仅 X 光衍射的结果是远远不够的,而需要一种能够同时研究结晶区与无定形区的技术手段,其结果才可全面。另外,由于 SEM 分辨率较低,只能看到纤维及纤丝形态,而无法分辨出更细的结构以及结晶区与无定形区的差异。通过比较,并由我们的实验结果可以看出,STM 技术充分弥补了 X 光衍射和 SEM 技术的上述不足,不失为一种研究天然纤维素结构的有效手段。而且,扫描隧道显微镜观察可在大气、常温、水溶液等生理条件

下进行,样品也无需作任何处理,具备研究生理过程的独特优势^[9],可为纤维素超显微结构的最终阐明提供有力证据。同时,纤维素结构的复杂性给其生物降解过程的研究带来了许多困难,但纤维素超显微结构的直接观察为检测其降解的动态过程提供了可能,为进一步阐明纤维素酶对纤维素降解的作用机制打下了基础。

参考文献

- 1 刘仁庆: 纤维素化学基础,科学出版社,北京,1985,66 - 74.
- 2 Coughlan M. P.: *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 1985,3:39 - 109.
- 3 陈家楠: 纤维素科学与技术, 1993, 1(4): 1 - 10.
- 4 Rajai H. Atalla,: *The structure of cellulose: Characterization of the solid states. American Chemical Society Symposium Series 340*, Washington D. C., 1987,1 - 29.
- 5 Zhang, Y. Z. et al.: *J. Vac. Sci. Technol.* 1994, B12(3): 1497 - 1499.
- 6 Zhang Y. Z. et al.: *Proc. of STM' 95 International Conference.* 1995, USA.
- 7 陈国符, 邬义明: 植物纤维化学, 轻工业出版社, 北京, 1980,37 - 39.
- 8 吴东儒: 糖类的生物化学, 高等教育出版社, 1987, 338 - 341.
- 9 Wiesendanger, R.: *Scanning Probe Microscope and Spectroscopy: Methods and Applications*, Cambridge University Press, 1993, pp.525 - 536.

SCANNING TUNNELING MICROSCOPY OF THE ULTRASTRUCTURE OF NATIVE CELLULOSE

Zhang Yuzhong Liu Jie Gao Peiji

(*Institute of Microbiology, Shandong University, Jinan, 250100*)

Shi Dongxia Pang Shijin

(*Beijing Laboratory of Vacuum Physics, Chinese Academy of Sciences,*

P. O. Box 2724, Beijing, 100080)

ABSTRACT

The ultrastructure of the native cellulose dewaxed cotton fibre was investigated with scanning tunneling microscope (STM). The cellulose microfibrils and elementary fibrils could be observed with STM and the crystalline regions, amorphous regions, and cross structures as well. All these results suggest that the dewaxed cotton fibre is a kind of cellulose material with lower crystallinity.

Key Words: STM Native cellulose Microfibril Crystalline region
Amorphous region Cross structure

本文于 1997 年 2 月 26 日收到。