

微晶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

(山东大学生命科学院微生物研究所, 济南 250100)

时东霞 刘宁 庞世瑾

(中国科学院北京真空物理实验室, 北京 100080)

摘要

本文以微晶纤维素 Sigma cell type 50 为材料, 用扫描隧道显微镜 (STM) 对其结构进行了研究, 结果表明用 STM 可以直接观察到纤维素的基原纤丝 (elementary fibril), 其直径为 2—3 纳米。从表面观察, 微晶纤维素的基原纤丝平行排列在一起, 其本身呈螺旋状, 基原纤丝进一步聚合在一起, 形成微纤丝 (microfibril)。从横切面也观察到了基原纤丝的大小和排列。从纳米水平直接观察到基原纤丝的结构尚属首次, STM 是观察纤维素超显微结构的有效工具。

关键词 扫描隧道显微镜 微晶纤维素 基原纤丝

纤维素是自然界分布最广、含量最多的一种多糖, 纤维素及其衍生物的结构长期以来一直引起人们的密切关注, 它与植物的生物合成有关, 也与加工的过程有关。反之, 纤维素的结构对其化学加工、改性及酶解都有很大关系, 并且纤维素在生态系统的物质循环和能量循环及国民经济中都有重要的作用, 因此, 研究纤维素的结构具有重大的理论和现实意义^[1,2]。纤维素, 特别是天然纤维素的超显微结构的确切认识, 几十年来高分子物理学家和形态学家都存在异议, 研究的焦点是微纤丝的超微结构, 对此, 学者们提出了种种模式^[3]。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, 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。自本世纪八十年代扫描隧道显微镜和原子力显微镜发明以来, 已广泛应用于核酸、蛋白质等生物大分子的结构研究, 并已初步显示了其独特的优势^[5]。我们成功地用 STM 观察了藻胆蛋白和藻胆体的结构^[6,7], 本文用扫描隧道显微镜 (STM) 对微晶纤维素的超显微结构进行了直接观察。

实验用纤维素是从 Sigma 公司购买的 Sigma cell type 50 微晶纤维素, 将少量微晶纤维素用无水乙醇悬浮, 然后滴于刚揭开的高定向石墨上, 空气中干燥。用中国科学院化学研究所生产的 SCTM-9100 扫描隧道显微镜在室温大气下进行观察, 扫描采用恒流模式, 隧道电流和偏压见图中说明。文中所引用的图像未经任何平滑和滤波处理。

纤维素分子在植物细胞壁中构成一种称为纤丝 (fibril) 的结构, 纤丝由微纤丝 (microfibril) 组成。微纤丝由一束沿分子长轴平行排列的纤维素分子构成。微纤丝核心中的纤维素分子常排列成三维的晶格结构。几年前确立的概念是一种 3.5nm 宽的原纤丝 (protofibril) 或基原纤丝 (elementary fibril), 它是用于构成天然纤维素的基础, 其中纤维素分子链通过每一原纤丝牢牢地折叠成螺旋状^[1]。图 1a 是微晶纤维素表面结构的 STM 图像, 从中可以看出许多较大的束状结构平行排列在一起, 可以断定每一束即为一条微纤丝, 每一束直径为 12—14nm。从中还可以看出每一条微纤丝中含有数条更细的丝状结构, 直径为 2nm 左右, 这是基原纤丝。每一条基原纤丝并不是一条平滑的直线, 而是在两侧有一些小的突起。图 1b 是进一步放大的 STM 图像, 可以清

* 本项目为自然科学基金资助项目

楚地看出每一条基原纤丝呈螺旋状。这与前面的概念相吻合,但是从实空间直接观察到基原纤丝的结构尚属首次。

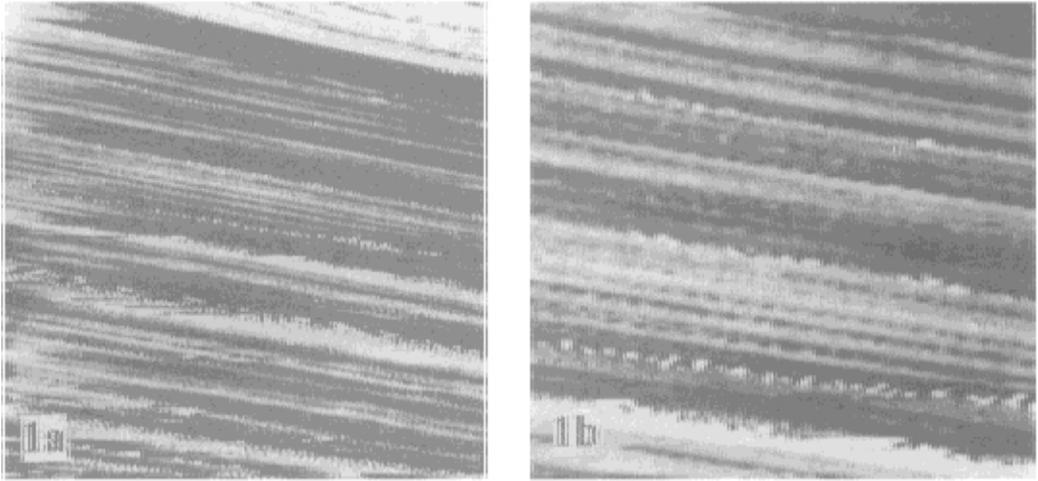


图1 微晶纤维素表面结构的 STM 图像 (隧道电流 0.27nA, 偏压 450mV, 扫描范围: a. 240nm × 240nm, b. 40nm × 40nm)

图2是微晶纤维素横切面的 STM 图像,从中可以清楚地观察到呈束状排列的基原纤丝及其横截面。基原纤丝的横截面并不是规则的圆状,而是呈椭圆形态,从 STM 图像中还可以看出组成微纤丝的表面及中间的基原纤丝的直径都是均一的,直径为 2nm 左右,但未能分辨出微纤丝上的螺旋状结构。我们也用扫描电子显微镜(SEM)研究了纤维素分子的结构,但由于 SEM 分辨率较低,加之实验时需在纤维素分子的表面喷一层金膜,掩盖了分子表面的精细结构,用 SEM 只能观察到 Sigma cell type 50 微晶纤维素是一种颗粒大小很不均匀的超分子化合物,高倍下也只能观察到纤维素分子的外部形貌(结果未列出),而很难观察到纤维素分子中的微纤丝的结构。STM 无疑是目前直接观察生物分子结构的有效工具,因为 STM 分辨率高,无需对样品进行任何处理。

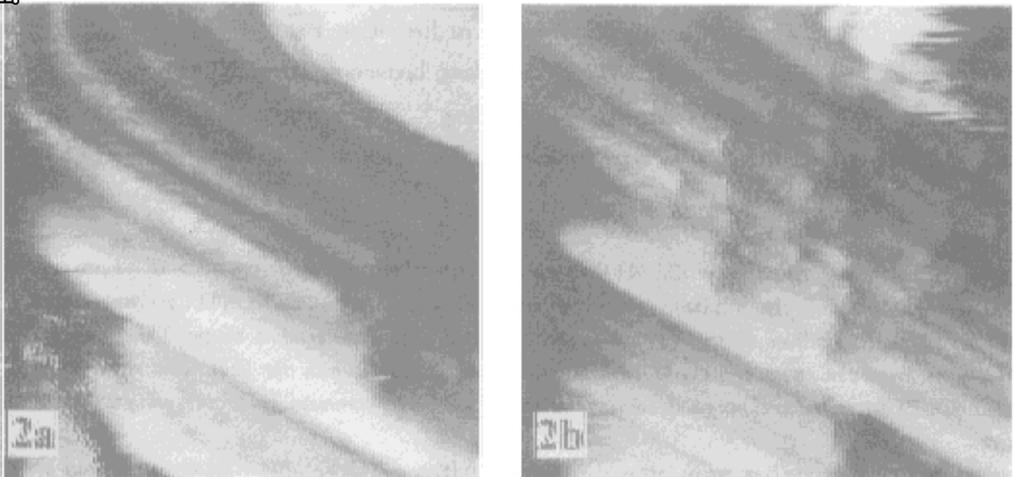


图2 微晶纤维素微纤丝横截面结构的 STM 图像 (隧道电流 0.81nA, 偏压 475mV, 扫描面积: 40nm × 40nm)

X-射线衍射方法是研究物质结构的有效手段,且分辨率高,但是X-射线衍射方法是根据衍射图谱经计算机图像重构而成,因此是间接的。Kuutti等(1994)^[8]用原子力显微镜(AFM)对结晶纤维素的结构进行了研究,未能直接观察到微纤丝的结构,通过图像的傅立叶变化推测出微纤丝的晶态结构,这与AFM的分辨率较STM低有关。本文用STM成功地观察到了微晶纤维素的基原纤丝的超显微结构,通常认为用STM观察样品的结构时样品必须导电,但我们的实验中用STM观察纤维素这种导电性能较弱的样品时却得到了较好的分辨率,对于其成像的机理还有待于进一步的研究。初步推断可能与微晶纤维素是高度有序的刚性分子有关,因为用STM扫描这种高度有序的刚性分子时,不会由于STM针尖与样品的相互作用而使样品损坏或变形。另外,由于纤维素分子表面存在很多氢键,可能有助于STM成像。纤维素酶促降解是目前研究纤维素降解的热点,但由于测试手段的限制,其降解机制还未完全澄清,STM用于观察微晶纤维素超显微结构的成功,为进一步用STM研究纤维素的酶促降解动态过程奠定了基础,STM的应用将为纤维素酶解机制的最终澄清提供强有力的佐证。

参 考 文 献

- [1] 梁 锋. 纤维素科学与技术, 1993, 1(3) 1-14
- [2] Coughlan M P. *Bio Technol Gnet 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 A talla. The structure of cellulose: characterization of the solid states American Chemical Society Symposium Series 340 Washington D. C., 1987. 1-29
- [5] Wiesendanger R. *Scanning Probe Microscope and Spectroscopy: Methods and Applications* Cambridge University Press, 1993 pp. 525-536
- [6] Zhang Y Z et al. *J. Vac Sci Technol*, 1994, B12(3) 1497-1499
- [7] Zhang Y Z et al. *J. Vac Sci Technol*, 1996(in press).
- [8] Kuutti L et al. *J. of Microscopy*, 1995, 178 1-6

Study on The Ultrastructure of Microcrystalline Cellulose with Scanning Tunneling Microscope

Zhang Yuzhong Liu Jie Gao Peiji

(Institute of Microbiology, Shandong University, Jinan 250100)

Shi Dongxia* Liu Ning* Pang Shijin*

(*Beijing Laboratory of Vacuum Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract

Scanning tunneling microscope (STM) was used to investigate the ultrastructure of microcrystalline cellulose. It was resulted that the smallest structural unit-cellulose elementary fibril (ECF) was directly observed with STM. From the surface view, CEF arranged in parallel, and was spiral in shape. The arrangement of CEF was also seen from the cross section and its diameter was 2-3nm. It was the first time to directly observe the structure of CEF from the real space at nanometer scale. STM was potential in investigating the ultrastructure of cellulose.

Keywords Scanning tunneling microscope microcrystalline cellulose cellulose elementary fibril