

不同分子量可德胶水悬浮液的粘弹性研究*

丛峰松 张洪斌** 张惟杰

(上海交通大学化学化工学院和生命科学与技术学院 上海 200240)

摘 要 采用动态粘弹性测量研究了不同分子量的生物大分子可德胶(Curdlan)水悬浮液(ASC)的流变学特性.室温下观察到ASC具有弹性(Solid-like)行为,储能模量 G' 在测量范围内轻微依赖频率,而损耗模量 G'' 和损耗角正切 $\tan\delta$ 存在最小值.ASC粘弹性随可德胶分子量和浓度的增加而增强.ASC的流动特性符合Herschel-Bulkley模型;其弹性行为可以通过渗流理论的标度弹性模型来描述.网络结构是由于可德胶颗粒聚集或絮凝而形成的,当可德胶含量超过临界浓度 $c_c = 0.3\%$ 时,弹性模量 G' 与可德胶浓度存在标度关系 $G' = G_0 \varepsilon^t$,其中标度指数 $t = 2.54$.

关键词 可德胶,水悬浮液,粘弹性,标度弹性模型,渗流理论

1,3- β -D 葡萄糖苷键是普遍存在于细菌、真菌、海藻和高等植物中涉及细胞结构和能量储存的一种葡萄糖残基连接方式^[1,2].可德胶(Curdlan, CUD)是由 *Alcaligenes faecalis* 发酵产生的细菌多糖,分子呈线性结构,完全由 1,3- β -D 葡萄糖苷键连接而成.由于可德胶具有独特的凝胶特性和抗肿瘤及抗 HIV 生物活性,在近些年受到广泛的关注^[3].可德胶凝胶可简单地通过加热其水悬浮液制得,形成的凝胶属于物理凝胶,其网络结构由单螺旋或三螺旋大分子组成,而可德胶的生物活性一般认为可能是由其特异链的构象所诱导的.

室温下可德胶不溶于水,但溶于碱溶液、Cadoxen(羟基三乙二胺)水溶液和 DMSO(二甲亚砜)中.Tada 等^[4-6]研究了稀碱溶液中可德胶分子缔合体的结构,发现可德胶浓溶液在高碱浓度时呈现为牛顿流体,而在低碱浓度时则表现出弹性行为.在 DMSO 溶液中,当可德胶浓度低于 7% 时,溶液呈牛顿流体,高于 7% 时,有缠结网络结构形成^[7].浓度超过 1% 的可德胶 DMSO 溶液的流变行为类似于聚合物浓溶液^[8],与可德胶 NaOH 水溶液($N_{\text{NaOH}} > 0.05$)的流变行为相似^[4].

在通常使用过程中,可德胶首先须制成悬浮液.可德胶水凝胶即由这种悬浮液加热制得,但针对可德胶水悬浮液的研究目前并不多见.可德胶水悬浮液象一种糊状“凝胶”,在食品工业有潜在的应用.我们曾研究了可德胶的热性质^[9]及在分

子水平上描述了可德胶的凝胶过程^[10],本文则通过动态流变学测量,研究不同分子量的可德胶水悬浮液的粘弹性.

1 材料和方法

1.1 材料

5 种具有不同分子量的可德胶样品,由日本 Takeda 公司提供.通过激光光散射在碱溶液中测得的 CDU-1、CUD-2、CUD-3、CUD-4 和 CUD-5 分子量分别为 192、101、50、21 和 5.1×10^4 ,分子量分布(M_w/M_n)均约为 1.3.样品未进一步纯化.

1.2 可德胶水悬浮液的制备^[10]

将可德胶混合于水中,室温下使其溶胀至饱和.溶胀时间取决于可德胶分子量和浓度.分散中采用具有 50 μm 间隙的均质机,速率恒定为 1300 r/min,环境温度为 0℃.

1.3 可德胶在水中的溶解性

不同温度下可德胶在水中的溶解性通过测定可德胶悬浮液上清液的比粘度 η_{sp} ($\eta_{\text{sp}} = \eta/\eta_0 - 1$, η 和 η_0 分别是上清液和水的粘度)得知.实验中分别在 30℃、55℃、60℃、65℃、70℃和 80℃条件下将 0.1% 可德胶悬浮液加热 15 min,然后用离心机(CENTRIFUGE 05P-21, Hitachi, Japan)以 3000 r/min 离心 10 min.在相应的加热温度下,用 Ubbelohde 型粘度计测定每种上清液的 η_{sp} ,并用动态光散射仪(Nicomp 380/DLS, Langhorne,

* 2002-10-28 收稿,2003-01-06 修稿;** 通讯联系人

Pennsylvania, USA) 观察上清液的丁达尔现象。

1.4 颗粒尺寸分布分析及显微观察

2% 可德胶悬浮液的颗粒尺寸通过一台计算机控制的激光散射颗粒尺寸分析仪 (SALD-2000J, Shimadzu, Japan) 测定。所有样品在测量前超声处理 10 s。2% 可德胶悬浮液的形态结构则通过光学显微镜 TMD-2S (Nikon Co., Ltd., Japan) 观察。

1.5 应力-剪切速率测量

采用应变控制的流变仪 RFS II (Rheometrics Co., Ltd., USA) 测定 30℃ 时不同分子量, 不同浓度可德胶悬浮液应力-剪切速率曲线。实验中采用平行板夹具 (直径 25 mm, 间隙 1.5 mm)。流变仪配备有扭距灵敏度为 0.002 gcm 的传感器。所得实验数据根据 Herschel-Bulkley 流变学模型 (HB 模型) 进行拟合:

$$\tau = \tau_y + K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

式中 τ_y 是屈服应力, K 为稠度指数, n 为幂律指数。

1.6 动态粘弹性测量

采用 RFS II 流变仪 (采用锥板或平行板夹具, 直径 25 mm) 在小幅剪切振动的情况下测量样品粘弹性, 记录 30℃ 时样品的动态力学谱 (储能模量 G' 、损耗模量 G'' 和损耗角正切 $\tan\delta$ 的频率依赖性)。测定在线性粘弹性区应变为 0.01 下进行, 角频率 ω 扫描范围为 $10^{-2} \sim 10^2$ rad/s。上述测量中样品表面暴露部分均覆以轻硅油避免水分挥发。

2 结果与讨论

2.1 可德胶在水中的溶解性

可德胶水溶性的确定对了解可德胶水悬浮液和可德胶凝胶的两者特性及可德胶在两者中的大分子构象是非常重要的。据报道, 在聚合度很低 ($DN = 25$) 时, 可德胶在水中是溶解的^[11]。另有报道认为可德胶在大约 60℃ 时可能是溶解的, 在这一温度可观察到可德胶发生高度溶胀^[12]。本研究通过测量可德胶悬浮液上清液粘度和观察丁达尔现象, 来获知不同加热条件下可德胶的水溶性。实验发现, 在加热温度低于 55℃ 时, 观察不到丁达尔现象, 且每种上清液的比粘度也很小, 仅约为 0.01; 而当加热温度在 55℃ 以上时可观察到轻微的丁达尔现象, 但每种上清液的比粘度仍然很小, 最大约为 0.05。这表明本研究中可德胶的水溶性很小。

可德胶的化学结构仅在重复单位的连接方式

上不同于纤维素, 后者由葡萄糖残基通过 1,4- β -D 构型连接。纤维素不溶于水是由于广泛存在于分子内部和分子间的氢键结晶区的存在。由此我们认为可德胶的水不溶性也可能是基于同样的原因。然而, 在加热时, 可德胶中氢键断裂最终导致凝胶的形成, 表明水合作用在可德胶凝胶形成中发挥着重要作用。根据构象分析, 在水悬浮液中可德胶可能以一些水合态存在^[13]。由于可德胶结晶度较低, 仅约为 30%, 因此可德胶的水合作用应该较强。

2.2 颗粒尺寸分布分析和显微观察

图 1 表明 2% 悬浮液分散相可德胶颗粒具有较宽的尺寸分布, 很显然大多数可德胶颗粒尺寸都大于均质机间隙。Partial 等^[14]用 S 型方程来拟合该类体系小尺寸累加频率 f_c 和颗粒平均直径的关系:

$$f_c = 1/[1 + (d_{1/2}/d)^b] \quad (2)$$

这里 $d_{1/2}$ 是中值粒径, b 是一个与多分散性成反比的参数。图 2 表明对于 CUD-1, 上述公式能很好地与实验数据符合。对于 CUD-1、CUD-2、CUD-3、CUD-4 和 CUD-5, 中值粒径分别为 68.5、33.1、29.1、23.8 和 15.6 μm , 表明随着分子量的降低粒径减小, 低分子量可德胶更容易分散。可德胶颗粒尺寸大小应与可德胶颗粒分散、聚集或絮凝过程, 及分散体系状态有关。实验中观测到的可德胶尺寸应是可德胶颗粒聚集区域大小而非单个粒子大小。

可德胶分散于水中, 呈糊状悬浮液状态, 而不象魔芋葡甘聚糖那样形成高粘度的溶液。通过显微分析, 可以观察到悬浮液中可德胶以不规则的片状颗粒聚集体形式存在, 完全不同于淀粉颗粒具有规则的边界, 而与破裂后完全溶胀的淀粉颗

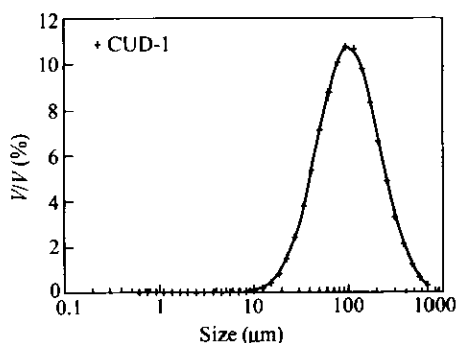


Fig. 1 Particle size distribution for 2% aqueous suspensions of CUD-1 at 30℃

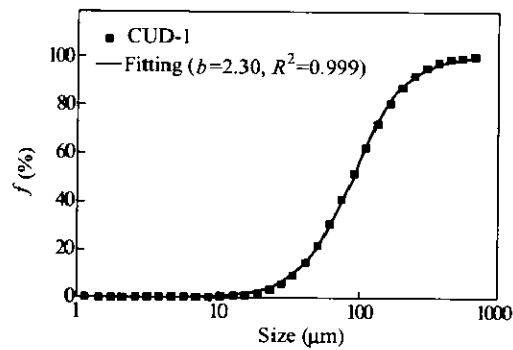


Fig. 2 Undersize cumulative frequency for 2% CUD-1 aqueous suspensions at 30°C

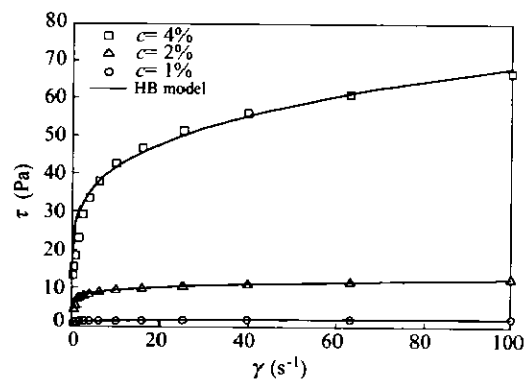


Fig. 4 Effect of concentration on flow behaviour for curdlan aqueous suspensions of CUD-1 at 30°C

粒相似.可德胶悬浮液形态学观察和粒径测定表明,可德胶颗粒发生了强烈的聚集或絮凝.

2.3 可德胶悬浮液的粘弹性

2.3.1 应力剪切速率测量 图3和图4表明,Herchel-Bulkley流变学模型能很好描述不同分子量2%可德胶悬浮液和不同浓度CUD-1悬浮液的流动行为.由表1,CUD-5的屈服应力很小($\tau_y = 0.03$ Ps),而其它分子量的样品则不同.Nishinari等^[15]和Tako & Hanashiro^[16]也观察到,在甚至更低的浓度0.2%时,可德胶悬浮液也表现出塑性行为.根据表1,在其它条件相同并忽略可德胶粒子形状、尺寸和分布复杂性的情况下,屈服应力 τ_y 和稠度指数K的值随可德胶分子量或浓度的增加而增加.

且除高频时的CUD-4, G' 和 G'' 均显示出轻微的频率依赖性,而且 G'' 和 $\tan\delta$ 具有最小值.在纤维素^[17]和许多大分子凝胶如直链淀粉、琼脂、小牛血清蛋白、肌动蛋白和 β -伴血清蛋白凝胶微粒悬浮液中也发现同样的流变行为^[18,19].

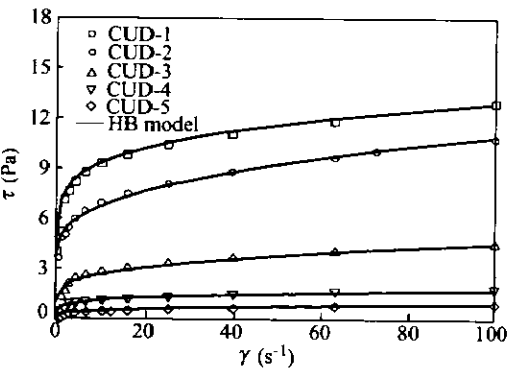


Fig. 3 Effect of molecular weight on flow behaviour for 2% curdlan aqueous suspensions at 30°C

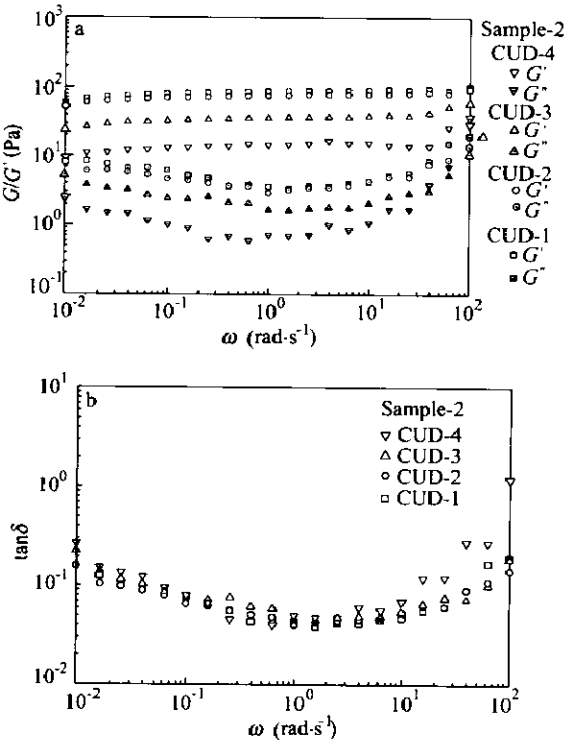


Fig. 5 Frequency dependence of G' , G'' and $\tan\delta$ for 2% suspensions of curdlan with different molecular weights at 30°C

2.3.2 动态粘弹性测量 图5(a)(b)和图6(a)(b)分别给出了不同分子量2%可德胶悬浮液和1%~4%浓度CUD-1悬浮液, G' 、 G'' 和 $\tan\delta$ 对频率的依赖关系.由于传感器灵敏度的限制,CUD-5的 G' 和 G'' 值太小无法探测到.从图上可以看出悬浮液的共同特征是在整个频率范围内 $G' > G''$,并

由图6可以看出,在分子量一定的情况下,高浓度样品的 G' 和 G'' 大于低浓度样品,而各样品的 $\tan\delta$ 表现出同样的大小和变化趋势.在整个扫描范围内 $\lg G'$ 随 $\lg\omega$ 变化保持线性关系,斜率约为0.04.这里 $\tan\delta$ 在中心频率范围的值大约是

0.05, 而典型的多糖弹性凝胶的 $\tan\delta$ 小于 0.1, 弱凝胶的 $\tan\delta$ 约为 0.5. 尽管图中 G' 很小, 但 G' 的频率依赖性接近于弹性凝胶, 较弱凝胶强, 与低 NaOH 浓度的可德胶溶液或凝胶相似^[4]. G'' 的频率依赖性也类似于弹性凝胶, 与可德胶溶液或低浓度 NaOH (0.01 ~ 0.2 mol/L) 溶液或凝胶相似^[4].

Table 1 Flow parameters, yield stress τ_y , consistency index K and power law index n for curdian aqueous suspensions at 30°C in the case of sample-1

Sample-1 (W/W %)	τ_y (Pa)	K (Pa·s ⁿ)	n
CUD-1(1%)	0.4	14.0	0.29
(2%)	3.8	3.20	0.22
(4%)	14.0	0.32	0.39
CUD-2(2%)	3.7	1.30	0.37
CUD-3(2%)	1.2	0.65	0.35
CUD-4(2%)	0.3	0.50	0.23
CUD-5(2%)	0.03	0.32	0.23

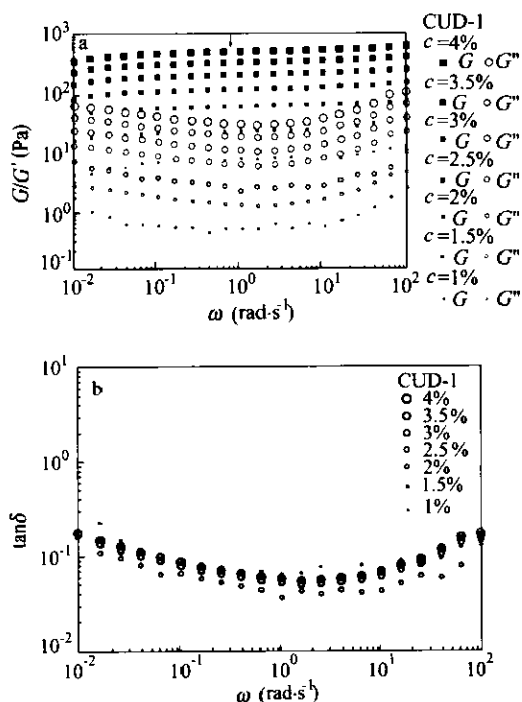


Fig. 6 Frequency dependence of G' , G'' and $\tan\delta$ for curdian suspensions at concentrations of 1% ~ 4% at 30°C

G'' 具有最小值和平台区的现象与大分子链缠结的形成有关, 但对于可德胶悬浮液, 由于可德胶的水不溶性, 这种现象只可能与可德胶粒子的聚集体形成有关. 一些因素对频率依赖性有影响, 如样品与测量构件之间的滑移和粒子间内部滑移^[20], 力学松弛, 网络的部分破裂等. 由于在流变学测量中, 我们设定平行板夹具不同间隙的实验给出了相同的频率依赖性, 考虑到颗粒的粗糙和

不规整有利于接触, 平行板夹具与颗粒和颗粒之间的内部滑移发生的可能性似乎不大, 而颗粒间接触区及颗粒内部的力学松弛可能是原因之一, 但考虑到大分子链的限制性环境, 颗粒内部松弛的影响则相对较小. 样品在高频测量区内弹性组分的减少 ($\tan\delta$ 值增加) 表明, 变形过程中网络结构遭到部分破坏, 因此, 把 $\tan\delta$ 呈现最小值处时振动频率所对应的 G' 值作为弹性行为的合理平台模量 G_N^0 ^[21]

$$G_N^0 = [G']_{\tan\delta \rightarrow \text{minimum}} \quad (3)$$

图 7 给出了 G_N^0 与分子量的函数关系, 而图 8 以对数坐标给出了 G_N^0 的浓度函数关系, 同时 G' 在最小和最大可获得频率时的值也在图 8 中给出. 由于颗粒间作用加强, G_N^0 随分子量的增加而增大趋于某一稳定值, 随着浓度增加而增大.

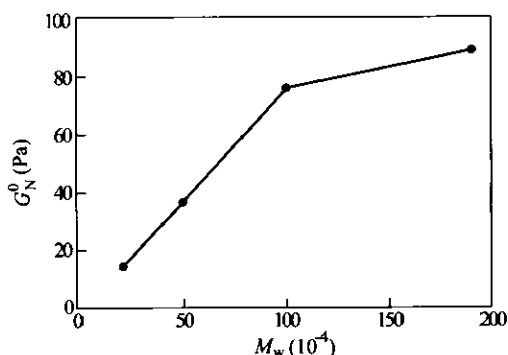


Fig. 7 Plateau modulus G_N^0 versus molecular weight M_w of curdian at 30°C

由图 8 可见, $\lg G_N^0$ 和 $\lg c$ 的线性关系很强 ($R > 0.999$). 然而这个实验结果不能由 Even & Lips^[20] 提出的微凝胶分散体系模型描述, 这一模型中 G' 对浓度的依赖性在某一临界浓度处发生急剧变化. 我们采用一个更普适的扩散控制簇形成 (Diffusion-controlled cluster formation) 模型^[22,23] 来描述这类聚集过程. 聚集过程始于布朗粒子聚集体, 这些粒子接触在一起形成刚性簇. 新形成的簇沿粒子扩散, 当它们遇到其它簇或粒子时, 继续通过聚集生长. 下面给出这种网络弹性模量的标度方程式:

$$G' = G_0 c^t \quad (4)$$

其中 G_0 是标度常数, t 为标度指数. 本研究中 $t = 2.85 \sim 3.21$. 由图 8 可以看出 t 值依赖于角频率, 当 $\tan\delta$ 趋近最小值时 $t = 3.03$.

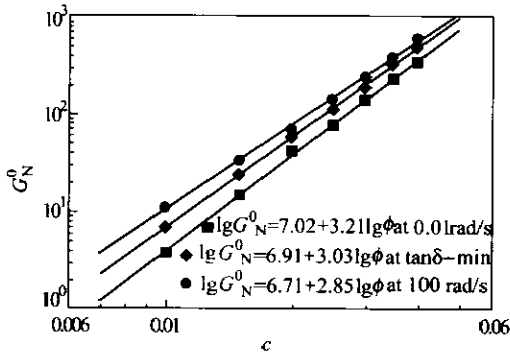


Fig. 8 Plateau modulus G_N^0 versus concentration c for aqueous suspensions of CUD-1 at 30°C

可德胶悬浮液的弹性行为,显然源于暂态网络结构的形成.形态观察表明被分散的可德胶在静止状态具有很强的聚集或絮凝趋势,进而形成某些三维网状结构,使样品表现出弹性行为,这与流变学测量结果相符合.形成的网络结构应跨越整个样品空间,因而剪切应力可以被传输,网络表现出所谓的弹性渗流(Elastic percolation)行为. Kolb 等^[23]认为无论初始浓度多低,簇最终会占满整个空间.然而重力作用会引起簇沉淀.尽管由于仪器灵敏度限制,当悬浮液在 $c = 0.01$ 以下时测不到 G' ,但 CUD-1 悬浮液在临界浓度 $c_s = 0.003$, 静止 24 h 时可观察到可德胶颗粒沉淀.在这里, c_s 被认为是临界浓度阈值,当 $c < c_s$ 时,暂态网络结构太弱,不能承受簇的重量或者不能抑制粒子的热运动,而当 $c > c_s$ 时,则形成无限网络结构.这样,基于渗流理论, G' 可表述为

$$G' = G_0 \epsilon^t \quad (5)$$

式中比浓度 $\epsilon = (c - c_s)/c_s$. 根据方程(5)采用最小二乘法应来拟合图 8 中 $\tan \delta$ 趋近最小值时所获得的数据,可得到 $c_s = 0.0028 \pm 0.0005$,此值与临界沉淀浓度实验值完全相吻合.图 9 给出了 CUD-1 悬浮液剪切模量和比浓度 ϵ 在 $c_s = 0.002 \sim 0.004$ 时的对数关系图(所选择的 c_s 值范围基于上述的实验和计算机模拟结果,实际的 c_s 值必定

在这个范围内).对于不同胶体,标度指数 t 在 1.9 ~ 3.5 间变化^[24],并且 t 与胶体结构有关^[25].图 9 显示 $c_s = 0.004$ 时 $t = 2.37$, $c_s = 0.003$ 时 $t = 2.54$, $c_s = 0.002$ 时 $t = 2.71$.这一结果强烈表明可德胶悬浮液的弹性行为可以通过渗流理论的标度弹性模型来描述^[26].

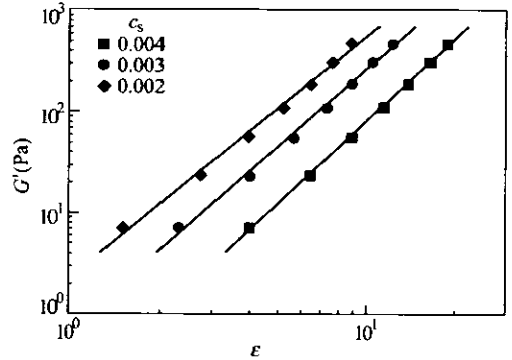


Fig. 9 The dependence of the shear modulus on the reduced concentration $\epsilon = (c - c_s)/c_s$ at $\tan \delta \rightarrow \text{minimum}$ (for $\tan \delta$ see Fig. 6)

可德胶悬浮液流变学行为不仅受可德胶浓度、分子量、粒子形状、大小和分布、硬度、溶胀程度、粒子间相互作用的影响,而且受流场类型和强度(振荡和剪切流场)的影响.阐明这些因素中哪一个因素对流变行为的影响最大以及各因素之间的相互关系对于了解可德胶悬浮液,及象纤维素悬浮液^[17]、和直链淀粉、琼脂、小牛血清蛋白、肌动蛋白和 β -伴血清蛋白凝胶微粒悬浮液的弹性流变行为^[18,19]具有重要意义,因为这类悬浮液在形成凝胶之前 $G' > G''$,不能用通常的溶胶-凝胶判据.

综上所述,可德胶悬浮液具有明显的弹性行为,但它不是凝胶.可德胶在溶液中的流变学行为与它的大分子构象有关,而在悬浮液中可德胶悬浮液颗粒间的结构和相互作用似乎对其流变学特性起着重要作用.由于粒子间聚集或絮凝导致聚集体的形成,进而显示出弹性行为,这一行为可以通过渗流理论的标度弹性模型来描述.

REFERENCES

- Deslandes Y, Marchessault R H, Sarko A. *Macromolecules*, 1980, 13: 1466 ~ 1471
- Meier H, Buchs L, Buchala A J, Homewood T. *Nature*, 1981, 289: 821 ~ 822
- Nishinari K, Zhang H, Curdian. In: Phillips G O, Williams P A, eds. *Handbook of Hydrocolloids*. England: Woodhead Publishing Ltd, 2000. 269 ~ 286
- Tada T, Matsumoto T, Masuda T. *Biopolymers*, 1997, 42: 479 ~ 487

- 5 Tada T, Matsumoto T, Masuda T. *Chem Phys*, 1998, 228: 157 ~ 166
- 6 Tada T, Matsumoto T, Masuda T. *Carbohydr Polym*, 1999, 39: 53 ~ 59
- 7 Tada T, Tamai N, Matsumoto T, Masuda T. *Biopolymers*, 2001, 58: 129 ~ 137
- 8 Hirashima M, Takaya T, Nishinari K. *Thermochimica Acta*, 1997, 306: 109 ~ 114
- 9 Zhang H, Nishinari K, Watase M, Konno A. *Food Hydrocolloids*, 2000, 2: 121 ~ 124
- 10 Zhang H, Nishinari K, Williams M, Foster T, Norton I. *Int J Biol Macromol*, 2002, 1: 7 ~ 16
- 11 Ogawa K, Tsurugi J. *Carbohydr Res*, 1973, 29: 397 ~ 403
- 12 Kanzawa Y, Harada T, Koreeda A, Harada A. *Agric Biol Chem*, 1987, 51: 1839 ~ 1843
- 13 Saito H, Yokoi M, Yoshioka Y. *Macromolecules*, 1989, 22: 3892 ~ 3898
- 14 Partal P, Guerrero A, Berjano M, Munoz J, Gallegos C. *J Texture Studies*, 1994, 25: 331 ~ 348
- 15 Nishinari K, Hirashima M, Miyoshi E, Takaya T. Rheological and DSC studies of aqueous dispersions and gels of curdlan. In: Williams P A, Phillips G O, eds. *Gums and Stabilisers for the Food Industry 9*. England: Roy Soc Chem, 1998. 26 ~ 33
- 16 Tako M, Hanashiro I. *Polymer Gels & Networks*, 1997, 5: 241 ~ 250
- 17 Nishinari K, Miyoshi E, Takaya T. Rheological studies of aqueous dispersions of microparticulated cellulose. In: Williams P A, Phillips G O, eds. *Gums and Stabilisers for the Food Industry 9*. England: Roy Soc Chem, 1998. 16 ~ 25
- 18 Doublier J L, Choplin L. *Carbohydr Res*, 1989, 193: 215
- 19 Nishinari K. *Colloid Polym Sci*, 1997, 275: 1093 ~ 1107
- 20 Even I D, Lips A. *J Chem Soc Faraday Trans*, 1990, 86: 3413 ~ 3417
- 21 Wu S. *J Polym Sci, Part B: Polym Phys*, 1989, 27: 723 ~ 741
- 22 Meakin P. *Phys Rev A*, 1983, 27: 1495 ~ 1507
- 23 Kolb M, Botet R, Jullien R. *Phys Rev Lett*, 1983, 51: 1123 ~ 1126
- 24 Martin J E, Adolf D. *Annu Rev Phys Chem*, 1991, 42: 311 ~ 339
- 25 Li L, Aoki Y. *Macromolecules*, 1998, 31: 741 ~ 745
- 26 Tokita M, Hikichi K. *Phys Rev A*, 1987, 35: 4329 ~ 4333

VISCOELASTICITY OF AQUEOUS SUSPENSIONS OF CURDLAN WITH DIFFERENT MOLECULAR WEIGHTS

CONG Fengsong, ZHANG Hongbin, ZHANG Weijie

(Shanghai Jiao Tong University, College of Chemistry and Chemical Technology and College of Life Science and Biotechnology, Shanghai 200240)

Abstract The rheological properties of aqueous suspension of curdlan (ASC) with different molecular weights were investigated with dynamic viscoelastic experiments. Solid-like behavior for ASC was observed at room temperature. The storage shear modulus G' demonstrated a slight frequency dependence over the range measured, whereas the loss shear modulus G'' and loss tangent δ showed a shallow minimum. The viscoelasticity of ASC increased with increasing molecular weight and concentration of curdlan. The flow curves were approximated by the Herschel-Bulkley rheological model. The fact that ASC manifests an elastic behavior is attributed to the formation of percolating network established by the aggregation or flocculation of curdlan particles, which can be described by the scalar elasticity model of percolation theory. The shear modulus G' showed a scaling relationship with the curdlan concentration in excess of a threshold concentration $c_t = 0.3\%$, $G' = G_0 \epsilon^t$, where the scaling exponent $t = 2.54$.

Key words Curdlan, Aqueous suspensions, Viscoelasticity, Scalar elasticity model, Percolation theory