

黄原胶在水溶液中构象的研究*

王德润 于宪潮

(南开大学中心实验室, 天津)

赵大键

(南开大学生物系, 天津)

摘 要

本文用 GPC 法研究了水溶液中黄原胶的构象及构象的变化。指出在低离子强度下, 黄原胶主要是以多分子缔合状态而存在, 少量以单分子状态而存在。缔合状态下的黄原胶分子呈分段的双股螺旋构象。

关键词 黄原胶、多糖、构象、分子结构

黄原胶是一种高分子量的生物多糖, 由于其优异的增粘性而被广泛地应用于食品工业、采矿和采油业。而黄原胶之所以能在粘度方面表现出优良的性能, 正是由它的分子结构及其在水溶液中的构象所决定的。因此, 对黄原胶的各级结构进行研究是十分有意义的。

Lindberg^[1] 等早已对黄原胶的分子结构进行了研究, 认为其主链是 β -1, 4-糖苷链, 并含有离子型侧链 (见图 1)。

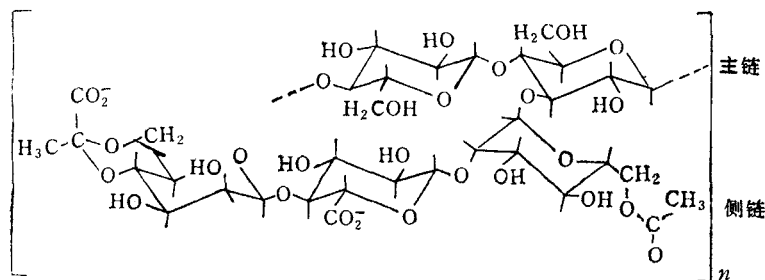


图 1 黄原胶分子结构

由结构式中不难看出, 黄原胶是一种聚电解质, 在水溶液中呈多聚阴离子状态, 因此, 黄原胶的水溶液行为是十分复杂的。

国外许多研究者应用光谱法和散射法对黄原胶在水溶液中的构象进行了研究。Morris^[2] 等利用光谱法发现黄原胶在水溶液中的构象存在有序-无序的转变, 并且发现这种转变过程不依赖于黄原胶的浓度, 因此, 他们认为黄原胶在水溶液中的构象为单股螺旋。

* 1988年12月14日收到。

这一观点后来又得到 Milas 和 Rinaudo^[3] 等的支持, 他们的研究方法与 Morris 相同, 同时他们还指出, 在 0.001—0.1 mol NaCl 水溶液中, 黄原胶的重均分子量 \bar{M}_w 不依赖于盐的浓度^[4]。但是, Holzwarth 和 Prestidge^[5] 通过电镜研究指出, 黄原胶在 NaCl 水溶液中的构象是双股螺旋。而后, Holzwarth^[6], Prestidge 和 Brant^[7] 从流体力学和光散射数据中估算出黄原胶在水溶液中单位分子长度的摩尔质量为 2000/nm, 这个数值是黄原胶单分子链理论后的二倍, 这一结论又进一步支持了黄原胶在水溶液中的构象为双股螺旋的观点。之后, Takahiro^[8] 等用光散射法研究了黄原胶在 NaCl 水溶液中和 Codoxen (一种用氧化镉饱和的乙二胺水溶液) 中的分子量, 发现前者是后者的二倍, 由于黄原胶在 Codoxen 中是以单分子无规线团状态而存在, 因而他们也认为黄原胶在 NaCl 水溶液中的构象是双股螺旋, 整个分子呈刚性棒状结构。

本文利用 GPC 法, 根据分子体积的差异和分子量分布的差异, 从另一个方面对黄原胶在水溶液中的构象及不同条件下构象的变化进行了探讨和研究。

实 验 部 分

1. 样品 引种 NK-01 号菌种在适当条件下进行发酵, 发酵液经高速离心分离 (11,000 r.p.m) 除去菌体和杂蛋白, 再经无水乙醇脱色, 然后用去离子水透析一周左右, 最后用丙酮沉淀出多糖, 经真空干燥箱在 60℃ 干燥得实验用样品。

2. 仪器 本文所用 GPC 主机为 BECKMAN-332 型高效液相色谱仪; 串联使用两根 Waters 公司的水-有机溶剂两用 GPC 柱 μ BONDAGEL E-Linear 和 μ BONDAGEL E-High A。两根柱子的分离范围分别是 2,000—2,000,000 \bar{M}_w 和 15,000—7,000,000 \bar{M}_w 。柱子的尺寸均为 3.9mm(ID) × 30cm, 柱内填料粒径为 10 μ m。另外, 本文还使用了 BRANSON 2200 型超声清洗器对部分试样进行处理。

3. 色谱条件 流动相: 纯水, 0.01、0.05、0.08 mol NaCl 水溶液; 流速: 1 ml/min; 温度: 25℃; 检测: UV 210nm。

结 果 与 讨 论

1. 常温下黄原胶的 GPC 谱图 图 2 是 25℃ 时黄原胶的 GPC 谱图。图中有两个峰, 就此而言可作以下分析: (1) 峰 I 是黄原胶, 峰 II 是具有不同分子体积的杂质; (2) 峰 I 是黄原胶而峰 II 是黄原胶的降解产物; (3) 二者均是黄原胶, 其中峰 I 是峰 II 的高级结构。从样品的制备过程中可知: 第一种情况是不存在的。假设在样品中真的有杂质存在, 则杂质在样品中与黄原胶的相对含量应是衡定的, 不应随外界条件的变化而改变, 可是由图 3 和图 4 可知, 经加热或超声波处理后, 两个组分的相对含量发生了明显变化, 这表明两个组分是可以相互转化的, 样品中没有杂质存在。对黄原胶热稳定性的研究表明, 黄原胶在 255℃ 时才

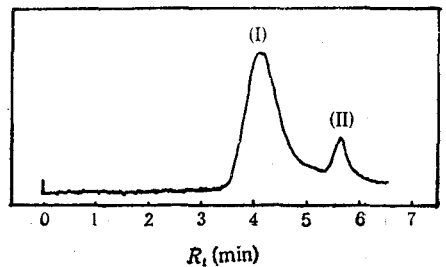


图 2 25℃ 时黄原胶的 GPC 谱图
(I) 黄原胶络合分子; (II) 黄原胶单分子

开始降解^[9],而在本文中,样品处理过程中所经历的最高温度为60℃,因此,不会因为温度过高而产生降解。如果是其它原因造成降解,则当温度在255℃以下变化时,二组分的含量也不应发生变化,而实际情况则恰恰相反,这说明第二种可能性也是不存在的。

以上分析说明,组分 I、II 均是黄原胶,也就是说,黄原胶在 NaCl 水溶液中同时以两种状态存在,由谱图上可知,第一峰的保留时间为 3.69—3.70 分,而第二峰的保留时间为 5.61—5.63 分,表明状态 I 的分子体积比状态 II 的分子体积大许多,分子量分布亦然。

2. 温度对黄原胶构象的影响 将黄原胶溶于 0.08mol NaCl 水溶液中,取出一部分在 92—96℃ 下放置 3 小时,分别做出热处理前后黄原胶的 GPC 谱图,见图 3。热处理后组分 II 的含量明显增加,而组分 I 的含量稍有减小。见表 1。

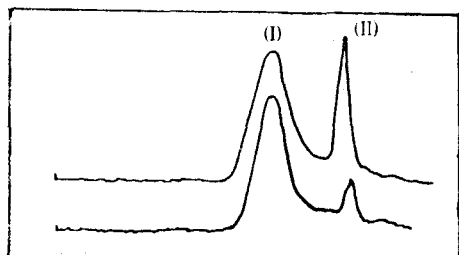


图 3 加热前后黄原胶 GPC 谱图变化
(I) 加热前; (II) 加热后。

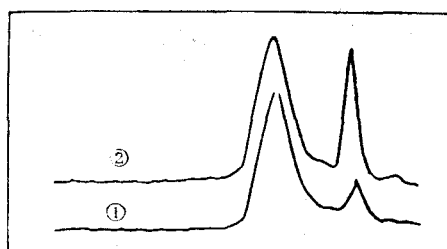


图 4 超声波处理前后黄原胶 GPC 谱图的变化
(1) 超声波振荡前; (2) 超声波振荡后。

表 1 加热前后两峰面积的比较

| | S_0 | S_{Δ} | $S_{\Delta} - S_0$ |
|--------|-------|--------------|--------------------|
| 组 份 I | 24373 | 24140 | -233 |
| 组 份 II | 3627 | 9972 | 6345 |

S_0 : 加热前峰面积; S_{Δ} : 加热后峰面积

由图 3 和表 1 可知,经加热后有一部分黄原胶由分子体积比较大的状态 I 转变为分子体积比较小的状态 II。我们已经知道,温度低于 255℃ 时黄原胶是不会降解的。因此,这种转变一定是某种次价键结构破坏的结果,由此可以肯定状态 I 的黄原胶是状态 II 的缔合结构。由表 1 中的数据可知,加热后第二峰面积的增加值是第一峰面积减小值的 27 倍,这说明状态 I 并不仅仅是状态 II 的双缔合结构,而是一种多分子缔合结构。这与电镜的研究结果相吻合^[11]。电镜研究表明,黄原胶的缔合分子是由 40 余个亚基组成的,在缔合状态下黄原胶的构象为右手双股螺旋。见图 5 照片。处于状态 II 下的黄原胶则应以单分子形式而存在。

用小功率超声在不至于破坏分子链化学结构的情况下对黄原胶的样品进行超声波处理,也可以得相同结果(见图 4)。

将黄原胶水溶液(纯水作溶剂)在 120℃ 加热 1 小时,然后作出加热前后样品的 GPC 谱图。加热后的样品在室温下陈放,用 GPC 测出陈放不同时间后两组分的相对含量

(见表 2)。

由表 2 中可见, 加热后第二组分的含量明显增加, 但随着室温下陈放时间的延续, 组分 II 的相对含量逐渐减小。这说明黄原胶在两种状态之间的转变是可逆的, 这可以进一步证明多缔合结构的存在。

前面的实验和分析可以肯定, 状态 I 的黄原胶呈多分子缔合形式, 并呈右手双股螺旋构象。许多分子缔合在一起是不可能形成一个连续的、没有间断的双股螺旋结构的, 只可能是所有单分子——我们称之为亚基两两缔合在一起呈不连续的双股螺旋结构, 在双螺旋刚性片断之间应存在没有缔合的单链连接。因此, 整个缔合分子应为蠕状链(见图 6)。这一推断与许多文献中所公认的黄原胶分子为蠕状链的结论是一致的。作者求出黄原胶在 NaCl 水溶液中的 α 参数为 0.76, 而一般柔性链的 α 值应在 0.5—0.8 之间^[10]。因此, 黄原胶缔合分子确应表现

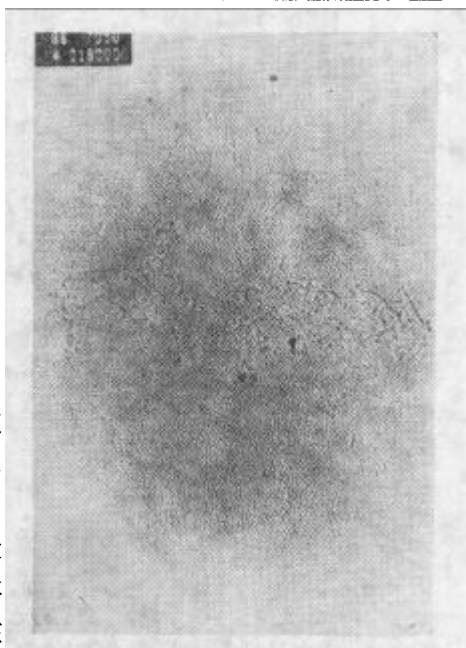


图 5 黄原胶缔合分子电镜照片($\times 18000$)

表 2 加热后两份相对含量随陈放时间的变化 (温度: 25°C)

| 陈放时间 (天) | 组份 I 的相对含量 (%) | 组份 II 的相对含量 (%) |
|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 | 32.086 | 67.914 |
| 1 | 24.875 | 75.125 |
| 2 | 24.449 | 75.551 |
| 7 | 13.304 | 86.696 |
| 未加热 | 20.930 | 79.070 |

出柔性。以上提出的模型可以很好地解决双股螺旋应为刚性棒状结构的观点与实际上黄原胶分子为蠕状链这一事实之间的矛盾。

3. 黄原胶的构象与浓度及离子强度的关系 图 7 是黄原胶在不同离子强度下缔合结构的相对含量随浓度变化的关系曲线。由图中可见, 当浓度比较低时, 缔合结构的相对含量也比较低, 并随着浓度的增加而迅速增加, 当浓度增加到一定程度后, 缔合结构的含量趋于稳定。同时也可以看出, 随着离子强度的增加缔合结构的相对含量相应地下降。作者认为, 这是由于以次价键力结合在一起的亚基处于不停的热运动之中, 因此, 体系中存在着亚基的缔合与解缔两个互逆的过程, 浓度的增加有利于缔合发生, 当浓度达到一定程度后缔合与解缔达到动态平衡, 因而缔合结构的相对含量趋于稳定。至于离子强度的影响也可以很好地利用平衡的观点加以解释。黄原胶是聚电解质, 离子强度的增加可以更好屏蔽黄原胶侧链上的电荷, 有利于分子的自由伸展, 因此, 亚基分子可以更加稳定地单独存在于溶液中, 因而平衡向解缔方向移动。总之, 黄原胶在水溶液中的形态是十分复杂的, 这是由其聚电解质性质所决定的。目前的研究可以揭示, 黄原胶在水溶液中同时以缔合态和单分子态而存在; 缔合态为多分子分段两两缔合呈右旋双螺旋构象; 在缔合态与单分

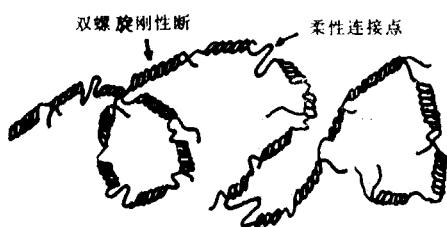


图6 黄原胶缔合结构示意图

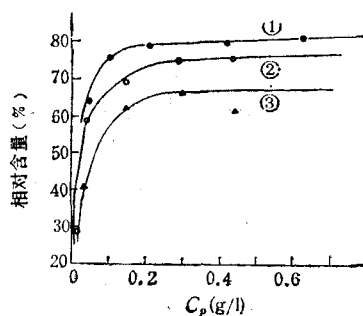


图7 黄原胶浓度与缔合结构含量关系

(1) 纯水; (2) 0.01mol NaCl; (3) 0.05mol NaCl.

子态之间存在动态平衡。

参 考 文 献

- [1] Jansson, P. E., Kenne, L., and Lindberg, B. C., *Carbohydr. Res.*, 1975, 45, 275.
 [2] Morris, E. R., Ress, D. A., Young, G., Walkinshaw, M. D., and Darke, A., *J. Mol. Biol.*, 1977, 110, 1.
 [3] Milas, M. and Rinaudo, M., *Carbohydr. Res.* 1979, 76, 189; in ref. 5, p25.
 [4] Rinaudo, M. and Milas, M., *Biopolymers*, 1978, 17, 2633.
 [5] Holzwarth, G. and Prestridge, E. B., *Science*, 1977, 197 757.
 [6] Holearth, G., *Carbohydr. Res.*, 1978, 66, 173.
 [7] Paradoss, G. and Brant, D. A., *Macromolecules*, 1982, 15, 874.
 [8] Takahiro SATO, Takashi NORISUYE, and Hiroshi FUJITA, *Polym. J.*, 1984, 4, 16, pp 431—350.
 [9] 王德润、张卫东、赵大健、商宝绪、陈慎之, 高等学校化学学报, 1987, 8, 1.
 [10] 何曼君、陈维孝、董西侠, 高分子物理, 复旦大学出版社, 1983, 第三章。
 [11] 王德润、于宪潮、赵大健、曹武雄、樊挺玉, 高分子学报, 1990, 2.

STUDY ON CONFORMATIONS OF XANTHAN MOLECULES IN AQUEOUS SOLUTION

WANG Derun and YU Xianchao

(Central Laboratory, Nankai University, Tianjin)

ZHAO Dajian

(Department of Biology, Nankai University, Tianjin)

ABSTRACT

The conformation of xanthan molecule in aqueous solution was investigated by GPC. It is indicated that two states of xanthan exist simultaneously in aqueous solution at low ion-intensity. One of the two states is polyassociated double-stranded helix, and the other is single molecular state. These two states can transform each other under some conditions.

Key words Xanthan, Polysaccharide, Conformation, Molecular structure