

* 专题评述 *

聚合物的单链力学性质的 AFM 研究 *

张 希 张文科 李宏斌 沈家骢

(吉林大学超分子结构与谱学开放研究实验室, 长春 130023)

摘要 利用原子力显微镜(AFM)研究聚合物单链力学性质,获得了聚丙烯酸,聚乙烯醇,羧甲基化淀粉及类黄原胶等合成或天然大分子的单链力学谱,讨论了不同聚合物的一些指纹特征.

关键词 纳米力学 聚合物单链 原子力显微镜

80 年代以来,扫描隧道显微学的诞生与发展,已从根本上改变了人们对单个原子和分子的作用与认识方式. 它不仅可以用来操纵单个原子、分子、甚至单链,实现极限状态下的组装,而且可在非统计基础上研究单分子的性质^[1,2]. 利用原子力显微镜的超高空间分辨率及高的力敏感性,人们已经开展了一系列精细的单分子实验. 通过这些实验已经精确地测定了生物素/凝原素蛋白特异性识别的相互作用力^[3,4], DNA 螺旋链的互补碱基对之间的结合力^[5], Titin 单个蛋白质分子折叠结构的解缠^[5], 测量 C-Si 及 S-Au 单键强度^[7]等. 最近,与德国慕尼黑大学应用物理研究所 Hermann E. Gaub 合作,我们实验室也装备了用于研究聚合物单链力学性质的仪器——单分子力谱仪,并已用来研究合成及天然聚合物的单链弹性行为. 这些力学性质反映了不同聚合物的一些指纹特征,深化了人们对聚合物纳米力学性质的认识.

1 实验部分

图 1 所示为单分子力谱实验的示意图,聚合样品通过物理吸附的方法固定在基片表面,形成很薄的一个高分子吸附层,然后将原子力显微镜的针尖接触样品层,由于针尖与样品之间的相互作用,一些高分子链将吸附在针尖上. 当分离针尖与样品时这些高分子链将受到拉伸,引起微悬臂的弯曲,其位移通过激光检测系统检测,悬臂的形变与样品的拉伸曲线将会被记录下来并转化成力-拉伸曲线.

具体实验条件以聚丙烯酸(Aldrich, 分子量为 4.5×10^5)加以说明. 将聚丙烯酸溶于高纯水中(浓

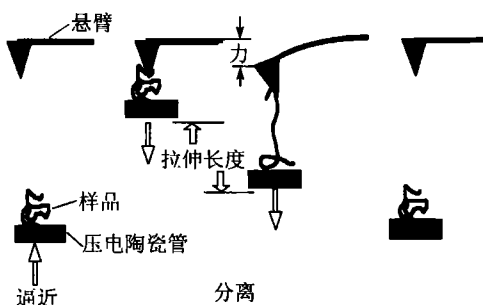


图 1 单分子应力-应变实验示意图

1999-06-15 收稿, 1999-08-27 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 29725409)及长春应用化学研究所高分子物理开放实验室资助项目

度约为 1 mg/mL), 然后将聚丙烯酸溶液铺在清洗干净的玻璃基片上吸附数小时, 再仔细地除去多余的溶液. 聚丙烯酸吸附层的厚度大约 50 ~ 90 nm. 单分子力谱实验是在 10^{-3} mol/L 的 KCl 缓冲溶液中完成, 采用 DI 公司的氮化硅针尖及液体池, 力常数通过 Rief 介绍的方法进行校正^[8], 典型的力常数为 50 mN/m. 聚乙烯醇, 羧甲基淀粉, 类黄原胶(Xanthan)的实验条件类似, 并均在室温下进行.

2 实验条件的选择

为使所研究体系简单化, 样品制备过程中所用溶剂大都为所研究聚合物的 θ 溶剂或良溶剂. 当用不良溶剂时只是会导致力曲线中较低的拉力区域(即熵弹簧部分)会有所不同, 在高的拉力区域没有发现明显不同. 同时, 所用溶液的浓度也很低(如 0.01% ~ 0.1%)制得的聚合物膜也就很薄. 溶液太浓时高分子线团之间会发生相互穿插^[9], 很难拉到单链. 另外, 为了保证是单分子拉伸, 在使针尖与样品接触时应使接触力尽可能小些, 因为过大的力将使多个高分子链在针间与基底之间形成多个桥连结构导致多链拉伸, 同时也可采用样品逐步逼近针尖的方法直到拉到单链为止. 即采用所谓的“Fly Fishing Mode”可以有效地避免多链拉伸. 当样品与针尖、基片之间的作用力较强时, 可以直接靠物理吸附的方法将聚合物链段连接在针尖与基片之间; 但当样品与针尖、基片之间的作用力较弱时可以通过对样品修饰或将针尖和基片进行修饰. 衡量单链拉伸的标准在于, 一方面要看所得力曲线能否归一化, 另一方面要看自由连接链模型或蠕虫状链模型模拟所得的力曲线的弹性系数等参数是否相同. 如果这两个条件都满足则足以证明是单链拉伸. 如果力曲线的前部很简洁, 即在拉力较低的(即熵效应占主导作用)区域很平、没有杂峰也可以作为单链拉伸的一个证据.

3 结果与讨论

3.1 聚丙烯酸单链的力学行为^[10,11]

图 2 是不同长度的聚丙烯酸的典型力曲线. 从图 2 可以看到, 所有力曲线都具有相似的特征, 即力随着拉伸而呈单调上升, 拉伸到一定程度时拉力突然下降为零. 拉力突然下降时拉力值一般在 0.5 ~ 1.5 nN. 由于引起 C—C 键断裂的力一般在 4 ~ 6 nN 的范围, 因此力曲线中拉力下降只可能是聚丙烯酸分子从针尖或基底上脱落而引起的. 这一力值的大小反映了聚合物样品与基底或针尖表面的相互作用力的大小. 图 2 中的不同长度的聚丙烯酸链的力曲线进行长度归一化后, 画在同一张图上, 如图 3 所示. 归一化做法系以拉伸长度除以聚合物的完全伸展长度再乘以聚合物的重复单元长度. 中国科学院化学研究所钱人元院士认为, 归一化后的力曲线的横坐标改为聚合物链段的拉伸程度(拉伸百分比)更好些¹⁾. 这种提法也有很大好处, 这样会使物理意义更明晰. 我们仍然沿用以前发表文章中的做法. 我们发现经归一化后, 所有的力曲线都很好重叠在一起, 表明聚丙烯酸链的弹性性质与它们的链长线性成比例. 这一结果表明在聚丙烯酸体系中高分子链间的相互缠结和高分子链之间的相互作用对高分子

1) 钱人元. 高分子单链凝聚态与线团相互穿透的多链凝聚态. In: Department of Macromolecular Science & Laboratory of Molecular Engineering of Polymer, Ed. Progress in Polymer Physics-Symposium of '99 International Workshop on Polymer Physics. Fudan University, Aug, 1999

链的弹性性质贡献很小。如高分子链间的缠结和高分子链-链之间的相互作用对聚合物的弹性性质有显著的贡献,则其弹性性质不可能与链长线性成比例。在用自由连接链模型拟合聚丙烯酸的拉力-拉伸曲线时,我们发现只是在较低的拉力时拟合结果较好,但在较高拉力时出

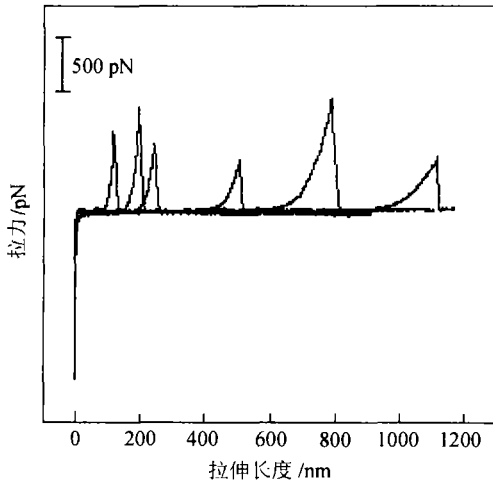


图 2 具有不同长度的聚丙烯酸的典型力曲线
缓冲液为 10^{-3} mol/L KCl 水溶液

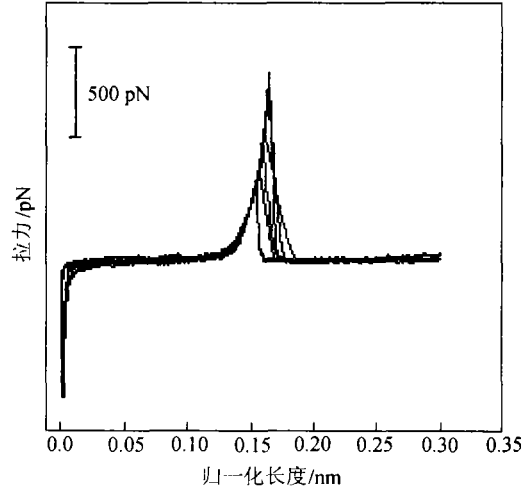


图 3 归一化后的力曲线的叠加

现较大偏差。这主要是源于自由连接链模型中链段不可拉伸的假定。为此我们引入一个新的参数——链段弹性系数 $K_{segment}$ 。修改后的自由连接链模型的形式可写成：

$$x(F) = \left[\coth\left(\frac{FI_k}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{FI_k} \right] \cdot \left[L_{contour} + \frac{nF}{K_{segment}} \right],$$

式中 I_k 为 Kuhn 长度； k_B 为 Boltzmann 常数； T 为温度； $L_{contour}$ 为高分子链的总长； n 为 Kuhn 链段的数目， $n = L_{contour}/I_k$ 。修改过的自由连接链模型考虑了 Kuhn 链段的可拉伸性，因而可很好地拟合聚丙烯酸的拉力-拉伸曲线，参见图 4。因此在小形变低拉力时，聚合物的弹性主要来源于熵的贡献（降低体系的熵）；在大形变和高拉力时，聚合物的弹性则源于熵和能量贡献之和（在高拉力是对体系做功使链段伸长，增加体系的能量）。对 30 条具有不同长度的聚丙烯酸链进行拟合，我们发现尽管这些聚合物链具有从 60 nm 到 1 μ m 的不同长度，但它们却具有几乎完全一样的 Kuhn 长度 (0.64 ± 0.05) nm 和链段弹性系数 ($13\ 000 \pm 2\ 000$) pN/nm。结合实验结果（聚丙烯酸链的弹性性质与长度线性成比例）和模拟结果（聚丙烯酸链具有相同的 Kuhn 长度和链段弹性系数），我们可以充分肯定拉伸的是聚丙烯酸

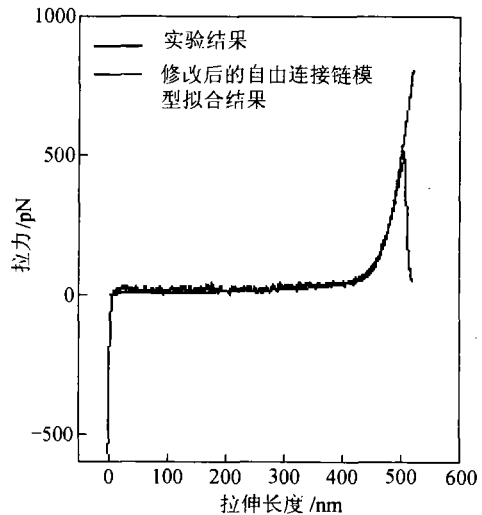


图 4 修改后的自由连接链模型与实验曲线的比较

的单链,所测得的拉力-拉伸行为是聚丙烯酸单链的弹性行为.在有些情况下,我们拉伸的是多个高分子链,它们则显示不同的弹性曲线,很容易与单个链的行为相区别.

3.2 聚乙烯醇的单链力学性质^[12]

对于聚乙烯醇体系,我们发现所得力曲线具有相似的形态,值得注意的是力曲线在大约 200 pN 处有一个拐点.图 5 给出了归一化后的力曲线,再次证明我们得到了聚乙烯醇的单链力学谱.利用修改的自由连接链模型可以较好地拟合较低(小于 50 pN)力和较高力(大于 200 pN)区域的实验结果,但在中间区域有些偏离,如图 6 所示.这一偏差表明聚乙烯醇在 NaCl 水溶液中的形态不同于普通的无规则线团,可能存在某种超结构. Borchard 等人的研究表明聚乙烯醇在水溶液中存在螺旋结构^[13],我们将力曲线中 200 pN 处的拐点归结为螺旋结构的打开.

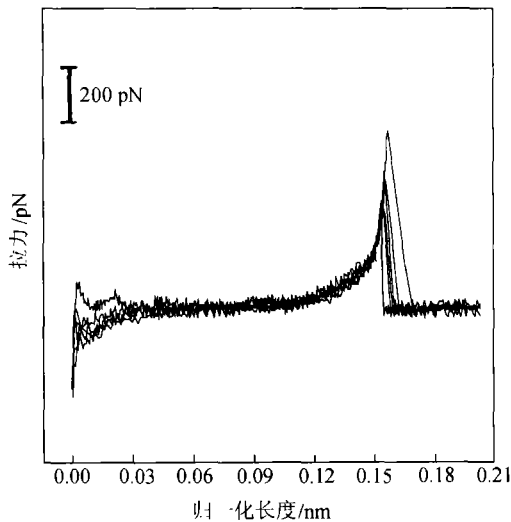


图 5 聚乙烯醇在 0.2 mol/L NaCl 水溶液中归一化后的力曲线

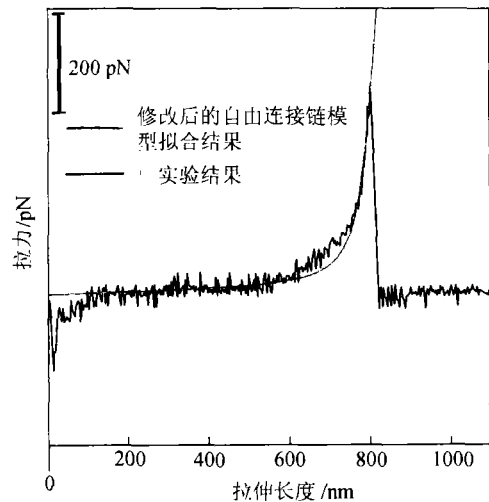


图 6 聚乙烯醇的实验数据与修改后的自由连接链模型模拟结果的叠加

3.3 羧甲基化淀粉和肝素的单链力学性质^[14]

羧甲基化淀粉的力曲线的主要特征是在 300 pN 处有一个平台,而对于肝素平台出现在 700 pN 处.归一化后可以看到二者平台区域宽度基本相同如图 7,此外平台区域之后二者分子链的刚性相近.由于羧甲基化淀粉和肝素的主链结构相同即都是 $\alpha-1,4$ 位连接的多糖,只是它们的取代基不同.这一发现有力地证明力曲线中的平台是来自同样的形态转变,平台高度的差别反映了不同取代基对形态转变的影响.由于结构类似,但 $\beta-1,4$ 位连接的羧甲基化纤维素的单分子力学谱只呈单调上升的形状,我们从羧甲基化淀粉和肝素的单分子力谱可以得出结论:平台区域是 $\alpha-1,4$ 位连接的多糖在纳米尺度的指纹谱.分子力学模拟的结果表明这一平台对应于葡萄糖单元的椅式-扭船式的构象转变.

3.4 类黄原胶的单分子力学性质^[15]

图 8 是天然类黄原胶的典型力曲线.从图可见在 400 pN 处有一个平台,用不同的悬臂在

不同的样品上都可以得到这个平台,不同之处在于平台的长度不确定.这可能是由于被拉起的链的长度不同所致.另外,我们还研究了变性的类黄原胶的力学性质.结果发现平台消失,只得到随拉伸呈单调上升的单分子力谱.天然类黄原胶中存在有序的多股螺旋结构.变性后的类黄原胶中这种结构被破坏.因此天然类黄原胶力曲线中的平台可能是由于应力使其螺旋结构被打开所致.

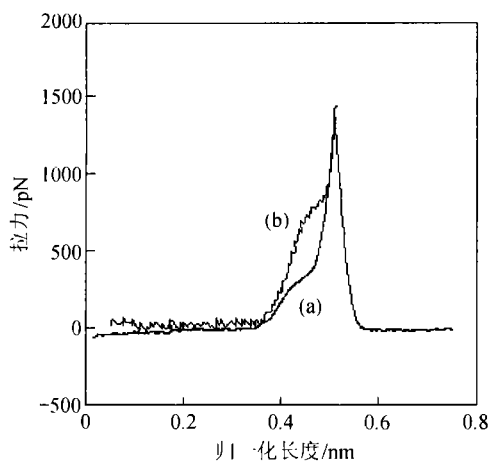


图7 羧甲基化淀粉(a)和肝素(b)的单分子应力-应变行为

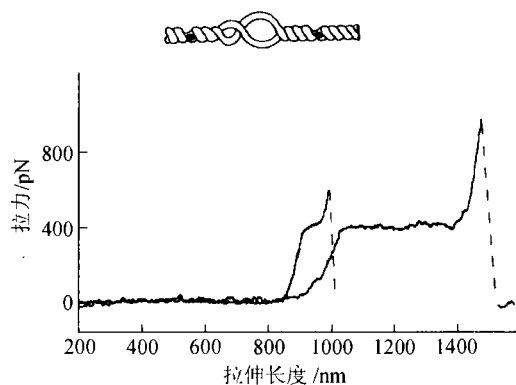


图8 天然类黄原胶的力曲线
缓冲液为PBS水溶液,两条不同力曲线反映了分子链长的不同

4 展望

单分子力谱为研究聚合物分子间及分子内相互作用提供了一种崭新的研究方法,一方面可用来研究单个聚合物链的力学性质,获得一些用常规方法无法得到的聚合物单链的力学参数,另一方面也可用于探测聚合物分子的二级或三级结构,并且结合分子动力学及 Monte Carlo 模拟,可以揭示拉伸聚合物单链引起的一些结构及构象转变本质.当然,该领域的研究才刚刚起步,还处于探索阶段,尚需进一步积累数据.单独通过力曲线,还很难直接揭示聚合物单链在应力作用下的构象转变本质,这方面还需要结合分子力学模拟及其他辅助表征手段.我们相信,随着这方面研究的不断深入,数据的不断积累,最终很可能使由单分子力学谱推知聚合物在外力作用下的构象转变本质以及其在溶液中的形态成为可能.可以预言,随着该方法的进一步改进,如允许拉伸过程中施加多种变量(如温度、电场等)我们可以进一步研究聚合物单链纳米力学性质及影响因素,从而为设计合成高性能的聚合物材料奠定基础.

参 考 文 献

- 1 Uppenbrink J, Clerly D. *Frontiers in chemistry: single molecules*. Science, 1999, 283: 1 667
- 2 白春礼. 扫描隧道显微技术及应用. 上海: 上海科学技术出版社, 1992
- 3 Florin E L, Moy V T, Gaub H E. Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs. Science, 1994, 264: 415
- 4 Moy V T, Florin E L, Gaub H E. Intermolecular forces and energies between ligand and receptors. Science, 1994, 266: 257
- 5 Lee G U, Chrisey L A, Colton R J. Direct measurement of the force between complementary strands of DNA. Science, 1994, 266: 771

- 6 Rief M, Gautel M, Oesterhelt F, et al. Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM. *Science*, 1997, 276: 1 109
- 7 Grandbois M, Beyer M, Rief M, et al. How strong is a covalent bond? *Science*, 1999, 283: 1 727
- 8 Rief M, Oesterhelt F, Heymann B, et al. Single molecule force spectroscopy on polysaccharides by atomic force microscopy. *Science*, 1997, 275: 1 295
- 9 钱人元, 曹 铨, 陈尚贤, 等. 用分子间激基缔合物荧光研究聚苯乙烯良溶剂溶液——从稀区到亚浓区和浓区的转变. *中国科学, B 辑*, 1983, 12: 1 080
- 10 Li Hongbin, Liu Bingbing, Zhang Xi, et al. Single-molecule force spectroscopy on poly (acrylic acid) by AFM. *Langmuir*, 1999, 15: 2 120
- 11 李宏斌, 刘冰冰, 张 希, 等. 聚丙烯酸的单分子应力-应变行为. *高分子学报*, 1998, 4: 444
- 12 Li Hongbin, Zhang Wenke, Zhang Xi, et al. Single molecule force spectroscopy on poly (vinyl alcohol) by atomic force microscopy. *Macromol Rapid Commun*, 1998, 19: 609
- 13 Borchard W. In: Finch C A, Ed. *Chemistry and Technology of Water-Soluble Polymers*. New York: Plenum Press, 1983. 113
- 14 Li Hongbin Rief M, Oesterhelt F, et al. Single-molecule force spectroscopy on polysaccharides by AFM-nano-mechanical fingerprint of α -(1,4)-linked polysaccharides. *Chem Phys Lett*, 1999, 305: 197
- 15 Li Hongbin, Rief M, Oesterhelt F, et al. Single molecule force spectroscopy on xanthan by AFM. *Adv Mater*, 1998, 3: 316