

脉冲梯度场核磁共振技术在多糖类凝胶中的应用

代博娜*, 吴节莉

(上海交通大学 分析测试中心, 上海 200240)

摘要: 深入理解凝胶中分子的自扩散行为有助于聚合物凝胶的基础研究、食品质地的改善、凝胶类药物递送系统及分离膜等材料的开发。通过脉冲梯度场核磁共振技术(PFG NMR)测量自扩散系数(D)是阐明凝胶体系中分子动力学的有效手段。探针聚合物在随机介质如溶胶或凝胶中的自扩散取决于基质的结构和迁移率、探针分子的流体力学性质及探针分子与基质之间的相互作用。探针分子与凝胶之间不存在直接分子间相互作用时,其在凝胶中的自扩散主要受流体力学相互作用的影响,因此通过引入并研究探针分子在凝胶中的自扩散行为,可以间接获取凝胶网络结构的信息。本文第一部分简述了自扩散现象及自扩散系数测量技术;第二部分着重介绍了脉冲梯度场核磁共振技术测量自扩散系数的原理;第三部分结合具体的实验方法及实例重点介绍 PFG NMR 如何被应用于研究多糖类凝胶形成过程中多糖分子构象及动力学的变化;然后介绍如何通过探针分子在凝胶中的自扩散行为评价凝胶的网孔尺寸的变化;最后,通过对探针分子自扩散系数时间依存性的考察,评价其在凝胶相分离研究中的应用价值。

关键词: 脉冲梯度场核磁共振技术; 自扩散系数; 分子动力学; 多糖; 凝胶; 探针分子; 网孔尺寸

形成凝胶的多糖类对改善食品的质地起着重要的作用^[1,2],而对凝胶机理的研究是开发相同类型水凝胶的基础,同时也是对体系的各方面性能进行改进的前提。目前对多糖水凝胶的研究主要基于流变学、生物学或形貌学方面^[3~6],但这些对阐明凝胶形成机理尚不够全面,而 NMR 技术可用于观察反应过程,是研究反应机理或反应动力学的有力手段^[7~12],且不同于其它技术,NMR 可以从原子分子水平上研究分子构象、分子间相互作用及分子动力学。核磁共振波谱的许多参数如化学位移、自旋偶合、纵向弛豫时间(T_1)和横向弛豫时间(T_2),以及通过 PFG NMR 获得的分子自扩散系数(D)等,与原子核所处的化学环境及其运动状态密切相关。其中,弛豫时间能够反映食品水凝胶中聚合物链段或水分子的局部运动的信息,而分子局部运动的变化与伴随凝胶网络形成的结构变化之间的关系,则可以通过测量分子弛豫时间来实现。此外,自扩散研究可以提供关于聚合物体系中的分子动力学及分子水平的结构的详细信息,它是识别溶胶状态、凝胶化过程及凝胶状态下多糖体系状态的重要参数。

NMR 技术已被广泛应用于研究多糖水凝胶,其中,应用核磁共振氢谱(^1H NMR)可以确定体系的凝胶温度,即通过相关组分化学位移或信号强度变化的拐点来确定体系的凝胶转变温度^[10,13];应用弛豫时间测量技术^[14~18],可以从分子水平对凝胶内水分子的存在状态、与高聚物的相互作用进行系统深入的研究;而利用脉冲梯度场核磁共振(PFG NMR)技术^[7,8,19,20]不仅可以从分子水平研究凝胶机理,还可以通过观测探针分子在凝胶中的扩散行为评价凝胶的网孔尺寸等探究多糖水凝胶的微观构象。本文将介绍脉冲梯度场核磁共振(PFG NMR)测量自扩散系数的原理并结合具体实例对该技术在多糖类凝胶中的应用进行阐述。

10.14028/j.cnki.1003-3726.2018.02.001

收稿:2017-07-18;修回:2017-10-18;

基金项目:烟草行业卷烟烟气重点实验室开放基金;

* 通讯联系人:代博娜(1981—),女,工程师,博士,研究方向为核磁共振在化学、生物学中的应用。Tel:021-34206175/34206173-116;E-mail:daibona@sjtu.edu.cn.

1 自扩散

自扩散是物质的一种重要迁移现象,定义为物质在浓度梯度趋近于零时的扩散行为,也就是分子在热平衡状态下的布朗运动。自扩散系数(D)反映分子在单位时间内的位移。自扩散系数的大小与分子的结构和所处的介质有关。测定自扩散系数可以表征分子运动状态,以及与分子运动状态有关的一些物理和化学变化,如分子的聚集状态、分子间的相互作用、溶液的黏度、温度等。Stokes-Einstein 方程给出了溶液中分子自扩散系数与其物理性质之间的关系:

$$D = kT/6\pi\eta R_H \quad (1)$$

式中, k 为 Boltzmann 常数, T 是绝对温度, η 表示溶液的黏度。在黏度为 η 的介质中,粒子作为刚性小球模型来考虑, R_H 表示分子的有效流体力学半径。式(1)具体地把宏观上的自扩散系数和微观的粒子尺寸联系起来,并且直接指出扩散系数与温度及溶液黏度的关系。体系温度、浓度梯度及黏度都保持恒定,在一定的的时间尺度内,只要体系大于粒子的平均移动距离,扩散系数即可认为是定值。近年来随着 NMR 技术的发展,脉冲梯度场核磁共振(PFG NMR)技术提供了测量自扩散系数的新平台,PFG NMR 方法对样品溶剂无选择性、对样品无破坏可回收,还可用于混合物体系的测量。

2 脉冲梯度场(PFG)测量自扩散系数技术

2.1 PFG 的散相和聚相

脉冲梯度场的概念早在 1950 年就被提出,当时研究者发现利用自旋回波(SE: Spin Echo)技术可以消除由梯度场导致的 NMR 谱线的非均匀增宽。图 1 是具有两个沿 z 方向的、矩形形状 PFG 的典型脉冲序列^[21],当各个核在两个 PFG 之间的间隔 Δ 时间内不改变它们的空间位置时,磁化矢量发生散相和聚相:(a)在 90°_x 度脉冲作用下,磁化矢量沿 y 轴排列;(b)在第一个 PFG 作用开始后,磁化矢量以相对于 z 坐标的角速度 $\gamma g r$ 进动从而在 xy 平面迅速散相(dephase);(c)在第一个 PFG 作用结束后,磁化矢量以 q^{-1} 的间距螺旋地扭曲, $q^{-1} = 2\pi/\gamma g \delta$;(d) 180°_y 脉冲作用后,磁化矢量沿 y 轴反转 180 度;(e)在第二个 PFG 作用下,磁化矢量以与第一个 PFG 作用下相同的角速度进动;(f)在第二个 PFG 作用末端,磁化矢量又迅速重聚形成回波沿 y 轴排列,成为重聚(rephase)。

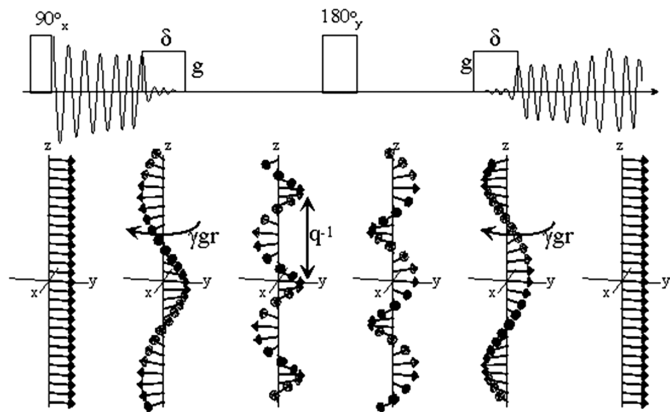


图 1 具有两个矩形形状的 PFG 的典型脉冲序列及 PFG 散相和重聚行为

Figure 1 A typical pulse sequence with two PFG of rectangular shape and the dephasing and rephasing behaviour of the magnetization

2.2 PFG 测量自扩散系数

利用以上 PFG 的散相和重聚作用,结合以往的射频脉冲,可以对核磁信号进行散相,通过设置参数

来选择性的重聚需要的信号,将不需要的信号散相,即完成了相干选择。在梯度场存在下,分子的自扩散运动会导致除横向磁化矢量(M_x, M_y)在 T_2 过程之外的额外衰减。这种衰减的速度和梯度场强度及分子的扩散速度有关,在固定梯度场强度的情况下,分子扩散速度快,信号衰减速度越快。这种相关性即为 PFG NMR 技术测量扩散速度的基础^[22]。理论上可以计算出这种衰减。根据 $\langle \Delta z \rangle^2 = 2D\Delta$, 在时间间隔 Δ 内,原子核将在 z 方向上的位移为 Δz 的均方根。相位角位移如下式所示:

$$\phi(\Delta z) = 2\pi \frac{\Delta z}{q^{-1}} = \gamma g d \Delta z \quad (2)$$

在 2τ 时刻,回波信号强度与样品中宏观磁化矢量成正比,见式(3):

$$I(2\tau, g\delta) = I(2\tau, 0) \iiint \cos(\phi(\Delta z)) \times \rho(r) p(r, \Delta z) dr d\Delta z \quad (3)$$

$\rho(r)$ 指原子核密度且对均一样品来说是定值; $p(r, \Delta z)$ 是指位于 r 的原子核在 Δ 时间内位移的可能性; $I(2\tau, 0)$ 是 PFG 不存在时总的信号强度:

$$I(2\tau, 0) = I(0, 0) \exp(-2\tau/T_2) \quad (4)$$

$I(0, 0)$ 是指 90°_x 脉冲刚刚发生时的初始信号强度。对于各向同性介质中的自由扩散, $p(r, \Delta z)$ 呈高斯分布:

$$p(r, \Delta z) = (4\pi D \Delta)^{-1/2} \exp\left(-\frac{\Delta z^2}{4D\Delta}\right) \quad (5)$$

考虑 δ 期间的扩散,公式(5)改写为:

$$I(2\tau, g\delta) = I(0, 0) \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2} - (\gamma g \delta)^2 D \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right) \quad (6)$$

对于自由扩散,通常测量时保持 Δ 恒定而改变 $g\delta$ 。对于受限扩散,通过公式(6)获得的是表观扩散系数:

$$D_{app}(\Delta) = \frac{\langle \Delta z^2 \rangle(\Delta)}{2\Delta} \quad (7)$$

$\langle \Delta z^2 \rangle(\Delta)$ 是 Δ 时间内 Δz^2 的均方根。对于自由扩散, $\langle \Delta z^2 \rangle(\Delta)$ 与 Δ 成正比,而在受限扩散时小于比例值,从而反映了受限空间大小的信息。

梯度场存在下由分子位移造成的信号衰减可用于从小分子和大分子的混合谱中去除小分子的谱峰。相反,亦可以从混合谱中去除大分子的信号保留小分子的谱峰。混合谱由不同分子的谱峰组成,并根据个体扩散以 $\gamma g \delta$ 的平方呈指数衰减。改变式(6)为每个组分的总和,混合谱中的信号强度表示如下:

$$I(2\tau, g\delta) = I(0, 0) \times \sum_i f_i \exp\left(-\frac{2\tau}{T_{2,i}} - (\gamma g \delta)^2 D_i \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right) \quad (8)$$

f_i 和 $T_{2,i}$ 分别为具有自扩散系数 D_i 的成分在混合物中所占的比例及其对应的横向弛豫时间 T_2 。通过使用第 i 个组分的 T_2 加权分数,

$$F_i(2\tau) = f_i \exp(-2\tau/T_{2,i}) \quad (9)$$

式(8)变为:

$$I(2\tau, g\delta) = I(0, 0) \times \sum_i F_i \exp\left(-(\gamma g \delta)^2 D_i \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right) \quad (10)$$

当 F 表示为 D 的连续函数时,式(10)变为:

$$I(2\tau, g\delta) = I(0, 0) \int F(D_i) \exp(-KD) dD \quad (11)$$

式(11)中, $K = (\gamma g \delta)^2 (\Delta - \delta/3)$, $F(D)$ 是 D 的 T_2 加强分布, $I(2\tau, g\delta)$ 是 $F(D)$ 的拉普拉斯变换,因此, $I(2\tau, g\delta)$ 的反拉普拉斯变换将给出 $F(D)$ 。具有共振频率和自扩散系数二维、扩散有序的 NMR 谱(diffusion-ordered NMR spectroscopy, DOSY)可以对混合物中不同组分的扩散系数进行测量^[23]。

为了准确测定自扩散系数,研究者一直在不断对 PFG NMR 实验的脉冲序列进行改进。Carr-Purcell

首先设计了自旋回波序列(Spin Echo:SE)^[23]。在扩散时间内,磁化矢量在 xy 平面上会受到分子的 T_2 弛豫时间的影响而衰减,对于 T_2 较短的高分子体系,在稍微长一点的扩散时间内就很难检测到有效信号。Tanner 使用了刺激回波^[23](STE: Stimulated Echo,见图 2)克服这一问题。Johnson 等通过纵向涡流延迟(LED: Longitudinal eddy current delay)在很大程度上削弱了涡流的影响^[23],而后来研究者开发出的 BPP-STE-LED 脉冲序列则进一步可以将 J 耦合的调制进行重聚。

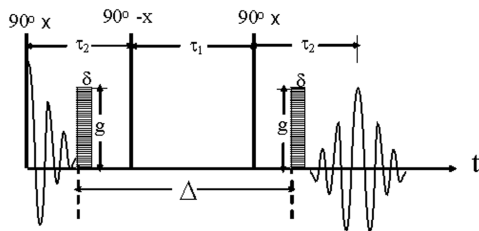


图 2 PFG-STE 脉冲序列

Figure 2 PFG-STE pulse sequence

3 脉冲梯度场核磁共振(PFG NMR)技术在多糖类凝胶研究中的应用

分子自扩散系数的大小与分子的结构和所处的介质有关,测定自扩散系数可以表征分子运动状态,以及与分子运动状态有关的一些物理和化学性质,如分子的聚集状态、分子间的相互作用、溶液的粘度、温度等。因此,通过测量分子的自扩散系数,可以研究分子间的相互作用、聚集状态等问题。

3.1 胶凝过程中多糖分子构象和动力学的变化

多糖类水溶胶形成的凝胶为物理凝胶。这是因为参与形成凝胶网络交联区的作用力通常为非共价键,如氢键、疏水作用、静电作用和范德华力及离子键等。小分子物质能在凝胶中渗透或扩散^[24]。这种物理凝胶兼具高分子浓溶液和高弹性固体的性质。类液特性主要源于它的主要成分是水,而表现出的类固行为则是由于它具有三维网状结构。分子固定基团的弛豫时间值 T_1 、 T_2 由分子的局部运动性所决定,一般为定值。根据 Bloembergen-Purcell-Pound 理论(简称 BPP 理论)^[25],交联成网状结构的多糖分子的弛豫时间值 T_1 、 T_2 要远小于溶解在水中的多糖分子的 T_1 、 T_2 。因此在 PFG NMR 实验中,具有类固行为的多糖分子由于快速弛豫而导致其信号在回波时间内衰减为零,仪器将检测不到这一部分多糖分子的信号。Dai 等^[7]研究发现,如图 3 所示,在溶液状态,Agar 多糖分子以无序的无规线团形式存在,分子链段的运动是自由的,其横向弛豫时间 T_2 在 81ms~103ms 之间(远大于 $2\tau_2$,约 4ms),纵向弛豫时间 T_1 在 1s 左右(远大于 τ_1 ,约 8ms)。在 PFG-STE 实验中,Agar 分子质子信号强度在回波时间 $2\tau_2 + \tau_1$ 内因弛豫引起的衰减可以忽略。当 Agar 多糖分子形成双螺旋的刚性结构后,分子链段运动受阻,且其弛豫时间缩短,低于回波时间 $2\tau_2 + \tau_1$,在 PFG-STE 实验中这些多糖分子信号在回波时间内衰减为零,仪器将无法采集到这些多糖分子的质子信号。由此,可以根据 PFG NMR 监测凝胶过程中 I_0 的随温度的变化,判断凝胶点,对于复配凝胶,还可以根据 I_0 的变化判别哪一种多糖在凝胶过程中起主导作用。除此之外,通过观测 I_0 的随温度的变化可以清晰地看到多糖类凝胶的延迟效应。

另一方面,自扩散系数大小的变化揭示了具有类液特性的多糖的分子量分布在胶凝过程中的变化。研究者发现,在 agar 胶凝过程中,具有较长链长的 agarose 分子更易于被包裹进入凝胶网络中,而具有较短链长的 agarose 及不易形成凝胶的 agaropectin^[26~29]则倾向于停留在溶液中或者形成松散的聚集体但仍以溶液状态存在。

3.2 多糖类凝胶网孔大小

探针聚合物在随机介质如溶胶或凝胶中的自扩散取决于基质的结构和迁移率、探针分子的流体力学性质及探针分子与基质之间的相互作用。探针分子与凝胶之间不存在直接分子间相互作用时,其在凝胶

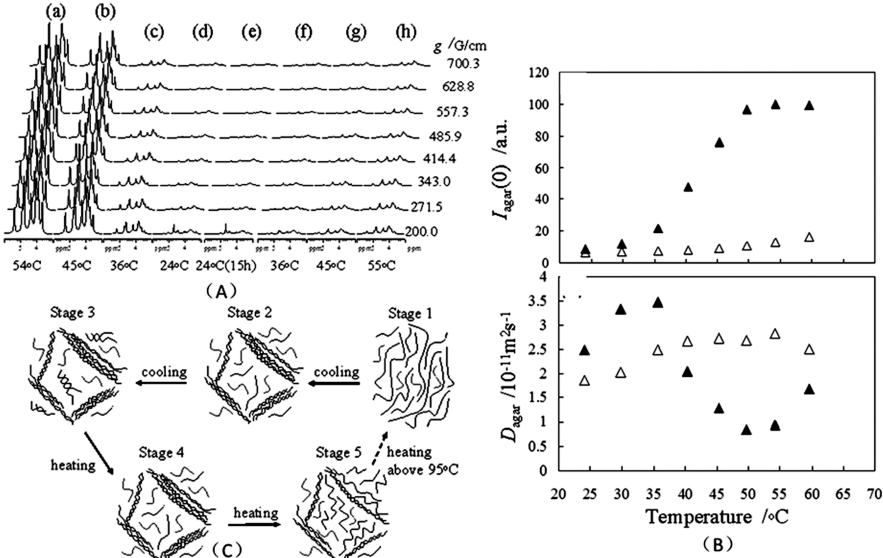


图 3 2.3% (wt) agar 溶液的实验数据

(A) 在冷却过程(a-d),样品保持在 24℃ 的 15h 期间(e)和加热过程(f-h)的琼胶多糖的 ^1H NMR 谱图示例;
(B)琼胶多糖的 ^1H 信号强度($g=0$), $I_{\text{agar}}(0)$ 及自扩散系数 D_{agar} 的温度依存图,冷却过程(闭合三角形),
加热过程(空心三角形);(C)根据 NMR 实验结果推测的在冷却和加热期间不同阶段琼脂多糖分子构象示意图。

Figure 3 Experimental data of 2.3% (wt) agar solution

(A) Example of the stacked ^1H NMR spectra of the 2.3% (wt) agar solution during the cooling process (a-d), the 15 h period during which the sample was maintained at 24°C (e) and the heating process (f-h); (B) Temperature dependences of (a) the ^1H intensities for agar at $g=0$, $I_{\text{agar}}(0)$, and (b) the diffusion coefficient for agar, D_{agar} , in the 2.3% (wt) agar solution during cooling (closed triangles) and heating (open triangles);
(C) Schematic depiction of the conformation of agar molecules at different stages during cooling and heating.

中的自扩散主要受流体力学相互作用的影响,因此通过引入并研究探针分子在凝胶中的自扩散行为,可以间接获取凝胶网络结构的信息。

Petit 等^[30]引入了 de Gennes 等^[31,32]关于高分子体系的物理构象:把高分子体系考虑成为一个瞬变的大小尺度为 ξ 的统计网格,分子在其中的扩散必须克服大小恒定的能量壁垒。Petit 等假设扩散的分子阶段性地停留在空洞中,只有当分子有足够的能量去克服能量壁垒移动到另一个空洞中时,扩散才有可能发生(见图 4A)。分子的自扩散系数符合以下标度方程^[33,34]:

$$D/D_0 = \exp(-R_H/\xi) \tag{12}$$

其中, D 和 D_0 分别为小分子在纯溶剂及高分子溶液中的自扩散系数, R_H 为分子的流体力学半径。由此,我们可以在高分子体系中加入已知流体力学半径大小且与主体高分子没有分子间相互作用的探针分子,通过追踪它的扩散系数计算高分子体系的统计网格大小。图 4^[7]和图 5^[8]分别展示了 agar 和 agarose 溶液在胶凝过程中及加热时网孔尺寸大小的变化,与溶胶状态相比,凝胶状态的网络中琼脂糖链的浓度是稀释的。这种稀释预期会影响存在于网络间隙中的分子的局部迁移性。因此,作为探针分子加入到琼脂糖溶液中的树枝状大分子 dendrimer 的自扩散实验结果有助于深入了解多糖的胶凝机理和结构变化。

3.3 多糖类凝胶中探针分子自扩散系数时间依存性

目前对于多糖体系的相分离的研究主要依赖于流变仪测定流变学性质、粘弹性^[35]等手段,然而现象的解析总是要以各种理论假设为前提,这也使得研究变得复杂与困难;为了表征体系性质,光散射技术应用于描述相分离动力学过程,然而这一技术要求样品无尘、分散性好,制样复杂耗时重现性差^[36];采用扫描显微镜等观察多体系相分离微观结构,但通常观测多是在体系经过冷冻干燥等处理后^[37],干燥过程对

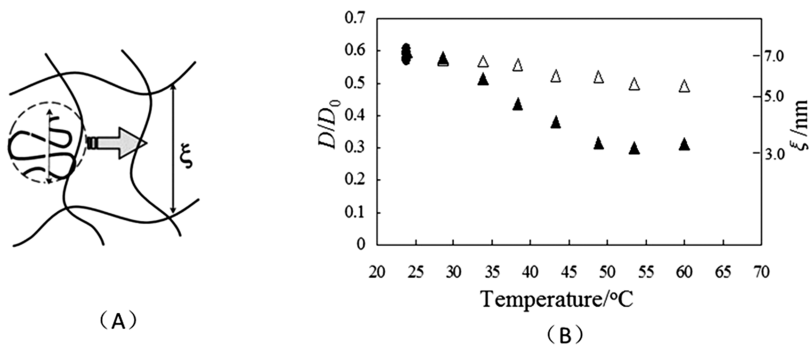


图 4 2.3% (wt) agar 溶液 (含 0.1% (wt) dendrimer) 的实验数据

(A) 探针分子在聚合物体系中的扩散示意图; (B) $D_{\text{dend}}/D_{\text{dend},0}$ 的温度依存性, 冷却 (闭合三角形) 和加热 (空心三角形)。

通过 $D_{\text{inHost}}/D_{\text{inPure}} = \exp(-R_H/\xi)$ 计算的相应 ξ 值显示在右侧轴上。

Figure 4 Experimental data of 2.3% (wt) agar solution containing 0.1% (wt) dendrimer

(A) Schematic depiction of probe molecule diffusion in a host polymer matrix; (B) Temperature dependence of $D_{\text{dend}}/D_{\text{dend},0}$ in the 2.3% (wt) agar solution during cooling (closed triangles) and heating (open triangles).

The corresponding ξ values, calculated using $D_{\text{inHost}}/D_{\text{inPure}} = \exp(-R_H/\xi)$, are displayed on the right-hand axis

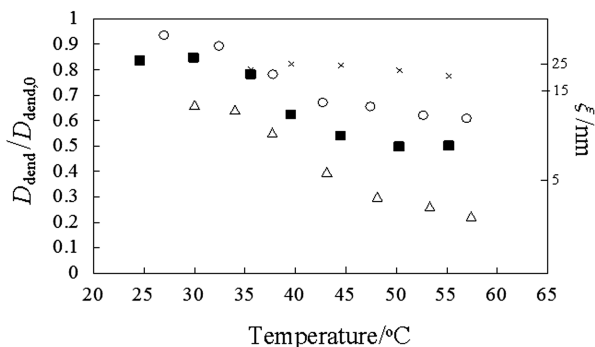


图 5 Agarose 溶液实验数据

不同浓度的 agarose 溶液在降温过程中 $D_{\text{dend}}/D_{\text{dend},0}$ 的温度依存性, 1.1% (wt) (空心圆形), 2.1% (wt) (闭合正方形), 4.0% (wt) (空心三角形)。2.1% (wt) agarose 溶液的升温过程 (x)。通过 $D_{\text{inHost}}/D_{\text{inPure}} = \exp(-R_H/\xi)$ 计算的相应 ξ 值显示在右侧轴上。

Figure 5 Experimental data of Agarose solutions

Temperature dependence of $D_{\text{dend}}/D_{\text{dend},0}$ in the 1.1% (wt) (open circles), 2.1% (wt) (closed squares) and 4.0% (wt) (open triangles) agarose solutions during cooling. The heating process (crosses) of 2.1% (wt) agarose was also displayed. The corresponding ξ values, calculated using $D/D_0 = \exp(-R_H/\xi)$, are displayed on the right-hand axis.

本来构造是否有影响、影响有多大还不得而知, 并且观测的结果只是体系在某一时刻的状态, 观测的范围亦非全貌。测量探针分子扩散系数分布随扩散时间的变化, 对体系中相分离构造的解明有着深远的意义。当扩散时间比较短时, 由于受网络尺寸分布的影响, 探针分子在凝胶中扩散时有两种组分存在, 而当扩散时间比较长时, 网络尺寸分布的影响平均抵消了, 该探针分子只有一种组分, 这样, 就凸现了凝胶网络的不均匀性。通过研究探针分子在多糖溶液或凝胶中自扩散系数的扩散时间依存性, 可以探明凝胶点^[38]及凝胶构造中是否存在相分离, 而如果能实现将磁化矢量从弛豫时间相对较短的¹H 到弛豫时间相对较长的¹³C 的转移 (见图 7), 则可实现在较长扩散时间内对分子自扩散系数的检测, 并且将通过使用双极性脉冲消除涡流效应及 J 耦合引起的散相, 提高检测效率, 实现对分子从几微秒到数秒扩散时间内扩散系数的测量, 即实现对分子在几百纳米到几百微米范围内自扩散行为的追踪。Geoffrey Bodenhausen^[39] 结

合最新的提取超长 T_1 弛豫时间的单量子信号技术,设计出新的脉冲序列,大大延长了实验所能容忍的最大分子扩散时间(100s 以上)。

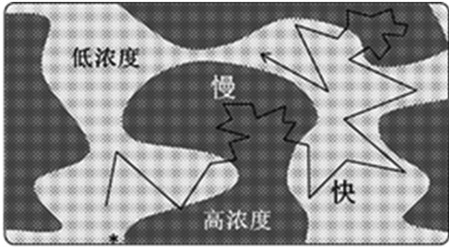


图 6 探针分子在凝胶中的扩散示意图
Figure 6 Diffusional diagram of probe molecules in gels

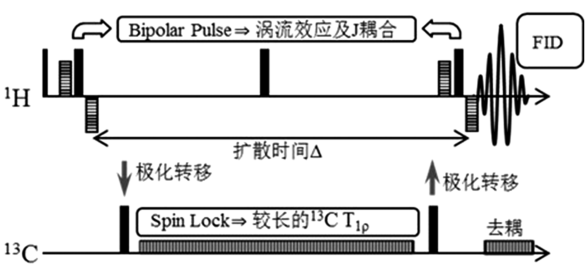


图 7 ^{13}C BPP STE 脉冲序列
Figure 7 ^{13}C BPP STE pulse sequence

4 总结与展望

随着核磁共振硬件和高分辨多脉冲技术的发展,PFG NMR 谱图的灵敏度和分辨率有了明显的改善。除此之外,PFG NMR 实验脉冲序列逐渐由 ^1H 核扩展至多选择的 X 核,并出现了含有压制溶剂峰、同核去耦或异核去耦等技术的更新,以获得更高分辨率的实验谱图。这使得 PFG NMR 方法可检测的高分子分子量范围明显增加,在化学、生物等材料分子的聚集态、相互作用和动力学方面的应用日趋广泛。然而,多数的 PFG NMR 技术并不具有普适性,往往依赖于硬件条件和材料本身的性质,这对实验操作者以及实验技术的普及造成了困难。因此,如何让 PFG NMR 技术普适化成为该技术发展的核心之一。此外,对于 NMR 信号较弱的样品,无法进行表征。现今,如何大幅度的提高 NMR 的灵敏度成为了该领域的研究热点。值得一提的是,除了动态核极化(DNP)外,过去十年内低温探头(CryoProbe)的发展显著增加了核磁灵敏度。灵敏度的跃升使得科学家几年前认为样品量太少无法观测的样品进行测试成为可能,也因此使多糖的结构分析微量化成为可能。相信不久的将来,该技术将逐渐走向应用的领域。应用多种高分辨 NMR 技术相结合研究多糖水凝胶的胶凝机理及微观结构,将具有全面、可靠且直观的优势,其在本类材料的结构与性能的研究中具有很大的潜力和前景。

参考文献:

[1] 刘志明,孙清瑞,王欣,王雯. 食品科学,2011,32(8):327.
[2] 刘俊山,李清华,朱丹实,王勃,何余堂,马涛,刘贺. 食品科学,2015,36(1):27.
[3] Zhang H, Nishinari K, Williams M A K, Foster T J, Norton I T. Int J Biol Macromol, 2002,30:7.
[4] Yamazaki E, Sago T, Kasubuchi Y, et al. Carbohydr Polym, 2013, 94(1): 555.
[5] Brenner T, Tuvikene R, Fang Y, et al. Food Hydrocolloid, 2015, 44: 136.
[6] Ngugen B T, Nicolai T, Benyyahia L. Carbohydr Polym, 2014, 112: 10.
[7] Dai B, Matsukawa S. Food Hydrocolloid, 2012, 26(1): 181.
[8] Dai B, Matsukawa S. Carbohydr Res, 2013, 365: 38.
[9] Lisitza N, Huang X, Hatabua H, Patza S. Phys Chem Chem Phys, 2010, 12: 14169.
[10] Matsukawa S, Sagae D, Mogi A. Prog Polym Polym Sci, 2009, 136: 171.
[11] Zhang Q, Matsukawa S, Watanabe T. Food Hydrocolloid, 2004, 18: 441.
[12] Walderhaug H, Söderman O, Topgaard D. Prog Nucl Mag Res Sp, 2010, 56: 406.
[13] 曾蓉.核磁共振对温敏性壳聚糖水凝胶机理研究的探索. 上海:复旦大学硕士学位论文,2006.
[14] Okada R, Matsukawa S, Watanabe T. J Mol Struct, 2002, 602~603: 473.
[15] Hills B P, Cano C, Belton P S. Macromol, 1991, 24:2944.
[16] Abeltt S, Lillford P J, Baghdadi S M A, Derbyshire W. A C S Symp Ser, 1976, 34: 344.
[17] Lewis G P,Derbyshire W,Abeltt S,et al. Carbohydr Res,1987,160:397.

- [18] McConville P, Pope J M. *Polymer*, 2001, 42: 3559.
- [19] Baldursdóttir S, Kjøniksen A, Nyström B. *Eur Polym J*, 2006, 42: 3050.
- [20] Zhao Q, Matsukawa S. *Carbohydr Polym*, 2013, 95(1):458.
- [21] Matsukawa S. *Modern Magnetic Resonance*, Graham A. Webb (ed), Dordrecht, Netherlands: Springer, 2006, part I: 125.
- [22] Stejskal E, Tanner J. *J Chem Phys*, 1965, 42: 288.
- [23] Johnson Jr. C. *Prog Nucl Mag Res Sp*, 1999, 34: 203.
- [24] Price W S. *NMR studies of translational motion* (1st ed), 2009, New York: Cambridge University Press.
- [25] Levitt M H. *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance* (2nd ed), 2010, Singapore: John Wiley & Sons Ltd.
- [26] Dea I C A, McKinnon A A, Rees D A. *J Mol Biol*, 1972, 68: 153.
- [27] Hayashi K, Kinoshita K, Kuwano M, et al. *Polym J*, 1978, 10(5): 485.
- [28] Ablett S, Lillford P J, Baghdadi S M, Derbyshire W. *J Colloid Interf Sci*, 1978, 67(2): 355.
- [29] Arnott S, Fulmer S, Scott W E. *J Mol Biol*, 1974, 90: 269.
- [30] Petit J, Zhu X. *Macromol*, 1996, 29: 70.
- [31] Doi M, Edwards S F. *The theory of polymer dynamics* (1st ed), 1986, UK: Oxford University Press (Chapter 3).
- [32] Cukier R. *Macromol*, 1984, 17: 252.
- [33] Wang Z, Yang K, Brenner T, et al. *Food Hydrocolloid*, 2014, 36: 196.
- [34] Zhang H, Nishinari K, Williams M A, et al. *Int J Biol Macromol*, 2002, 30: 7.
- [35] Yamazaki E, Sago T, Kasubuchi Y, et al. *Carbohydr Polym*, 2013, 94(1): 555.
- [36] De Gennes PG. *Macromol*, 1976, 9: 594.
- [37] Matsukawa S, Ando I. *Macromol*, 1996, 29: 7136.
- [38] Najia L, Schiller J, Kaufmann J, et al. *Biophys Chem*, 2003, 104: 131.
- [39] Cavadini S, Dittmer J, Antonijevic S, Bodenhausen G. *J Am Chem Soc*, 2005, 127 (45): 15744.

Applications of Pulse Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance Technology in Polysaccharide Gels

DAI Bo-na^{*}, WU Jie-li

(*Instrumental Analysis Center, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China*)

Abstract: A better understanding of the diffusional behavior of molecules in gels is required for fundamental research work on polymer gels as well as for practical work such as developments of drug delivery systems and separation membranes based on gels. The diffusion coefficient (D) obtained by pulse field gradient nuclear magnetic resonance (PFG NMR) is an effective means to elucidate the dynamics in gel systems. The measurements of D for probe molecules in gels reveal the mobility of the molecules and provide information about the gel network size. In the first section of this article, the self-diffusion phenomenon and the self-diffusion coefficient measurement techniques are briefly introduced. In the second section, we introduced the principle of self-diffusion coefficient measurement by PFG NMR. In the third section, the applications of PFG NMR technology in polysaccharide gel research are introduced.

Key words: Pulse field gradient nuclear magnetic resonance (PFG NMR); Self-diffusion coefficient (D); Molecular dynamics; Polysaccharide; Gel; Probe molecule; Network size