



过饱和度、反应物化学计量比及离子强度对草酸钙晶体生长的影响

郑 辉 李祥平 欧阳健明*

(暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 化学系, 广州 510632)

关键词: 草酸钙; 过饱和度; 离子强度; 化学计量比; 凝胶; 尿结石

中图分类号: O611.65; O614.23+1

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2005)09-1375-04

Effect of Supersaturation, Stoichiometrical Ratio and Ionic Strength on Crystallization of Calcium Oxalate

ZHENG Hui LI Xiang-Ping OUYANG Jian-Ming*

(Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract: The effect of supersaturation, oxalate/calcium stoichiometrical ratio ($\text{Oxa}^{2-}/\text{Ca}^{2+}$) and ionic strength on the crystallization of calcium oxalate (CaOxa) was investigated in gel systems by a double diffusion technique. The supersaturation affects the morphology, phase composition, and aggregation of CaOxa crystals. To a certain concentration, the effect of Oxa^{2-} ions on the aggregation of calcium oxalate monohydrate (COM) was much stronger than that of Ca^{2+} ions. It indicated that the increase of the concentration of Oxa^{2-} ions can more efficiently promote the formation of CaOxa stones. The increase of ionic strength and the molar ratio of $\text{Ca}^{2+}/\text{Oxa}^{2-}$ also promotes the aggregation of COM crystals.

Key words: calcium oxalate; supersaturation; ionic strength; stoichiometrical ratio; gel; urinary stone

肾结石是一种普遍的疾病, 全球的发病率约为10%, 且其复发率高。2003年欧洲的一项统计表明, 尿石患者第一次复发率为40%^[1]。草酸钙(CaOxa)是肾结石的主要成分, 其体外模拟引起了人们广泛的关注^[2,3]。然而, 普通溶液体系的模拟环境不能充分反映尿石的形成环境, 用类似细胞膜的有序分子膜体系如囊泡^[4]、单分子膜^[5]和自组装膜^[6]等作为模板来模拟尿路细胞表面 CaOxa 结石微晶的形成, 比在本体溶液中更接近于生物体内的真实情况。

凝胶是对生物矿化进行体外模拟的合适体系, 至今已在凝胶介质中模拟了羟基磷灰石、透钙磷石、文石、方解石、氧化铁和碳酸钡等生物矿物的沉积。

我们^[8,9]曾经在凝胶体系中研究了系列羧酸及其盐对草酸钙生物矿化的影响, 表明凝胶中的研究结果对临床上防治肾结石具有积极的参考价值。

草酸钙结石的形成包括晶体的成核、生长、聚集及与肾上皮细胞的粘附等一系列过程, 影响这些过程的因素包括: 尿液组分、尿石矿物的过饱和度、温度、反应物化学计量条件、离子强度、搅拌方式等。基于此, 本文在双扩散凝胶体系中研究了 CaOxa 过饱和度、 $\text{Oxa}^{2-}/\text{Ca}^{2+}$ 化学计量比和离子强度对 CaOxa 晶体生长的影响, 以期抑制泌尿系结石的形成提供新的启示。

收稿日期: 2005-02-22。收修改稿日期: 2005-05-09。

国家自然科学基金(No.20471024)、国家自然科学基金重点项目(No.20031010)和广东省“千百十工程”优秀人才培养基金(No.Q02060)。

*通讯联系人。E-mail: toyjm@jnu.edu.cn, Tel: 020-85223353

第一作者: 郑 辉, 男, 24岁, 研究生; 研究方向: 生物矿化和纳米材料。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

硅酸钠($1.03 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$)、醋酸(5%, 体积比)、氯化钙、草酸等均为分析纯试剂, 二次蒸馏水。所有玻璃器皿均用二次蒸馏水洗涤干净。

XL-30 型环境扫描电子显微镜 (ESEM)(Philips 公司), XTB-1 型体式显微镜 (江南光电仪器有限公司), XD2 粉末 X 射线衍射仪(XRD)(北京大学研制), pH-3C 精密 pH 计(上海雷磁仪器厂), PHS500A 生化培养箱(重庆试验设备厂)。

1.2 实验方法

凝胶的配制: 用 5% 的醋酸调节硅酸钠溶液至 pH 值为 6.35, 注入内径和高度分别为 1.5 cm、15 cm 的 U 型管中, 48 h 后形成凝胶。离子强度的调节采用 NaCl 溶液, 研究了 $c(\text{NaCl})=0.1, 0.5, 1.0, 1.2$ 和 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时凝胶体系中草酸钙的生长; 当 NaCl 浓度增加至 $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 由于离子强度太大, 不能制备凝胶。

晶体的生长: 胶化后, 将体积均为 5 mL 的不同浓度的氯化钙和草酸分别加入到 U 管的两侧, 在生化培养箱中静置 10 d, 让 CaOxa 结晶、生长, 然后取出晶体, 进行 SEM 和 XRD 表征。

晶体的形貌和物相观察: 用 SEM 进行形貌观察, 测试条件为: 样品喷金处理, 测量电压 15 kV。用 XRD 分析晶体的物相, 测试条件为: Cu 的 $K\alpha$ 辐射,

40 kV, 20 mA, 石墨弯晶单色器, 狭缝: DS, 1° , RS, 0.15 mm , SS, 1° , 扫描速度: $8^\circ \cdot \text{min}^{-1}$, 步宽: 0.02° 。

2 结果与讨论

2.1 过饱和度对 CaOxa 晶相和形貌的影响

研究了 CaOxa 浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0 和 $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 凝胶体系中草酸钙的结晶, 部分结果的 SEM 图像如图 1 所示。可以看出:

(1) CaOxa 晶体的大小和聚集并不完全与 Ca^{2+} 和 Oxa^{2-} 的起始浓度成正比。随着 CaOxa 浓度增加, 草酸钙晶体的尺寸先增大, 但至 $c(\text{CaOxa}) \geq 0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时趋于稳定。

(2) 反应物的过饱和度影响晶体的形貌。在低浓度($c(\text{CaOxa}) \leq 0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)条件下, CaOxa 主要为拉长的六边形—水草酸钙(COM), 聚集的 COM 较少(图 1a); 当 $c(\text{CaOxa})=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 得到蔷薇花状 COM 聚集体(图 1b); 而当 Ca^{2+} 离子浓度增加至 $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Oxa^{2-} 增加至饱和浓度(约 $1.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时(图 1c), 得到宽六边形 COM 晶体及其聚集体。

(3) 反应物的过饱和度影响晶体的晶相。在 CaOxa 浓度处在 $0.5 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 出现少量二水草酸钙(COD)。 CaOxa 浓度增加或减小, 均不利于 COD 形成。COM 和 COD 是肾结石的主要成分, 但 COD 更容易随尿液排除体外, 因此, 生成 COD 有利于防止尿石形成。

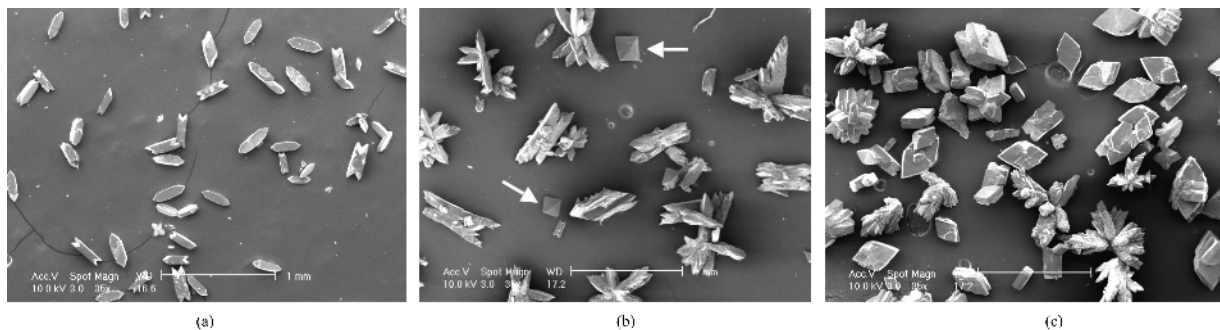


图 1 过饱和度对 CaOxa 晶相和形貌的影响

Fig.1 SEM images of CaOxa crystals grown at different initial CaOxa concentrations $c(\text{CaOxa})=0.1$ (a), 0.5 (b), $1.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (c), $c(\text{NaCl})=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. * The arrow points to COD crystal.

临床上曾经一直认为, 增加钙的摄入会增加肾结石形成的危险性, 因为患者钙摄入和尿钙呈线性关系, 但近年的动物实验和临床表明, 限制 Ca^{2+} 的摄入可促进肠道草酸盐的吸收, 引起高草酸尿, 从而促进了结石的形成, 增加结石的复发率, 本实验结果支持了人体尿液中 Ca^{2+} 和 Oxa^{2-} 的浓度与结石形成没

有正比关系这一结论。

过饱和度对 COM 形貌的影响也反映在其 XRD 图谱中(图 2)。在浓度 $0.1 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, COM 的(010)晶面所对应的(020)衍射面最强(图 2a, 2b), 而在高浓度情况下, COM 的($\bar{1}$ 01)面明显加强(图 2c), 这与图 1c 中的 COM 有较宽($\bar{1}$ 01)面一致。在低浓度

时,草酸钙为异相成核,其生长为表面控制过程,随着反应物浓度增加,表面控制变为速率控制过程^[10]。由于COM不同晶面的结构特征不同,使得其吸附偶极水分子的作用存在差别。COM的($\bar{1}01$)面上的静电场强度特别高,能强烈吸附偶极水分子;同样情况下,COM的(010)面上静电场强度很低,因此其吸附偶极水分子的作用较弱。在高离子强度时,溶液中的

偶极水分子的作用减小,因而COM的($\bar{1}01$)面被加强。

在图2b中,没有见到COD的特征衍射峰,这是由于COD的质量分数较小所致。一般而言,当COD在COM-COD混合物中的质量分数小于1%时,COD难以被检测出。

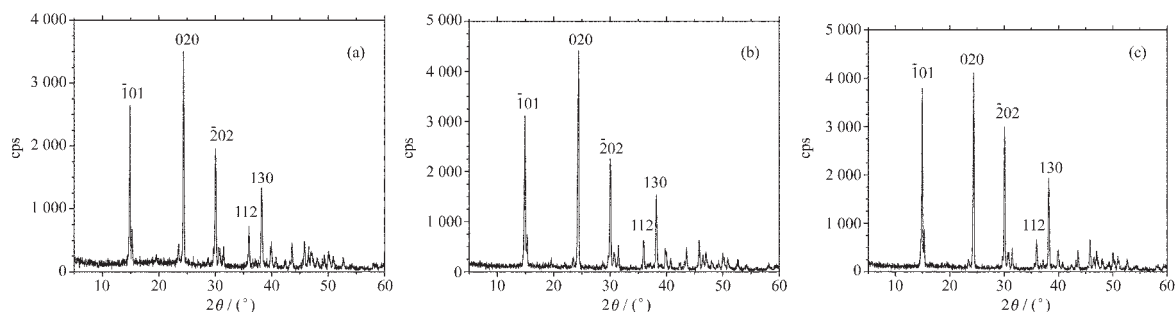


图2 CaOxa过饱和度对CaOxa晶体晶面影响的XRD谱

Fig.2 XRD patterns of CaOxa crystals grown at different initial CaOxa concentrations
 $c(\text{CaOxa})=0.1$ (a), 0.5 (b), $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (c); $c(\text{NaCl})=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

2.2 反应物 $\text{Ca}^{2+}/\text{Oxa}^{2-}$ 化学计量比对 CaOxa 结晶的影响

固定 $c(\text{Oxa}^{2-})=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 不变,改变 CaCl_2 的浓度,得到的 CaOxa 晶体如图3所示。当 $c(\text{Ca}^{2+})=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图3a)和 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,COM 主要为尺寸较小的叉生晶体;随着 CaCl_2 浓度增加到 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图3b)和 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,COM 主要为蔷薇花状聚集体,且尺寸增加,并有 COD 产生。而当 CaCl_2 浓度增加到 $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时(图3c),COM 主要为宽的六边形晶体,表明此时 COM 的($\bar{1}01$)面明显增强^[11]。

而固定 $c(\text{Ca}^{2+})=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 不变,随着 $c(\text{Oxa}^{2-})$ 从 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图4a)增加到 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图4b)、 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (饱和浓度)(图4c)时,COM 的聚集程度显著增加,并伴随聚集体棱角变得圆钝。即

由 H_2Oxa 浓度增加所引起的 COM 聚集程度增加远大于由 CaCl_2 浓度增加所引起的变化,这表明,COM 的聚集主要是由 Oxa^{2-} 的浓度变化所引起。

Rodgers 等^[12]的研究表明,草酸对草酸钙过饱和度的影响是钙的23倍,而钙对尿草酸的分泌有显著的影响;孙西钊等^[13]认为,在尿液中草酸浓度的提高对 CaOxa 饱和度的影响是钙的10倍;Sienera 等^[1]的研究也表明,高草酸是尿石形成主要的危险因子,尿草酸浓度的增加同相当浓度尿钙的增加相比,更能提高 CaOxa 的过饱和度。因此,尿液中草酸排泄量增高是一种更为危险的成石因素。本实验结果表明, Oxa^{2-} 浓度增加比 Ca^{2+} 离子浓度增加更能促进肾结石形成的本质原因是 Oxa^{2-} 更能增加 COM 的聚集,从而使得初始的 CaOxa 微晶尺寸增大,导致晶体与尿

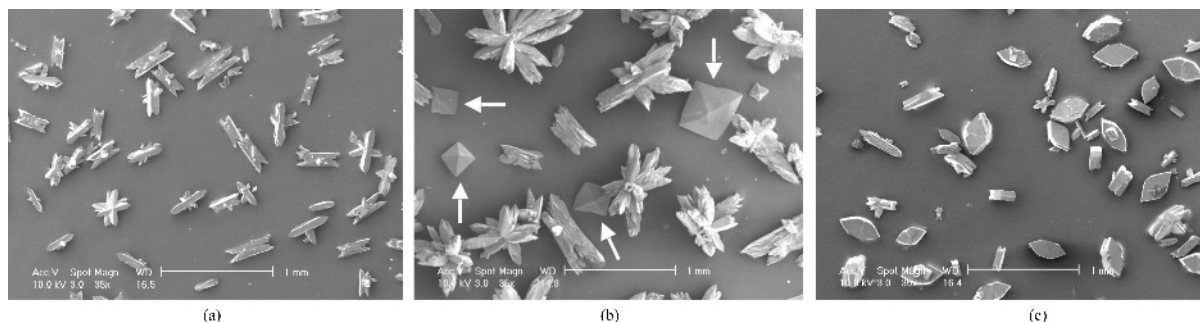


图3 固定 $c(\text{Oxa}^{2-})=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 改变 Ca^{2+} 浓度对 CaOxa 结晶的影响

Fig.3 SEM images of CaOxa crystals grown in the presence of $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Oxa}^{2-}$ but at different Ca^{2+} concentrations
 $c(\text{Ca}^{2+})=0.1$ (a), 0.5 (b), $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (c); $c(\text{NaCl})=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. * The arrow points to COD crystal.

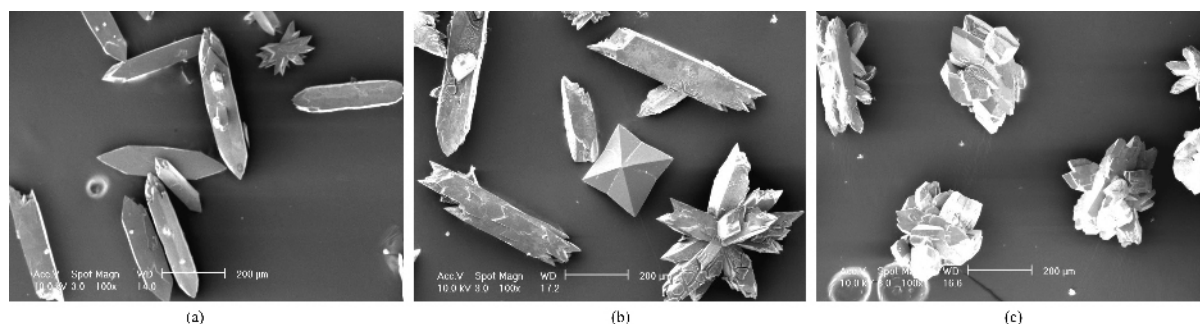


图 4 固定 $c(\text{Ca}^{2+})=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 改变 Oxa^{2-} 浓度对 CaOxa 结晶的影响

Fig.4 SEM images of CaOxa crystals grown in the presence of $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ but at different Oxa^{2-} concentrations $c(\text{Oxa}^{2-})=0.1$ (a), 0.3 (b), $1.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (c); $c(\text{NaCl})=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

路细胞膜的粘附增加。

从图 3 和图 4 可以看出, CaOxa 晶体中 COD 的含量与 Ca^{2+} 和 Oxa^{2-} 的浓度均没有线性变化趋势, 而是在 $c(\text{Ca}^{2+})=0.5 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $c(\text{Oxa}^{2-})=0.2 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内, 才出现 COD 晶体。无论是 $c(\text{Ca}^{2+})$, 还是 $c(\text{Oxa}^{2-})$ 的浓度超出这个浓度范围, 均不出现 COD。

2.3 离子强度对 CaOxa 结晶的影响

以 NaCl 作为离子强度调节剂, 研究了 $c(\text{NaCl})=0.1, 0.5, 1.0, 1.2$ 和 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时凝胶体系中的草酸钙的生长。结果表明, 离子强度对草酸钙晶体的晶相几乎没有影响, 均得到 COM 晶体(图 5); 但对 COM 的聚集产生显著的影响。随着离子强度的增大, 蔷薇花状 COM 的比例增加, 说明增加离子强度促进了 COM 的聚集, 这不利于防治肾结石的形成。因此, 处于热带地区、一年有持续 7~8 个月高温天气的中东^[14]和国内的广东省珠江三角洲地区^[15], 尿石症发病率均显著高于其他地区, 这归因于高温常常伴随出汗和尿液的浓缩, 使得尿液中不但 CaOxa 的过饱和度增加, 而且, 尿液中离子强度增加, 两者同时增加了 CaOxa 的成核速度和聚集体的比例, 增大了尿

石症的形成几率。因此, 应该鼓励肾结石患者及时补充水分, 以减少尿石的形成和复发。

参考文献:

- [1] Sienera R, Glatza S, Nicolayb C, Hessea A. *Eur. Urol.*, **2003**, **44**:467~474
- [2] Zhang D, Qi L, Ma J, Cheng H. *Chem. Mater.*, **2002**, **14**(6): 2450~2457
- [3] Barros M E, Schor N, Boim M A. *Urol. Res.*, **2003**, **30**:374~379
- [4] Ouyang J M, Duan L, Tiek B. *Langmuir*, **2003**, **19**(21):8980~8985
- [5] Rudi de Koker, Harden M. McConnell. *J. Phys. Chem.*, **1993**, **97**:13419~13424
- [6] Benitez I O, Talham D R. *Langmuir*, **2004**, **20**:8287~8293
- [7] Sheng X, Ward M D, Wesson J A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, **125**(10):2854~2855
- [8] Ouyang J M, Deng S P, Li X P, et al. *Science in China, Ser. B*, **2004**, **47**(4):311~319
- [9] OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), TAN Yan-Hua(谭燕华), KUANG Li(旷荔), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2003**, **19**(3):312~316
- [10] Babic-Ivancic V, Fueredi-Milhofer H, Purgaric B, et al. *J. Cryst. Growth*, **1985**, **71**(3):655~663
- [11] Millan A. *Crystal Growth Design*, **2001**, **1**(3):245~254
- [12] Rodgers A. *J. Am. Soc. Nephrology*, **1999**, **10**(14):S351~S354
- [13] SUN Xi-Zhao(孙西钊), GUO Hong-Qian(郭宏骞), YE Zhang-Qun(叶章群). *Linchuang Miniao Waike Zazhai(J. Clin. Urol.)*, **2003**, **18**(6):321~326
- [14] Al-Eisa A A, Al-Hunayyan A, Gupta R. *Int. Urol. Nephrol.*, **2002**, **33**:3~6
- [15] Ouyang J M. *Spectrosc. Lett.*, **2004**, **37**(6):633~641

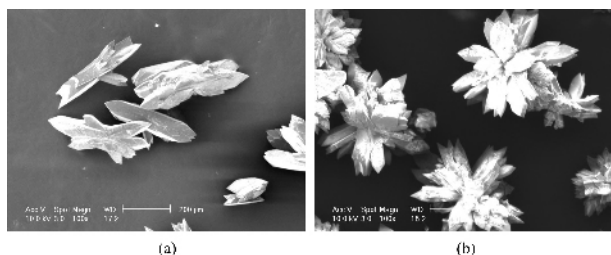


图 5 离子强度对 CaOxa 晶体生长的影响

Fig.5 SEM images of CaOxa crystals grown at various ionic strength $c(\text{NaCl})=0.5$ (a), $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (b); $c(\text{CaCl}_2)=0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $c(\text{H}_2\text{Oxa})=0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.