

牛血清白蛋白对碳酸钙结晶的作用

张 群^{1,2} 官叶斌^{*2} 陈传宝² 方 亮² 郭 畅² 徐 衡²

(¹ 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083)

(² 安庆师范学院化学系, 安庆 246011)

关键词: 牛血清白蛋白; 碳酸钙; 生物矿化; 仿生合成

中图分类号: O614.23+1; O613.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2007)02-0343-04

Effect of BSA on Crystallization of Calcium Carbonate

ZHANG Qun^{1,2} GUAN Ye-Bin^{*2} CHEN Chuan-Bao² FANG Liang² GUO Chang² XU Heng²

(¹ School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology(Beijing), Beijing 100083)

(² Department of Chemistry, Anqing Teachers College, Anqing, Anhui 246011)

Abstract: The crystal CaCO_3 with specific shapes was prepared by the biomimetic synthesis, using BSA as the matrix. The products were characterized by scanning electron microscopy (SEM), FTIR spectroscopy and TG. The results show that BSA have the effect on the shapes of CaCO_3 in the crystallization process. The probable mechanism of the effect was discussed.

Key words: BSA; calcium carbonate; biomineralization; biomimetic synthesis

生物理论和技术的发展对材料学的一个最主要的启发便是利用生物组织或生物大分子合成具有复杂结构形态和功能的无机材料,这一领域的研究现在极为活跃^[1-7]。由生物组织合成的生物矿物材料碳酸钙是一种天然的无机-有机复合物,具有多级有序结构和优良的力学性能。在碳酸钙的合成过程中,生物基质分子具有特殊和关键的作用。因此以生物分子为模板,模拟生物矿化过程仿生合成具有不同形态和功能的碳酸钙材料,有助于探讨生物矿化的过程和机理,指导合成具有特殊结构和性能的生物材料。

作为生物矿物材料的局限空间和核化作用的表面,有机基质具有确定矿物质点的形态大小、空间排列、结晶取向的功能。基质溶液浓度的变化可以控制

结晶表面上成核区域的密度、位置以及每个成核区域中晶体的数目和结晶趋向^[5]。许多研究表明,生物大分子的来源、结构以及自组装方式对其诱导生长的无机晶体的形态和性能具有较大的影响^[8,9]。对聚乙二醇、聚乙烯醇、明胶等有机基质为模板,诱导合成碳酸钙晶体的研究表明,生物模板的侧链基团对碳酸钙的形貌和性能都会产生一定的影响^[8,9]。本工作以牛血清白蛋白(BSA)为基质,恒温条件下合成了碳酸钙晶体,讨论了其可能的作用机理。

1 实验部分

1.1 晶体的制备

晶体制备方法同文献^[10]。首先将 1.01 g 的粉末状无水碳酸钠和 1.11 g 无水氯化钙平铺于 25 mL

收稿日期:2006-10-09。收修改稿日期:2006-11-13。

国家自然科学基金资助项目(No.20171001);安徽省教育厅自然科学基金资助项目(No.2005KJ369ZC)。

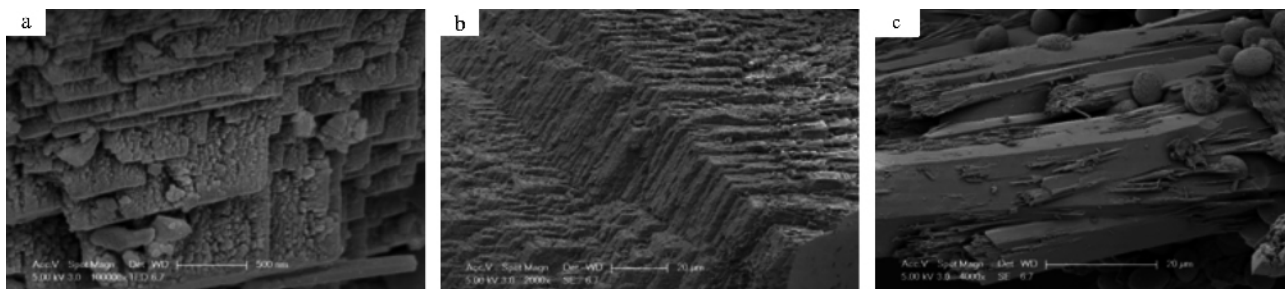
*通讯联系人。E-mail: guanyb@aqtc.edu.cn

第一作者:张 群,男,46岁,教授;研究方向:生物无机化学。

和 100 mL 烧杯的底部;再将 25 mL 小烧杯放置在 100 mL 杯内,沿着烧杯内壁慢慢地向两烧杯加入系列浓度的 BSA(B.R.,国药集团化学试剂有限公司)溶液(BSA 的质量分数分别为:0.015%、0.03%、0.06%、0.13%、0.25%;pH=7.35,pH 值用 HCl 或 NaOH 调节),BSA 溶液加至将小烧杯淹没并高于杯口 5 mm。将反应体系小心移至培养箱内恒温(298 K)静置培养 30 d,然后进行抽滤,将所得晶体用水和无水乙醇各洗涤 3 次,并于 40 °C 恒温真空干燥 48 h。实验药品均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;实验用水为二次蒸馏水。

1.2 样品表征

溶液的 pH 值由 PHS-3C 型 pH 计 (上海精科雷



a: 0.015%; b: 0.06%; c: 0.25%

图 1 不同质量分数 BSA 溶液中形成的 CaCO_3 晶体的扫描电镜图

Fig.1 SEM images of CaCO_3 crystals formed in different concentration BSA solution

由图可以看出 BSA 的浓度对晶体的微观形态有影响。当 BSA 的质量分数为 0.015% 时,形成的是层片状排列结构,层片间的堆积并非十分紧密,且片层上存在疏松的多孔,但孔径大小不一;当 BSA 的质量分数为 0.06% 时,形成的碳酸钙晶体却是片层紧密堆积结构,层片间排列致密,层片中间没有疏松的多孔;当 BSA 的质量分数增大到 0.25% 时,形成了棒状的致密结构,同时出现了球状晶体形貌,但大小不一,且分布不均匀。而在纯水中形成的碳酸钙为无规则的形状,分布杂乱无章,大小差别较大,粒径在 1~5 μm 之间^[5]。

此种情况可能是由 BSA 的空间结构、 Ca^{2+} 和 BSA 的相互作用引起的。BSA 是氨基酸通过肽键相互连接而成的生物高分子,BSA 质量分数较低(0.015%)时,分子间距较大,分子侧链极性基团充分暴露。由于负电性基团的吸引, Ca^{2+} 在 BSA 周围形成相对有序的排列,使得 CaCO_3 的结晶较为有序;但同时由于 BSA 本身正电性基团的排斥作用对 CaCO_3 结晶过程的负面影响,使得结晶并非十分均匀致密。随着 BSA 质量分数的增强,BSA 分子之间的相互作用增强,静电引力增大,氢键作用结果大大降低了正

磁)测定;红外光谱在 Nicolet Avatar 360 型傅立叶红外光谱仪上采集,KBr 压片,波数:4000~500 cm^{-1} ,分辨率 3 cm^{-1} ;热重分析在 Netzsch STA 409PC 综合热分析仪上获得,取样质量范围:3.982~6.566 mg,升温速率为 15 $\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$;电导率由 DDSJ-308A 电导率仪(上海精科雷磁)测定,测定温度为 298 K;利用 JEOL-7500B 型场发射电子扫描电镜 (SEM, 日本 JEOL 公司)观测样品微观形貌,工作电压 5.0 kV。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度 BSA 基质中形成的晶体形态

图 1 为在不同质量分数的 BSA 溶液中形成的 CaCO_3 晶体扫描电镜图。

电性基团的排斥, Ca^{2+} 过饱和度和增加,成核活化能降低,有利于成核结晶,形成的 CaCO_3 的结晶倾向于更为有序的致密结构。从图 2 电导率与 BSA 质量分数的关系也可以看出,随着 BSA 质量分数的增大,BSA 分子之间的相互作用明显增强。因为 BSA 是两性分子,分子侧链上含有的 COO^- 和 NH_4^+ 基团上的 O、N 等原子可以提供孤对电子,当质量分数升高时,分子间距减小,氢键作用增大,静电引力作用增大。所以

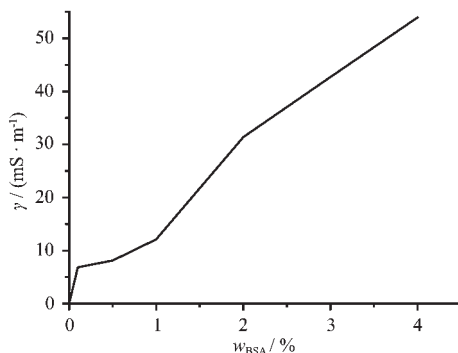


图 2 电导率与 BSA 质量分数的关系曲线

Fig.2 Relation curve between BSA concentration and conductivity($T=298\text{ K}$)

BSA 的浓度变化, 导致 CaCO_3 晶体成核区域密度不同, 造成晶体生长取向、微观形貌不同。

2.2 Ca^{2+} 与 BSA 的相互作用

根据电导率测定的分析可以探讨 BSA 与 Ca^{2+}

之间的相互作用。配制系列浓度的 CaCl_2 水溶液; 同时以质量分数为 0.5% 的 BSA 溶液为溶剂, 配制系列浓度的 CaCl_2 -BSA 溶液, 在 298 K 时进行电导率的测定。所得数据如表 1。

表 1 CaCl_2 溶液和 CaCl_2 -BSA 溶液的电导率
Table 1 Conductivity of CaCl_2 and CaCl_2 -BSA solution ($T = 298 \text{ K}$)

$c_{\text{CaCl}_2} / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\gamma / (\text{mS} \cdot \text{m}^{-1})$		$\Delta\gamma / (\text{mS} \cdot \text{m}^{-1})$
	CaCl_2	CaCl_2 -0.5% BSA	
0.00	1	8.7	7.7
0.01	227	217	10
0.02	439	421	18
0.03	636	611	25
0.04	846	824	22
0.05	1034	1 008	26
0.06	1224	1 209	15
0.07	1454	1 397	57
0.08	1644	1 570	74

表 1 结果表明, CaCl_2 -0.5%BSA 混合水溶液的电导率明显低于纯水中的 CaCl_2 的电导率, 而且 CaCl_2 浓度不同, 其电导率的差值($\Delta\gamma$)较大, $\Delta\gamma$ 一般在 7.7~74 $\text{mS} \cdot \text{m}^{-1}$ 之间, 由于体系电导率的变化可以表明体系中游离离子总浓度的变化情况, 说明 BSA 和 Ca^{2+} 之间存在着相互作用。从 CaCO_3 能使 BSA 分子中的芳香性基团的紫外光谱发生红移也说明了 Ca^{2+} 与 BSA 之间存在着很强的作用^[11]。

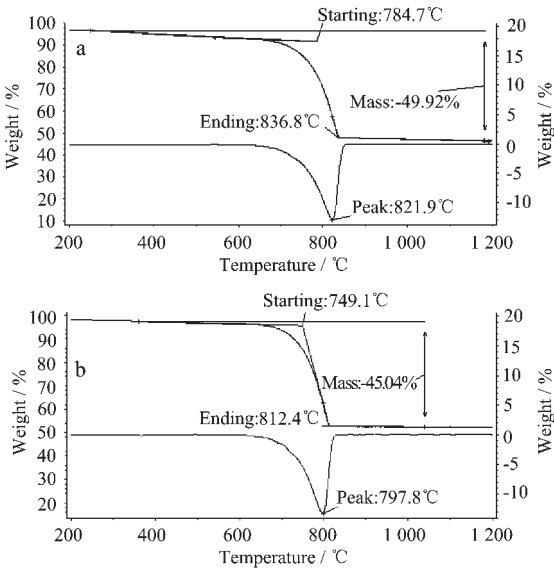
BSA 分子侧链上含有的 OH 、 NH_4^+ 、 COO^- 等极性基团能够与 Ca^{2+} 、 CaCO_3 之间存在着复杂多样的相互作用, 如 BSA 的 OH 、 C-N 、 C=O 与 Ca^{2+} 之间的配位, N-H 、 COOH 等基团与 CaCO_3 的 CO 或 OCO 之间的氢键结合; BSA 分子中阴离子基团 COO^- 与 Ca^{2+} 、BSA 分子中阳离子基团 NH_4^+ 与 CO_3^{2-} 的静电吸引等。这些相互作用随 BSA 浓度的变化而差别较大。当 CaCO_3 在 BSA 的特定区域成核生长时, BSA 将会影响 CaCO_3 的生长取向和微观结构形态, 使得与在纯水中形成的 CaCO_3 的微观形态不同。比较图 1 可以看出, 随着 BSA 质量分数的增加, CaCO_3 晶体的形貌发生了转变, 说明溶液中 BSA 质量分数的不同, 相互作用的程度相差较大。

2.3 CaCO_3 材料的表征

2.3.1 热重分析

不同质量分数 BSA 水溶液中形成的 CaCO_3 的 TG-DTG 曲线见图 3。由图可知, 以不同质量分数的 BSA 为基质所诱导生成的 CaCO_3 的分解起始温度

和终止温度也不相同。结果表明, 在 BSA 基质中形成的 CaCO_3 的分解温度和终止温度随着 BSA 溶液浓度的增加而降低, 且明显高于纯水中形成的 CaCO_3 的温度^[5]。在反应区间连续失重量也不同, 但差别不大。这说明 BSA 与 CaCO_3 晶体之间存在着较强的相互作用, 不同浓度的 BSA 与 CaCO_3 晶体之间的作用有所不同。



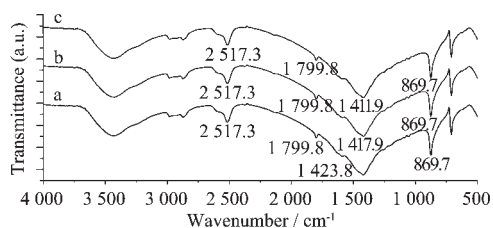
a: 0.06% BSA solution; b: 0.25% BSA solution

图 3 不同质量分数 BSA 的溶液中形成的碳酸钙的 TG-DTG 曲线

Fig.3 TG-DTG curves of crystals formed in different concentration BSA solution

2.3.2 红外光谱分析

图 4 所示的红外光谱显示,与纯水中形成的 CaCO_3 晶体相比较,当溶液中加入 BSA 后, CaCO_3 的 O-C-O 的面外弯曲振动峰(875.5 cm^{-1})峰位向低波数方向(869.7 cm^{-1})发生位移,说明 BSA 与 CaCO_3 的相互作用使 O-C-O 的存在形式发生了变化。 CaCO_3 的 C-O 不对称伸缩振动特征吸收峰($1\,429.0\text{ cm}^{-1}$)也发生了红移,当 BSA 质量分数分别为 0.015%、0.06% 和 0.25% 时,相应的吸收峰分别为 $1\,423.8\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,417.8\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,411.9\text{ cm}^{-1}$ 。这可能与 BSA 对碳酸钙晶型的影响有关^[12]。



a: 0.015% BSA solution; b: 0.06% BSA solution;

c: 0.25% BSA solution

图 4 在不同质量分数 BSA 溶液中形成的 CaCO_3 晶体的傅立叶红外谱图

Fig.4 FTIR spectra of CaCO_3 crystals formed in different matrix

3 结 论

(1) 在 BSA 基质中形成的 CaCO_3 晶体的微观结构不同于在纯水中形成的晶体结构。BSA 在 CaCO_3 的形成过程中具有模板和调控作用,而 BSA 的浓度的不同将影响 CaCO_3 的形态^[9]。

(2) 可以通过变化基质的浓度来控制 CaCO_3 -BSA 复合材料的微观形态。通过生物仿生的方法,

以有机基质为模板,控制无机物的形成,可以制备具有独特结构特点和生物学性能的材料。

参考文献:

- [1] Douglas T, Young M. *Nature*, **1998**,**393**:152~155
- [2] Shenton W S, Pum D, Sleytr U B, et al. *Nature*, **1997**,**389**: 585~587
- [3] Heuer A H, Fink D J, Laraia V J. *Science*, **1992**,**255**(5048): 1098~1105
- [4] XIE An-Jian(谢安建), SHEN Yu-Hua(沈玉华), ZHANG Shen-Yi(张胜义), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2001**,**17**(4):603~606
- [5] FU Li-Hong(付丽红), CHENG Jing-Qiu(程惊秋), LAI Guo-Li(来国莉). *Huaxue Xuebao(Acta Chimica Sinica)*, **2005**,**63** (17):1626~1632
- [6] Akasay A, Trau M, Manne S, et al. *Science*, **1996**,**273**:892~898
- [7] OUYANG Jian-Ming, DUAN Li, Tiek B. *Langmuir*, **2003**,**19** (19):8990~8995
- [8] YANG Lin(杨 林), MA Xiao-Ming(马晓明), ZHANG Xiu-Ying(张秀英) et al. *Huaxue Tongbao(Chemistry)*, **2002**,**65**:101~106
- [9] ZHANG Xiu-Ying(张秀英), LIAO Zhao-Jiang(廖照江), YANG Lin(杨 林), et al. *Huaxue Xuebao(Acta Chimica Sinica)*, **2003**,**61**(1):69~73
- [10] NIE Qiu-Lin(聂秋林), ZHENG Yi-Fang(郑遗凡), YUE Lin-Hai(岳林海), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2003**,**19**(4):445~448
- [11] XIE An-Jian(谢安建), SHEN Yu-Hua(沈玉华), MAO Jiang-Qiang(茆建强). *Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi (Spectroscopy and Spectral Analysis)*, **2001**,**21**(3):347~349
- [12] WU Qing-Sheng, SUN Dong-Mei, LIU Hua-Jie, et al. *Crystal Growth and Design*, **2004**,**4**(4):717~720