



缺陷 LB 膜诱导特异形貌草酸钙堆积图形

邓穗平 万牡华 欧阳健明*

(暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 广州 510632)

关键词: 缺陷; LB 膜; 草酸钙; DPPC; AFM

中图分类号: O614.23⁺1; O782⁺.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2007)05-0887-05

Special Patterns of Calcium Oxalate Monohydrate Crystals Induced by Defective Langmuir-Blodgett Film

DENG Sui-Ping WAN Mu-Hua OUYANG Jian-Ming*

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

Abstract: A special pattern of calcium oxalate monohydrate (COM) crystals was induced by DPPC Langmuir-Blodgett films with defects. The pattern was that a large hexagonal COM crystal located in the middle of a ring-shaped pattern of needle-like crystals. The number of such special patterns with a diameter between 10 μm and 40 μm accounted for about 5% of the whole crystal patterns. It is due to the “islands” composed of aggregated film-forming molecules in the middle of the liquid-condensed domains. The effects of the concentration of potassium oxalate and the growth time on the crystal patterns were studied. When the concentration of potassium oxalate ($c_{\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4}$) was 0.6 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, the needle-like COM crystals on the rings grew towards inside part of the patterns as the induced-time increased from 1 h to 4 h. After 2 h, the solid circle patterns were formed. On the other hand, the size of the hexagonal COM crystal in the middle of the pattern increased. The size of the COM crystals on the rings were about 3 $\mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$, and that of three-dimensional COM crystals in the middle of the patterns were about 16 $\mu\text{m} \times 7 \mu\text{m} \times 6 \mu\text{m}$ after 4 h. However, when $c_{\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4}$ was increased to 5.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, there was only a large COM crystal grown in the middle of the circular COM crystallites no matter 1 h or 4 h of crystal growth, and the ratio of these special COM patterns increased. It can be explained that the interaction between oxalate and DPPC molecules is enhanced as the increase of $c_{\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4}$, so more and more DPPC molecules fled away from the substrate surface, resulting in decrease of the nucleating sites in the circle.

Key words: defect; LB film; calcium oxalate; DPPC; AFM

0 引 言

生物矿化是一个高度受控过程, 是从分子水平到介观水平上对晶体形貌、尺寸、结构和排列进行精确控制和组装, 从而制造出具有精美结构与优异功

能的生物矿物的过程。基于生物矿化启示的仿生合成具有重要的意义和广阔的应用前景^[1-3], 目前采用的仿生方法主要为有机模板法^[2]或在体系中加入生物功能大分子^[4]。

尿石症是病理矿化的产物, 尿石的主要成分是

收稿日期: 2006-12-11。收修改稿日期: 2006-02-26。

国家自然科学基金(No.20471024)和教育部留学回国人员科研启动基金(教外司[2005]55 号)

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

第一作者: 邓穗平, 男, 26 岁, 博士研究生; 研究方向: 生物无机化学。

一水草酸钙(COM)。由于原位研究 COM 的矿化过程极为缓慢、难度大,因此,目前大多数的研究仍然是采用体外模拟的方法,而与细胞膜具有类似结构的有序分子膜常常被用作 COM 矿化的模板,这些有序分子膜体系包括囊泡^[5]、单分子膜^[6-8]、Langmuir-Boldgett(LB)^[9]和自组装膜^[10]等。

虽然 LB 膜的系统研究已经有 90 年,但存在于 LB 膜中的缺陷是限制其作为一种纳米级材料应用的主要原因之一,LB 膜中的缺陷大到成膜分子所形成的微晶、台阶、层与层之间的大规模重排,小到分子级别的晶格位错、针孔和畴区间分子列阵的差异^[2]。另一方面,LB 膜具有与细胞膜类似的结构,将 LB 膜作为模板来模拟生物矿化过程具有如下优点:各种功能基团有序排列于界面,与生物膜相似;可以很好地控制其电荷密度、头基的间距和膜的物理状态;特别是利用存在缺陷的 LB 膜,可以模拟受损伤的肾上皮细胞膜诱导肾结石矿物 COM 晶体生长。因为许多研究表明,细胞损伤在肾石病中起着重要的作用,肾小管上皮细胞损伤后促进晶体的粘附是晶体滞留和发展为肾结石的重要步骤^[11],目前一些预防肾结石的药物,可能就是通过保护肾小管上皮细胞免受损伤而发挥作用^[12,13]。

基于此,我们采用缺陷 LB 膜为模板,模拟受损伤肾上皮细胞膜及其对 COM 晶体的诱导和粘附。本文报道了缺陷 LB 膜诱导的一种具有特殊形貌的晶体堆积图形:在环状晶体图形中心生长一个大的 COM 晶体,并讨论了其形成的分子机理。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

二棕榈酰磷酸酐胆碱 (DPPC) 为 Sigma 公司产品;草酸钾、二水氯化钙、氯化钠和氯仿均为分析纯。

实验用水为从石英亚沸蒸馏器制得的二次蒸馏水。

XL-30 型扫描电子显微镜 (SEM, Philips 公司); XD2-粉末 X 射线衍射仪 (北京大学); WM-II 型全自动双向压缩 LB 膜仪 (东南大学); 原子力显微镜为美国 Thermo Microscope 仪器公司生产的 Autoprobe CP Research 型产品, APSC20100 型扫描器, 微悬臂长度为 180 μm , 扫描针尖为商用氮化硅针尖, 成像模式为接触式。

1.2 缺陷 LB 膜模板的制备

先在二次水亚相表面铺展 DPPC 氯仿溶液, 待水面上的氯仿溶剂完全挥发后, 以 10 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度压膜, 沉积表面压为 10 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ 。然后用垂直提膜法将单分子膜同时转移到疏水的云母基片和石英基片上。亲水功能基团朝外, 单层膜, 提膜速度为 3 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 。之后, 将此 LB 膜分别浸泡在 0.6、1.2 和 5.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草酸钾溶液中, 浸泡时间为 2 h。取出后小心用二次水洗去膜表面的草酸钾, 干燥。其中云母基片用于 AFM 测试和晶体生长, 石英基片用于测试 XRD。

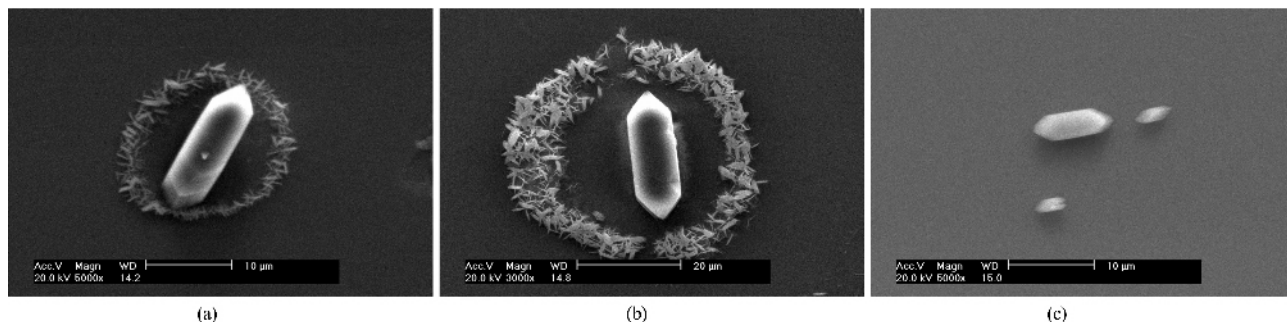
1.3 缺陷 LB 膜诱导晶体生长

亚稳溶液中各物质的最终浓度为 $c_{\text{Ca}^{2+}}=c_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}}=0.30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c_{\text{NaCl}}=10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。缺陷 LB 膜漂浮在草酸钙亚稳溶液表面, 膜的头基与溶液接触。晶体生长时间分别为 1 h、2 h 和 4 h。实验温度为 $(30\pm 1)^\circ\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 缺陷 LB 膜诱导特殊形貌 COM 晶体图形生成

图 1 为缺陷 LB 膜模板诱导生长的特殊形貌的 COM 晶体堆积图形的 SEM, 在环状晶体图形的中心同时生长了一个大的 COM 晶体。这种特殊形貌的图形约占晶体图形总量的 5%, 随机散布在 LB 膜



(a,b) with treatment by 0.6 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ oxalate solutions for 2 h, and (c) without oxalate treatment. Crystallization time: 1 h.

图 1 缺陷 LB 膜诱导生成的特殊晶体图形的 SEM 图

Fig.1 SEM images of special patterns of COM crystals induced by defective DPPC LB films

上,图形的直径从 $10\ \mu\text{m}$ 到 $40\ \mu\text{m}$ 不等。构成图形中环部分的草酸钙主要为针状 COM 晶体,而位于图形中心的 COM 晶体为六边形,平均尺寸约为 $13\ \mu\text{m} \times 5.5\ \mu\text{m}$ 。相比之下,未经草酸钾溶液处理的正常 LB 膜只诱导生成零散的 COM 晶体(图 1c)。XRD 图(图 2)表明,缺陷 LB 膜诱导形成的 COM 晶体只出现归属于 COM 晶体($\bar{1}01$)晶面主衍射峰及其次级衍射峰($\bar{2}02$)面和($\bar{3}03$)面,表明 COM 晶体以($\bar{1}01$)晶面在 LB 膜表面取向生长。

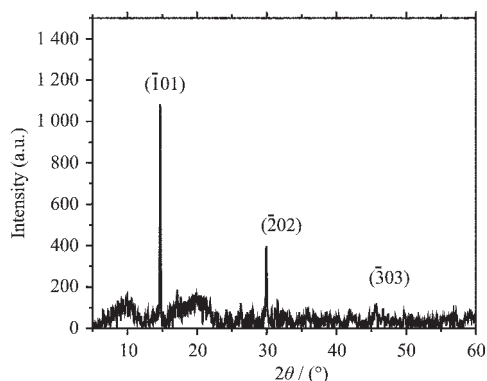


图2 单层缺陷 LB 膜诱导生成的草酸钙晶体的 XRD 图

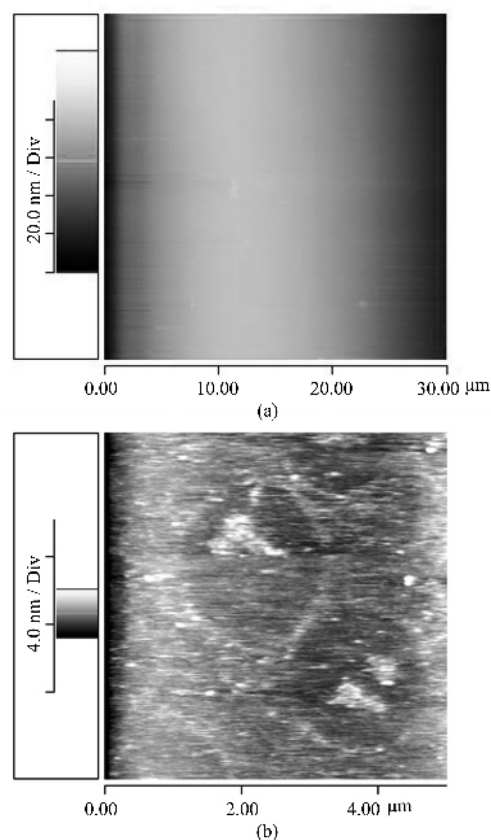
Fig.2 XRD patterns of calcium oxalate crystals grown on defective LB films

形成这种特殊形貌的晶体堆积图形归因于 LB 膜中所存在的“岛状”缺陷所致。图 3 为 DPPC 单层 LB 膜的接触式 AFM 图像。未经草酸钾处理的 LB 膜表面在 $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ 扫描范围内没有明显的圆形缺陷(图 3a)。而经 $0.6\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草酸钾处理 2 h 后的 LB 膜存在明显的圆形缺陷畴区,且部分液态凝聚相(LC)畴区的中间存在由成膜分子聚集成成的“岛状”堆积物(图 3b),即图中心比较亮的部分。

缺陷的形成归因于 LB 膜中存在 LC/LE 两相畴区,草酸根与 LC/LE 边界处 DPPC 分子的亲水头基之间的静电作用大于 LC 或者 LE 畴区中间部分,导致边界处 DPPC 分子减少,成膜分子在基片上重排,DPPC 分子的倾斜角变大(图 4),加剧环形边

界缺陷的形成。由于 COM 在这种缺陷边界的成核自由能更低,因此,导致环形 COM 微晶堆积图形形成。

由于缺陷中心的“岛状”成膜分子(图 3b)受到草酸盐损伤的程度比较小,岛状结构可能与正常 LB 膜一样,其诱导 COM 的成核和生长亦与正常 LB 膜相似,而正常 LB 膜诱导的 COM 晶体为六边形(图 1c),因此,缺陷 LB 膜中的“岛状”部分诱导形成一个大的六边形 COM 晶体。



(a) without treatment by potassium oxalate; (b) treated by potassium oxalate for 2 h. Deposition surface pressure: $10\ \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$; substrate: hydrophobic mica.

图3 DPPC 单层 LB 膜的 AFM 扫描图

Fig.3 AFM images of one-layer LB film of DPPC

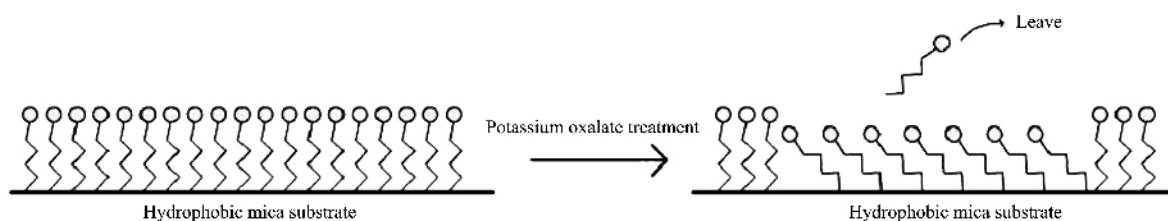


图4 草酸钾处理前后 DPPC LB 膜分子列阵变化示意图

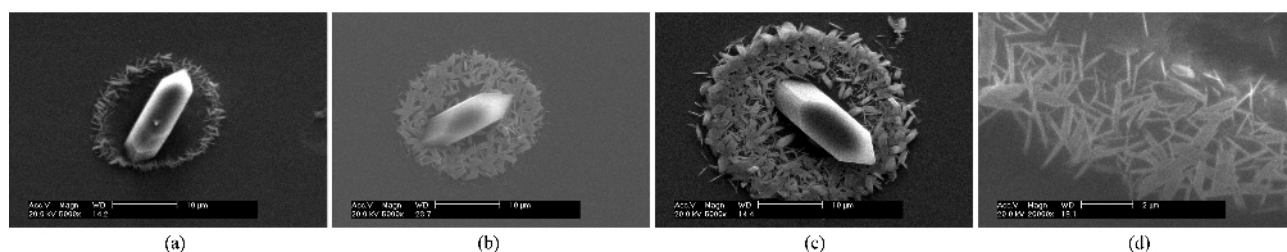
Fig.4 Schematic diagrams showing change of molecular array of DPPC in LB film before and after treatment by potassium oxalate

2.2 生长时间对 COM 堆积图形的影响

生长时间影响 COM 晶体堆积图形的形貌,如图 5 所示。当在 $0.30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的草酸钙亚稳溶液中生长 1 h 后(图 5a),围成环部分的 COM 晶体主要为针状 COM 微晶及由其发展而成的小尺寸条状 COM 晶体(图 5d)。当生长时间增加到 2 h 后,环上的 COM 微晶从边界向圈内生长,最终 COM 微晶布满整个环内,形成实心的圆形堆积图形(图 5b),且 COM 微晶尺寸有所增大,条状微晶比例增加;位于环中心的六边形 COM 晶体生长成立体感强的六棱柱 COM。当生长时间增加至 4 h 后,圈内小晶体的尺寸进一步

增大(约为 $3 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$),同时晶体数量也有所增加,而环中心的六棱柱 COM 晶体立体感更强,其尺寸约为 $16 \mu\text{m} \times 7 \mu\text{m} \times 6 \mu\text{m}$,其变化过程如图 6 所示。

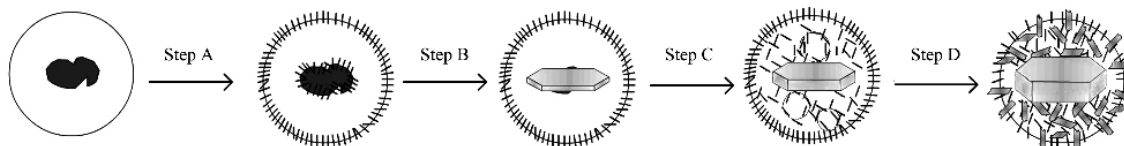
随着生长时间的增加,COM 晶体从环状堆积图形生长成为实心圆形堆积图形,这主要归因于在大的 LC 畴区内部仍然存在小的 LC/LE 畴区所致。在大尺寸的 LC/LE 边界,成膜分子无序程度更高,COM 优先成核和生长;当大尺寸的边界被 COM 微晶覆盖后,COM 便在小尺寸的 LC/LE 边界生长(图 6),当所有的大或小 LC/LE 边界被 COM 微晶覆盖后,便形成了实心堆积图形。



(a) 1 h, (b) 2 h, (c) 4 h, (d) the magnified image of the circular pattern of crystals in (a).

图 5 缺陷 LB 膜模板诱导草酸钙晶体生长不同时间后沉积图形的 SEM 图

Fig.5 SEM images of circular patterns of calcium oxalate crystals grown on defective DPPC LB films at different crystallization time



Step A: the growth of the needle-like COM crystals at the boundaries on the defective LB film; Step B: the evolvement of COM crystals from needle-like crystals to much larger hexagonal prismatic crystals; Step C: the formation of solid circular pattern of needle-like crystals inside the domain; Step D: the growth of strip-shaped crystals derived from needle-like crystals.

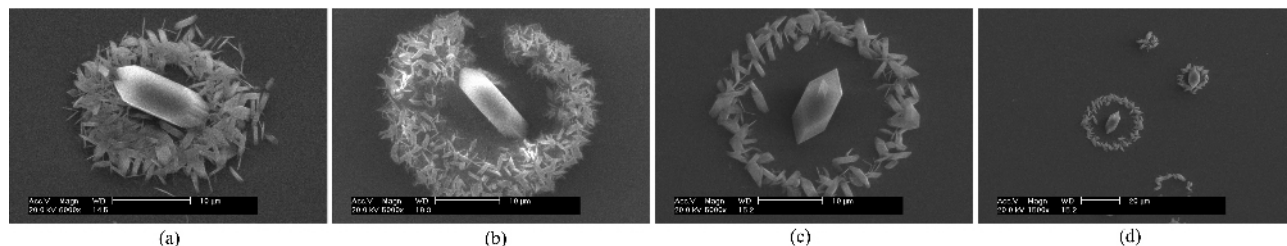
图 6 缺陷 LB 膜模板诱导草酸钙晶体生长示意图

Fig.6 Schematic diagrams of crystal growth of calcium oxalate on defective LB films

2.3 不同浓度草酸钾处理后的 COM 堆积图形

增大处理 LB 膜的草酸钾浓度,COM 堆积图形的形貌亦发生大的变化(图 7)。如上面所述,当草酸钾浓度比较低($0.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,4 h 后生成实心圆形

图形(图 7a,5c)。而当草酸钾浓度增加到 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,在圈内除了一个大的六棱柱型的 COM 外,没有其他小 COM 晶体(图 7c),且这种特殊形貌的堆积图形比例增加(图 7d)。



(a) $0.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; (b) $1.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; (c,d) $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

图 7 不同浓度草酸钾处理后缺陷 LB 膜模板诱导生成的草酸钙晶体沉积图形的 SEM 图

Fig.7 SEM images of deposited patterns of calcium oxalate crystals grown on defective DPPC LB film with treatment by different concentrations of potassium oxalate

这个现象归因于当草酸盐浓度比较小($0.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,其损伤作用能够加剧LB膜内LC/LE边界缺陷的程度,出现圆形缺陷,但缺陷内的DPPC分子大都未脱离基片,仍可以作为草酸钙的成核位点,因此小浓度草酸盐损伤的LB膜诱导生成的环状图形里面的晶体数量比较多(图7a)。

而高浓度的草酸盐对LB膜的损伤作用更强,可使得缺陷内的DPPC分子慢慢脱离基片,导致圆形缺陷里面的DPPC分子越来越少,到了 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,大部分DPPC分子已经脱离基片,圈内的成核位点减少,从而使圈内只剩下一个大的COM晶体(图7c)。

3 结 论

LB膜存在LC/LE畴区结构,这种畴区间的差异结构可以被草酸钾加强,加剧LB膜中圆形缺陷的程度。由于部分LC畴区中间存在由成膜分子聚集成的“小岛”,从而导致环状COM堆积图形中心出现一个大的六边形COM晶体。这种特殊形貌的堆积图形的直径从 $10 \mu\text{m}$ 至 $40 \mu\text{m}$ 不等,其数量约占所有堆积图形的5%。随着生长时间的增加,COM晶体从边界向圈内生长,从生长1h的环状堆积图形转变为4h的实心圆形堆积图形,而环中心的大六棱柱COM晶体立体感增强,尺寸增大。随着损伤LB膜的草酸钾浓度的增加,特殊环状图形从实心图形变成环状,同时这种特异形貌的晶体堆积图形比例增加。

参考文献:

- [1] Colfen H, Mann S. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**,**42**(21): 2350~2365
- [2] OUYANG Jian-Ming(欧阳健明). *Mediation of Matrix on Biomineralization and Its Applications in Biomimics*(生物矿化的基质调控及其仿生应用). Beijing: Chemical Industry Press, **2006**.206~222
- [3] ZHANG Xue-Ao(张学骛), WANG Jian-Fang(王建方), WU Wen-Jian(吴文健), et al. *Wuji Cailiao Xuebao(J. Inorg. Mater.)*, **2006**,**21**(2):257~266
- [4] Wang L J, Qiu S R, Zachowicz W, et al. *Langmuir*, **2006**,**22**(17):7279~7285
- [5] Ouyang J M, Duan L, Tieke B. *Langmuir*, **2003**,**19**(21):8980~8985
- [6] Ouyang J M, Deng S P. *Dalton Transactions*, **2003**,(14):2846~2851
- [7] Benítez I O, Talham D R. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**,**127**(9): 2814~2815
- [8] Talham D R, Backov R, Benitez I O, et al. *Langmuir*, **2006**, **22**(6):2450~2456
- [9] ZHONG Jiu-Ping(钟玖平), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), DENG Sui-Ping(邓穗平). *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2002**,**18**(12):1253~1257
- [10] Sheng X X, Ward M D, Wesson J A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**,**125**(10):2854~2855
- [11] Schepers M S J, Boom B G, Romin J C, et al. *J. Urol.*, **2002**, **167**(4):1844~1847
- [12] Rabinovich Y I, Esayanur M, Daosukho S, et al. *J. Coll. Interf. Sci.*, **2006**,**300**(1):131~140
- [13] Sarica K, Erbagci A, Yagci F, et al. *Urol. Res.*, **2004**,**32**(4): 271~277