

L-半胱氨酸自组装膜诱导草酸钙结晶研究

丘福保 刘建宇 王海水*

(华南理工大学化学与化工学院, 广州 510640)

摘要: 在 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 配制的过饱和溶液中, 利用 L-半胱氨酸(L-Cys)在金片上形成的自组装膜为模板, 研究了草酸钙(CaOxa)在自组装膜上的结晶行为, 并探讨了溶液 pH 对 CaOxa 晶体组成、晶型及其形貌的影响。采用 X 射线衍射(XRD)和扫描电子显微镜(SEM)等技术对 CaOxa 晶体的结构和形貌进行了表征。实验结果表明: 当溶液 pH=3.0 时, 溶液中可以形成一水草酸钙($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, COM)和二水草酸钙($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, COD)晶体, 而在同样 pH 条件下, 在 L-Cys 自组装膜上只形成 COD 晶体, 表明自组装单层对 CaOxa 晶体的成核和生长有重要影响。通过改变溶液的 pH, 在自组装单层上可以得到不同晶型和不同形状的 CaOxa 晶体。当 pH=3.0 时得到四方块状的 COD 晶体, 而 pH=5.0 和 pH=7.0 时分别得到六边形和拉长六边形的 COM 晶体。

关键词: 草酸钙; 晶体; 自组装膜; 诱导

中图分类号: O614.23[†]

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2012)10-2160-05

Crystallization of Calcium Oxalate on the Self-assembled Monolayer of L-Cysteine

QIU Fu-Bao LIU Jian-Yu WANG Hai-Shui*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In order to study the interaction between the organic molecules and calcium oxalate crystals, the self-assembled monolayer of L-cysteine was used as the template to induce the crystallization of calcium oxalate. The calcium oxalate crystals obtained from the solution and on the monolayer of L-cysteine were characterized by X-ray powder diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). Experimental results indicated that the self-assembled monolayer of L-Cys has a strong impact on the crystallization of CaOxa . Various crystal morphologies such as square, hexagon, elongated hexagon were obtained. With the increase of the solution pH, the crystals obtained on the monolayer of L-Cys were shifted from calcium oxalate dihydrate at pH=3.0 to calcium oxalate hydrate at pH=7.0.

Key words: calcium oxalate; crystal; self-assembled monolayer; induction

0 引 言

在催化剂、染料、功能陶瓷、先进材料和生物矿化等领域, 控制合成具有特定晶型、形貌和大小的晶体材料引起了材料研究工作者越来越多的关注。草酸钙是尿结石中的主要组成成分。草酸钙具有三种基本存在形式: 热力学上最稳定的单斜晶系一水草酸钙(COM), 次稳定的四方晶系二水草酸钙(COD)和最不稳定的三斜晶系三水草酸钙(COT)。尿结石中主要为COM结晶。近年来, 许多来自生物、医学和化学等领域

的科学工作者利用无机小分子^[1,2]、有机小分子^[3-7]、生物大分子^[8-10]、聚合物分子^[11-13]、金属离子^[14-16]、表面活性剂^[17]、LB膜^[18-21]、自组装膜^[22,23]等对草酸钙晶体结晶的影响进行了广泛研究, 使人们对这一领域的认识取得了显著的进展。

Sargut 等^[3]用自行设计流动结晶装置研究了 3 种必需氨基酸(DL-赖氨酸、L-甲硫氨酸、D-苏氨酸)和 2 种非必需氨基酸(D-脯氨酸、L-天冬氨酸)对草酸钙晶体生长的影响。发现在这些氨基酸存在的情况下草酸钙只生成一水合结构(COM), 没有 COD 和 COT。其原

收稿日期: 2012-03-05。收修改稿日期: 2012-05-20。

国家自然科学基金(No.20873136)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: wanghsh@scut.edu.cn

因归结于 COM 中富含 Ca^{2+} 的(100)面与氨基酸中带负电的羧酸头基有强的静电吸引作用,且 COM 的粒子大小跟氨基酸的种类、不同的吸附和聚集机理有关。

Cabrera 等^[23]利用微图像化自组装膜(micropatterned self-assembled monolayers, μp SAMs)的方法在金片上制备了不同链长和不同末端官能团的硫醇自组装膜,并以此为模板来诱导草酸钙晶体的成核与生长。研究发现,在不同的末端官能团自组装膜上均可生成草酸钙 COM 结晶,但晶体的成核密度和晶面发育情况与官能团的种类密切相关。这表明自组装单层对草酸钙的成核和生长过程都有强的调控作用。

近年来文献^[22,23]主要限于利用单末端官能团(如巯基十一酸)或混合 micropatterned(如巯基十六烷与巯基十六羧酸混合)自组装膜来调控草酸钙的晶体生长,关于用氨基酸(含双末端功能团)作为单分子膜或自组装膜的研究还比较少。半胱氨酸是自然界组成蛋白质的 20 种天然氨基酸中唯一含有巯基(-SH)基团的化合物,易通过形成 Au-S 键吸附于金片表面,从而形成一层自组装膜,同时外露 2 个官能团氨基(- NH_2)和羧基(-COOH)^[24,25]。本文首次采用 *L*-半胱氨酸作为金基底的自组装膜材料,以此为模板来诱导草酸钙晶体的成核与生长。通过改变溶液的 pH,研究 *L*-半胱氨酸的末端基团(- NH_2 , - NH_3^+ , -COOH, - COO^-)的电荷变化对草酸钙晶体成核与生长的影响并探讨其调控草酸钙晶型和形貌的可能机理。

1 实验部分

1.1 药品与试剂

L-半胱氨酸 ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$, 99%)、二水合氯化钙 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、草酸钠($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$)购于 Aladdin 试剂公司;氯化钠(NaCl)、浓硫酸(H_2SO_4)、双氧水(H_2O_2 , 30%)、氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)等购于北京化学试剂厂。所有试剂均为分析纯。实验中所用的水为经过 Millipore 系统二次纯化所得到的超纯水。

1.2 金片的处理

金片购自山东大学晶体材料研究所。将载玻片先用 piranha 溶液(体积比为 3:7 的双氧水和浓硫酸的混合液)浸泡 3 d,然后依次用水、超纯水、无水乙醇超声清洗,最后用氮气吹干。利用真空等离子体溅射技术先后在载玻片上镀上 10 nm 铬膜和 100 nm 金膜。经 XRD 证实镀金片上的金膜为(111)取向。

1.3 *L*-半胱氨酸自组装膜的制备

根据文献^[25]制备自组装膜。将镀金片放入 piranha 溶液中超声 5 min,然后依次用超纯水、无水乙醇超声

清洗,最后用氮气吹干。将镀金片放入 20 mL 10 mmol·L⁻¹ *L*-半胱氨酸溶液中,室温避光静置 4 h,然后取出用超纯水洗掉未生长在金片上的 *L*-半胱氨酸溶液,自然晾干。

1.4 草酸钙晶体的生长

在 150 mL 烧杯中先后加入 98 mL 150 mmol·L⁻¹ NaCl、1 mL 100 mmol·L⁻¹ $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 溶液,然后用少量的 0.1 mol·L⁻¹ HCl 和 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 调节好溶液的 pH 后,再加入 1 mL 100 mmol·L⁻¹ CaCl_2 溶液,从而得到过饱和草酸钙亚稳溶液(草酸钙的溶度积 $K_{\text{sp}}=2.0 \times 10^{-9}$)。轻轻摇晃 15 s 后再用孔径为 0.22 μm 的微孔滤膜过滤草酸钙亚稳溶液,以免体系中存在的杂质干扰 *L*-半胱氨酸自组装膜诱导晶体的生长。将长有自组装单层的金面朝下斜靠烧杯壁插入亚稳溶液中。为防止由于水分挥发造成体系过饱和度增大驱动晶体形成,用保鲜膜将烧杯口封好,整个实验在恒温水浴箱中进行,温度为(25±1) °C,结晶时间为 3 d。

1.5 表征

X 射线衍射分析 (Bruker D-8 Advance, 德国, Cu 靶, $\lambda=0.154\ 06\ \text{nm}$, LynxExe 阵列探测器,管压 40 kV,管流 40 mA,扫描范围 $2\theta=5^\circ\sim 34^\circ$,扫描速率 $17.7^\circ\cdot\text{min}^{-1}$,步长 0.02°);扫描电子显微镜(S-3700N, 日本日立公司,工作电压 10.0 kV)。华南理工大学分析测试中心测试。

2 结果与讨论

2.1 溶液中和自组装膜上的 CaOxa 样品分析

含不同水分子的草酸钙晶体属于不同的晶系,因此它们具有不同的特征 XRD 衍射峰(由于 Au 的 XRD 衍射峰在 38.18° 和 34.35° 出现很强的衍射峰,容易掩盖或者压低草酸钙的衍射峰,影响对草酸钙样品的观察,故本实验中 XRD 的 2θ 测量角度范围为 $10^\circ\sim 34^\circ$)。图 1 为 pH=3.0 时得到的草酸钙晶体的 XRD 图。由图 1a 可以看出,如果没有半胱氨酸自组装单层的诱导作用,在溶液中得到的草酸钙样品的 XRD 衍射峰主要出现在 2θ 为 14.95° 、 24.39° 、 30.12° 和 32.17° 的位置上,与 COM(PDF No.20-231)的(100)、(020)、(200)晶面和 COD(PDF No.17-541)的(411)所对应的衍射峰位置相吻合。这表明,在 pH=3.0 时溶液中得到的是 COM 和 COD 晶体。图 1b 为 pH=3.0 时,在自组装膜上得到的草酸钙样品的 XRD 图,图中只有 1 个衍射峰,出现在 2θ 为 32.17° 的位置,为 COD 晶体的(411)晶面,说明产物为单一的 COD 晶体。

图 2 为 pH=3.0 时溶液中和自组装膜上得到的草

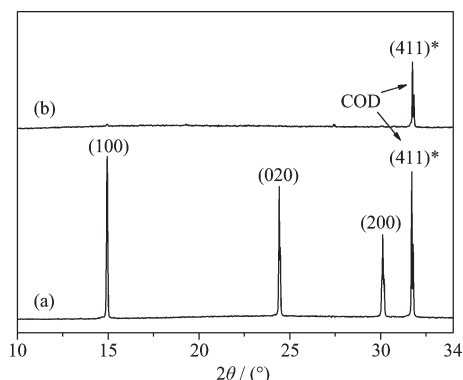


图 1 pH=3.0 时溶液中和 *L*-半胱氨酸自组装膜上得到的 CaOxa 晶体的 XRD 图

Fig.1 XRD patterns of CaOx crystals obtained from (a) the solution, and (b) SAM of *L*-Cys, pH=3.0, (25±1) °C

酸钙样品的 SEM 图。如图 2a 所示,在未加自组装膜诱导时,溶液中得到的草酸钙有典型的六边形 COM 晶体和一些不规则形状,而且还有明显的晶体聚集现象。图 2b 为 pH=3.0 时自组装膜上得到的草酸钙晶体

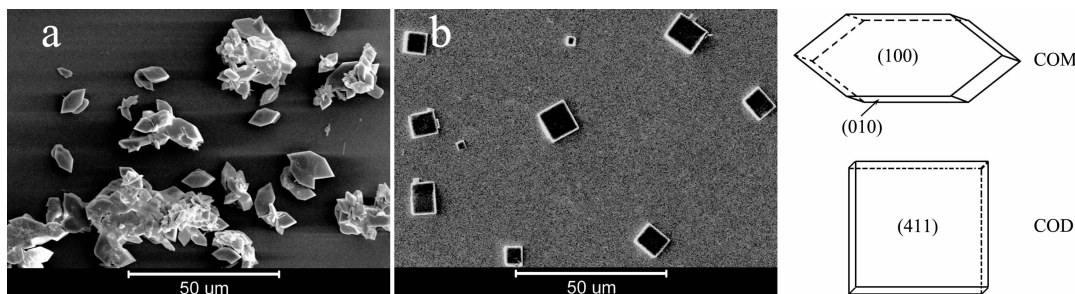


图 2 pH=3.0 时溶液中和 *L*-半胱氨酸自组装膜上得到的 CaOxa 晶体的 SEM 图

Fig.2 SEM images of CaOx crystals obtained from (a) the solution, and (b) SAM of *L*-Cys, pH=3.0; (25±1) °C

图 1 和图 2 的结果还表明 *L*-半胱氨酸自组装膜对 CaOxa 晶体具有选择性的吸附作用。当 pH=3.0 时, *L*-半胱氨酸自组装膜上选择性的吸附 COD,这可能与 *L*-半胱氨酸自组装膜表面所带的净电荷性质有关。*L*-半胱氨酸自组装膜表面净电荷随溶液 pH 的变化如图 3 所示。当溶液的 pH 等于半胱氨酸等电点 pI(5.07)时,自组装膜表面所带的正负电荷相等,主要以双极离子形式存在,即-COO⁻和-NH₃⁺形式存在。当溶液的 pH 偏离等电点 pI 越远,外端基团所带的净(正或负)电荷越

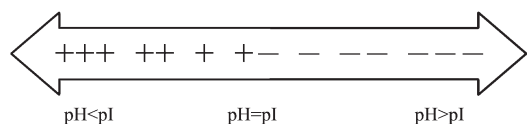


图 3 *L*-半胱氨酸自组装膜表面净电荷变化与 pH 关系图

Fig.3 Relation between pH and the net charge of the surface of *L*-Cys SAM

的 SEM 图。图中晶体全为四方形,属于 COD 的典型形貌。这与 XRD 图中只出现 COD 的(411)衍射峰是一致的。

图 1 和图 2 的结果表明,pH=3.0 时溶液中沉淀得到的样品既有 COM 晶体也有 COD 晶体。溶液中生成较稳定的 COM 晶体是比较容易理解的。COD 结晶的形成可能跟 C₂O₄²⁻浓度随 pH 的分布有关。H₂C₂O₄ 是二元弱酸,其 p*K*_{a1}=1.23,p*K*_{a2}=4.19。在水溶液中,C₂O₄²⁻的分布分数为:

$$\delta = \frac{K_{a1} K_{a2}}{c_{H^+}^2 + c_{H^+} K_{a1} + K_{a1} K_{a2}}$$

当溶液 pH=3.0 时,HC₂O₄⁻为溶液中主要的存在型体,粗略计算此时溶液的 C₂O₄²⁻浓度仅为 0.059 mmol·L⁻¹,远远小于溶液中 Ca²⁺的浓度(1 mmol·L⁻¹)。Jung 等^[26]研究发现,在结晶过程中过量的 Ca²⁺有利于形成 COD,过量的 C₂O₄²⁻有利于形成 COM。所以 pH=3.0 时,溶液中形成 COD 晶体的主要原因可能是因为钙离子过量的缘故。

多。当溶液的 pH=3.0 时,自组装单层外露基团主要以羧基和氨基阳离子-NH₃⁺形式存在,自组装膜表面以净的正电荷为主。由于静电吸引作用,自组装膜表面密集的末端-NH₃⁺首先与溶液中 C₂O₄²⁻结合并提供成核位点,在自组装单层吸附的 C₂O₄²⁻再吸引溶液中的 Ca²⁺并与之结合,进而促进二水草酸钙晶体(COD)选择性的吸附在 *L*-半胱氨酸自组装膜上生长。

2.2 溶液 pH 与自组装膜上 CaOxa 晶体的晶型和形貌

上面实验结果表明自组装单层对草酸钙晶体的成核和生长有强的调控作用,下面研究溶液 pH 对晶体生长的影响。图 4 为 pH=5.0 和 pH=7.0 时在自组装膜上得到的草酸钙晶体的 XRD 图。从图中可以看出所形成的晶体全部是 COM 型。图 4a 和 4b 图中的 *I*₍₁₀₀₎/*I*₍₂₀₀₎基本相同,不同的是当溶液 pH=5.0 变化到 pH=7.0 时(020)晶面的衍射峰强度有所变大。

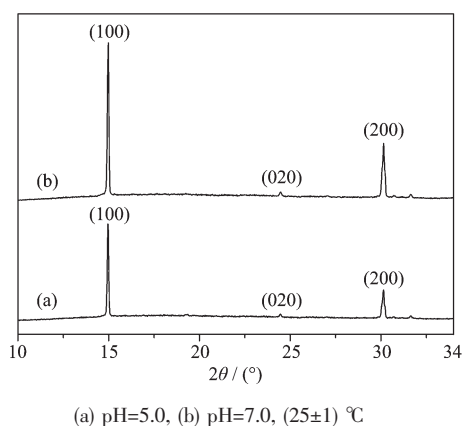


图 4 pH=5.0 和 7.0 时 *L*-半胱氨酸自组装膜上 CaOxa 晶体的 XRD 图

Fig.4 XRD patterns of CaOx crystals obtained from SAM of *L*-Cys

图 5a 和 5b 分别为 pH=5.0 和 pH=7.0 时自组装单层上得到的 COM 晶体的 SEM 图。从图中可以看出,虽然两者所形成的晶体都为六边形状,而且基本上均以(100)晶面平行于自组装膜表面生长,但明显可以看出随着 pH 的上升,COM 晶体被拉长。也就是说,通过改变溶液 pH 可以有效调控草酸钙晶体的外观形状。

SEM 观察到的结果与 XRD 的结果均表明 *L*-半胱氨酸自组装膜对草酸钙晶体的晶型、生长取向、形貌

都产生重要影响。随着溶液 pH 的上升,*L*-半胱氨酸自组装膜的外端基团-NH₃⁺减少同时-COO⁻增多,所带的净电荷也由正变负。等电点时(pI=5.07),双极离子-COO⁻和-NH₃⁺为主要存在形式,因为溶液中 Ca²⁺浓度大于草酸根浓度,同时 Ca²⁺与-COO⁻作用力大于-NH₃⁺与 C₂O₄²⁻的作用力,因此自组装单层外端的-COO⁻优先吸附溶液中的 Ca²⁺,这与 pH=3.0 时自组装单层优先吸附 C₂O₄²⁻完全不同。这可能是 pH=5.0 时自组装单层上形成 COM 的一个重要原因。另外,当 pH=5.0 时,溶液中 C₂O₄²⁻的浓度近似为 0.86 mmol·L⁻¹。与 pH=3.0 时 C₂O₄²⁻浓度仅为 0.059 mmol·L⁻¹ 相比,溶液的相对过饱和度也明显上升(钙离子浓度保持不变)。按照 Jung 研究^[26],在溶液中,随着过饱和度的增大,溶液中形成草酸钙晶体的优势结构由 COD 转变为 COM。在自组装膜上可能有类似作用,也就是说溶液过饱和度增加时,自组装膜上易形成 COM 晶体。pH=7.0 时,自组装膜表面密集的-COO⁻首先吸引溶液中的 Ca²⁺与之结合并提供草酸钙的成核位点,被富集的 Ca²⁺再吸引溶液中的 C₂O₄²⁻,进而促进一水合草酸钙晶体(COM)在 *L*-半胱氨酸自组装膜上的异相成核。另外,由于自组装膜末端-COO⁻与 COM 的(100)晶面之间的黏附力比-NH₂强^[22],当 pH=7.0 时自组装膜表面的净负电荷比 pH=5.0 时显著增多,吸引了溶液中更多的 Ca²⁺,这可能是导致 COM 晶体被拉长的原因。

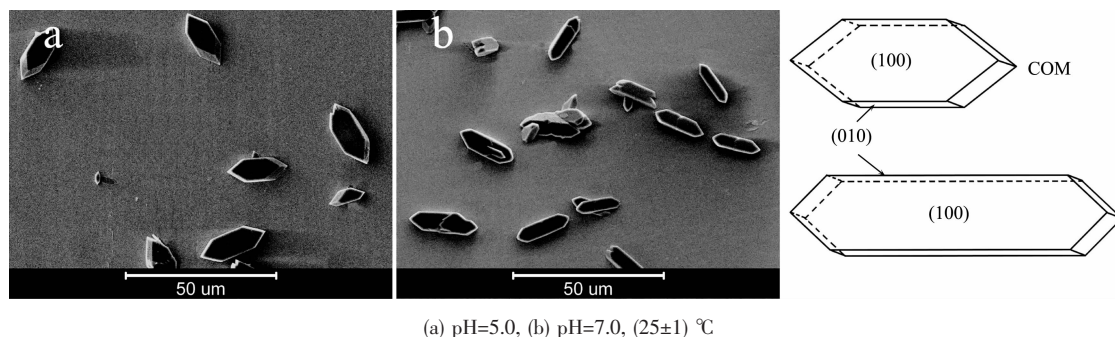


图 5 pH=5.0 和 pH=7.0 时 *L*-半胱氨酸自组装膜上 CaOxa 晶体的 SEM 图

Fig.5 SEM images of CaOx crystals obtained from SAM of *L*-Cys

3 结 论

(1) 通过调节溶液中的 pH 参数可以很好的控制 *L*-半胱氨酸自组装膜末端基团所带的电荷。自组装膜表面电荷的性质对草酸钙结晶有重要影响。

(2) *L*-半胱氨酸自组装膜可以调控草酸钙晶体的结晶类型。高 pH 值时,膜表面末端的-COO⁻优先富集 Ca²⁺,容易形成 COM 晶体;低 pH 值时,钙离子相对过量,有利于 COD 晶体的形成。

(3) 自组装膜表面的-NH₃⁺与-COO⁻比值对草酸钙晶体的形貌有重要影响。从 pH=5.0 到 pH=7.0,自组装膜表面的-COO⁻总量不变,但-NH₃⁺量明显减少,导致草酸钙 COM 晶体六边形锐角边相对变短,六边形显得狭长。

(4) 通过控制溶液 pH 和利用 *L*-半胱氨酸自组装单层的调控作用,可以控制晶体的晶型(COM 或 COD)和形貌。

参考文献:

- [1] Ouyang J M, Zheng H, Deng S P. *J. Cryst. Growth*, **2006**, **293**:118-123
- [2] Qiu S R, Wierzbicki A, Salter E A, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, **127**:9036-9044
- [3] Sargut S T, Sayan P, Kiran B. *J. Cryst. Res. Technol.*, **2010**, **45**:31-38
- [4] YU Hai-Yan(于海燕), ZHANG Hui-Min(张惠敏), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明). *J. Chin. Electron Microsc. Soc. (Dianzi Xianwei Xuebao)*, **2007**, **26**(1):44-48
- [5] LU Peng(鲁鹏), HOU Shan-Hua(侯善华), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明). *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**, **26**(1):17-24
- [6] Fischer V, Landfester K, Muoz-Esp R. *J. Cryst. Growth Des.*, **2011**, **11**:1880-1890
- [7] Wang L J, Qiu S R, Zachowicz W, et al. *Langmuir*, **2006**, **22**:7279-7285
- [8] Sargut S T, Sayan P, Kiran B. *J. Cryst. Res. Technol.*, **2009**, **44**:807-817
- [9] XIE Rong(谢蓉), YANG Jin(杨锦), WAN Mu-Hua(万牡华), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**, **26**(4):560-566
- [10] Jung T, Sheng X X, Choi C K, et al. *Langmuir*, **2004**, **20**:8587-8596
- [11] Jung T, Kim W S, Choi C K. *J. Cryst. Growth*, **2005**, **279**:154-162
- [12] WAN Mu-Hua(万牡华), WANG Miao(王淼), DENG Lan-Qing(邓兰青), et al. *J. Synth. Cryst. (Rengong Jingti Xuebao)*, **2008**, **37**(3):763-768
- [13] Jung T, Kim J N, Kim W S, Choi C K. *J. Cryst. Growth*, **2011**, **10**:1016-1022
- [14] Rabinovich Y I, Daosukho S J, Byer K J, et al. *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, **325**:594-601
- [15] Doherty W O S. *J. Ind. Eng. Chem. Res.*, **2006**, **45**:642-647
- [16] Lochhead M J, Touryan L, Vogel V. *J. Phys. Chem. B*, **1999**, **103**:3411-3416
- [17] Sikiri M D, Milhofer H F. *J. Adv. Colloid Interface Sci.*, **2006**, **128**:135-138
- [18] Backov R, Lee C M, Khan S R, et al. *Langmuir*, **2000**, **16**:6013-6019
- [19] ZHONG Jiu-Ping(钟玖平), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), DENG Sui-Ping(邓穗平). *J. Jinan Univ. (Jinan Daxue Xuebao)*, **2002**, **23**(5):47-51
- [20] Talham D R, Backov R, Benitez I O, et al. *J. Langmuir*, **2006**, **22**:2450-2456
- [21] Deng S P, Ouyang J M. *J. Cryst. Growth Des.*, **2009**, **9**:82-87
- [22] Sheng X X, Ward M D, Wesson J A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, **125**:2854-2855
- [23] Cabrera T M, Friguglietti L M, King C M, et al. *J. Cryst. Growth Des.*, **2007**, **7**:2436-2443
- [24] Shin T, Kim K N, Lee C W, et al. *J. Phys. Chem. B*, **2003**, **107**:11674-11681
- [25] Dressler D H, Mastai Y. *J. Chirality*, **2007**, **19**:358-365
- [26] Jung T, Kim W S, Choi C K. *J. Mater. Sci. Eng. C*, **2004**, **24**:31-33