

聚电解质和表面活性剂混合体系中多价金属离子诱导的囊泡聚集

么敬霞 赵颖 黄建滨*

(北京大学化学与分子工程学院, 分子动态与稳态结构国家重点实验室, 北京 100871)

摘要 利用浊度和电镜观察等方法研究了水解的苯乙烯-马来酸酐共聚物(SMA)和十二烷基三乙基溴化铵(DEAB)混合体系中多价金属离子诱导的囊泡聚集现象. 提出了关于多价金属离子诱导囊泡聚集的机理.

关键词: 囊泡, 囊泡聚集, 多价金属离子, 聚电解质-表面活性剂混合体系

中图分类号: O648

Multivalent Metal Ion Induced Vesicle Aggregation in Aqueous Polyelectrolyte-surfactant System

YAO, Jing-Xia ZHAO, Ying HUANG, Jian-Bin*

(State Key Laboratory for Structural Chemistry of Unstable and Stable Species, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, P. R. China)

Abstract The vesicle aggregation induced by multivalent metal ions in the mixed system of polyelectrolyte (hydrolyzed random copolymer of maleic anhydride-styrene, SMA)-surfactant (dodecyltriethylammonium bromide, DEAB) was investigated through transmission electron microscopy (TEM) observation and turbidity measurement. It was found that a small quantity of Ca^{2+} (in the magnitude of $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) can induce vesicle aggregation. Adding EDTA can dissociate the vesicle aggregation. Further investigation suggested that the vesicle aggregation followed the salt-linkage mechanism.

Keywords: Vesicles, Vesicle aggregation, Multivalent metal ion, Polyelectrolyte-surfactant system

表面活性剂由于分子自身两亲的特点, 在水溶液中能形成各种各样的分子有序组合体如胶束、囊泡、液晶等. 其中, 囊泡与其它有序组合体最大的区别就是其封闭的双层膜结构和由此产生的内水相. 一直以来, 囊泡被当作研究细胞膜的理想模型和药物运输的载体而受到了科学家们的高度重视^[1-3]. 细胞膜的融合和很多重要的生命生理过程(如: 细胞内吞和分泌、跨膜运输、受精作用、细菌感染)密切相关. 一般认为囊泡的接触或聚集是囊泡间发生融合的先决条件, 因此对于囊泡聚集现象的研究及其内在机制的探索将有助于加深人们对于相关生命过程

的理解和认识, 也将促进囊泡在其它领域中的应用.

以往的研究结果表明, 囊泡的聚集可以通过环境因素如温度^[4]、pH值^[5]的变化, 或者加入添加剂如电解质和高分子等^[6-10]来调节. 对于加入电解质诱导的囊泡的聚集, 人们在磷脂体系中已经进行了相对广泛和深入的研究^[11-16]. 但电解质的加入对表面活性剂囊泡体系的影响, 几乎没有系统的报道^[17]. 本文报道在一种水解的苯乙烯-马来酸酐和十二烷基三乙基溴化铵混合体系中多价金属离子的加入诱导囊泡发生聚集的现象, 并对其机制进行了分析.

1 实验部分

1.1 试剂

苯乙烯-马来酸酐共聚物为 Aldrich 公司产品. 相对分子质量 $M_n=1600$. 羧基含量由 pH 滴定求得为 99.9 g 共聚物含有 1 mol 羧基. 十二烷基三乙基溴化铵由溴代十二烷与三乙胺反应得到^[10], 粗产品用乙醇/丙酮重结晶五次. 表面张力曲线测定没有最低点. 苾购自 Sigma 公司. 其它试剂均购自北京化学试剂公司. 实验用水为去离子水加入 KMnO_4 放置 24 h 后蒸馏得到.

1.2 囊泡溶液的制备

SMA 在碱性条件下水解得到一定浓度的溶液. 实验中 SMA 的浓度以(羧基+羧酸根)的物质的量浓度计. 混合比例为 SMA 和 DEAB 的摩尔比, 体系的浓度 c_T 为 SMA 和 DEAB 的总浓度. pH=9.2 的缓冲溶液由 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼砂控制.

1.3 实验方法

浊度用上海 752C 紫外可见分光光度计测定, 测定波长 514.5 nm. 电镜观察用 JEM-100CX II 透射电子显微镜进行观察, 用 1% 的乙酸双氧铀染色. 荧光光谱在 Hitachi F4500 荧光光度计上记录, 体系中苾的浓度为 $5\times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 激发波长为 335 nm, 记录发射波长范围为 350~450 nm. 苾的荧光强度取第五发射峰($\lambda=394 \text{ nm}$)的强度. Zeta 电势在温控的 Zetasizer2000 (Malvern Instruments Ltd.) Zeta 电势仪上进行测量. 所有测试均在 25°C 进行.

2 结果和讨论

SMA/DEAB 混合体系在 $T=25^\circ\text{C}$ 和 $\text{pH}=9.2$ 的条件下可以在很大浓度和比例范围内形成囊泡. 当

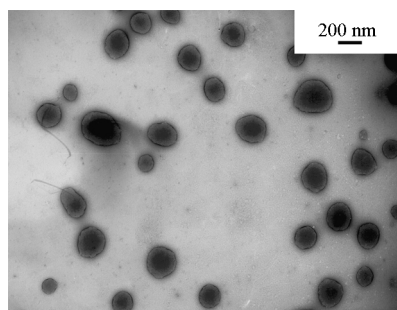


图 1 SMA/DEAB 混合体系中囊泡的电镜照片
Fig.1 TEM micrograph of SMA/DEAB system
 $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $T=25^\circ\text{C}$, $\text{pH}=9.2$

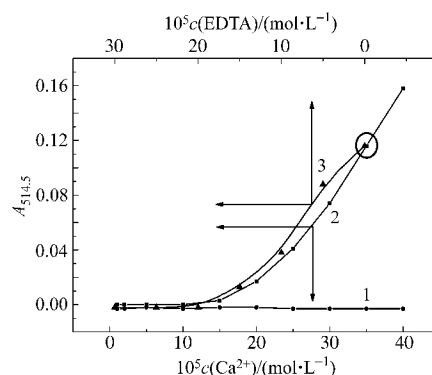


图 2 SMA/DEAB 混合体系加入 Ca^{2+} 和 EDTA 引起的浊度的变化

Fig.2 Turbidity variation caused by the addition of Ca^{2+} and EDTA to the SMA/DEAB system

1) addition of Ca^{2+} to $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SMA solution;
2) addition of Ca^{2+} to SMA/DEAB system at $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 3) addition of EDTA to SMA/DEAB system at $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ in the presence of $3.5\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$.

体系在 $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 体系的外观澄清, 电镜观察发现了该体系中囊泡的形成(图1), 照片中可以清晰地看到囊泡的内水相. 由图 1 可以看出, 该体系中的囊泡呈球形, 直径约为 200 nm 左右, 以分散形态存在, 几乎没有囊泡聚集的发生.

向该体系中逐步加入 CaBr_2 溶液, 体系的外观由澄清逐渐变为乳光, 体系的浊度不断增加(图 2 中曲线 2), 预示着体系中质点尺寸的长大. 对比实验表明, 向 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SMA 的溶液中加入 Ca^{2+} 时体系的浊度没有变化(如图 2 中曲线 1). 从而排除了 SMA/DEAB 混合体系相应的浊度变化是由于

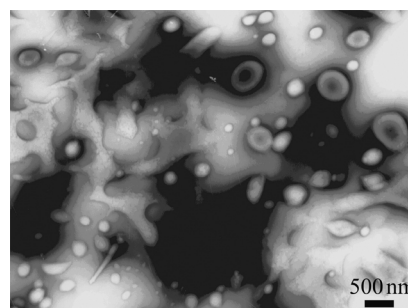


图 3 SMA/DEAB 混合体系加入 $3.5\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 的电镜照片
Fig.3 TEM micrograph of SMA/DEAB system after the addition of $3.5\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$
 $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $T=25^\circ\text{C}$, $\text{pH}=9.2$

表 1 不同离子诱导囊泡聚集情况

Table 1 Vesicle aggregation induced by various ions

Ion	$c/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Vesicle aggregation	Ion	$10^3c/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Vesicle aggregation
Na^+	0.1	-	Mg^{2+}	8	+
K^+	0.1	-	Ba^{2+}	2	+
SO_4^{2-}	0.1	-	La^{3+}	0.4	+

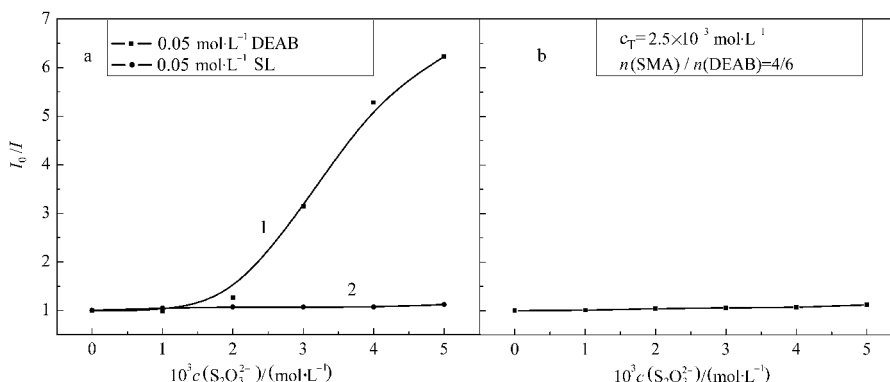
“-”: no vesicle aggregation, “+”: vesicle aggregation

SMA 与 Ca^{2+} 形成不溶物的原因。

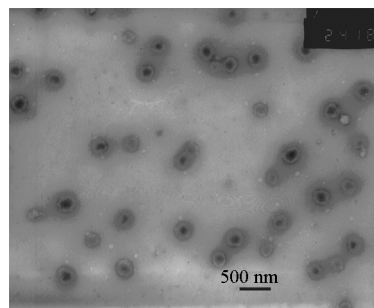
电镜观察表明,上述现象是由于发生了囊泡的聚集.当 Ca^{2+} 量小于 $1.5\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,体系中仍然是分散的囊泡;继续加入 Ca^{2+} 超过 $1.5\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时体系中的囊泡发生了聚集和融合(图3),同时体系的浊度也逐渐增大。

进一步考察不同离子对该体系中囊泡聚集的影响,结果如表 1 所示.由表 1 可以看出,一价的金属离子均不能诱导囊泡聚集,而二价和二价以上的金属离子可以诱导囊泡聚集,多价的阴离子也不能诱导囊泡聚集.这说明离子的电荷正负和所带电荷的数量同时决定了该离子能否诱导囊泡聚集。

离子与聚集体能否靠近是其能否诱导聚集的先决条件.Zeta 电势研究结果表明,该体系中囊泡的 Zeta 电势为 -38.5 mV ,尽管在体相中 DEAB 所带正电荷与 SMA 所带负电荷相比已经过量,但聚集体仍然显示出负电性,说明 SMA 分子有优先进入聚集体的倾向.进一步用芘为探针, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 离子作为带负电的水溶性猝灭剂,通过静态荧光猝灭的方法^[9]研究阴离子对囊泡聚集的影响,如图 4 所示.图 4a 中曲线 1 和 2 分别是水溶性猝灭剂 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 对加溶于阳离子表面活性剂 DEAB 胶束和阴离子表面活性剂十二酸钠(SL)胶束中的芘的猝灭情况,可以发现,当

图 4 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 对不同表面电荷聚集体中芘的猝灭作用Fig.4 Fluorescence quenching of pyrene located in different charged aggregates by $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

a) in DEAB and in SL(sodium laurate) systems; b) in SMA/DEAB system

图 5 SMA/DEAB 加入 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaBr}$ 的电镜照片Fig.5 TEM micrograph of SMA/DEAB system after the addition of $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaBr}$

$n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_1=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $T=25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=9.2$

聚集体表面带正电荷(DEAB 胶束)时,猝灭剂可以有效地对芘的荧光进行猝灭.然而当聚集体带有负电(SL胶束)时,可以保护芘的荧光不被猝灭. $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_1=2.5\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 体系中的猝灭情况如图 4b 中曲线所示.带负电的猝灭剂不能有效地接近囊泡表面,因而多价的负离子不能诱导囊泡的聚集.相反,多价的正离子与囊泡之间存在一定的静电作用,因而可以诱导囊泡的聚集。

金属离子诱导的囊泡的聚集通常是由于压缩聚集体双电层,从而减小聚集体之间的静电斥力而达到^[3-16].然而在我们所研究的体系中,保持同等的离子强度,如果将 Ca^{2+} 换成 Na^+ ,则体系中浊度保持不变,也没有观察到囊泡聚集现象,即使在 Na^+ 的浓度达到 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,体系中仍然是分散的囊泡(图 5),因此可以认为 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等多价阳离子的加入除了通过库仑作用影响囊泡之间的相互作用外,还有其他因素在起着关键性的作用。

囊泡表面带负电对阳离子有较强的吸附能力,

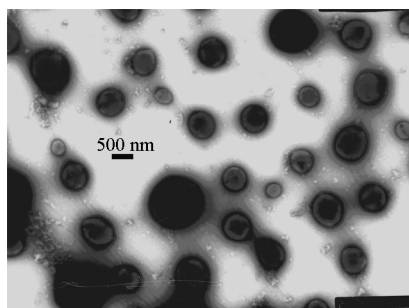


图6 向 SMA/DEAB 混合体系中加入 $3.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 的溶液中再加入 $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EDTA}$ 后的电镜照片

Fig.6 TEM micrograph of SMA/DEAB system after the addition of $3.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ and $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EDTA}$

$n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,
 $T=25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=9.2$

对于多价阳离子,除与一个囊泡的表面发生静电作用外,很可能同时与溶液中荷负电的聚电解质以及另外的囊泡表面发生相互作用,从而起到桥联作用^[9, 11],而且可能是诱导囊泡聚集的主要作用。

该体系中 Ca^{2+} 诱导的囊泡的聚集是可逆的。向 $n(\text{SMA})/n(\text{DEAB})=4/6$, $c_T=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合体系中加入 $3.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 后的溶液中再加入 EDTA,可以发现体系的浊度随 EDTA 的加入而减小直至为0(图2中曲线3)。电镜观察发现,原来聚集的囊泡又变为分散的囊泡(图6)。这可能是因为加入的 EDTA 和 Ca^{2+} 形成配合物,从而将连接囊泡的 Ca^{2+} 置换出来的结果。

3 结论

在 SMA/DEAB 混合体系中,发现了 Ca^{2+} 诱导的囊泡的聚集现象。研究发现, Ca^{2+} 浓度只有大于一定数值时,才可以诱导囊泡聚集。加入 EDTA 可以使聚集的囊泡解聚。进一步研究不同离子对囊泡聚集的作用发现,外加离子与囊泡之间的静电作用是诱

导囊泡聚集的先决条件,同时,多价金属离子通过与囊泡表面上或溶液中荷负电的聚电解质分子结合而连接不同的囊泡是多价金属离子诱导囊泡聚集的主要原因。

References

- Fendler, J. H. Membrane mimetic chemistry. New York: Wiley, 1982: Chapter 6
- Zhao, G. X.; Zhu, B. Y. The action principle of surfactants. Beijing: Light Industry Press, 2003: 295 [赵国玺, 朱玮瑶. 表面活性剂作用原理. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 295]
- Zhu, Y. J.; Tan, Y. B.; Zhang, Y.; Hou, Z. S. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, **2005**, **35**: 94 [朱玥珺, 谭业邦, 张翼, 侯昭升. 日用化学工业(*Riyong Huaxue Gongye*), **2005**, **35**: 94]
- Yin, H. Q.; Huang, J. B.; Gao, Y. Q.; Fu, H. L. *Langmuir*, **2005**, **21**: 2656
- Zheng, L. Q.; Shui, L. L.; Shen, Q.; Li, G. Z.; Baba, T.; Minamikawa, H.; Hato, M. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2002**, **207**: 215
- Minami, H.; Inoue, T. *Langmuir*, **1999**, **15**: 6643
- Meyuhas, D.; Nir, S.; Lichtenberg, D. *Biophys. J.*, **1996**, **71**: 2602
- Yang, Q. L.; Guo, Y. Q.; Li, L. H.; Hui, S. W. *Biophys. J.*, **1997**, **73**: 277
- Fatouros, D. G.; Piperouli, S.; Gortzi, O.; Ioannou, P. V.; Frederik, P.; Antimisiaris, S. G. *J. Pharm. Sci.*, **2005**, **94**: 46
- Thorén, P. E. G.; Persson, D.; Lincoln, P.; Nordén, B. *Biophys. Chem.*, **2005**, **114**: 169
- Shigematsu, M.; Fujie, T.; Inoue, T. *J. Coll. Interface. Sci.*, **1992**, **149**: 536
- Minami, H.; Inoue, T.; Shimozawa, R. *Langmuir*, **1996**, **12**: 3574
- Marra, J.; Israelachvili, J. N. *Biochemistry*, **1985**, **24**: 4608
- Ohki, S.; Ohshima, H. *Colloids Surf. B*, **1999**, **14**: 27
- Ohki, S.; Roy, S.; Ohshima, H.; Leonardst, K. *Biochemistry*, **1984**, **23**: 6126
- Carmona-Ribeiro, A. M.; Yoshida, L. S.; Chaimovich, H. *J. Phys. Chem.*, **1985**, **89**: 2928
- Walker, S. A.; Zasadzinski, J. A. *Langmuir*, **1997**, **13**: 5076
- Huang, J. B.; Zhao, G. X. *Colloid. Polym. Sci.*, **1995**, **273**: 156
- Abuin, E. B.; Scaiano, J. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, **106**: 6274