

水介质中 C₆₀ 纳米晶体颗粒的扩散状态对其光化学反应活性的影响*

倪明¹ 张波^{1**} 何义亮¹ Kim Jae-kong² Hughes Joeseph B²

(1. 上海交通大学环境科学与工程学院, 上海, 200240; 2. School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332, United States)

摘要 研究了阳离子表面活性剂 CTAB, 阴离子表面活性剂 SDS 和非离子表面活性剂 TX-100 和 TX-405 对水介质中 C₆₀ 纳米晶体颗粒的光化学反应活性诱导效应. 结果表明, 在阳离子表面活性剂 CTAB、阴离子表面活性剂 SDS 和非离子表面活性剂 TX-405 中, C₆₀ 纳米晶体颗粒没有显示明显的光化学反应活性, 而非离子表面活性剂 TX-100 能够明显诱导 C₆₀ 的光化学反应活性. 紫外-可见吸收光谱、DLS 分析和 TEM 成像都表明, 在 TX-100 溶液中, C₆₀ 从聚集状态向分子状态转变, 尺寸变小, 因而恢复其分子态 C₆₀ 的光化学反应活性.

关键词 C₆₀ 纳米晶体颗粒, 扩散状态, 光化学反应活性

富勒烯 (fullerene) 是被广泛应用在物理化学、材料科学和生物医学等领域的碳纳米材料之一^[1-4]. 在种类繁多的富勒烯家族中, C₆₀ 由于其奇特的物理、化学特性和结构的稳定性, 是目前世界各国研究的一种新型纳米材料. C₆₀ 具有对称空心笼状三维芳香结构, 具有强疏水性, 几乎不溶于水, 也不溶或微溶于多数有机溶剂^[5-6]. 但研究表明, C₆₀ 在水中通过长期搅拌可以形成稳定的纳米晶体颗粒 (water stable crystalline nano-scale C₆₀ aggregates, nC₆₀), 尺寸在几纳米到 200 nm 之间, 表面电荷在 -9 mV 到 -30 mV. 目前, 研究者们利用有机溶剂置换和超声快速制备了水中稳定的 C₆₀ 纳米晶体颗粒^[7-10]. C₆₀ 在各领域的广泛应用, 以及在水介质中纳米晶体颗粒的形成和其强亲脂疏水性引起了人类对其潜在水环境风险的关注.

C₆₀ 纳米晶体颗粒的生物毒性实验研究表明, 其对于细菌、水生动物和人类组织细胞都具有毒性影响^[8, 11-16]. C₆₀ 的光催化反应活性一直被认为是 C₆₀ 纳米晶体颗粒具有生物毒性的重要原因之一^[11, 17-20]. 在有机溶剂中, C₆₀ 分子能够成为单线态氧 (¹O₂) 和超氧自由基离子 (O₂⁻) 等活性氧自由基 (ROS) 产生的前体^[21]. 然而, 当 C₆₀ 在水介质中形成纳米晶体颗粒后, 在非生物系统中的实验研究表明, 作为 C₆₀ 分子本身的光化学反应特征消失了, C₆₀ 纳米晶体颗粒不具有光化学反应活性, 不能产生 ROS^[22]. 但也有研究表明, C₆₀ 与 γ -环糊精和聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 等聚合物形成的络合物具有光化学反应活性, 能够产生 ROS, 诱导 DNA 断裂和脂肪酸过氧化^[17, 23-24], 暗示了 C₆₀ 纳米晶体颗粒的光化学反应活性能够被水介质中出现的特定物质诱导而恢复, 但对于诱导机制尚不清楚.

本文利用物理化学试验、紫外-可见吸收光谱、动态光散射仪 (DLS) 和透射电子显微镜 (TEM) 等实验手段检测并分析了 C₆₀ 纳米晶体颗粒在阳离子、阴离子和非离子表面活性剂中的光化学反应特性, 深入研究了水介质中扩散状态对 C₆₀ 纳米晶体颗粒光化学反应活性的影响.

1 材料与方法

1.1 C₆₀ 纳米晶体颗粒的制备

称取 C₆₀ 8 mg, 与 20 mL 甲苯混合后, 置于摇床上振荡 24 h. 确定 C₆₀ 完全溶解后, 再加入 80 mL 超纯

2010年11月1日收稿.

* 国家自然科学基金 (No. 20907030) 资助项目; 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目 (2010年第40批); 上海交通大学“医工(理)交叉研究基金”资助.

** 通讯联系人, TEL: 021-34203952; E-mail: zhangbo214@sjtu.edu.cn

水. 将容器密封, 置于超声清洗机中超声 (80 Hz) 48 h, 使 C_{60} 从甲苯转移到水中. 超声结束后, 用旋转蒸发仪蒸发掉甲苯, 然后使剩余液体通过 220 nm 滤膜, 滤除剩余 C_{60} 固体. 测定得到的 C_{60} 纳米晶体颗粒的浓度, 妥善保存备用^[7,13].

1.2 C_{60} 纳米晶体颗粒在表面活性剂中的扩散

分别选取阳离子表面活性剂 (Hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB))、阴离子表面活性剂 (Sodium dodecyl sulfate (SDS)) 和非离子表面活性剂 (Triton X-100 (TX-100)、Triton X-405 (TX-405)), 研究其对 C_{60} 纳米晶体颗粒光化学反应活性的影响. 表面活性剂溶液浓度均控制在临界胶束浓度以上. 将 20 mL $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 C_{60} 纳米晶体颗粒加入等体积上述表面活性剂中, 避光, 在转速为 $300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的搅拌器上搅拌 24 h 备用.

1.3 光化学反应活性检测

$^1\text{O}_2$ 的浓度通过糠醇 (furfuryl alcohol, FFA) 指示剂 (二级反应速率常数 $k(\text{FFA} + ^1\text{O}_2) = 1.2 \times 10^8\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) 测定. 分别吸取 3 mL FFA 和 27 mL 表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒到 40 mL 的石英玻璃反应器中, 光照 2 h. 光化学反应器装有 6 个 4 W 的 BLBL (BLACK LIGHT BLUE LAMPS) 光源, 激发波长范围 350—400 nm, 入射光强度 $3.33 \times 10^{-4}\text{ Einstein}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$. FFA 初始浓度设定在 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 每 20 min 取样 1 mL, 过滤 (Anotop 25 plus 0.22 μm 滤膜, Waters) 后, FFA 浓度通过 Agilent 1100 HPLC/DAD 测定, 采用 Zorbax SB-C18 反相色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流量 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 扩散在 TX-100 中的 nC_{60} 溶液的光化学反应活性测定时, FFA 的测定采用 Eclipse Plus C18 反相色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流量 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 所有实验在相同条件下重复 3 次.

1.4 C_{60} 纳米晶体颗粒表征

扩散在表面活性剂中的 C_{60} 纳米晶体颗粒通过紫外-可见吸收光谱、DLS 和 TEM 分别表征其典型吸收峰的最大吸收波长变化、尺寸及表观特征. C_{60} 纳米晶体颗粒、表面活性剂及二者混合液的紫外-可见吸收光谱由紫外-可见分光光度计 (Varian Cary 50) 测定. 利用 Zetasizer Nano ZS90 测定 C_{60} 纳米晶体颗粒的尺寸, 最低检测限为 5 nm. 应用 TEM (JEM 2100) 检测 C_{60} 纳米晶体颗粒表观形状和尺寸, 首先将 C_{60} 纳米晶体颗粒浓缩 10 倍, 然后滴加在碳/聚乙烯醇缩甲醛镀膜的 200 目铜网上, 成像软件为 Image Pro.

1.5 C_{60} 浓度测定

吸取 2 mL 的 C_{60} 纳米晶体颗粒到 10 mL 玻璃小瓶, 然后加入 1 mL $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mg}(\text{ClO}_4)_2$ 和 2 mL 色谱纯的甲苯, 混合搅动 24 h, 在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下冷冻, 然后通过吸光度测定确定甲苯溶液中 C_{60} 浓度^[13].

2 结果与讨论

2.1 C_{60} 纳米晶体颗粒的光化学反应活性

图 1 显示了 FFA 在阳离子、阴离子和非离子表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒中的降解动力学. 在 C_{60} 纳米晶体颗粒的空白液中, FFA 并没有显示降解, 表明 C_{60} 纳米晶体颗粒没有产生 $^1\text{O}_2$. 与 C_{60} 纳米晶体颗粒的空白液相对照, 阳离子表面活性剂 CTAB 扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒中, FFA 没有发生降解, 也不能产生 $^1\text{O}_2$, 如图 1a 所示. 阴离子表面活性剂 SDS 本身能够产生微量 $^1\text{O}_2$, 而在 C_{60} 纳米晶体颗粒扩散到 SDS 中后对于 FFA 的降解没有影响, 如图 1b 所示. 在非离子表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒中, 对于 TX-405, FFA 没有显示任何降解, 但是在 TX-100 中, FFA 在实验时间内发生快速降解 (图 1c), 表明这种表面活性剂能够快速诱导 C_{60} 纳米晶体颗粒产生光化学反应活性.

2.2 紫外-可见吸收光谱

图 2 显示了阳离子、阴离子和非离子表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒的紫外-可见吸收光谱. C_{60} 纳米晶体颗粒在 347 nm 处具有典型吸收峰, 而 C_{60} 分子在甲苯和正己烷等有机溶剂中以分子形态存在时在 330 nm 左右具有典型吸收峰. 在 347 nm 处典型吸收峰的存在是 C_{60} 纳米晶体颗粒以聚集形态存在的直接证明. 与 C_{60} 纳米晶体颗粒的对照液相比较, 在阳离子表面活性剂 CTAB 中, C_{60} 纳米晶体颗粒的典型吸收峰没有发生偏移, 而在阴离子表面活性剂 SDS 中, 典型吸收峰向紫外方向发生微小移动, 在非离子表面活性剂 TX-100 和 TX-405 溶液中, C_{60} 纳米晶体颗粒的典型吸收峰向紫外区发生明显的迁移, 尤

其在 TX-100 溶液中, C_{60} 纳米晶体颗粒的典型吸收峰的最大吸收波长已由 347 nm 偏移至 330 nm, 与 C_{60} 分子的典型吸收峰的最大吸收位置基本相同.

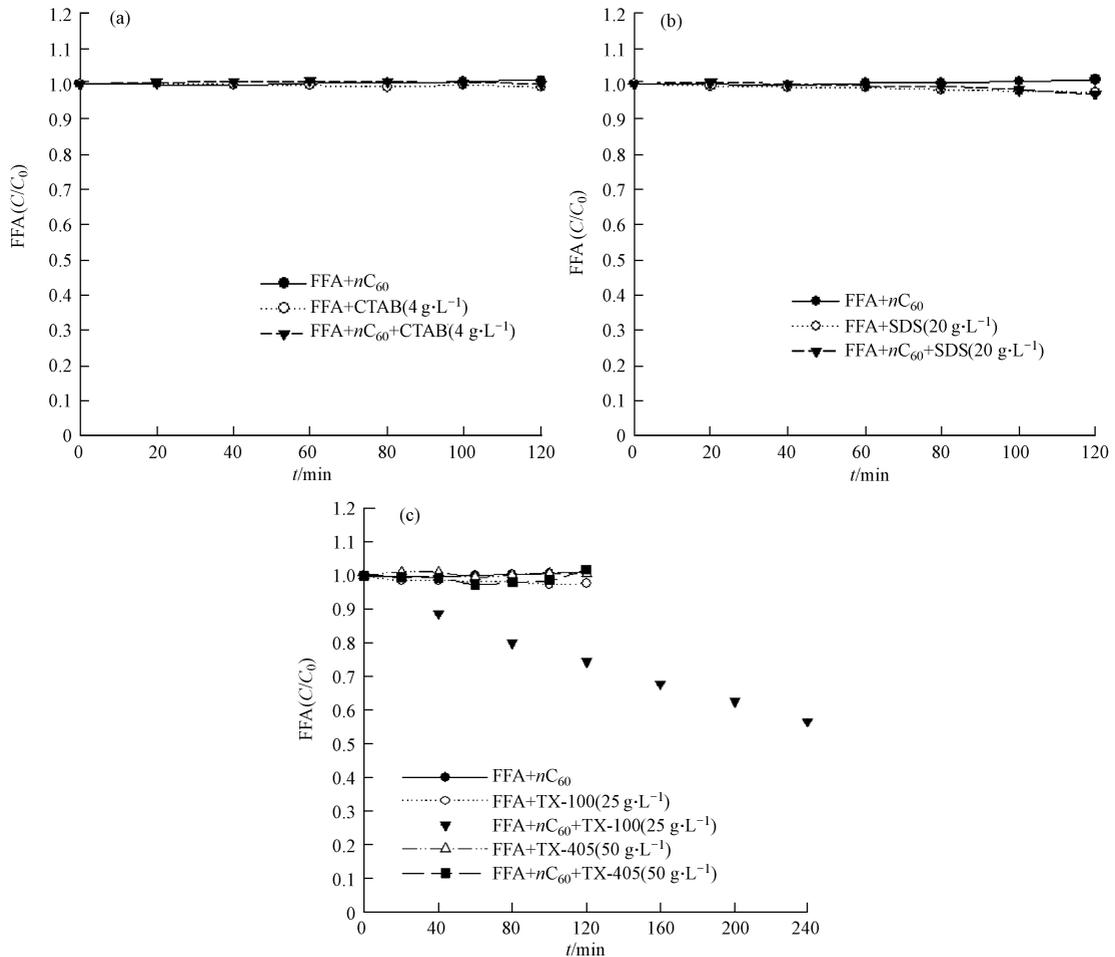


图 1 FFA 在表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒中的降解动力学

Fig. 1 Kinetics of FFA degradation with C_{60} nanocrystallines dispersed in surfactants

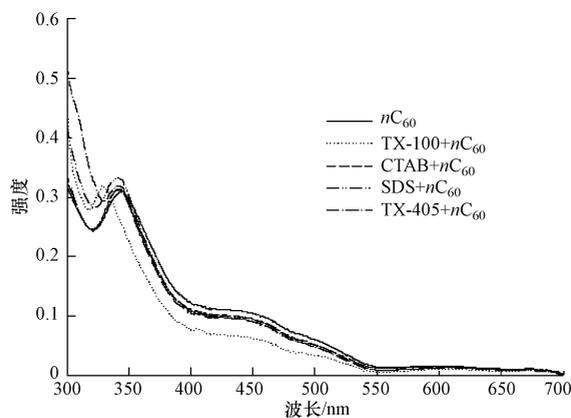


图 2 表面活性剂扩散的 C_{60} 纳米晶体颗粒紫外-可见吸收光谱

Fig. 2 UV-vis spectra of C_{60} nanocrystallines dispersed in surfactants

2.3 DLS 分析

DLS 分析结果表明,在 CTAB 和 SDS 溶液中, C_{60} 纳米晶体颗粒的水动力学直径无明显变化,但在非离子表面活性剂 TX-100 中, C_{60} 纳米晶体颗粒的水动力学直径明显降低,由 115.1 nm 减小到 22.38 nm,表明在非离子表面活性剂 TX-100 中, C_{60} 纳米晶体颗粒被明显扩散.

表 1 表面活性剂溶液扩散的 C₆₀ 纳米颗粒的动力学直径Table 1 Hydrodynamic diameter of C₆₀ nanocrystallines dispersed in surfactants

样品	nC_{60}	$nC_{60} + CTAB$	$nC_{60} + SDS$	$nC_{60} + TX-100$
水动力学直径 Z_{ave}/nm	115.1	105.1	123.6	22.38

2.4 TEM 检测

在非离子表面活性剂扩散的 TX-100 溶液中, TEM 的成像结果进一步证明了 DLS 的分析结果. C₆₀ 纳米晶体颗粒尺寸明显减小, 并且趋向分散体系(图 3). 分散态的 C₆₀ 纳米晶体颗粒直径为约 1 nm, 表明 C₆₀ 纳米晶体颗粒在非离子表面活性剂扩散的 TX-100 溶液中向分子状态转变.

2.5 C₆₀ 提取

水介质中 C₆₀ 的浓度常用甲苯提取测定, 首先加入弱氧化剂及盐 Mg(ClO₄)₂, 去除 C₆₀ 纳米晶体颗粒表面电荷, 使其聚沉, 然后加入甲苯溶液剧烈搅动, 使 C₆₀ 从水相转移至甲苯溶液中. 本实验中, 在 C₆₀ 纳米晶体颗粒的对照液中, C₆₀ 在甲苯中的浓度为 2.38 mg·L⁻¹; 在 CTAB 和 SDS 中, C₆₀ 能够像 C₆₀ 纳米晶体颗粒的对照液一样从水相转移至甲苯溶液中, 浓度为 2.31 mg·L⁻¹; 在 TX-405 溶液中, 在甲苯溶液中能够检测到大约 1.12 mg·L⁻¹ 的 C₆₀ 浓度; 而在非离子表面活性剂扩散的 TX-100 溶液中, C₆₀ 不能提取, 表明 C₆₀ 纳米晶体颗粒被非离子表面活性剂扩散后难以用常规液-液提取方法测定 C₆₀ 浓度, 表明在不同的表面活性剂中, C₆₀ 与表面活性剂结合程度不同.

综上所述, C₆₀ 在不同的表面活性剂溶液中呈现出不同的光化学反应活性特征既与表面活性剂的电性有关, 又与表面活性剂分子的结构有关. C₆₀ 纳米晶体颗粒表面带有负电荷, 在阳离子表面活性剂中, 由于电性相反易发生电性中和, 使 C₆₀ 聚沉; 在阴离子表面活性剂中, 电性相同发生排斥作用, C₆₀ 纳米晶体颗粒难以与阴离子表面活性剂发生相互作用; 而非离子表面活性剂不带电荷, 因而 C₆₀ 易分散在非离子表面活性剂中, 但非离子表面活性剂的疏水部分结构明显影响其对 C₆₀ 纳米晶体颗粒的分散程度. 如图 4 显示了本实验中所用的非离子表面活性剂 TX-100 和 TX-405 的分子结构. TX-405 与 TX-100 的区别在于在疏水端苯环上的烷基链长度不同. 本实验的结果表明, TX-100 能够最大程度扩散 C₆₀ 纳米晶体颗粒. 非离子表面活性剂对于 C₆₀ 纳米晶体颗粒光化学反应活性的诱导不但与疏水端芳香环有关, 而且与芳香环上的烷基链有关.

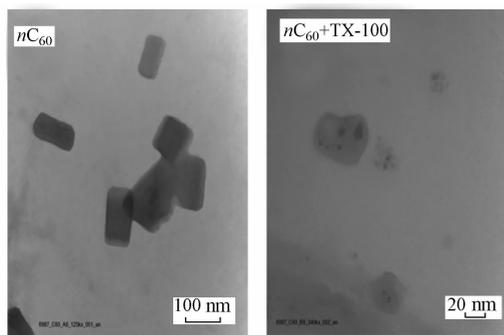
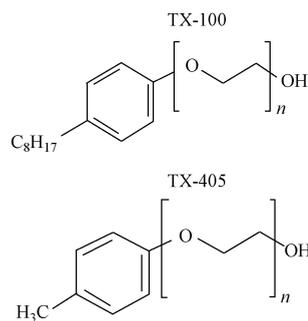
图 3 表面活性剂扩散的 C₆₀ 纳米晶体颗粒的 TEM 检测Fig. 3 TEM images of C₆₀ nanocrystallines and C₆₀ nanocrystallines dispersed in TX-100

图 4 TX-100 和 TX-405 的分子结构

Fig. 4 Molecular structure of TX-100 and TX-405

水介质中 C₆₀ 纳米晶体颗粒引起生物体细胞膜的脂质过氧化一直被认为是 C₆₀ 纳米晶体颗粒具有生物毒性的潜在原因之一, 但由于已有研究表明, C₆₀ 在水介质中形成聚集体后失去了光化学反应活性, 对于脂质过氧化的机制并不明确. 本实验研究的 TX-100 系列常被用作模型生物膜, 其对于 C₆₀ 纳米晶体颗粒的光化学反应诱导, 暗示了生物系统内的细胞膜结构有可能对光化学反应活性具有诱导作用, 产生活性氧自由基, 进而损害细胞膜结构. 而且, 计算机的模拟研究也表明, C₆₀ 纳米晶体颗粒能够迁移进入模型磷脂双分子层和脂质体囊泡内部, 并且在膜内部 C₆₀ 聚集体逐渐解聚^[25].

3 结论

水介质中 C₆₀ 纳米晶体颗粒在表面活性剂中扩散后,其光化学反应活性会发生变化,并且这种变化因表面活性剂种类不同而不同. 其中非离子表面活性剂 TX-100 能够明显改变 C₆₀ 纳米晶体颗粒的扩散状态,使其趋于形成更加均匀的体系,从而使其光化学反应活性发生极其明显的变化. 可见, C₆₀ 纳米晶体颗粒的光化学反应活性能够被诱导.

参 考 文 献

- [1] Tagmatarchis N, Shinohara H. Fullerenes in medical chemistry and their biological applications[J]. *Mini Reviews in Med Chem*, 2001, 1: 339-348
- [2] Cravino A, Sariciftci N S. Double-cable polymers for fullerene based organic optoelectronic applications[J]. *J Mater Chem*, 2002, 12: 1931-1943
- [3] Guldi D M, Martín N. Fullerenes: From synthesis to optoelectronic properties [M]. Dordrecht, The netherlands, Kluwer Academic Publisher, 2002
- [4] Ōsawa E. Perspectives of fullerene nanotechnology[M]. Berlin, Germany, Springer, 2002
- [5] Heymann D. Solubility of C₆₀ and C70 in seven normal alcohols and their deduced solubility in water[J]. *Fullerene Sci Technol*, 1996, 4: 509-515
- [6] Heymann D. Solubility of C₆₀ and C70 in water[J]. *Lunar Planet Sci*, 1996, 27: 543-544
- [7] Andrievsky G V, Kosevich M V, Vovk O M, et al. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes[J]. *J Chem Soc Chem Commun*, 1995, 12: 1281-1282
- [8] Fortner J D, Lyon D Y, Sayes C M, et al. C₆₀ in water: nanocrystal formation and microbial response[J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39: 4307-4316
- [9] Deguchi S, Mukai S-a, Tsudome M, et al. Facile generation of fullerene nanoparticles by hand-grinding[J]. *Adv Mater*, 2006, 18: 729-732
- [10] Duncan L K, Jinschek J R, Vikesland P J, et al. C₆₀ colloid formation in aqueous systems: effects of preparation method on size, structure, and surface charge[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 173-178
- [11] Hood E. Fullerenes and fish brains: nanomaterials cause oxidative stress[J]. *Environ Health Persp*, 2004, 112: A568
- [12] Sayes C M, Fortner J D, Guo W, et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes[J]. *Nano Letters*, 2004, 4(10): 1881-1887
- [13] Lyon D L, Adams L K, Falkner J C, et al. Antibacterial activity of fullerene water suspensions: effects of preparation method and particle size[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 4360-4366
- [14] Oberdörster E, Zhu S. Cotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C₆₀) on aquatic organisms[J]. *Carbon*, 2006, 44: 1112-1120
- [15] Oberdörster E, Zhu S Q, Haasch M L, et al. Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C₆₀) in two aquatic species, *Daphnia* and fathead minnow[J]. *Mar Environ Res*, 2006, 62: S5-S9
- [16] Zhu X S, Zhu L, Lang Y P, et al. Developmental toxicity in zebrafish (*Danio Rerio*) embryos after exposure to manufactured nanomaterials: buchminsterfullerene aggregates (nC₆₀) and fullerol[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2008, 26: 976-979
- [17] Nakanishi I, Fukuzumi S, Konishi T, et al. DNA cleavage via superoxide anion formed in photoinduced electron transfer from NADH to γ -cyclodextrin-bicapped C₆₀ in an oxygen-saturated aqueous solution[J]. *J Phys Chem*, 2002, 106: 2372-2380
- [18] Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (Fullerenes, C₆₀) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass[J]. *Environ. Health Persp*, 2004, 112(10): 1058-1062
- [19] Sayes C M, Gobin A M, Ausman K D, et al. Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation[J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 7587
- [20] Markovic Z, Todorovic-Markovic B, Kleut D, et al. The mechanism of cell-damaging reactive oxygen generation by colloidal fullerenes[J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 5437-5448
- [21] Abogast J W, Darmanyan A P, Foote C S, et al. Photophysical properties of C₆₀[J]. *J Phys Chem-US*, 1991, 95: 11-12
- [22] Lee J, Fortner J D, Hughes J B, et al. Photochemical production of reactive oxygen species by C₆₀ in the aqueous phase during UV irradiation[J]. *Environ Sci Technol*, 2007, 41: 2529-2535
- [23] Yamakoshi Y, Sueyoshi S, Fukuhara K, et al. $\cdot\text{OH}$ and $\text{O}_2^{\cdot-}$ generation in aqueous C₆₀ and C₇₀ solution by photoirradiation: An EPR study[J]. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 12363-12363
- [24] Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, et al. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C₆₀) as potential medicines: $\text{O}_2^{\cdot-}$ versus O_2^1 [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 12803-12809

- [25] Wong-Ekkabut J, Baoukina S, Trimpa W, et al. Computer simulation study of fullerene translocation through lipid membranes[J]. *Nat Nanotechnol*, 2008, 3: 363-368

EFFECT OF C₆₀ NANOCRYSTALLINE DISPERSION ON ITS PHOTOCHEMICAL PROPERTIES

*NI Ming*¹ *ZHANG Bo*¹ *HE Yiliang*¹ *KIM Jaekong*² *HUGHES Joeseeph B*²

(1. Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200240, China; 2. School of Civil and Environmental Engineering,
Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332, United States)

ABSTRACT

Work presented here evaluated the effect of dispersion of C₆₀ nano-particles on its photochemical reactivity in different types of surfactants including anion, cation and non-ion surfactants. The results indicate that C₆₀ did not show any significant photochemical reactivity in the cation surfactant CTAB, anion surfactant SDS, and non-ionic surfactant TX-405 solution, while non-ionic surfactant TX-100 induced C₆₀ nano-particle dispersion, and restored its molecular photochemical reactivity. Analyses by UV-vis, DLS, and TEM suggest that C₆₀ transformed from aggregated form to molecule form in TX-100, with a decreased hydrodynamic diameter.

Keywords: dispersion status, C₆₀ nanocrystallines, photochemical properties.