

唐亚丽, 张 恩. 粉红贝贝壳的结构特征及其颜色[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(24): 156–161.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.24.041

粉红贝贝壳的结构特征及其颜色

唐亚丽^{1,2}, 张 恩¹

(1. 中山大学地球科学与地质工程学院, 广东广州 510275; 2. 广州番禺职业技术学院, 广东广州 511438)

摘要:采用 X 射线衍射(X-ray diffraction, 简称 XRD)、电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, 简称 ICP-MS)、扫描电子显微镜(scanning electron microscope, 简称 SEM)对粉红贝贝壳的化学成分、结构特征进行研究。探讨珍珠层的成色机制, 结果表明, 粉红贝贝壳无机相由 95.67% 的文石和 4.33% 的方解石组成; 粉红贝贝壳在珍珠质层中的文石为圆角六边形, 呈堆垛式排列, 在棱柱层单个棒柱结构中的文石以假六边形薄片形式呈叠瓦状排列; 粉红贝贝壳内表面珍珠质层的文石厚度越靠近棱柱层越薄; 内表面珍珠质层可以分为核心区与过渡区, 核心区为螺旋生长结构, 过渡区为堆垛结构; 粉红贝贝壳的珍珠层具有一维光子晶体的结构特点, 结构与色素共同作用使其产生独特的颜色和晕彩。

关键词:贝壳; 粉红贝; 化学组成; 晕彩; 微结构; 生物矿化; 仿生学

中图分类号: S985.3+9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)24-0156-05

双壳纲贝壳因具有优异的力学性、良好的生物相容性而成为仿生学与生物材料研究的热点之一。贝壳的主要成分有无机的碳酸钙晶体(95% 以上)以及少量蛋白质(可溶性蛋白和不可溶性蛋白)、几丁质等有机质成分^[1-3]。目前关于贝壳结构的研究主要集中在贝壳的结构形貌、生物矿化机制、力学性能以及仿生应用^[4-8]等领域。双壳纲贝类的经济价值大多体现在可食用和可育珠方面, 而占贝类总体质量超过 60% 的贝壳在食用以及育珠后, 大多因被遗弃而成为固体废料。而双壳纲目下粉红贝的主要经济价值集中体现在其贝壳上。粉红贝贝壳独特的粉色使其被应用于建筑、首饰、装饰等行业, 粉红贝的附加价值因此得到大幅度提高。

粉红贝属双壳纲蚌科, 贝壳呈耳状, 壳表黑色, 壳内通体粉色, 贝壳内表面的珍珠质层光泽为蓝绿色, 外表面生长线细密。粉红贝目前被广泛应用于建筑、装饰、饰品等领域。已有关于蚌科贝壳方面的研究, 较多关注于三角帆蚌^[7-9]、褶纹冠蚌^[10]、池蝶蚌^[11]的化学成分、矿物组成、组织结构、育珠性能等, 且取得了一系列成果, 但对粉红贝的相关研究着重于生态学、生物习性等方面^[12], 对其贝壳的成分、结构、成色机制等方面的研究比较薄弱。因此对粉红贝进行系统研究十分必要。

采用 X-射线衍射分析(X-ray diffraction, 简称 XRD)、电感耦合等离子体质谱(Inductively coupled plasma mass spectrometry, 简称 ICP-MS)、扫描电子显微镜(scanning electron microscope, 简称 SEM)、傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectrometry, 简称 FTIR)等方法对粉红贝贝壳的微成分、微结构以及光谱特征进行研究, 并结合有关蚌类

套膜与珍珠囊分泌机制的相关研究^[13-16], 进一步分析蚌壳结构特征的成因, 从而更好地拓展粉红贝在相关领域的应用和研究的深化。

1 样品与方法

1.1 贝壳样品

样品来自密西西比河流域, 粉红贝去除软组织, 获取其贝壳(图 1), 贝壳内侧如图 1-a 所示, 外侧如图 1-b 所示, 断口宏观结构如图 1-c 所示。贝壳样品用去离子水清洗干净后晾干备用。从边缘到中心分割为 A、B、C 等 3 个区域(图 1-b), 取相应区域的相应块体样品进行 SEM 观察及能量散射 X 射线谱(energy dispersive X-ray spectroscopy, 简称 EDX)分析。为分析角质层对微量元素试验结果的影响, 把样品分为 FH、YFH 等 2 组, 分别研磨为 200 目细粉。FH 组为无角质层样品, YFH 组为有角质层样品。分别对 YFH、FH 等 2 组样品粉末进行 FTIR、XRD 和 ICP-MS 分析。

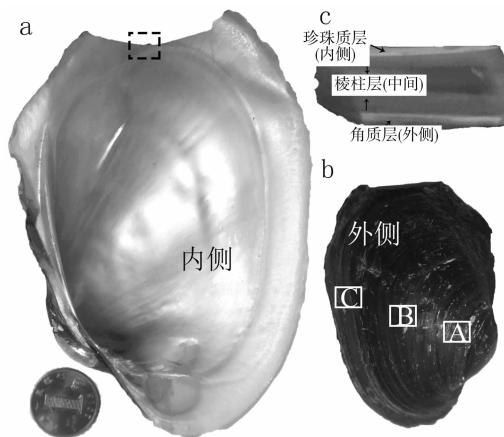


图1 粉红贝贝壳内表面和外表面结构

1.2 扫描电镜(SEM)

样品喷金测试。场发射环境扫描电镜为荷兰 FEL/

收稿日期: 2016-07-04

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 41273054)。

作者简介: 唐亚丽(1992—), 女, 新疆巴州人, 硕士研究生, 主要从事宝石矿物学研究。E-mail: ty10107@126.com。

通信作者: 张 恩, 博士, 副教授, 主要从事矿物材料科学与宝石学研究。E-mail: eeszen@mail.sysu.edu.cn。

OxFORD/HKL 公司 Quanta400F 型, 电镜分辨率为 2 nm, 放大倍数为 7~1 000 000, 能谱测试元素范围为³B-⁹²U, 电压为 20 kV, 同时进行 EDX 分析。

1.3 傅里叶红外光谱 (FTIR)

取 FH、YFH 样品粉末和 KBr 粉末按约 1:100 质量比在玛瑙研钵中研磨混合均匀, 之后采用透射模式测量 FH、YFH 的透射红外光谱; 分析测试仪器为美国 Thermo Scientific 公司生产的 Nicolet6700 型傅里叶变换红外光谱仪, 分辨率优于 0.09 cm⁻¹, 波数范围为 4 000~400 cm⁻¹; 溴化钾压片测试。

1.4 X 射线粉晶衍射 (XRD) 分析

测试仪器为荷兰帕纳科公司生产的 Empyrean 锐影 X 射线衍射仪, 铜靶 (Cu K α); 石墨片单色滤波; 管压为 35 kV; 管流为 35 mA; 硅粉校正; 扫描范围为 3°~90°; 功率为 3 kW; 测角精度为 $\pm 0.0001^\circ$, 灵敏度为 3%~5%; 扫描速度为 2°/min。

1.5 电感耦合等离子体质谱 ICP-MS 分析

取 FH、YFH 样品粉末, 用盐酸溶解、稀释后待用; 分析仪器为美国 PEELan6000 型 ICP-MS 质谱仪。功率为 1 175 W, 雾化气氩气流速为 0.83 L/min; 等离子体氩气流速为 15 L/min; 辅助氩气流速为 1.2 L/min; 透镜电压为自动聚焦; 质谱扫描方式为峰跳, 每个质量积分时间为 100 ms。

2 结果与分析

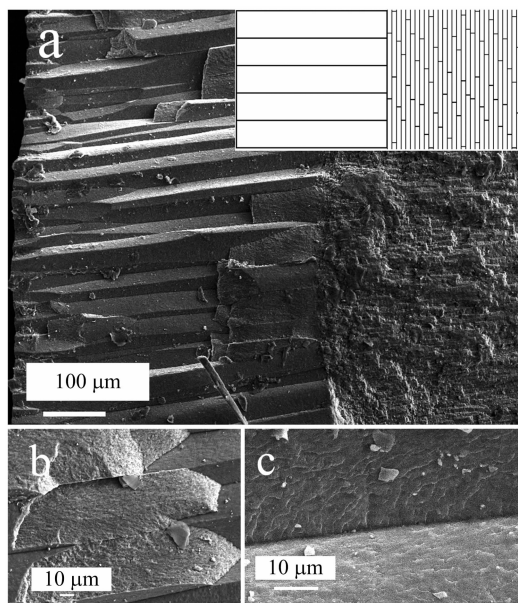
2.1 粉红贝壳微结构特征

粉红贝壳由外至内分别是角质层、棱柱层、珍珠质层。其中角质层成分主要是硬化角蛋白, 厚度较薄。棱柱层主要为文石, 厚度较厚。珍珠质层由文石小板片组成, 厚度较薄。贝壳中的文石在不同位置有各种不同的形状、尺寸和排列方式。在珍珠质层中的文石为圆角六边形, 呈堆垛式排列, 可见螺旋生长结构。在组成棱柱层单个棒柱中的文石板片以假六边形薄片状呈叠瓦状堆积。棱柱层中的棒柱垂直于内表面的珍珠层。

扫描电镜下粉红贝壳断面结构如图 2 所示, 图 2 来自图 1-b 中 C 区域的自然断裂切面。图 2 中存在 2 种不同的矿化区域, 左侧的棱柱层由规则的棒柱组成, 右侧的珍珠质层由文石板片组成, 组成棱柱的棒柱垂直于珍珠质层文石板片, 结构特征如图 2-a 右上所示。这种结构与皱纹冠蚌^[10]以及池螺蚌^[11]的结构特征类似。对图 2 中单个棒柱进一步观察发现, 断面呈参差状 (图 2-b), 单个棒柱也是由文石微片垂直于棱柱长轴方向堆积而成的, 但各个文石微片的生长方向略有不同, 呈不规则螺旋层状结构 (图 2-c)。

珍珠质层文石呈堆垛结构, 由整齐堆叠的文石板片构成 (图 3-a 右上)。单片文石厚度 1.5 μm (图 3-b), 棱柱层与珍珠质层的过渡层间隔约 2 μm (图 3-c)。仔细观察珍珠质层中的文石板片发现, 这些文石板片并不完全一致, 文石板片的厚度是变化的, 越靠近柱状结构的位置文石板片厚度越薄。

珍珠质层结构成色机制主要分为薄膜干涉^[17]、光栅衍射^[18-19]及其联合作用^[20]。前人对鲍鱼贝壳具有一维光子带隙结构特性的研究^[21], 为珍珠质层结构成色研究提供了一种新方法。据前人研究, 板片厚度会影响珍珠质层的折射率, 折射率与晶格常数共同影响珍珠层表面的反射波长, 文石板片



a—纵切面文石板片结构特征; b—单个棱柱内的次级结构单元; c—棱柱的参差状断口。下图同

图2 粉红贝壳断面结构特征

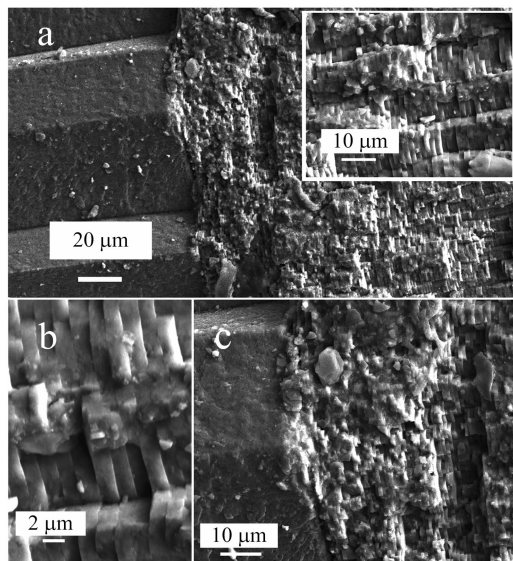


图3 珍珠质层的文石结构特征

厚度减小会导致同一级反射峰波长呈现蓝移现象^[22]。在电镜下观察文石板片的厚度从生长区到中心区逐渐减小, 这导致粉红贝壳边缘出现明显的蓝绿色晕彩, 与以往理论结果^[22]一致。

在贝壳内表面的中心大量的六边形文石板片整齐排列, 具有典型的螺旋生长结构 (图 4)。该结构来自图 1-b 中的 B 区域内表面。单个文石板片呈假六边形, 表面平滑, 中心可见暗点 (图 4 右上), 中心厚度略低于边缘, 产生了暗点。单个文石板片直径约为 1 μm 。沿轴心向外呈螺旋线状生长, 板片逐渐变大。层间距为 10 μm 左右, 每层螺旋线边缘文石呈游离态。

从内表面中心到边缘的过渡区生长层表面愈发不平整, 出现了空洞, 呈现出典型的堆垛状结构 (图 5), 该结构来自图 1-b 中的 A 区域内表面。单个垛表面平滑, 底部略粗糙, 呈

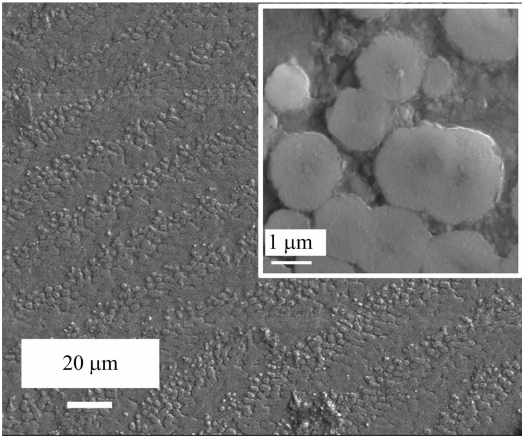


图4 螺旋生长结构

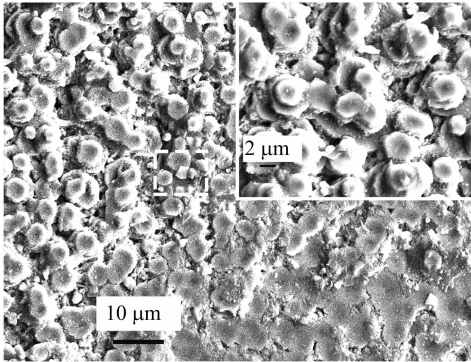


图5 过渡区凹陷和堆垛状结构

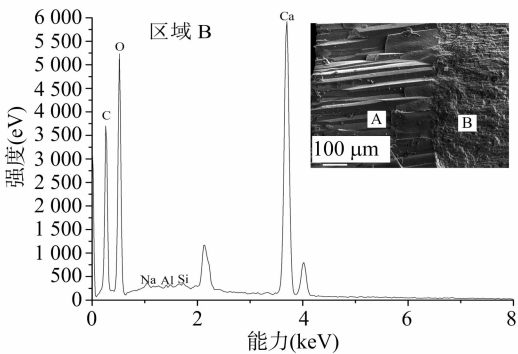
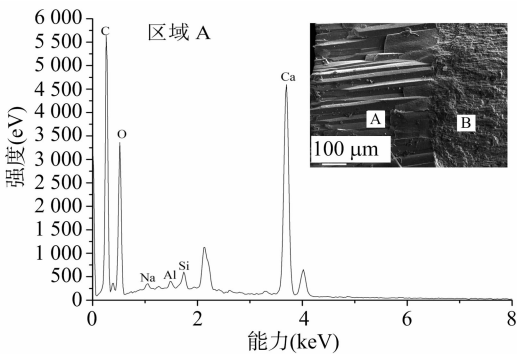


图6 EDX 分析区域

表 1 粉红贝棱柱层与珍珠层元素分析结果

结构	质量百分比 (%)							总量
	C	O	Na	Al	Si	Ca	Fe	
棱柱层	39.31	35.49	0.34	0.33	0.71	23.82	0.00	100
珍珠层	24.52	46.31	0.29	0.05	0.11	28.57	0.15	100

2.2 粉红贝贝壳各层的 FTIR 光谱特征

从粉红贝贝壳内表面分别刮取各层粉末样品经 FTIR 分析,结果如图 7、图 8 所示。根据 Dauphin 等的描述,自由 CO₃²⁻ 离子的构型为平面正三角形,有 4 个振动模式:对称伸缩振动 ν₁ (1 082 cm⁻¹)、二重简并的反对称伸缩振动 ν₃ (1 142 cm⁻¹)、面外弯曲振动 ν₂ (854 cm⁻¹) 和二重简并面内弯曲振动 ν₄ (714,699 cm⁻¹)。但在文石结构中 CO₃²⁻ 离子的位置对称性降低,ν₃、ν₄ 等 2 个二重简并模式均发生分裂,所以文石晶体中的 CO₃²⁻ 基团共有 6 个内振动模式,且均为红

品字形堆垛。直径约 3 μm,高约 10 μm,组成堆的文石呈圆角六边形,单个长 1.5 μm,宽 1 μm,厚度约为 0.5 μm。

贝壳内表面的微结构在核心区和生长区有明显差异。核心区域结构为明显的螺旋生长型,而生长端的结构为堆垛型。从内表面核心区到生长端,贝壳表面的微结构由层状向直接堆垛转变,对应的机械性质由增加向降低转变^[23]。

珍珠质层螺旋生长结构,可能从微尺度碳酸钙微晶体开始,蜷线状层层叠覆成中尺度文石微片,然后文石微片呈螺旋状群集。贝壳的结构形态与贝类的生长发育以及所处的水域环境密切相关^[14]。温度、pH 值、养料、周围生物活动的变化均会影响粉红贝的正常代谢。研究表明,矿化微环境受到动物体外环境的影响,当体外环境温度较高时,珍珠质的矿化速度也较快,导致体液中钙离子含量降低,pH 值增大,体液中矿物相的含量下降,进而导致珍珠质的矿化出现异常;而 pH 值的降低,也可能影响有机质的分泌^[24]。在上述 2 个因素的共同影响下,导致上述结构的出现。为了解棱柱层与珍珠质层化学组成的差异,对其分别进行 EDX 分析,分析区域如图 6 所示,结果如表 1 所示。

棱柱层和珍珠质层的化学元素种类大体相同,但元素含量略有差异。棱柱层的碳(C)含量比珍珠质层高 14.79 百分点,硅(Si)含量比珍珠质层高 0.60 百分点,铝(Al)含量比珍珠质层高 0.28 百分点,钠(Na)含量比珍珠质层略高 0.05 百分点。而珍珠质层的氧(O)含量比棱柱层高 10.82 百分点,钙(Ca)含量比棱柱层高 4.75 百分点。尤为明显的是珍珠质层中含铁(Fe),棱柱层中不含铁。可见,粉红贝贝壳的粉色很可能与珍珠质层中的铁有关^[24-28]。

外活性^[29-30]。红外光谱的吸收峰分为 3 部分,即文石的吸收峰、C-H 和 -OH 有机物的振动吸收峰、水的吸收峰。

粉红贝 FH 和 YFH 的 FTIR 光谱大体类似,碳酸钙晶体的特征峰明显。与文石的标准红外图谱对比发现,粉红贝贝壳珍珠层的 ν₁ (1 083.815 cm⁻¹) 单带,强度较弱但峰形尖锐。ν_{4a} 带弱至中等强度,峰形非常尖锐,为 713.54 cm⁻¹,较标准文石发生红移。分裂峰 ν_{4b} 698 cm⁻¹ 较不明显。ν₂ 带为较强而非常尖锐的单带,在 860.11 cm⁻¹,较标准文石发生红移。ν₂ 是生物成因文石的显著特征,通过对软体动物、腔肠动物及海绵动物部分种类文石骨骼的红外光谱研究发现,文石 ν₂ 带(约 860 cm⁻¹)的频率越高,其微量元素镁和锶的含量越低^[30],频率的最大位移可以达到 7 cm⁻¹,但其他内振动模式的频率与镁、锶的含量无关。生物成因的文石具有明显的各向异性品格畸变现象^[31]。生物成因文石是由纳米颗粒组装

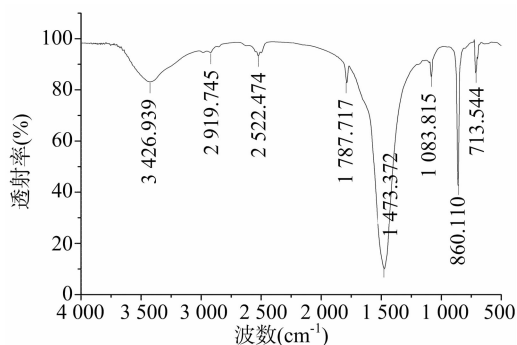


图7 粉红贝 FH 的透射红外光谱

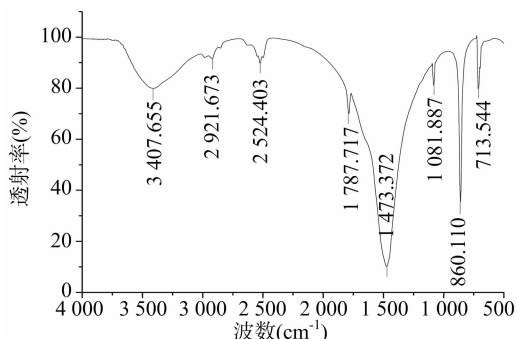


图8 粉红贝 YFH 的透射红外光谱

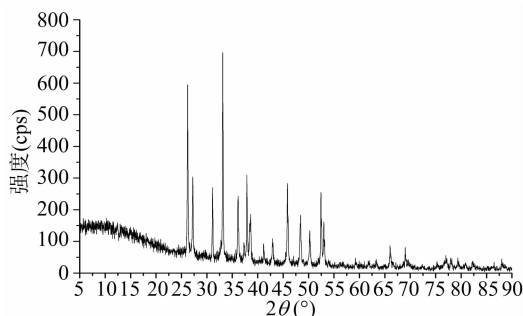


图9 粉红贝 FH 的 X 射线衍射图谱

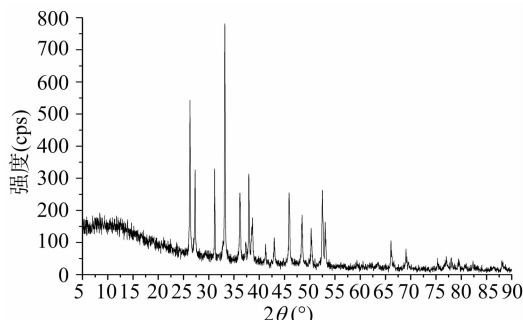


图10 粉红贝 YFH 的 X 射线衍射图谱

的有机-无机复合材料,大多是经非晶质碳酸钙相变而成,其结晶度与无机成因文石相比较低^[32],可能是造成生物成因文石谱带频移的重要因素。 ν_3 带为极强而宽缓的带,并分裂为 2 个带。 ν_{3a} 弱而尖锐,在 1787.717 cm^{-1} 处是 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动。 ν_{3b} 带强而宽缓,为 1473.372 cm^{-1} 。 ν_{3a} 较标准文石发生蓝移,而 ν_{3b} 则较标准文石发生红移。 3426.939 cm^{-1} 处出现吸收峰,该区域代表 $\text{N}-\text{H}$ 伸缩振动,属于酰胺二带的振动频率范围,表明粉红贝贝壳中含有少量蛋白质成分。样品 FH 在 2522.47 、 2919.75 cm^{-1} 处出现明显吸收峰;YFH 在 2524.40 、 2921.67 cm^{-1} 处出现明显吸收峰,推测为少量几丁质成分造成的特征吸收峰^[5]。

2.4 粉红贝各层粉末样品的 XRD 分析

粉红贝贝壳经 XRD 粉晶分析,结果如图 9、图 10 所示。粉红贝贝壳 FH 和 YFH 的 XRD 衍射图谱近乎一致,角质层并未对峰型产生明显影响。峰形尖锐表明其结晶度良好。两者谱图类似,均在 (002)、(012)、(004)、(014) 等晶面出现与标准文石碳酸钙晶体 (PDF#41-1475) 基本吻合的特征衍射峰,表明粉红贝贝壳中的碳酸钙晶体具有文石晶型。

贝壳珍珠层的结构组成与矿物类相似,主要为文石 $d(111)=3.396\text{ Å}$ 、 $d(021)=3.273\text{ Å}$ 、 $d(012)=2.700\text{ Å}$,含有少数方解石 $d(012)=3.86\text{ Å}$ 、 $d(104)=3.035\text{ Å}$ 、 $d(113)=2.285\text{ Å}$,总体上与马红艳的分析结果^[33]一致。

与文石(人造)的标准衍射数据相比,粉红贝贝壳中文石相应的晶面族间距 d 值多数变大。尽管晶体的 X 射线衍射强度受多因素影响,通过对比样品的衍射谱图发现,粉红贝与标准文石相比缺少 (004)、(014) 等衍射线。

当所得产品为方解石和文石两者组成的混合物时,贝壳粉的 XRD 图谱,A 表示文石,C 表示方解石。由 XRD 计算各种晶型比例的方法^[34]。

$$X_A = \frac{3.157I_A^{221}}{I_C^{104} + 3.157I_C^{104}}; \quad (1)$$

$$X_C = 1 - X_A. \quad (2)$$

式中: X_A 、 X_C 分别表示文石、方解石在混合物中的摩尔分量。 I_A^{221} 、 I_C^{104} 分别表示文石 (221) 衍射峰的特征峰强度、方解石 (104) 衍射峰的特征峰强度。

根据式 (1)、式 (2) 计算得出粉红贝贝壳无机相由 95.67% 的文石和 4.33% 的方解石组成。

2.5 ICP-MS 分析

除常量元素外,粉红贝的贝壳中还含有多种微量元素,其中锶 (Sr)、铬 (Cr)、钡 (Ba)、钛 (Ti)、镍 (Ni)、锰 (Mn)、锌 (Zn)、钴 (Co)、铜 (Cu)、铷 (Rb) 以及铈 (Ce) 元素的含量较高 (表 2)。而锶 (Sr)、锰 (Mn)、锌 (Zn)、铜 (Cu) 等元素则在医药、食品领域具有较好的应用^[35-36]。

珍珠质颜色主要由遗传决定,与金属元素、金属卟啉、类胡萝卜素等因素有关^[22],主要致色物质金属卟啉包括铜卟啉、铁卟啉、镁卟啉、锌卟啉、锰卟啉等。已有研究表明,红色系列珍珠的颜色则是由铁卟啉和镁卟啉引起^[26],淡水粉色珍珠的颜色与 Mg、Fe 有关^[27]。钛 (Ti) 和钒 (V) 元素对橙红色的形成有较大的影响^[28]。根据 ICP-MS 的分析结果可以推测,粉红贝贝壳独特的粉色可能与铁、锌、锰、钛有关。

3 结论

粉红贝贝壳珍珠质层为砖墙型结构,棱柱层为棒柱状结构。这种结构赋予了贝壳连接界面更强的抗拉伸力和连接强度。这种棱柱层、珍珠质层的连接方式与三角帆蚌^[9]、褶纹冠蚌^[10]以及池螺蚌^[11]的结构特征类似,表明三者在贝壳形成过程中的生物矿化机制有相似之处,存在较近的亲缘关系。构成珍珠质层的文石结构在核心区 and 生长区结构有明显差异,核心区具有明显的螺旋生长结构,而生长端的结构则为堆

表 2 粉红贝的 ICP-MS 分析结果

样品	元素含量(mg/kg)															
	Ba	Ce	Co	Cr	Cu	Dy	Er	La	Mn	Ni	Rb	Sr	Ti	Y	Yb	Zn
FH	31.930	0.132	1.413	97.66	1.178	0.012	0.006	0.075	8.594	13.010	0.541	106.400	11.420	0.069	0.008	3.666
YFH	32.500	0.067	1.355	77.60	2.059	0.007	0.005	0.037	127.800	12.620	0.145	128.100	5.874	0.051	0.007	7.605

垛型。内表面核心区结构上无规则文石单片向层状结构的过渡,对应的机械性质由快速增加向相对缓慢增加的转变;内表面中心到边缘的生长期区内结构上由层状向直接堆垛转变,对应的机械性质由增加向降低转变。内表面不同结构的出现可能与粉红贝壳生长过程中分泌有机质的调控作用、外部环境等有密切关系。

粉红贝壳 XRD 分析结果证明,各层微结构的碳酸钙晶体构型为文石型,无机相由 95.67% 的文石和 4.33% 的方解石组成。ICP-MS 分析结果表明,粉红贝的贝壳中含有 Sr、Cr、Ba、Ti、Ni、Mn、Zn、Co、Cu、Rb、Ce 等元素;粉红贝壳独特的粉色可能与铁、锌、锰、钛有关。角质层中的锰元素可能是其表面为黑色的重要因素。

EDX 分析结果表明,Fe 元素仅存在于珍珠质层中,棱柱层中不含铁,粉红贝壳独特的粉色色体很可能与铁元素有关。珍珠质层中文石板片与蛋白质周期排列构成一维光子晶体带隙结构,这种结构和蛋白质的共同作用导致了珍珠质层呈蓝绿色调晕彩。

参考文献:

[1] Lee S W, Jang Y N, Ryu K W, et al. Mechanical characteristics and morphological effect of complex crossed structure in biomaterials: fracture mechanics and microstructure of chalky layer in oyster shell [J]. Micron, 2011, 42(1): 60-70.

[2] Weiner S, Traub W. X-ray diffraction study of the insoluble organic matrix of mollusk shells [J]. FEBS Letters, 1980, 111(2): 311-316.

[3] Currey J D. The design of mineralised hard tissues for their mechanical functions [J]. Journal of Experimental Biology, 1999, 202(23): 3285-3294.

[4] 陈道海, 孙世春. 9 种石鳖壳板的形态研究 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(6): 53-60.

[5] 马玉菲, 乔莉, 冯庆玲. 淡水珍珠的生物矿化机理研究进展 [J]. 无机材料学报, 2012, 28(1): 109-116.

[6] 李凤敏. 贝壳材料的结构特征和力学性能分析 [D]. 大连: 大连理工大学, 2005.

[7] 谢雷, 王小祥, 郇剑. 三角帆蚌珍珠质层结构和珍珠质涂层的研究 [J]. 无机材料学报, 2008, 23(3): 617-620.

[8] 白秀琴, 袁成清, 严新平, 等. 基于贝壳表面形貌仿生的船舶绿色防污研究 [J]. 武汉理工大学学报, 2011, 33(1): 75-78.

[9] 严俊, 方飏, 张姗姗, 等. 双壳纲三角帆蚌贝壳的三维微结构及其化学组成研究 [J]. 材料导报, 2013, 27(16): 108-112.

[10] 严俊, 张刚生. 皱纹冠蚌贝壳结构特征及其珍珠层呈色机制研究 [J]. 安庆师范学院学报(自然科学版), 2011, 17(3): 83-85.

[11] 罗琴凤, 元利剑, 尹作为. 池螺蚌贝壳及其珍珠的微结构表征 [J]. 宝石和宝石学杂志, 2008, 10(2): 17-20.

[12] Marwoto R M, Isnainingsih N R. Study on the freshwater mollusc

diversity of the small lakes along Ciliwung and Cisadane rivers [J]. Berita Biologi, 2014, 13(2): 181-189.

[13] 刘小明. 河蚌外套膜新结构及分泌物初步研究 [J]. 水生生物学报, 1989, 13(3): 294-296, 302.

[14] 刘小明. 淡水贝类贝壳多层构造形成研究 [J]. 动物学报, 1994, 40(3): 221-225.

[15] 石安静, 张矛, 吴中文, 等. 三角帆蚌珍珠囊形成的研究 [J]. 水产学报, 1985, 9(3): 247-253.

[16] 胡曦漩, 石安静. 珍珠囊研究概况 [J]. 水生生物学报, 1994, 18(1): 76-81.

[17] Brink D J, van der Berg N G, Botha A J. Iridescent colors on seashells: an optical and structural investigation of helcion pruinosus [J]. Applied Optics, 2002, 41(4): 717-722.

[18] Towe K M, Harper C W. Pholidostrophiid brachiopods: origin of the nacreous luster [J]. Science, 1966, 154(3745): 153-155.

[19] Liu Y, Shigley J E, Hurwit K N. Iridescence color of a shell of the mollusk *Pinctada margaritifera* caused by diffraction [J]. Optics Express, 1999, 4(5): 177-182.

[20] Tan T L, Wong D, Lee P. Iridescence of a shell of mollusk *Haliothis Glabra* [J]. Optics Express, 2004, 12(20): 4847-4854.

[21] Li B, Zhou J, Li L T, et al. One-dimensional photonic bandgap structure in abalone shell [J]. Chinese Science Bulletin, 2005, 50(14): 1529-1531.

[22] Zhang W G, Zhang G S. Dynamic structural color from the one-dimensional photonic structure in the nacre of Pteria Penguin [J]. Optik-International Journal for Light and Electron Optics, 2016, 127(18): 7162-7166.

[23] 王建锋. 受贝壳启发的层状纳米复合材料的制备及性能研究 [D]. 北京: 北京航空航天大学, 2013.

[24] Weiner S, Lowenstam H. Organization of extracellularly mineralized tissues: a comparative study of biological crystal growth [J]. Critical Reviews in Biochemistry, 1986, 20(4): 365-408.

[25] 张根芳, 叶容晖, 方爱萍. 珍珠颜色和贝壳珍珠层颜色研究进展 [J]. 动物学杂志, 2014, 49(1): 137-144.

[26] 何雪梅, 吕林素, 张蕴韬. 珍珠中的金属卟啉及其致色机理探讨 [J]. 矿物岩石地球化学通报, 2007, 26(增刊1): 96-98.

[27] 杨明月, 郭守国, 史凌云, 等. 淡水养殖珍珠的化学成分与呈色机理研究 [J]. 宝石和宝石学杂志, 2004, 6(2): 10-13.

[28] 刘娟花, 马孝甜, 苗东亮, 等. 珍珠致色因素研究概况 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(1): 289-292.

[29] Dauphin Y. Infrared spectra and elemental composition in recent biogenic calcites: relationships between the ν_4 band wavelength and Sr and Mg concentrations [J]. Applied Spectroscopy, 1999, 53(2): 184-190.

[30] Dauphin Y. Infrared spectra and elemental composition in recent carbonate skeletons: relationships between the ν_2 band wavenumber and Sr and Mg concentrations [J]. Applied Spectroscopy, 1997, 51(2): 253-258.

王元琮,何 冰. 过氧化氢对小球藻干质量和油脂含量的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(24):161-164.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.24.042

过氧化氢对小球藻干质量和油脂含量的影响

王元琮,何 冰

(江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所,江苏南京 210014)

摘要:以小球藻(*Chlorella sorokiniana*) LS-2 作为研究材料,用不同浓度过氧化氢(H_2O_2)进行处理。结果表明,所有处理均会抑制 LS-2 的生长。当 H_2O_2 浓度较低时,对干质量并没有明显影响,只有当 H_2O_2 浓度达到 1.5 mmol/L 时,LS-2 的最大干质量才会显著降低,1.5、2.0 mmol/L H_2O_2 处理的 LS-2 最大干质量分别下降了 9.6%、17.3%。 H_2O_2 处理对 LS-2 的油脂总量影响不显著,但是当 H_2O_2 浓度达到 2.0 mmol/L 时,藻细胞的油脂含量显著增加,上升了 28.6%。实时荧光定量 PCR 结果显示,尽管 2 mmol/L H_2O_2 处理使得 *Rubisco* 转录发生上调,但是其下游参与卡尔文循环的基因 *PKa*、*ALDO* 的转录水平均下降了 50%,说明卡尔文循环受到抑制。参与油脂合成通路的基因 *ACCase* 变化不显著,其下游的 *ACPa*、*ACPb* 的转录水平是对照的 2 倍,暗示油脂合成途径获得了增强。在糖酵解通路中,*ENL* 上调显著,但其下游的 *PKa*、*PKb* 转录水平的变化不明显,说明糖酵解途径没有受到抑制。由基因表达数据可知,当微藻处于胁迫环境中时,能够将用于生长的能量转化用于合成油脂并存储起来。

关键词:小球藻;过氧化氢;干质量;油脂

中图分类号: S188 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)24-0161-04

利用微藻生产生物能源越来越受到人们的重视。微藻是一种可以高效利用光能和二氧化碳合成油脂的单一细胞或简单多细胞微生物,具有适应性强、生长快速、产油量高等特点。与植物类似,微藻可以通过光合作用将太阳能转化为化学能并以糖、蛋白和油脂的形式存储起来^[1]。一般认为,当微藻处于逆境胁迫条件下,会限制自身的生长,同时提高自身的油含量,以更好地帮助自己适应环境^[2]。

当植物处于逆境中时,体内会积累活性氧。微量的活性氧具有信号分子的作用,可以调节植物产生相应的反应,应对环境中的胁迫。但是当活性氧的积累量过多时,就会对植物产生伤害。过氧化氢(H_2O_2)是活性氧的一种,一般情况下在细胞中通过光呼吸形成。过氧化氢的过多积累会导致氧化性损伤,进而破坏细胞的新陈代谢和完整性,最终造成细胞死亡^[3-4]。最近有研究表明,用微量 H_2O_2 处理海藻会促进其生长,高浓度的 H_2O_2 则会抑制微藻的生长^[5-6]。也有研究认

为, H_2O_2 处理小球藻(*Chlorella vulgaris*)虽然可以显著抑制其生长,但同时也能够显著提高其油含量,当 H_2O_2 浓度达到 4 mmol/L 时,总油脂产量会有显著提高,更高浓度的 H_2O_2 则会完全杀死藻细胞^[7-9]。一般认为, H_2O_2 对微藻的毒性主要是因为 H_2O_2 在微藻细胞内可以转化为活性极高的羟基自由基($\cdot OH$),进而损伤细胞膜、蛋白质以及 DNA^[10-11],在高浓度 H_2O_2 胁迫下,微藻会主动抑制结构物质的合成,降低生长速率,转而把更多的能量以油脂的形式存储起来^[12-13]。尽管关于活性氧对于微藻的生长、油脂积累的影响已经有不少研究,但是关于外源 H_2O_2 处理对微藻基因表达的影响至今仍然缺乏相关报道。为了进一步分析活性氧对微藻干质量和油脂积累影响的分子机制,笔者以前一段时间报道的小球藻藻种 *Chlorella sorokiniana* LS-2(以下简称 LS-2)作为研究材料^[14],用不同浓度 H_2O_2 进行处理,并检测 LS-2 的生长量、产油量以及相关基因的表达变化,以期解析小球藻响应外源 H_2O_2 的分子机制提供一定的线索。

1 材料与方法

1.1 试验藻种与试剂

本试验所用藻种为笔者所在实验室筛选出来的小球藻

收稿日期:2016-06-30

基金项目:国家自然科学基金(编号:31400248)。

作者简介:王元琮(1984—),男,江苏南京人,博士,助理研究员,主要从事活性小分子的筛选及其提高微藻产油量的机制研究。Tel:(025)84391352;E-mail:wangyuancong@163.com。

[31] Pokroy B, Quintana J P, Caspi E N, et al. Anisotropic lattice distortions in biogenic aragonite [J]. *Nature Materials*, 2004, 3 (12): 900-902.

[32] Weiner S, Levi-Kalishman Y, Raz S, et al. Biologically formed amorphous calcium carbonate [J]. *Connective Tissue Research*, 2003, 44(1): 214-218.

[33] 马红艳. 海水珍珠微结构棱柱层的新认识[J]. *矿物学报*, 2003, 23(3): 241-244.

[34] 何 朋,陈建新,苏 敏,等. 贝壳的化学成分及其结构特征[J]. *化工学报*, 2015, 66(增刊2): 450-454.

[35] 吴晴斋. 微量元素与人体健康[M]. 北京:人民卫生出版社,1989.

[36] Chang F, Li G C, Haws M, et al. Element concentrations in shell of *Pinctada margaritifera* from French Polynesia and evaluation for using as a food supplement[J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(3): 1171-1176.