

几种生物 CaCO_3 簿石结晶的取向性

蒋新农 李敬之 徐学红

(武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要: CaCO_3 结晶广泛分布于生物界, 其主要结晶形式为方解石、簾石及球簾石。用 X-射线衍射法对三角帆蚌及合浦珍珠母贝的珍珠层、墨鱼骨和大黄鱼耳石的 CaCO_3 结晶进行测定, 发现各样品均有一定取向性, 以三角帆蚌和合浦珍珠母贝珍珠层的取向性为最强, 墨鱼骨的取向性次之, 大黄鱼耳石的取向性最小, 以上材料粉末样的衍射分析表明, 各样品对应 d 值间差异极小, 均为 X 射线衍射卡(5-0453)所表征的 CaCO_3 簿石结构。

关键词: 珍珠层; 墨鱼; 耳石; CaCO_3 簿石; CaCO_3 方解石; CaCO_3 球簾石

中图分类号: 966.22¹ **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2001)02-0123-05

CaCO_3 结晶广泛分布于生物界, 从微生物如嗜盐菌^[1], 软体动物的贝壳^[2], 到脊椎动物如大黄鱼耳石^[3]中均有存在。 CaCO_3 的主要结晶形式为方解石(Calcite)、簾石(Aragonite)及球簾石(Vaterite), 方解石比簾石稳定。在有机体中十分常见, 球簾石因稳定性较差而在有机体中不多见。作者用 X-射线衍射分析法首次对三角帆蚌珍珠层、合浦珍珠母贝珍珠层、墨鱼骨和大黄鱼耳石的取向性进行了测定。结果表明, 各天然样均有一定取向性。以三角帆蚌珍珠和合浦珍珠母贝壳珍珠层的取向性为最强, 墨鱼骨的取向性次之, 大黄鱼耳石的取向性最小; 对粉末样的衍射分析表明, 各样之间对应 d 值差异极小, 均为 X 射线卡(5-0453)^[5]所表征的 CaCO_3 簿石结构。

1 材料与方法

1.1 材料 三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii* Lea)珍珠层: 三角帆蚌购自湖北省鄂州梁子湖, 取其贝壳, 清水洗净后, 于 3% NaOH 溶液中煮沸处理, 至几丁层及棱柱层溶解为止, 珍珠层不被碱解; 三角帆蚌珍珠层粉末 I: 同上经 3% NaOH 处理, 制备珍珠层, 研成粉末; 三角帆蚌粉末 II: 洗净贝壳后, 将珍珠层部分研成粉末(不经 3% NaOH 处理); 合浦珍珠母贝珍珠层: 合浦珍珠母贝由广西北海海洋研究所提供, 取其珍珠层部分; 合浦珍珠母贝(*Pinctada martensii* Dunker)珍珠层粉末: 北海珍珠公司海洋生物制药厂产品; 墨鱼骨: 取自市售冻存墨鱼; 墨鱼骨粉末: 市售墨鱼骨研成粉末; 大黄鱼耳石磨片: 大黄鱼耳石取

收稿日期: 1998-02-10; 修訂日期: 2000-04-03

基金项目: 国家青年科学基金; 武汉市科委晨光计划的部分资助。

作者简介: 蒋新农(1970—), 女, 汉族, 湖南省双牌县人; 硕士、讲师; 研究方向为动物细胞生物学。本文经武汉大学物理及电子信息学院唐承欢教授审阅, 特表感谢!

自市售冻存大黄鱼 [*Pseudosciaena Crocea* (Richard)], 剪开鱼鳃下部, 打开内耳骨化膜, 取出耳石, 流水冲洗, 室温干燥^[3], 磨平外侧; 大黄鱼耳石粉末: 同上法取出耳石, 研成粉末。

1.2 X-射线衍射分析 以上各样品在 D/MAX-rB 型旋转阳极 X-射线衍射仪上进行分析测定。CuK_α 辐射, 石墨单色器, 功率 40KV × 80mA, 狹缝 1°—1°—0.3mm, 室温 26°C, 扫描角度 10°—80°。天然样品上样方式如下: 三角帆蚌珍珠层、合浦珍珠母贝珍珠层的外套腔面、墨鱼骨的背面及大黄鱼耳石的磨制平面面对入光进行检测。

2 结果与讨论

从三角帆蚌珍珠层样(图 1A)、珍珠层粉末样 I (图 2A)及 II (图 2B)的 X-射线衍射图可以看出, 珍珠层的取向性强, 峰的数量少, 在(012)、(002)及(312)晶面上依次出现第一至第三强峰, 在其他 d 值处也有峰出现, 但相对强度都很弱; 2 个粉末样的晶粒没有取向、随机分布, 峰的数目多, 对应 d 值间差异小, 均在(012)、(111)及(112)晶面上出现第一至第三强峰, 对应峰间的相对强度差异较小。此外, 珍珠层粉末样 I 和 II 的对应 d 值及对应峰的相对强度间差异均小于表 1, 说明 NaOH 对珍珠层粉末的结构没有影响。

与三角帆蚌相似, 合浦珍珠母贝的珍珠层样(图 1B)也具有很强的取向性, 仅有的 3 个主要峰依峰强其次为峰(312)、峰(002)和峰(012), 而其粉末样的取向性也被破坏, 峰数多, 对应 d 值间差异小, 第一至第三强峰分别出现在(012)、(111)及(112)晶面上。结合图 1B 和 2C 可见, 珍珠层样的第一强峰(312)在粉末样中的对应峰为相对强度很低的弱峰, 两者间的相对强度相差约 24 倍, 说明合浦珍珠母贝珍珠层样在(312)晶面方向的取向性极强。

比较墨鱼骨样(图 1C)和粉末样(图 2D)的 X-射线衍射图, 可见前者具有较强的取向性, 衍射峰较少, 前三个强峰依次为峰(012)、峰(002)和峰(113);

图 1 天然 CaCO₃ 结晶的 X-射线衍射图谱 (A) 三角帆蚌珍珠层, (B) 合浦珍珠母贝珍珠层, (C) 墨鱼骨骼, (D) 大黄鱼耳石 (10°—20°间无峰出现)

Fig. 1 X-ray diffraction spectrum of the natural CaCO₃ crystals obtained from (A) the nacreous layer of *H. Cumingii* L., (B) the nacreous layer of *P. Martensi* D., (C) the internal shell of squid and (D) the otolith of *P. Crocea*. (No peak is detected between 10°—20°)

粉末样的取向性被破坏, 峰多, 第一、二、三强峰分别为峰(012)、峰(111)、峰(221)。这两种样品的各对应峰 d 值间多存在较大差异(表 1)。

大黄鱼耳石磨片(图 1D)与其粉末样(图 2E)的 X-射图相比, 其石磨片具有一定程

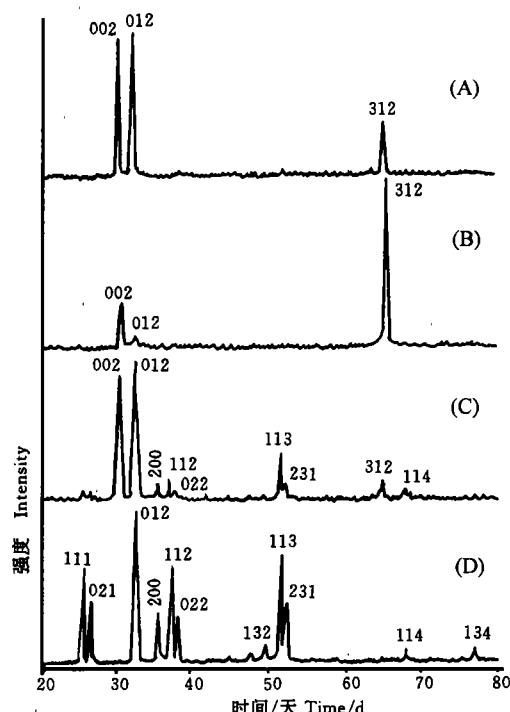


表1 4种有机体中 CaCO_3 糙石结晶的X-射线衍射数据(26°C,与卡5-0453相比)Tab. 1 X-ray diffraction Data of CaCO_3 aragonite from 4 kinds of organisms at 26°C and comparison with JCPDS (5-0453)

卡 5-0453 数据 (5-0453) data		三角帆蚌	珍珠层 I	珍珠层 II	三角帆蚌	合浦珍珠母	墨鱼骨	墨鱼骨	大黄鱼
晶面 间距 D(nm)	相对 强度 I/I_0	<i>H. cumingii</i> (Fig. 1A)	NL of NLP I of <i>H. cumingii</i> (Fig. 2A)	NL of NLP II of <i>H. cumingii</i> (Fig. 2B)	<i>P. marenzii</i> (Fig. 1B)	NLP of <i>P. marenzii</i> (Fig. 2C)	IS of a cuttlefish (Fig. 2D)	ISP of <i>P. crocea</i> (Fig. 1D)	耳石 O of <i>P. crocea</i> (Fig. 2E)
0.4212	2	110	—	—	0.3398	67	0.3398	—	0.4215
0.3396	100	111	—	—	0.3275	38	0.3273	95	0.3398
0.3273	52	021	—	—	0.3273	29	0.3273	63	0.3398
—	—	—	—	—	—	—	0.3271	42	0.3275
0.2871	4	002*	0.2869	97	0.2873	21	0.2862	—	—
0.2730	9	121	—	—	0.2875	14	0.2862	—	—
0.2700	46	012	0.2699	100	0.2702	100	0.2707	100	0.2702
0.2481	33	200	—	—	0.2486	38	0.2486	15	0.2486
0.2409	14	031	—	—	0.2411	9	0.2411	9	0.2482
0.2372	38	112	—	—	0.2373	47	0.2374	—	0.2407
0.2341	31	130	—	—	—	—	—	—	0.2372
0.2328	6	022	—	—	0.2331	20	0.2330	—	0.2339
0.2188	11	211	—	—	0.2190	6	0.2190	—	—
0.2106	23	220	—	—	0.2104	11	0.2106	—	0.2105
0.1977	65	221	—	—	0.1977	34	0.1975	—	0.1976
0.1882	32	041	—	—	—	0.1880	20	0.1884	—
0.1877	25	202	—	—	0.1879	21	0.1879	—	0.1879
0.1814	23	132	—	—	0.1814	17	0.1814	—	0.1814
0.1759	4	141	—	—	—	—	0.1814	18	0.1814
0.1742	25	113	0.1744	—	0.1744	39	0.1744	—	0.1759
0.1728	15	231	0.1725	—	0.1726	17	0.1727	—	0.1743
0.1698	3	222	—	—	—	—	0.1726	21	0.1728
0.1557	4	311	—	—	0.1554	3	0.1558	—	0.1727
0.1535	2	232	—	—	—	—	—	—	0.1727
0.1499	4	241	—	—	0.1499	3	0.1499	—	0.1727
0.1475	3	321	—	—	0.1478	2	0.1477	—	0.1727
0.1466	5	151	—	—	0.1467	3	0.1467	—	0.1727
0.1411	5	312	0.1413	—	0.1413	10	0.1413	—	0.1727
0.1404	3	330	0.1400	—	—	—	0.1409	100	0.1727
0.1365	3	242,331	0.1360	—	0.1360	6	0.1361	—	0.1727
0.1358	3	114	0.1351	—	0.1351	3	0.1352	7	0.1727
0.1328	2	060	—	—	—	—	0.1359	7	0.1727
0.1261	6	332	—	—	0.1261	3	0.1261	—	0.1727
0.1240	7	400	—	—	0.1241	5	0.1243	—	0.1727
0.1224	5	134	—	—	0.1225	6	0.1225	5	0.1727
0.1205	6	243,062	—	—	0.1205	5	0.1206	3	0.1727

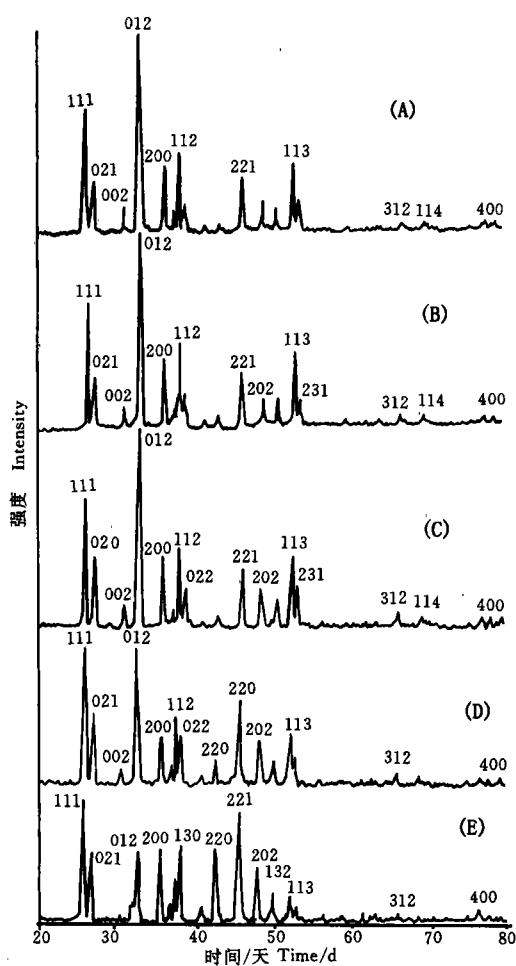


图 2 CaCO_3 粉末样的 X-射线衍射图谱(A)经 3% NaOH 处理的三角帆蚌(*H. cumingii* L.)珍珠层粉,(B)未经 3% NaOH 处理的三角帆蚌(*H. cumingii* L.)珍珠层粉,(C)合浦珍珠母贝(*P. Martensii* D.)珍珠层粉,(D)墨鱼骨粉末,(E)大黄鱼耳石粉末。(C,D,E 均未经 3% NaOH 处理;10°—20°间无峰出现)

Fig. 2 X-ray diffraction spectrum of the CaCO_3 powder. (A) the nacreous layer powder of *H. cumingii* L. Treated by 3% NaOH , (B) the nacreous layer powder of *H. cumingii* L. Untreated by 3% NaOH , (C) the internal layer powder of *P. Martensii* D., (D) the internal shell powder of *P. crocea*. (Samples C, D and E are untreated by 3% NaOH ; No peak is detected between 10°—20°)

石晶型取向性的因素很多,如蛋白质、多糖、无机离子、温度等都已被肯定了在此过程中的作用。

Watabe 等人^[4]最早发现珍珠层蛋白质可在体外诱导 CaCO_3 簇石结晶的形成,这类蛋白质中的主要成分后被证实为富含 Asp 的 Ca^{2+} 离子结合蛋白。Belcher 等^[5]和 Falini

度的取向性,而粉末样的取向性被破坏。在 $d \approx 0.339\text{nm}$ — 0.172nm 的范围内,磨片样与粉末样的 d 值基本能相对应,但对应峰的相对强度间差异较大(表 1)。磨片样以峰(012)、峰(113)、峰(111)及峰(112)为第一至第四强峰,而粉末样以峰(111)、峰(221)、峰(130)和峰(220)为第一至第四强峰。当 d 值小于 0.173nm 时,磨片样和粉末样中均只出现一些低相对强度的弱峰,但前者的峰数明显少于后者。

从 d 值上看,各粉末样的 X-射线衍射图基本一致(图 2)。各粉末样的 d 值与 X-射线衍射卡(5-0453)中的 d 值相比,除卡上的峰(110)及峰(022)因太接近而在 X 衍射图上不易区分外,其余各对应 d 值间差异极小,说明各粉末样的 CaCO_3 结晶均为卡 5-0453 所表征的 CaCO_3 簇石结构。

各粉末样的峰强与卡 5-0453 中的 I/I_1 值相比,除大黄鱼耳石粉末 I/I_1 值与卡上基本一致外,其余各样品均以峰(012)为最强峰,与卡中以峰(111)为最强峰相比有所偏移,但这在常规实验允许的范围之内,对所属晶型的判定没有影响。由以上分析可知,所测各天然样品均表现出结晶生长的取向特征,但取向强度明显不一。以三角帆蚌珍珠层和合浦珍珠母贝珍珠层的取向性为最强,墨鱼骨片层的取向性次之,大黄鱼耳石磨片的取向性最弱。由于各天然样与各粉末样都以 CaCO_3 簇石结晶为基本晶型,不同之处在于晶粒排列的规整性程度不一,因此作者认为 CaCO_3 簇石晶型及晶粒排列方向(及取向性)的一致性程度是珍珠质形成的重要条件。当然,影响生物 CaCO_3 簇

等^[6]证实珍珠层和棱柱层中的可溶性蛋白质在体外只能分别诱导 CaCO_3 簇石结晶和方解石结晶的形成,但通过改变可溶性蛋白质的来源,可使 CaCO_3 结晶在簇石结构与方解石结构间发生转换。这表明珍珠层及棱柱层中的蛋白质成分在控制 CaCO_3 簇石结晶和方解石结晶的形成、取向、生长中起着重要作用。生物 CaCO_3 簇石结晶的取向性与 $\text{Na}-\text{crein}$ 等这类蛋白质的相关性是弄清具有相同簇石结构却表现出不同性质的生物 CaCO_3 结晶(如珍珠质和 CaCO_3 类结石)形成机理的基础,值得进一步研究。

参考文献:

- [1] Rivadeneyra M A, Delgado R, Ouesada E, et al. Precipitation of calcium carbonate by *Deleya halophila* in media containing NaCl as sole salt. [J] *Curr. Microbiol.*, 1991, **22**: 185—190
- [2] Wilbur K M. Shell structure and mineralization in molluscs. In: *Biological Systems*. [M] Ed. By sognnaes R F. Printed in Washington D C by AAAS, 1960, 15—40
- [3] 徐学红、唐承欢、唐兆子. 石首鱼科(Sciaenidae)三种鱼耳石 CaCO_3 晶相结构分析[J],生物物理学报,1993,9: 41—45
- [4] Watabe N, Wilbur K M. Influence of the organic matrix on crystal type in molluscs[J]. *Nature*, 1960, **188**: 334
- [5] Belcher A. M, Wu X H, Christensen R J, et al. Control of crystal phase switching and orientation by soluble molluse-shell proteins [J]. *Nature*, 1996, **381**: 56—58
- [6] Falini G, Albeck S, Weiner S, et al. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules [J]. *Science*, 1996, **271**: 67—69

THE ORIENTATION OF CaCO_3 ARAGONITE CRYSTALS FROM SEVERAL ORGANISMS

JIANG Xin-nong LI Jing-zhi and XU Xue-hong
(School of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract: The CaCO_3 crystals are widely distributed in organisms. The calcite, aragonite and vaterite are the main crystal polymorphisms of CaCO_3 . In this paper, CaCO_3 crystals were obtained from the nacreous layers of *Hyriopsis cumingii* Lea and *Pinctada martensi* Dunker, the internal shell of a cuttlefish and the otolith of *Pseudosciaena crocea*. X-ray diffraction measurement was used to analyze the crystal orientation of CaCO_3 crystals: The results showed that each kind of natural CaCO_3 crystal has an orientation on specific plane. In detail, the crystal orientations of the nacreous layers are higher than the internal shell, and the orientation of the otolith is the lowest. Except the nacreous layers of *Pinctada martensi*, whose highest peak is on the crystal plane (312), all the other three natural samples have the highest peak on the crystal plane (012). As to ground CaCO_3 crystals, the differences between their corresponding d values are very small, so each ground sample has the CaCO_3 aragonite structure characterized by the JCPDS card (5—0453).

Key words: Nacreous layer; Cuttlefish; Otolith; CaCO_3 aragonite; CaCO_3 calcite; CaCO_3 vaterite