

董发勤,郑飞,代群威,等.钙华非经典沉积的纳米生长过程与调控机制初探:以九寨沟—黄龙钙华形成为例[J].中国岩溶,2021,40(1):55-67.

DOI:10.11932/karst20210106

钙华非经典沉积的纳米生长过程与调控机制初探 ——以九寨沟—黄龙钙华形成为例

董发勤^{1,2},郑飞^{1,2,3},代群威²,李琼芳⁴,陈禹衡^{1,2},刘明学⁴,蒋忠诚⁵,张强⁵,
李博文⁶,Alper BaBa⁷,Anđelka Plenković-Moraj⁸

(1. 西南科技大学固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学环境与资源学院, 四川 绵阳 621010; 3. 西昌学院, 四川 西昌 615000; 4. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 5. 中国地质科学院岩溶地质研究所, 广西 桂林 541000; 6. Department of Materials Science and Engineering, Michigan Technological University, Houghton 49931, MI USA; 7. Izmir Institute of Technology, Engineering Faculty, Department of International Water Resources, TR-35430 Izmir, Turkey; 8. Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia)

摘要:钙华是自然界重要的岩溶碳酸盐沉淀之一,其形成过程往往受到生命活动的影响,弄清钙华生物沉积作用有助于更好地理解钙华微岩相结构和地球化学特征的气候环境指示意义。本文以黄龙—九寨沟钙华形成为例,阐述黄龙—九寨沟现代钙华纳米结晶特征、纳米钙华的生长和集合体形态,分析模拟实验中生物有机质对钙华生长和形貌的调控原因,揭示了生物活动和代谢产物对纳米钙华成核、生长及钙华晶体形貌的调控两途径四阶段机制;为探究钙华成因、碳酸钙生长调控机制、钙华退化的因素及其保护和可持续利用钙华景观具有重要的科学价值。

关键词:纳米钙华;非典型沉积;代谢活动;晶型和形貌;调控机制

中图分类号:P588.245;P642.25 **文献标识码:**A

文章编号:1001-4810(2021)01-0055-13 **开放科学(资源服务)标识码(OSID):**



0 引言

钙华作为碳酸钙(CaCO_3)岩溶沉积物是自然界中最重要和被系统研究的碳酸盐沉淀之一,部分钙华的形成有明显的生物参与。自然形成的 CaCO_3 在形态、起源和组成上的多样性,使其成为研究生物矿化机制、热力学和动力学的有力窗口。自然界中的碳酸钙(CaCO_3)除了三种无水(方解石、文石和球霏石)和两种有水(一水方解石($\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)与六水方解石($\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$))晶体外,碳酸钙也可以稳定的非晶相形式存在^[1]。以上六种结构的碳酸钙的热力学

稳定性依次下降,其中无定形碳酸钙(ACC)在生物矿化中几乎是所有类型的生物成因 CaCO_3 的前体^[2-3]。

生物矿化是生物体形成矿物的过程,生物成因钙华作为其典型产物是既含有无机碳酸钙又含有有机组分的复杂物质。有机基质通过在有机、无机界面上的分子识别和协同作用,可以选择性地与 CaCO_3 特定晶面相互作用,有助于 CaCO_3 晶体的生长,以及形貌、多聚形态和晶体定向的形成。一些生物因子,如蛋白质、多肽、氨基酸、有机酸、多糖和腐殖质等被发现,对 CaCO_3 晶体形态和多态性具有潜在的调节功

基金项目:国家自然科学基金项目(41831285,41877288);四川灾后重建先导科研项目编号130-1-1

第一作者简介:董发勤(1963—),男,教授,博士生导师,主要研究方向为环境矿物学、固体废弃物处理及资源利用。E-mail: fqdong@swust.edu.cn。

收稿日期:2020-09-20

能^[4-5]。此外,钙华沉积、晶体的形成和生长还受藻类、地衣、植物苔藓、植物根系和树叶等生物活动和生物作用的影响^[6]。例如,Tong和Li研究发现乙酸和天冬氨酸能抑制球霏石向方解石转化,且改变天冬氨酸的浓度,可调节球霏石的形状和大小^[7-8];Yang等利用分子动力学模拟计算发现,低聚糖可以选择性地吸附在不同的方解石晶面上,从而对晶体的形貌进行调控^[9];董发勤课题组研究发现,嗜冷型菌株中的柠檬酸和琥珀酸抑制碳酸钙的沉积;核糖及半胱氨酸不仅能促进碳酸钙的沉积,还能诱导文石的产生;而碳酸酐酶能在一定程度上调控碳酸钙的形貌^[10-15];此外,硅藻、黄藻和植物落叶能为碳酸钙的沉积提供模板,其分泌的有机质或浸出液对碳酸钙的成核也具有诱导作用^[16-18]。虽然针对现代微生物群落导致碳酸盐沉淀的生物化学过程的研究已经在野外和实验室中进行,但目前对钙华沉积、CaCO₃晶体的形成、生长和调控机制的研究多集中在宏观和微米尺度,鲜有从纳米尺度研究生物钙华的生长过程和调控机制的报道。

地表条件下,纳米物质的赋存形态及其成因和演化过程,包括溶解、结晶和反应过程以及生物矿化

等过程。一方面,从纳米物质的成因研究可以反推其形成时的地质条件;另一方面,纳米物质对地表环境的影响,包括与纳米粒子/纳米孔相关联的迁移运输和化学作用对元素分布和富集的影响,以及天然或人造纳米物质与生物体的相互作用和自身再结晶能力,对这些方面的详细了解,有助于为钙华修复保育建立理论基础。因此,本文对通过九寨沟—黄龙钙华野外调查和实验室模拟研究,从纳米尺度对钙华的生长过程和调控机制,探讨生物因子对碳酸钙矿化体系中的动力学过程、对碳酸钙晶型和形貌的影响,以揭示钙华成因及碳酸钙生长调控机制。

1 现代钙华纳米结晶特征

钙华分类,常按景观、形态、沉积相和岩石类型来分类。岩石类型主要为致密型、多孔型与碎屑型三大类。在表生环境下,钙华形成大量不同形状的碳酸钙微观结构,如片状、柱状、针状、粒状与管状等(图1)。虽然纳米结晶体在形状上千差万别,但其单体尺寸集中于100 nm以内。这些不同形状的纳米碳酸钙是对微观环境的响应及物理、化学和生物协同作用的结果。

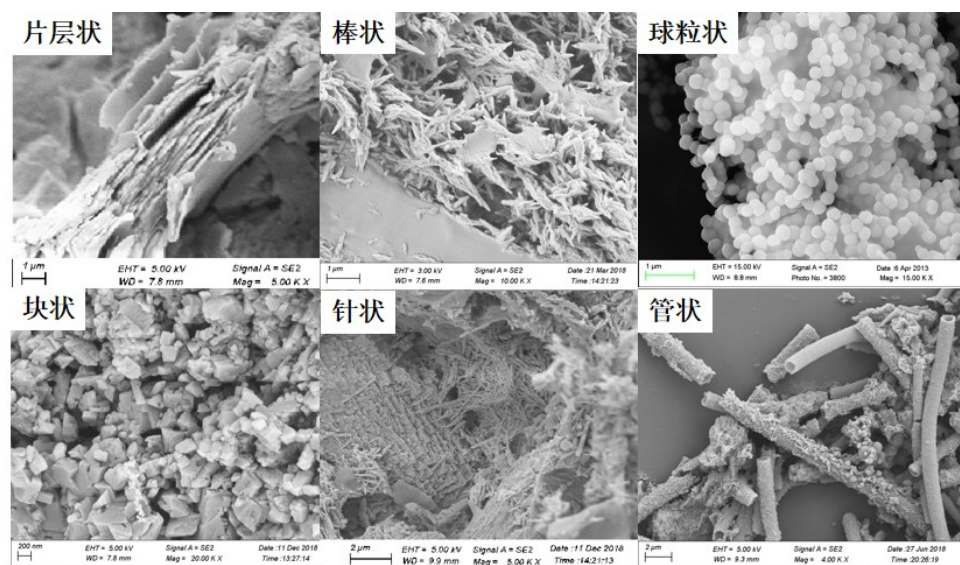


图1 纳米钙华常见颗粒形态

Fig. 1 Common particle morphology of nano-travertine

1.1 泉群钙华中的纳米碳酸钙

对九寨沟夏莫泉群进行野外调研和样品分析发现(图2),水体中形成了大量白色絮凝物,因其具有臭鸡蛋味,故其可能为硫酸还原菌还原的产物。从

XRD测试白色絮凝物的成分来看,其主要组分为方解石、石英、硫、白云石。扫描电镜显示,白色絮凝物由许多纳米尺度的CaCO₃组成,其形态与微生物的组织 and 形体基本一致,比如硅藻类。除此之外还在硅

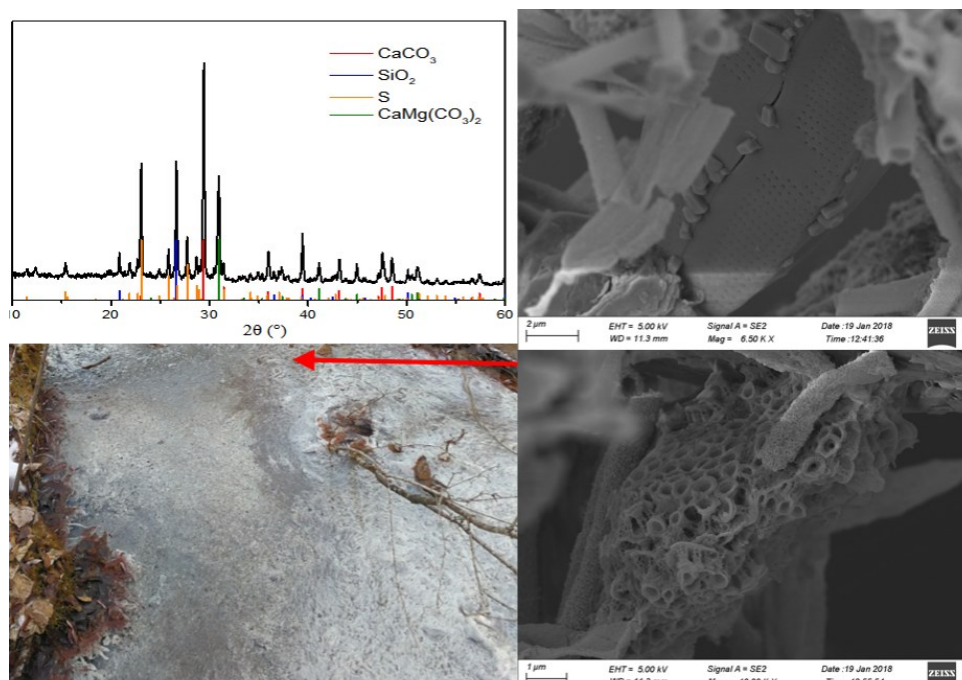


图2 夏莫泉群含硫钙华与微观特征

Fig. 2 Sulphur-containing travertine in Xiamo springs group and its microcosmic characteristics

藻体表面附着有短柱状纳米 CaCO_3 , 空间上排列有序, 具有独特的定向性。

1.2 硅藻中的纳米碳酸钙

图3是钙华与硅藻复合沉积的矿化产物。钙华呈不规则形状, 且因生物侵蚀, 有较多孔洞。硅藻的结壳作用及胞外分泌的酸性物质能够控制钙华的外观形态。从图中可以看出, 由于藻类对 CaCO_3 晶体的主动控制作用, 藻类在生长代谢过程中会影响 CaCO_3 矿化, 从而影响 CaCO_3 结晶度。藻类溶蚀后的低洼、凹坑会成为硅藻生长代谢的场所, 造成晶体的进一步溶蚀和重结晶。这些因生物活动形成的溶蚀空间, 将从微纳米尺寸不断扩张到宏观结构, 为宏观水体浸渗提供足够的通道, 这也是钙华具备良好的富水与储水性的原因之一。

1.3 纹层钙华中的纳米碳酸钙

图4为九寨沟纹层钙华的断面照片和SEM照片。从图4a中发现, 纹层钙华外观呈褐/白不规则状, 由深—浅色层交替组成钙华沉积体。可能是因生物作用水体钙离子浓度和水动力条件的不同导致^[6,19]。如黄龙钙离子浓度远高于九寨沟, 从而形成更丰富的纹层钙华。此外, 因植物碎屑和生物体参与会引起水动力的突变, 造成 Ca^{2+} 浓度不能稳定补给, 方解石不能连续生长^[6]。从纹层钙华的形成动力学来看,

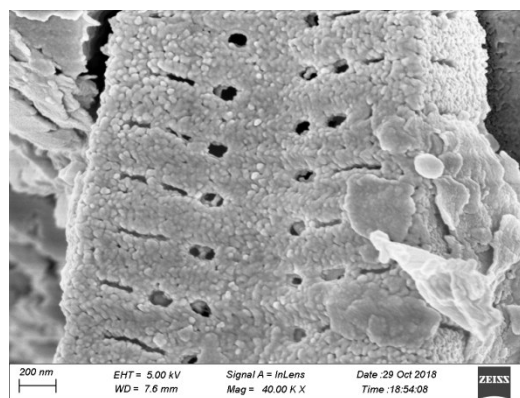


图3 硅藻中的纳米碳酸钙

Fig. 3 Nano calcium carbonate in diatoms

在一定 Ca^{2+} 浓度的水体中, 在薄层效益下方解石持续沉积, 一般形成柱状结构。无论是白色层或褐色层, 在SEM下观察到的特征是定向连续生长的柱状、板状结构。褐色层通常较白色层短, 主要原因是不同季节的生长结果, 干冷季节利于白色层生长, 湿热的丰水期形成褐色层^[6]。

纹层钙华在纳米尺度下延续了宏观柱状或板状结构(图4b)。从图4b中观察到, 钙华纵切面呈片状、短柱状方解石微层理; 钙华横切面呈针状、须状与短粒三角状, 其中前两者是方解石断裂后在断点上形成的, 与方解石结晶过程无关, 短粒三角形是方解石结晶形成的自身特征, 与方解石的晶型是完全对应

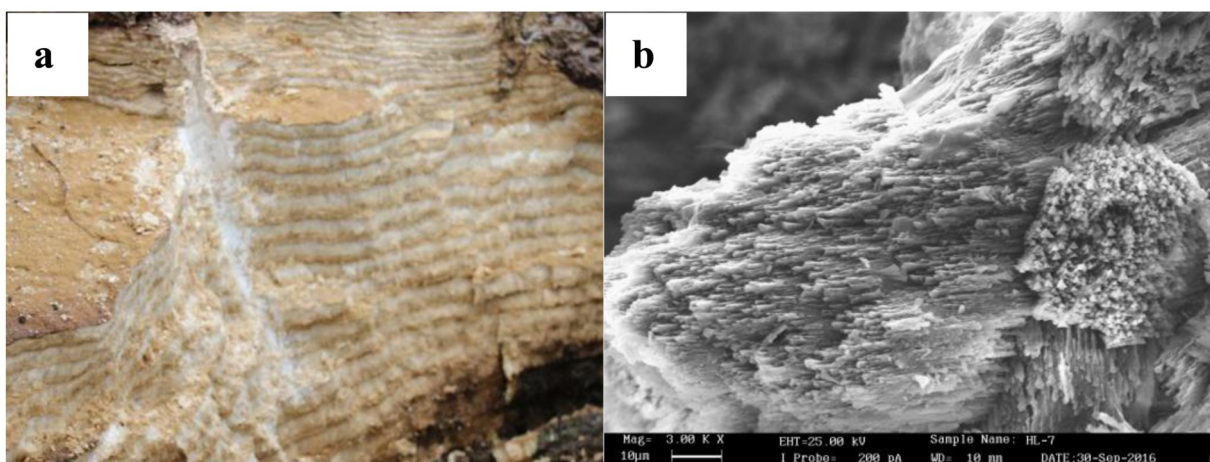


图4 纹层钙华野外特征及纳米特征

Fig. 4 Field characteristics and the nano-characteristics of striated travertine

的。因而可以认为,纹层钙华中的方解石在纵向上以柱状、板状连续生长为特点,在横向上以三角面状生长为特征。

2 纳米钙华的生长和集合体形态

2.1 管状钙华

图5为九寨沟的钙华样品中的管状钙华。从图5a和图5h发现管状钙华存在疏密不同的部分,其中内层为致密的亮晶方解石结构(图5c),外层为疏松的隐晶集合体(图5d),由泥晶和微亮晶构成。钙华内层边缘为近球粒的纳米钙华团聚体聚合形成(图5b),外层表面存在大量片状碎屑(图5b,图5c,图5d和图5e),其间分布着针状钙华簇体,这些针状钙华晶体长度在300~1 000 nm,宽度小于80 nm(图5d和图5e)。钙华中出现的针状晶体是钙华方解石晶体的形貌特征之一,通常称为介观晶体^[20-21](200~1 000 μm),可能与温度和有机基质有关(图5f)。由此说明,球状纳米微晶是生物参与沉积构成钙华晶体的基本单元,进一步团聚形成不规则的聚合物,在胞壁、EPS、植物体表面吸附固定生长,也在初具形貌的晶体边缘上生长^[22]。此类晶体生长模式与生物矿化领域提出的非典型晶体生长模式相近,即生物参与下的钙华沉积是以纳米碳酸钙聚合物吸附团聚逐渐生长为棱面体或多面体钙华的钙华晶体^[23-24]。

2.2 钙华中的泥晶和亮晶方解石

图6为多数包裹体外部生长豆状集合体,这些集合体表面为三棱锥式的四面体晶体(图6a和图6b)聚合形成的球状晶体(图6e),晶体中分布着藻丝、硅藻

壳(图6a)。部分塔尖式四面形晶体的顶部长有针状簇晶,另外一部分为边棱明显的多孔棱柱或棱面体(图6b)。从SEM中可发现,该类样品除上述形貌外还存在另外一种形貌,表现由大小不一的多面体晶体单元(大多数尺寸在1~10 μm)构成(图6f),这些多面体晶体棱面呈台阶式生长,边缘部分仍处于模糊状态(图6e和图6d)^[24]。

钙华样品的晶体生长模式有别于经典化学结晶:

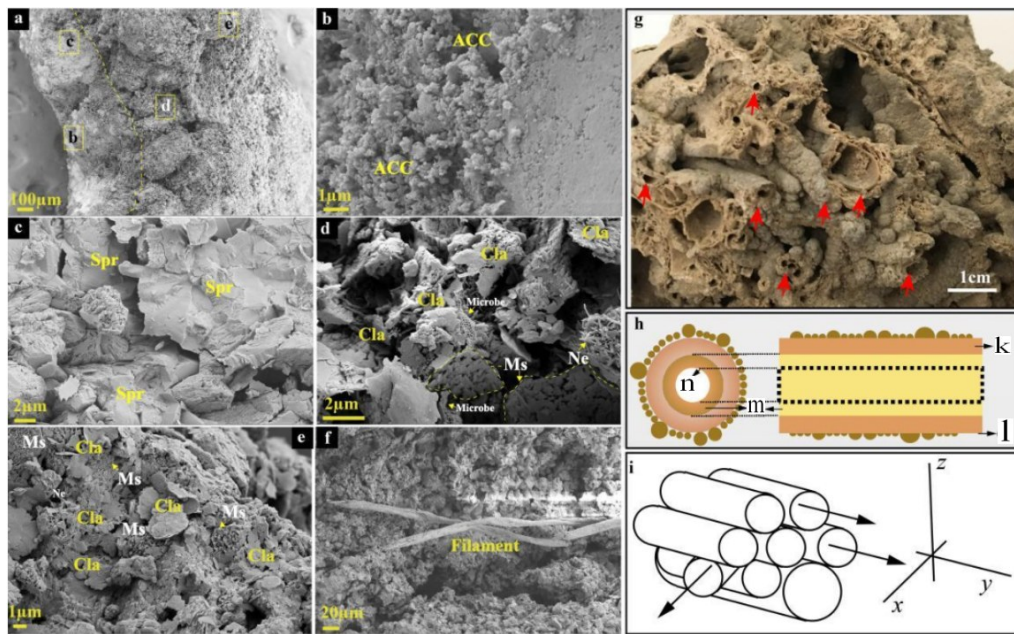
(1)晶体单元方向性不同。前者在方向相同的次级晶体集合形成钙华晶体单元;而后者在晶体棱角处生长形成多个方向上的簇状集合体;

(2)棱面形晶体形貌不同。化学晶体为完善的棱面形晶体,而钙华样品发育不完全,为多空隙粗糙棱面晶体(图7a和图7b)^[24]。

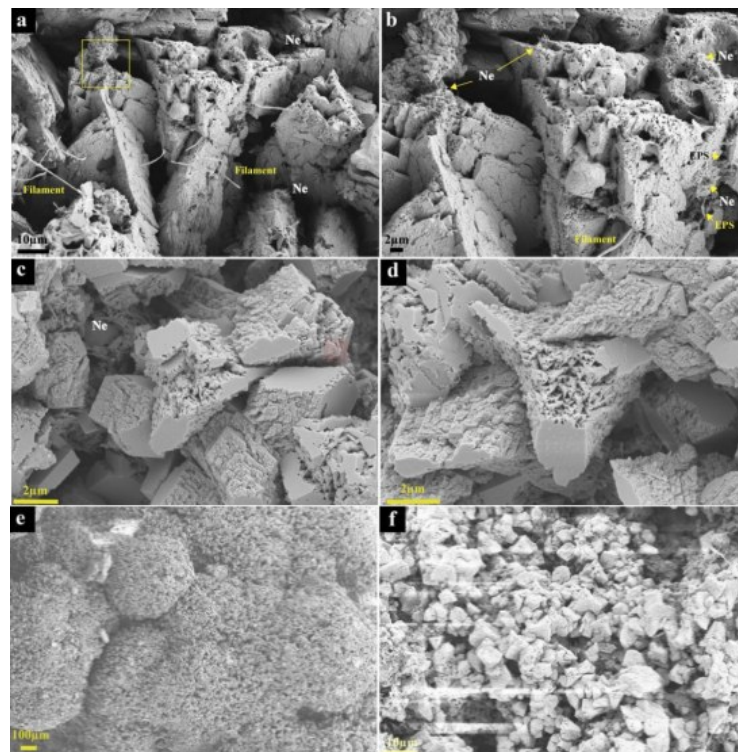
Brian Jones^[23,25]研究发现,纳米晶体定向排列构成钙华的初级晶体单元,并继续定向排列构成下一级构筑单元,直至形成钙华海绵体。Elena Manzo^[26]等研究发现,生物共沉积钙华,以10~20 nm为直径的近球状初级晶体单元形成了棒状聚合体单元(100~200 nm),进一步聚合形成多面体或三角爪式结构,并继续定向聚合构成了钙华四面体形态。因此,钙华沉积过程中,环境因子可能是诱导其晶体非经典生长的重要因素。

2.3 钙华中的内源重结晶

图8为钙华包裹体横截面的微观图像,图中可见内层区域出现整块的平整面,断面处可以发现针状晶簇(图8a),同时断面处发现了片状的碎屑钙华(图

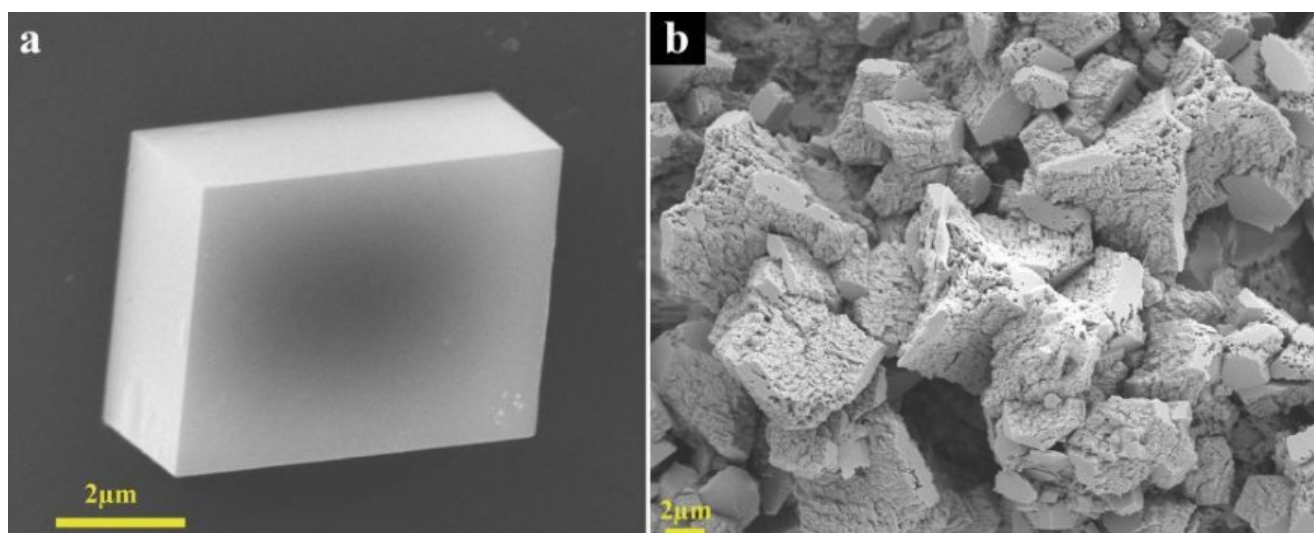
图 5 管状钙华的 SEM^[24]Fig. 5 SEM pictures of travertine tubes^[24]

(a. 管状钙华的横截面图, b, c, d, e 是 a 中对应黄框的局部放大图, g 是钙华堆积体示意图, 箭头处为管状钙华, h 和 i 是基于 g 的示意图, h 为管状的正面图和俯视图, i 是堆积立体图, cla—碎屑, Ms—微亮晶, Spr—亮晶, Ne—针状集合体)
 (a was the cross section morphology of travertine tube; b, c, d, e were enlarge parts of a. g as a diagram of travertine accumulation mode, arrows was travertine tubes. h and i were deduced from picture g, h consisted of front view and plan view, i was stacked tridimensional diagram, cla—clastic, Ms—macrospatite, Spr—spatite, Ne—needle aggregate)

图 6 钙华豆状集合体 SEM^[24]Fig. 6 SEM of travertine lentiform aggregate^[24]

(b 是 a 中框线部分的放大图; a, b 是 e 的放大图; c, d 是 f 的放大图; Ne—针状集合体)

(b was enlarge part of a, a and b were enlarge part of e, c and d were enlarge part of f, Ne—Needle aggregate)

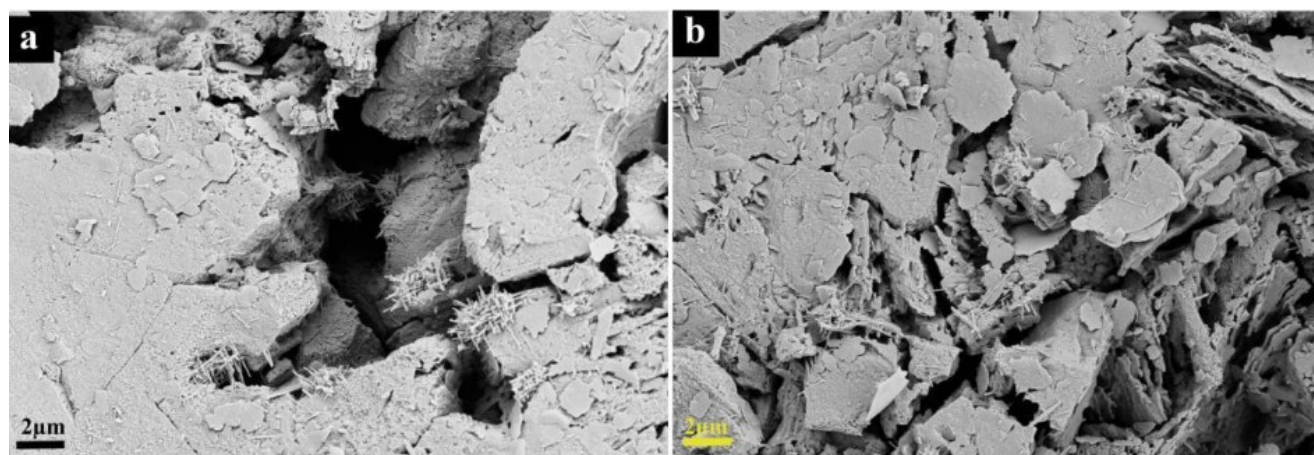
图7 钙华结晶体的SEM^[24]Fig. 7 SEM of travertine crystals^[24]

(a. 化学结晶法生长的钙华, b. 自然钙华)

(a.synthetic calcite, b.natural calcite)

8b), 推测树叶、树枝等生物质模板为钙华晶体生长提供了附着位点, 植物凋落物表面附着生长了蓝藻和硅藻等微生物群体, 微生物作为模板的直接和间接诱导碳酸钙沉积形成纳米晶体, 并吸附其它悬浮

晶体团聚, 形成管壳状结构, 另外生物质也逐渐被溶蚀形成不同孔径的空隙; 由于碳酸钙重结晶生长过程中, 针状晶簇作为钙华晶体生长过程中的形貌之一, 多出现在碎屑和多面体边缘处^[24]。

图8 管状钙华内层SEM^[24]Fig. 8 SEM of travertine tubes inner layer^[24]

3 生物有机质对钙华生长及形貌的调控

钙华在生物活动、代谢过程中参与和调节了钙离子沉积的自然过程, 表现出从分子水平到介观水平上, 对晶体形貌、尺寸、取向、晶型以及排列等的精确控制^[27]。为明确钙华的生物成因以及进一步完善生物沉积碳酸钙的机理, 通过室内模拟实验来研究

不同生物有机组分(有机酸、氨基酸、蛋白质、多糖及复合体系)对钙华体系中钙华结晶动力学过程、晶型和形貌的影响和调控, 这是目前钙华成因研究的重要热点之一。

3.1 有机酸对碳酸钙晶型和形貌的调控

钙华的溶解和形成与有机酸含量有着密切的联

系。有机酸通过调节流体pH影响碳酸钙的溶解及沉淀。研究发现,乙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、邻苯二甲酸、柠檬酸和EDTA都在不同程度上促进方解石的溶解^[28]。课题组王建萍等研究了3种常见细菌的胞外有机酸主要组分(草酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸)对

方解石的溶蚀效应,发现不同有机酸对方解石的溶蚀体现出不同程度的促进作用,其中草酸、乳酸和琥珀酸溶蚀后的方解石尺寸有所减小,但形貌变化不大,而柠檬酸溶蚀后的方解石呈片状,且出现大量纤维状柠檬酸钙重结晶^[10](图9)。

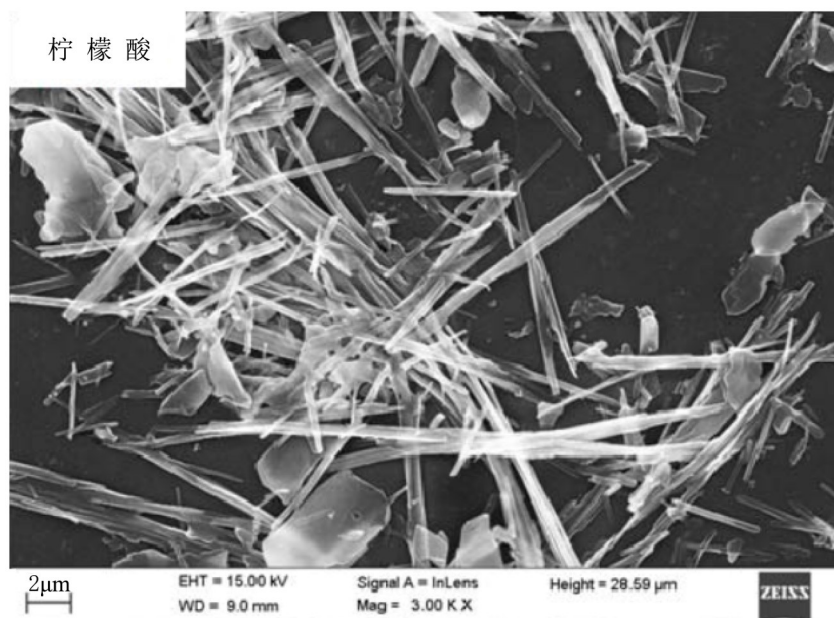


图9 柠檬酸对方解石形貌的影响^[10]

Fig. 9 Effect of citric acid on morphology of calcite^[10]

为探索有机酸在钙华沉积过程中的作用及参与程度,李骐言和李琼芳等^[14,29]研究了黄龙嗜冷细菌的胞外特征有机酸组分琥珀酸和柠檬酸对碳酸钙晶型和形貌的影响。研究发现,有机酸的加入一定程度上抑制了碳酸钙的沉积,且随着有机酸浓度的增加抑制作用在增强。但琥珀酸和柠檬酸对碳酸钙晶型和形貌的影响却不相同。柠檬酸可诱导碳酸钙形成棒状晶核,并选择性的吸附在平行于长轴方向的晶核表面,阻止其沿该面垂直方向上的生长,最终形成棒状晶体,随着柠檬酸浓度的增加,过量的柠檬酸自组装成超分子结构的胶束,胶束中游离的羧基基团为碳酸钙的成核提供了大量的活性位点,使得晶体生长在胶束上多点触发,最终合成了一端固定、另一端自由发育的花瓣状单晶集合体(图10a)。对于琥珀酸,诱导的碳酸钙形貌随酸的浓度增加,从无酸环境的菱形方解石晶体变为边缘呈阶梯叠层状的不规则方解石晶体,最后出现少量球霏石(图10b)。这可能是琥珀酸的COO⁻通过静电作用吸附聚集了大量的Ca²⁺,导致局部CaCO₃过饱和,从而介导合成球霏石型晶体。

3.2 氨基酸对碳酸钙晶型和形貌的调控

氨基酸作为生物胞外特征代谢产物,对碳酸钙矿物的取向和形貌具有重要的调控作用。与有机酸相同的是氨基酸在不同程度上促进方解石的溶解,影响程度取决于氨基酸的功能、分子结构和添加量^[10,28]。与有机酸不同的是氨基酸在碳酸钙诱导沉积模拟实验中通常表现为促进作用。这是因为当溶液pH>pI(氨基酸等电点)(或pH<pI)时,氨基酸去质子化带负电(质子化带正电),COO⁻(NH₃⁺)通过静电作用吸附Ca²⁺(CO₃²⁻),使局部Ca²⁺(CO₃²⁻)过饱和而加速沉积。氨基酸除通过上述带电基团的静电吸附效应为碳酸钙成核提供位点外,碳酸钙的晶型、晶貌由氨基酸R基空间尺寸与钙离子晶格的匹配程度决定^[30-31]。当钙离子空间尺寸同氨基酸侧链长度比值一定时(表1),诱导合成特定的晶种模板。

课题组陈超和李骐言等^[11,31]通过模拟实验证实氨基酸对碳酸钙沉积的促进作用,且随着浓度的增加,促进作用增强。晶貌主要是由于R基团极性的差异,使其与方解石(104)晶面的选择性吸附强度不

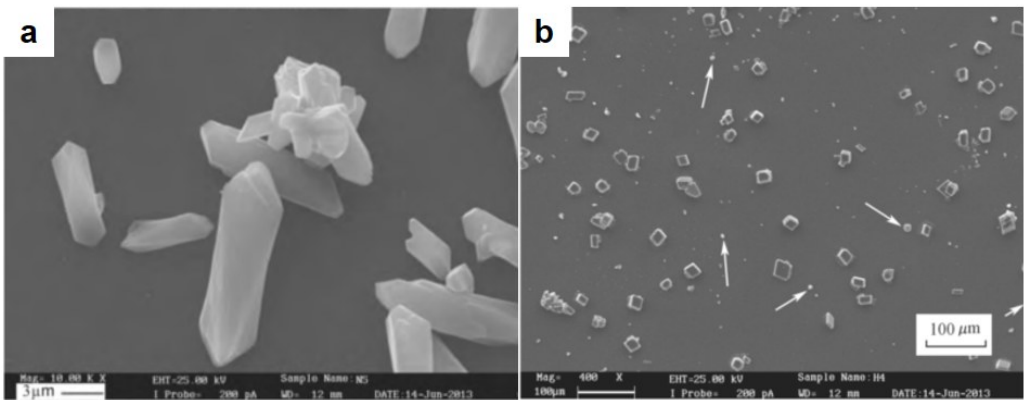


图 10 有机酸对碳酸钙晶型和形貌的影响^[14,29]

Fig. 10 Effect of organic acid on crystal form and morphology of calcium carbonate^[14,29]

表 1 钙离子空间尺寸同氨基酸侧链长度比值与晶体配位数关系

Table 1 Relationship between the ratio of calcium ion space size to amino acid side chain length and crystal coordination number

半径比(r^+/r^-)	0.414~0.732	0.732~1.00	>1.0
晶体配位数	6	8	12
晶型	方解石	文石	球霏石

同,从而不同程度地抑制(104)晶面的生长,形成棱角发育不完全的菱面体形晶体,甚至抑制了晶体在平行于c轴方向的生长,形成多面的立方体形貌。

3.3 单糖对碳酸钙晶型和形貌的调控

同样,单糖作为生物胞外特征代谢产物,对碳酸钙矿物的沉积诱导、晶型和形貌的调控作用与氨基酸类似。课题组于璐嘉和李骥言等^[12,31]研究发现,单糖中的羟基与钙离子结合,降低了碳酸钙成核的活化能,促进碳酸钙的成核,从而加快了碳酸钙沉积的速率。此外,不同单糖对碳酸钙晶型和晶貌的调控作用不同,D-葡萄糖中的羟基选择性吸附在某些特定晶面,抑制该晶面的生长,从而形成棱角发育不完全的菱面体方解石晶体(图 11a)。且随着 D-葡萄糖浓度的增加,D-葡萄糖的羟基更倾向与文石晶面的

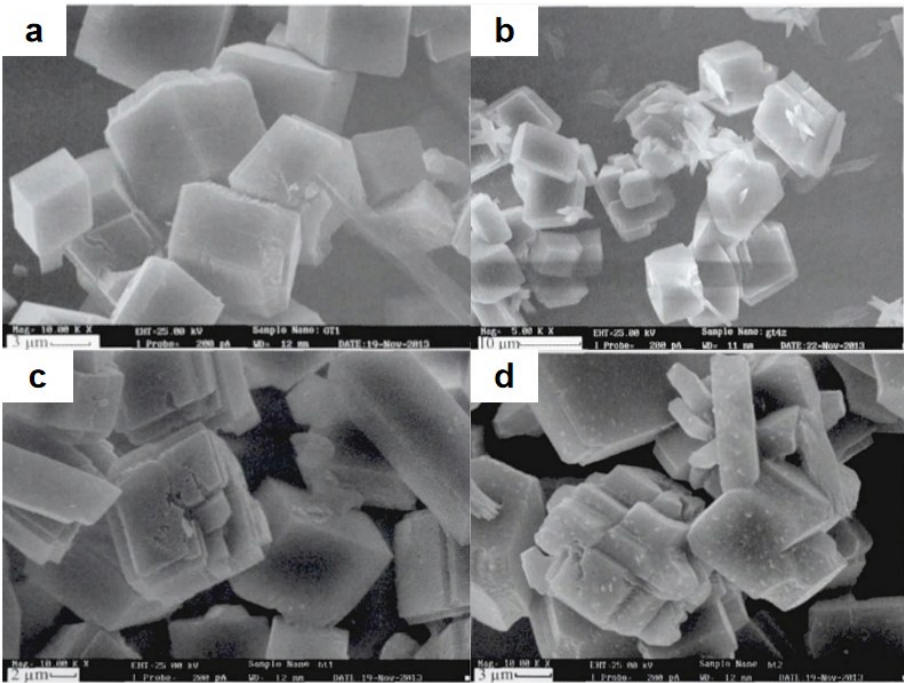


图 11 单糖对碳酸钙晶型和形貌的影响^[12,31]

Fig. 11 Effect of monosaccharide on crystal form and morphology of calcium carbonate^[12,31]

钙离子结合,降低其表面能并对文石晶型起到稳定作用,防止其向方解石晶型转变,钙化体系中出现了方解石和文石的混合物^[32](图11b)。而D-核糖对碳酸钙的晶型影响不大,但其选择性吸附并抑制菱面体(104)晶面边缘及转角的增长(平行于C轴),使得晶体棱边及转角缺损明显(图11c),且新形成的晶面对核糖体具有极大的亲和力,随着处理浓度的升高,棱角抑制程度加大(图11d)。

3.4 蛋白质对碳酸钙晶型和形貌的调控

蛋白质可调控碳酸钙的晶型、晶貌、结晶取向和尺寸。蛋白质分为可溶蛋白和不溶蛋白,可溶蛋白可选择性地吸附在生长晶体的特定晶面上,通过调节晶体在各个方向的相对生长速率,改变晶体习性,达到影响晶体形貌的目的。Falini等发现软体动物壳的珍珠层中CaCO₃以文石形式存在,而临近棱柱层则以方解石形式存在。提取珍珠层和棱柱层中的可溶蛋白进行体外模拟,得到的CaCO₃晶型分别与珍珠层和棱柱层中的矿物晶型一致,壳层中可溶蛋白是决定CaCO₃晶型的主要因素^[33]。水溶性基质蛋白已被证实对碳酸钙的结晶类型起决定性作用,不需要其它离子的参与,就可为不同晶型的碳酸钙的成核提供合适的三维空间结构和局部微环境。水溶性基质蛋白带有强烈的负电荷,能束缚Ca²⁺,这种负电荷主要来自蛋白质分子含天冬氨酸序列的氨基酸残基。当这种序列采取 β -折叠的构象时,天冬氨酸的 β 羧基所带负电荷之间的距离可以与不同碳酸钙晶格中Ca²⁺之间的距离进行匹配,这两个距离值越接近,就越有可能在此方向上诱导形成晶体,否则就会受到抑制^[34]。与可溶蛋白相比,不溶蛋白主要作用是作为生物矿化有机模板的成核位点,其表面官能团的性质、分布及排列方式对碳酸钙的形貌、尺寸及晶型有很大的影响。如蚕丝中丝蛋白作为模板诱导了文石的沉积,且其取向排列诱导沿分子链取向排列^[35]。

3.5 多糖对碳酸钙晶型和形貌的调控

在自然界中存在不少含有两种或更多的糖苷单元的多糖,从链结构上可看作是天然的嵌段共聚物参与碳酸钙的结晶过程,其广泛存在于动物、植物及微生物体内。不同的多糖对碳酸钙的晶型、晶貌具有不同的影响^[36]。杨林等研究发现,糖元、可溶性淀粉和 β -环糊精都可诱导生成形状、尺寸不一的方解石;化学结构类似的糖元和可溶性淀粉,还诱导生成规则的球霏石;而 β -环糊精还可诱导生成珊瑚状文

石晶体,这可能还是由于多糖中单糖羧基、羟基和/或氨基等的静电作用,多糖的模板作用,以及多糖与碳酸钙晶体的几何晶格匹配等效应^[37]。葡聚糖诱导碳酸钙沉积也证实,葡聚糖的葡萄糖残基的螺旋间距与文石中钙离子的距离接近,且葡萄糖残基上的羟基通过静电匹配和立体化学互补作用使钙离子沿葡聚糖螺旋轴定向聚集,最终形成的菜叶状文石晶体^[38]。

3.6 复合体系对碳酸钙晶型和形貌的调控

目前的研究多集中于单一有机质对无机矿物的调控,然而环境中的生物有机质复杂多样,其与无机离子之间的相互作用也非常复杂,单组分有机质对钙化过程的调控不足以完全揭示生物矿化作用。王旭辉和李骥言等^[31,39]对氨基酸(A)-有机酸(O)-单糖(M)混合多组分体系对碳酸钙沉积诱导及晶型晶貌的调控作用进行研究发现,含有机酸的混合体系(A-O、O-M、A-O-M)抑制碳酸钙的沉积,而单糖和氨基酸的协同作用促进碳酸钙的沉积。其诱导原因与上述单一体系类似,且有机酸的抑制作用通常大于氨基酸和单糖的诱导作用,因此在含有机酸的体系中通常抑制碳酸钙的沉积。

与单一氨基酸和单糖体系调控作用相同,A-M体系出现了大量边角发育不完善、具有明显的台阶特征的菱面体方解石,但体系未合成文石型碳酸钙,这可能是由于氨基酸和单糖之间的相互作用改变了有机分子的离子化程度、电荷密度及立体化学效应,减弱氨基酸和单糖对文石晶面的吸附性,抑制了氨基酸和单糖对文石晶稳定性,因此,形成的文石转变为更稳定的方解石。此外,由于复合体系的相互作用,分子间的静电、疏水及氢键作用力使分子重排形成亲水端(如-OH)朝外,疏水端(如C₆H₅-)向内的中空环状结构,从而诱导中空片状晶体堆积形成少量中空蛋糕状结构的球霏石晶体^[40]。A-O和O-M体系中,有机酸的诱导作用占主导,主要产生棒状方解石,诱导机制与柠檬酸单一体系类似,且与A-M体系相似。由于有机酸与氨基酸或单糖的相互作用,减弱琥珀酸、氨基酸和单糖对文石晶面的吸附性,抑制了氨基酸和单糖对球霏石或文石晶稳定性,因此抑制了球霏石或文石晶的生长。对于A-O-M体系,主要产生1~3 μm 的小颗粒方解石晶体,这可能与高浓度有机基质的调节作用有关;与其他混合体系相比,A-O-M体系具有更大的有机质/Ca比,相对丰富的带电基团(如羧基、羟基等)为碳酸钙提供大量成核位

点,因而晶体的成核多于生长,合成小粒径且分散均一晶体微粒^[41]。

4 纳米钙华生长的调控机制及钙华体沉积规律

4.1 纳米钙华生长的调控机制

生物有机质诱导的碳酸钙结晶为非经典结晶,结晶过程受热力学和动力学控制。与以原子或分子构建晶体的经典结晶理论不同,非经典结晶理论认为,在生物活动的参与或有机质诱导下,局部形成碳酸钙的过饱和溶液,从而形成预成核离子团簇(PNCs),PNCs聚集形成无定形碳酸钙(ACC),在小分子有机质诱导下或大分子有机质模板作用下形成晶核,晶核生长形成纳米晶体,纳米晶体面被一些功能基团修饰,然后纳米粒子在介观尺度自组装形成介观晶体,有机质对不同类型的晶型和晶面有选择的吸附,从而调控各种形貌的晶型的生成^[3]。

对于结晶过程,Wulff热力学理论^[42]认为,除外界生长环境对晶体形貌的影响,晶体形貌的多样性由晶面表面能决定,晶面表面能越高,该晶面生长速率越快,导致该晶面最终在晶体中消失,反之,低表面能晶面被保留,并最终决定产物的形貌。而生物活动或代谢产生的有机质通过选择性吸附改变晶面的表面能,从而对晶体形貌进行调控。另外,晶体的晶型则受动力学因素控制,主要基于晶体成核、生长、溶解再结晶和相转化等过程中活化能的变化,它是一个连续的过程,包括对无定形前驱相、结晶的中间相结构和组成的修饰^[43]。结合热力学理论,Wolfgang Ostwald理论^[44]对这一动力学行为进行了解释:在结晶过程中,先形成热力学不稳定项(对应高表面能晶面),然后阶段性突破能垒形成稳定相,这一动力学晶型转变的顺序与热力学稳定性的增加是一致的,取决于中间产物的稳定性、溶解性及在不同环境下的成核活化自由能等,与热力学对晶貌的调控类似,这些因素都与生物有机质密切相关。

钙华的形成常常是各种因素协同作用的结果。整个过程是在分子水平上晶体成核和生长的精细控制。本文将碳酸钙晶体的生长概括为二条途径四个阶段:

第一条途径:小分子有机质(小分子有机酸、氨基酸、单糖)对晶体形貌的调控途径。首先第一阶段小分子的预组织,生物活动或代谢产生小分子有机

质,小分子有机质通过静电作用吸附钙离子(碳酸钙离子),进而吸附碳酸钙离子(钙离子),局部形成碳酸钙的过饱和溶液,从而形成预成核离子团簇(PNCs),PNCs聚集形成无定形碳酸钙(ACC)。其次进入第二阶段界面小分子识别,小分子有机质在界面处通过自身物理化学特性(晶格几何特征、静电相互作用、极性、立体化学互补、氢键相互作用、空间对称性及有机基质形貌等方面)诱导形成晶核,并进一步生长形成纳米晶体。该阶段为动力学调控阶段,决定产物的晶型,如琥珀酸诱导产生球霏石纳米晶体,D-葡萄糖诱导产生文石纳米晶体,L-苯丙氨酸诱导产生方解石纳米晶体。第三个阶段为生长调控,小分子有机质根据自身特性选择性吸附在纳米晶体特定晶面,从而降低该晶面的表面能,诱导产生各种形貌的碳酸钙介观晶体,该阶段为热力学控制阶段。第四阶段为外延生长阶段,介观晶体大分子有机质(模板作用)或细胞的调控下,组装形成微米级球状、片状晶体、针状、管状、块状和棒状晶体。需要说明的是,第二阶段热力学对晶型的调控也起到了重要的作用,碳酸钙的沉积通常至少需要三步,首先形成热力学最不稳定的无定形碳酸钙,接着依次转化为热力学不稳定球霏石、文石,最后形成稳定方解石。而小分子有机质根据自身特性选择性地与不同晶型的碳酸钙结合,稳定其构型,使其成为最终晶型。

第二条途径:大分子有机质(多糖和蛋白质)对晶体形貌的调控途径。该途径与小分子有机质途径类似,区别在于第一和二阶段。首先第一阶段为大分子的预组装,大分子有机质自身或自组装形成矿化模板,并通过静电作用诱导形成局部碳酸钙的过饱和溶液,进一步形成无机矿物前驱体无定形碳酸钙(ACC);第二阶段为界面大分子识别,已形成的有机大分子组装体根据晶格几何特征,通过静电相互作用、极性、立体化学互补、氢键相互作用、空间对称性及形貌等方面作用使无定形碳酸钙(ACC)有序化,进一步形成特定的晶体。第三个阶段为生长调控,大分子有机质根据自身特性选择性吸附在纳米晶体特定晶面,从而降低该晶面的表面能,诱导产生各种形貌的碳酸钙介观晶体,该阶段为热力学控制阶段。第四阶段与小分子途径相同。

此外,碳酸钙结晶通常是在复杂的环境中进行,体系一般既具有小分子有机质,也有大分子有机质,因此,成核的调控过程通常是上述两条途径的综合。

4.2 钙华体沉积规律

生物钙华沉积是自然体系下水化学、温度、气候和生物等环境因子协同调控的结果。本文对比野外钙华调研及实验室模拟研究,从晶体生长、矿物组分与结构和生物诱导矿化方面对地表钙华体沉积规律进行分析发现钙华沉积过程的微观形貌,以生物活动产生的有机物作为基质形成一层棱角清晰,结构较完整的致密亮晶方解石;在此基础上又形成疏松的由泥晶和微亮晶构成的隐晶方解石,其存在部分完整的晶体结构,但碎屑含量较高,棱角不清晰。另外,在生物含量较多钙华样品中找到的晶体最小单元为纳米尺寸的近球状方解石微晶,多出现在藻壁等边缘处。结合生物矿化非典型晶体生长理论,推测生物参与下的钙华由纳米晶体团聚形成聚合体,在有机或无机基质上形成介观晶体,介观晶体在有机物的调控作用下定向生长,逐渐形成边界清晰的多面体或更大尺寸的不规则多面体(三角架形和鱼鳞形)。这些微纳米级新生颗粒与微米级的微生物、毫米级以上的集合体及生物体通过构筑堆积作用,在地表形成一定形状与强度的钙华宏观沉积物,其沉积形貌受基质影响,表现为蠕虫状,丛状,礁状等。而后通过历史积累,逐渐形成了现在的多介质—多尺寸—多构筑单元的地表钙华体。

5 结论与展望

从上述黄龙—九寨沟现代钙华纳米结晶特征、纳米钙华的生长和集合体形态、生物有机质对钙华生长和形貌的调控原因分析可以看出:

(1)现代钙华纳米结晶体是微观环境及物理、化学和生物协同作用的结果,钙华形成大量不同形状的碳酸钙微观结构,如片状、柱状、针状、粒状与管状等,且其单晶体尺寸集中于100 nm以内。各种形态的尺寸的碳酸钙的集合体是构筑钙华体的基本单元;

(2)从分子水平到介观水平,生物活动及代谢过程产生的有机组分对碳酸钙晶体形貌、尺寸、取向、晶型以及排列等进行调控,其中有机酸一定程度上抑制碳酸钙的沉积,诱导形成棒状方解石或球霏石;氨基酸和单糖促进碳酸钙的沉积,诱导形成多面体方解石或簇状文石;蛋白质和多糖等大分子有机质通过静电作用,晶格匹配和模板作用调控碳酸钙晶体型貌,可诱导形成球状、串珠状、珊瑚状等形貌以

文石为主的碳酸钙晶体;

(3)微纳米钙华的形成过程是在分子水平上晶体的成核和生长的精细控制,在纳米尺度生物活动和代谢产物对钙华成核、生长及钙华晶体形貌的调控为两途径四阶段机制。微纳米级新生颗粒与微米级的微生物、毫米级以上的集合体及生物体通过构筑堆积作用,逐渐形成多介质—多尺寸—多构筑单元的地表钙华体。

由于钙华沉积通常在复杂的环境中进行,其形成并非被单一生物活动或有机质控制,大多数情况下气候环境、地质背景、水的物理化学性质等因素对其控制和影响更大,众多影响因素的集合更贴近真实钙华的形成环境。因此,复杂环境下微纳米碳酸钙晶体的精确调控机制及钙华沉积机理仍不明确,还需进一步探索。

参考文献

- [1] R. Sandya Rani, Moumita Saharay. Molecular dynamics simulation of protein mediated biomineralization of amorphous calcium carbonate[J]. RSC Adv., 2019, 9:1653-1663.
- [2] Wei Li, Liping Liu, Weishan Chen, et al. Calcium carbonate precipitation and crystal morphology induced by microbial carbonic anhydrase and other biological factors[J]. Process Biochemistry, 2010, 45:1017-1021.
- [3] Pouget EM, pH Bomans, JACM Goos, et al. The initial stages of template-controlled CaCO_3 formation revealed by cryo-TEM[J]. Science, 2009, 5920(323):1455-1458.
- [4] Ozaki N, Sakuda S, Nagasawa H. A novel highly acidic polysaccharide with inhibitory activity on calcification from the calcified scale "coccolith" of a coccolithophoridalga, *Pleurochrysis haptanemofera*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 357:1172-1176.
- [5] Hayashi S, Ohkawa K, Suwa Y, et al. Fibrous and helical calcite crystals induced by synthetic polypeptides containing O-phospho-L-serine and O-phospho-L-threonine [J]. Macromol Biosci, 2008, 8:46-59.
- [6] 汪智军,殷建军,蒲俊兵,等. 钙华生物沉积作用研究进展与展望[J]. 地球科学进展, 2019, 34(6):606-617.
- [7] Tong H, Ma W T, Wang L L, et al. Control over the crystal phase, shape, size and aggregation of calcium carbonate via a L-aspartic acid inducing process[J]. Biomaterials, 2004, 25:3923-3929.
- [8] Li Tianxiao, Hu Yulan, Zhang Bingjian. Biomineralization induced by *colletotrichum acutatum*: A potential strategy for cultural relic bioprotection[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9:1884-1892.
- [9] Yang Mingjun, Stipp SLS, Harding J. Biological control on

- calcite crystallization by polysaccharides [J]. *Crystal Growth & Design*, 2008, 8(11): 4066-4074.
- [10] 王建萍, 李琼芳, 董发勤, 等. 3 种常见细菌胞外特征有机酸对方解石的溶蚀研究[J]. *岩石矿物学杂志*, 2015, 34(3): 387-392.
- [11] 陈超, 李琼芳, 张清明, 等. 低温环境下两种氨基酸对碳酸钙矿化影响的研究[J]. *高校地质学报*, 2017, 23(4): 606-614.
- [12] 于璐嘉, 李琼芳, 陈超, 等. 黄龙嗜冷细菌两种胞外单糖对碳酸钙矿化影响[J]. *岩石矿物学杂志*, 2018, 37(3): 395-403.
- [13] 李琼芳, 何鑫, 陈超, 等. 两株嗜冷碳酸钙矿化菌对大理石表面修复效果研究[J]. *人工晶体学报*, 2018, 47(1): 172-178.
- [14] 李琼芳, 董发勤, 李骐言, 等. 柠檬酸对黄龙碳酸钙矿化影响的模拟实验研究[J]. *岩石矿物地球化学通报*, 2015, 34(2): 294-300.
- [15] 张文静, 李琼芳, 张存凯, 等. 嗜冷型产碳酸酐酶菌对碳酸钙沉积的影响[J]. *环境科学与技术*, 2016, 39(3): 1-5.
- [16] 刘明学, 董发勤, 孙仕勇, 安德军, 易伟, 等. 黄龙钙华水体藻多样性及分布规律研究[J]. *环境科学与技术*, 2013, 36(1): 182-186.
- [17] 李刚. 高原冷水环境黄龙典型硅藻的钙华复合沉积作用研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2018.
- [18] 张存凯. 黄龙藻类群落结构分析及优势类群对碳酸钙沉积的影响[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2017.
- [19] 李华举, 廖长君, 姜殿强, 等. 钙华沉积机制的研究现状及展望[J]. *中国岩溶*, 2006, 25(1): 57-62.
- [20] De Yoreo J J, Gilbert P U, Sommerdijk N A, et al. Crystallization by particle attachment in synthetic, biogenic, and geologic environments[J]. *Science*, 2015, 349: 6760.
- [21] Greer H, Zhou W, Guo L. Reversed Crystal Growth of Calcite in Naturally Occurring Travertine Crust [J]. *Crystals*, 2017, 7(2): 36.
- [22] Pedley M. The morphology and function of thrombotic calcite precipitating biofilms: A universal model derived from freshwater mesocosm experiments[J]. *Sedimentology*, 2014, 61(1): 22-40.
- [23] Jones B, Renaut R W. Modern Travertine Precipitation At L'Ysuhóll Hot Springs, L'Ysuhóll, Iceland: Implications For Calcite Crystal Growth[J]. *Journal of Sedimentary Research*, 2017, 87(11): 1121-1142.
- [24] 党政. 九寨沟核心遗产点震后应急监测及修复可行性研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2019.
- [25] Jones B. Review of aragonite and calcite crystal morphogenesis in thermal spring systems[J]. *Sedimentary Geology*, 2017, 354: 9-23.
- [26] Manzo E, Perri E, Tucker M E. Carbonate deposition in a fluvial tufa system: processes and products (Corvino Valley-southern Italy)[J]. *Sedimentology*, 2012, 59(2): 553-577.
- [27] Lara Štajner, Jasminka Kontrec, Branka Njagic, Dz. ˇ akula, et al. The effect of different amino acids on spontaneous precipitation of calcium carbonate polymorphs[J]. *Journal of Crystal Growth*, 2018, 486: 71-81.
- [28] Pokrovsky O S, Golubev S V, Jordan G. Effect of Organic and Inorganic Ligands on Calcite and Magnesite Dissolution Rates at 60°C and 30 atm pCO₂[J]. *Chem. Geol.* 2009, 265: 33-43.
- [29] 李骐言, 李琼芳, 代群威, 等. 黄龙嗜冷细菌胞外琥珀酸组分对碳酸钙矿化的影响[J]. *岩石矿物学杂志*, 2013, 32(6): 773-781.
- [30] Xie A J, Shen Y H, Zhang C Y, et al. Crystal growth of calcium carbonate with various morphologies in different amino acid systems[J]. *Journal of Crystal Growth*, 2005, 285(3): 436-443.
- [31] 李骐言. 2 株黄龙嗜冷细菌胞外产物对碳酸钙矿化的影响[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2014.
- [32] Pan Y, Zhao X, Sheng Y, et al. Biomimetic synthesis of dendrite-shaped aragonite particles with single-crystal feature by polyacrylic acid [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2007, 297(1-3): 198-202.
- [33] Fernández-Remolar D C, Preston L J, Sánchez-Román M, et al. Carbonate Precipitation under Bulk Acidic Conditions as a Potential Biosignature for Searching Life on Mars [J]. *Earth Planet. Sci. Lett.* 2012, 351-352: 13-26.
- [34] Hunter G K, O'Young J, Grohe B, Karttunen M, Goldberg H A. The Flexible Polyelectrolyte Hypothesis of Protein-biomaterial Interaction[J]. *Langmuir*, 2010, 26, 18639-18646.
- [35] Cheng C, Yang Y H, Chen X, et al. Templating effect of silk fibers in the oriented deposition of aragonite [J]. *Chemical Communications*, 2008: 5511-5513.
- [36] 史家远, 姚奇志, 周根陶. 硅藻细胞壁硅化过程中有机质-矿物的相互作用[J]. *高校地质学报*, 2011, 17(1): 76-85.
- [37] Yang L, Zhang X Y, Liao Z J, et al. Interfacial molecular recognition between polysaccharides and calcium carbonate during crystallization[J]. *J Inorg Biochem*, 2003, 97: 377-383.
- [38] 杨林, 丁维嘉, 安英格, 等. 以葡聚糖为模板控制合成文石型碳酸钙[J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(8): 1403-1406.
- [39] 王旭辉, 董发勤, 李琼芳, 等. 多组分有机质作用下碳酸钙的矿化现象[J]. *岩石矿物学杂志*, 2020, 39(3): 291-297.
- [40] Takahashi K, Doi M, Kobayashi A, et al. Formation of 6-, 7- or 8-membered ring intra-side-chain NHO hydrogen bond toward Ca-binding oxyanion in poly (allylaminocarboxylate) ligands stabilizes CaCO₃ vaterite crystals[J]. *Journal of Crystal Growth*, 2004, 263(1-4): 552-563.
- [41] Yang Qianqian, Nan Zhaodong. Growth of vaterite with novel morphologies directed by a collodion membrane [J]. *Materials Research Bulletin*, 2010, 45(12): 1777-1782.
- [42] Meldrum F C, Colfen H. Controlling Mineral Morphologies and Structures in Biological and Synthetic Systems [J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108: 4332-4432.
- [43] 马在强. 碳酸钙晶型调控及机理研究[D]. 大庆: 东北石油大学, 2019.
- [44] Mann S. *Biomaterialization Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*[M]. New York: Oxford University Press, 2001.

Preliminary study on nanometer growth process and regulatory mechanism of travertine nonclassical deposition— A case study of travertine in Jiuzhaigou valley and Huanglong region

DONG Faqin^{1,2}, ZHENG Fei^{1,2,3}, DAI Qunwei², LI Qiongfang⁴, CHEN Yuheng^{1,2}, LIU Mingxue⁴,
JIANG Zhongcheng⁵, ZHANG Qiang⁵, LI Bowen⁶, Alper BABA⁷, Plenkovc—MorajAndelka⁸

(1. Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle, Ministry of Education, Mianyang, Sichuan 621010, China; 2. School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 3. Xichang University, Xichang, Sichuan 615000, China; 4. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 5. Institute of Karst Geology, CAGS, Guilin, Guangxi 541004, China; 6. Department of Materials Science and Engineering, Michigan Technological University, Houghton 49931, MI USA; 7. Izmir Institute of Technology, Engineering Faculty, Department of International Water Resources, TR-35430 Izmir, Turkey; 8. Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia)

Abstract Travertine is one of the important karst carbonate precipitates in nature, and its formation process is often affected by life activities. Clarifying the role of travertine biodeposition can help to better understand the climatic and environmental implications of travertine petrographic and geochemical characteristics. Taking travertine in Jiuzhaigou and Huanglong region as example, the characteristics of modern travertine nanocrystalline, the growth and aggregate morphology of travertine in Huanglong and Jiuzhaigou are described. The reasons for the regulation of the growth and morphology of travertine by biological organic matter in simulated experiments was analyzed, and the two-way and four-stage mechanism of biological activity and metabolites regulating the nucleation, growth and crystal appearance of travertine crystals was revealed. This paper is of great scientific value to explore the cause of the formation of travertine, the regulation mechanism of the growth of calcium carbonate, the degradation factors of travertine, and the protection and sustainable utilization of the travertine landscape.

Key words nano travertine, nonclassical deposition, metabolic activity, morphology and polymorphs, regulatory mechanism

(编辑 张玲)