超高压作用下扇贝连接界面结构变化实验研究

巩雪

(哈尔滨商业大学,哈尔滨 150028)

摘要:目的 为探究超高压的脱壳机理,对超高压作用下扇贝连接界面贝壳的结构变化进行研究,旨在 为超高压技术的工业化生产提供基础理论。方法 利用傅里叶变换红外光谱和扫描电镜,对不同超高压 力作用下扇贝界面贝壳的矿物质和蛋白质结构进行分析。结果 扇贝壳中的矿物质结构在超高压作用下 比较稳定,贝壳中和贝壳内表面的有机质结构变化比较显著,红外光谱各特征峰的强度也出现了明显差 异,有机质二级结构中的α-螺旋、β-折叠、β-转角和无规则卷曲结构的含量也有所不同,特别是在 200 MPa 的压力作用下,α-螺旋结构的含量达到最低(质量分数为 20.12%)、β-折叠结构的含量达到了最高(质 量分数为 41.81%),这使得有机质的弹性减小,改变了扇贝壳与闭壳肌连接处的界面状态;通过分析不 同压力作用下扇贝内表面微观结构,发现在扇贝内表面存在的有机质膜发生连续性改变,引起连接界 面的应力分布不均匀,降低了连接界面强度,导致扇贝闭壳肌与贝壳的连接界面失效。结论 通过研究 超高压作用下扇贝壳连接界面的结构变化,为进一步明晰超高压的脱壳机理和作用机理提供一定的研 究基础。

关键词: 扇贝; 超高压; 贝壳; 结构变化; 微观结构 中图分类号: TS254.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2021)21-0019-06 DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.21.003

Experimental Study on Structural Change of Scallop Shell Connecting Interface under Ultra High Pressure

GONG Xue

(Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

ABSTRACT: The work aims to explore the shelling mechanism of ultra-high pressure and study the structural changes of scallop shell connecting interface under ultra-high pressure to provide basic theory for industrial production of ultra-high pressure technology. The structure of mineral and organic matter in scallop shell under different ultra-high pressure was analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). The results showed that the mineral structure in scallop shell was relatively stable under ultra-high pressure, but the structure of organic matter in shell and inner surface changed significantly. The intensity of each characteristic peak of infrared spectrum also had obvious difference. The contents of α -helix, β -fold, β -turn and irregular curl in the secondary structure of organic matter were also different. Especially under 200 MPa, the content of α -helix was the lowest, 20.12%; and the content of β -fold was the highest, 41.81%. This made the elasticity of organic matter decrease and changed the status of interface between shell and adductor muscle. Analysis on micro-structure of inner surface of scallop shell under different pressure showed

收稿日期: 2021-04-21

基金项目:"十三五"国家科技支撑计划(2016YFD0400301)

作者简介: 巩雪 (1981-), 女, 博士, 哈尔滨商业大学副教授, 主要研究方向为农产品保鲜包装技术及装备智能化。

that the continuity of the organic plasma membrane on the inner surface of scallop was changed, which made the stress distribution of the interface uneven and reduced the strength of the connecting interface, resulting in the failure of the interface between the adductor muscle and the shell. The study of the structural changes of scallop shell interface under ultra-high pressure can provide a certain research basis for further clarifying the shelling mechanism and even the action mechanism of ultra-high pressure.

KEY WORDS: scallop; ultra-high pressure; shell; structural change; micro-structure

扇贝是通过闭壳肌将两侧贝壳连接形成的整体, 贝壳是用来保护它内部的闭壳肌及其他软组织的坚 硬外壳^[1-3]。由于贝壳具有良好的生物相容性和优异 的力学性能,因此一直以来都是生物材料和仿生材料 的研究热门。扇贝壳由 95%以上的碳酸钙晶体经过分 层堆叠组装而成,在堆叠结构的间隙还存在少量可以 指导贝壳碳酸钙晶体形成有序纳米结构的基质蛋白 和几丁质等有机物质。这些物质通过无机相-有机相 之间的分子识别连接在一起,得到了这种全天然的分 子级甚至是纳米级的聚合体,并给予了扇贝壳超强的 强度和韧性。在超高压处理过程中,扇贝壳结构的变 化会引起扇贝连接界面力学性能的变化,因此,分析 研究扇贝壳结构在超高压作用下的变化对深入研究 扇贝脱壳机理具有比较深远的意义。

1 实验

1.1 准备

1.1.1 材料

选择渤海笔架山海域盛产的海湾扇贝,购于渤海 大学附近的海鲜市场,在购买时,尽量挑选大小相近 的扇贝,以减小实验误差,扇贝平均质量为(50±5)g, 最长轴直径约为(92±5)mm。

1.1.2 预处理

将清洗后的扇贝装入盛有淡盐水的聚乙烯袋中 密封,并置于天津华泰森淼公司的 HPP.L2-600 超高 压设备密闭腔室中,分别施加 100,200,300 MPa 的压力。将处理完毕的扇贝的贝壳与闭壳肌分离,分 别记录后,封存备用。

1.2 方法

1.2.1 傅里叶变换红外光谱分析

用消毒后的不锈钢手术刀在贝壳后闭壳肌痕位 置的表面刮取红外光谱分析所需的样品,将刮取得到 的粉末置于玛瑙研钵中研磨,得到直径≤200目的粉 末样品,以1:100的质量比,与细化的溴化钾粉末 继续在研钵中混合均匀,放入模具内制成压片,放入 中国岛津生产的 IR Tracer100 傅里叶变换红外光谱仪 中,设定扫描范围为 400~4000 cm⁻¹,扫描频率为 4 cm⁻¹,扫描次数为 32^[4-5]。

1.2.2 扫描电镜分析

将贝壳在后闭壳肌痕位置剖开,将贝壳内表面用 去离子水清洗,并进行超声处理,以保证内表面的清 洁。清洗干燥,并进行喷金处理后^[6],置于日本日立 公司的 S-4800 场发射扫描电镜下,对贝壳的内表面形 貌进行获取,分析超高压处理对贝壳微观结构的影响。

2 结果和分析

2.1 超高压力作用下扇贝界面贝壳的红外 光谱分析

经过不同超高压条件处理的扇贝壳粉末被提取 制成压片后,分别进行傅里叶变换红外光谱分析,得 到了相同保压时间条件下,不同超高压力条件下的傅 里叶红外光谱图,见图 1。



图 1 超高压作用下扇贝界面贝壳结构红外光谱 Fig.1 Infrared spectra of scallop shell interface structure under ultra-high pressure

由图 1 可知, 经过 FTIR 分析, 在扇贝壳的红外 光谱中展现了 8 个比较明显的特征峰。虽然实验条件 不同, 但扇贝壳特征峰值的出现位置基本都 在 707.88,864.11,1074.35,1473.61,1789.94,2355.08, 2519.03, 2927.94 cm⁻¹ 附近, 参考 DAUPHIN^[7]、 BALDAUF N A^[8]和 GANG L^[9]等的研究结果,游离态 的 CO₃²⁻阴离子为 D3h 点群对称的正三角形构型, 在 红外光谱中可分别观察到在 1473 cm⁻¹处的反对称伸 缩振动 v₃、在 1074 cm⁻¹处的对称伸缩振动 v₁、在 864 cm^{-1} 处的面外弯曲振动 v_2 和在 707 cm^{-1} 处的剪式面 内弯曲振动 v_4 等 4 种振动峰。当超高压力变化时, 扇贝壳的 FTIR 光谱强度出现了不同程度的变化。

由图 1 可知, 红外光谱除了明确体现出碳酸钙晶体所具有的 4 个明显峰值外, 在 3435, 2927, 2519, 2355, 1789 cm⁻¹处还出现了属于蛋白质和几丁质的特征峰, 这说明在扇贝壳中还存在少量有机质。各红外特征峰、官能团和相应结构^[10]见表 1。

Tab.1 Chai	racteristic peaks of infrared spectra a	nd
表 1	红外光谱特征峰与相应结构分析	

.

序号	特征峰波数/ cm ⁻¹	官能团	对应结构
1	3435	N—H	伸缩振动
2	2927	—CH3—	反—CH3对称伸缩 振动
3	2519	—SH—	—SH 伸缩振动
4	2355	0=C=0	反对称伸缩振动
5	1789	C=0	C=O伸缩振动
6	1473	0=C=0	CO32-反对称伸缩振动
7	1074	0=C=0	CO3 ²⁻ 对称伸缩振动
8	864	0=C=0	CO32-面外弯曲振动
9	707	0=C=0	CO32-面内弯曲振动

由图 1 和表 1 可知,在扇贝壳中出现了 v_1-v_4 的完整峰型^[11],由此可知,扇贝壳的无机相主要为碳酸钙晶体^[12]。由扇贝壳红外光谱图可知,1473 cm⁻¹处的 v_3 特征峰的峰型最宽且强度极大,与其他位置吸收峰相比,显得不那么尖锐,说明1473 cm⁻¹位置的吸收峰可能由有机质和无机质这 2 部分的振动叠加产生^[13],864 cm⁻¹处的 v_2 振动峰峰型比较尖锐,707 cm⁻¹的 v_4 和 1074 cm⁻¹处的 v_1 特征峰峰值和峰宽均较小。在同一保压时间条件下,经过不同超高压处理后,扇贝壳的红外光谱特征峰的数量和位置未发生改变,这说明扇贝壳的结构在超高压作用下未发生变化,同一特征峰的吸收强度发生了一定的变化。

在 864 cm⁻¹处的 v_2 和 1473 cm⁻¹处的 v_3 吸收峰随 着压力的升高呈现先减小后增大的趋势,在 707 cm⁻¹ 处的 v_4 和 1074 cm⁻¹处的 v_1 吸收峰随着压力的升高逐 渐减小,并且压力越高,减小的程度越不明显。综上 所述,在一定时间范围内,当压力逐渐增大时,碳酸 钙晶体在 707 cm⁻¹处的剪式面内振动吸收峰 v_4 和 1074 cm⁻¹处的对称伸缩振动吸收峰 v_1 随着压力升高 而减弱,说明这 2 种振动强度被削弱,当实验条件为 300 MPa 下保持 3 min 时,这 2 种振动强度开始加强; 对于 864 cm⁻¹处的面外弯曲振动吸收峰 v_2 和 1473 cm⁻¹处的反对称伸缩振动吸收峰 v_3 的强度随着压力 的增大而逐渐减小,且相较于未处理试样,吸收峰明 显减小,说明在超高压处理过程中,超高压力对晶体振动强度的影响比较明显,且在处理过程中 Ca²⁺出现沉降现象,导致吸收峰减小,形成体积比较小的针状 文石结构,从而使沉积物组织变得更加疏松^[14]。

扇贝壳的红外图谱在 3435, 2927 cm⁻¹处出现了 2 个吸收峰,分别代表 N—H 伸缩振动和—CH₃反对称伸缩振动,说明在扇贝壳中除了有碳酸钙以外,还 有少量的蛋白质;此外,在 2927, 2519 cm⁻¹处也出 现了 2 个吸收峰,这 2 个区域分别代表 N—H 的伸缩 振动和—SH 反对称伸缩,推测这 2 个吸收峰的出现 是由贝壳中存在的少量几丁质成分产生^[15]。虽然当实 验条件发生变化时,吸收峰出现的位置并未发生偏 移,但在不同的处理条件下,吸收峰的强度有明显的 变化。

在 2927 cm⁻¹处的—CH₃反对称伸缩振动吸收峰随着压力的增加,强度逐渐减弱,这说明超高压作用使—CH₃的分子极性降低。在 3435,2519,1789 cm⁻¹处表征的各官能团的吸收峰强度随着压力的增加呈现先减弱后增强的趋势,当实验压力为 300 MPa时,原本减弱的分子极性在高压作用下又逐渐增强,分子极性也随之产生了不同的变化,在 2355 cm⁻¹处的吸收峰随着压力的增大而逐渐减弱,相较于未处理的扇贝壳该处的红外吸收峰,有非常明显的增大,说明超高压力作用明显提升了 O—C—O 的振动强度,提高了分子的极性。

综上所述,在贝壳中除了含有较大比重的无机成 分以外,还富含有机成分,有机成分中带有负电荷的 水溶蛋白对 Ca²⁺具有非常强的吸附能力,能够与 CO₃²⁻中的氧原子结合成为氢键。蛋白质中呈现缠绕、 卷曲或转角结构的氨基酸在连接有机质和 CaCO₃ 晶 体时起到了至关重要的作用。超高压力作用对扇贝壳 中包含的无机成分和有机质各官能团的振动强度有 较大影响,这些变化可能对扇贝壳和闭壳肌的界面失 效产生一定的影响,能够为研究扇贝脱壳机理提供一 定的理论依据。

2.2 超高压作用下扇贝界面贝壳蛋白质二 级结构变化

在扇贝壳中含有少量的有机质,主要是蛋白质和 几丁质。虽然蛋白质特别是基质蛋白在贝壳中的含量 不高,但对 CaCO₃ 晶体的成形和生长起到了调控作 用,同时也赋予了贝壳优异的力学性能^[16-18]。贝壳 中的几丁质与基质蛋白形成的"三明治"网格结构是 贝壳构建结构框架的基础^[19-20]。贝壳中的基质蛋白 可分为可溶基质蛋白和不可溶基质蛋白,通过分析, 超高压作用对蛋白质分子极性的影响比较明显,能够 提高蛋白质的溶解性,与碳酸钙晶体中的无机质结 合,形成新的氢键,从而对扇贝壳中 CaCO₃ 晶体的 定向生长和转换进行控制。同时不溶基质蛋白成为贝 壳的框架[21-22]。

为了进一步对扇贝壳的 FTIR 光谱图进行归属和 分析,参考 Surewicz 等^[23]的方法,扇贝壳在 1689 cm⁻¹ 处出现了对蛋白质二级结构变化比较敏感的 C==O 振动伸缩,在酰胺I带利用 Peakfit4.12 软件、去卷积 和二阶求导的方法进行分峰,并利用 Gauss 函数进行 拟合,计算出各个子峰的面积和扇贝壳中蛋白质二级 结构的含量^[24],蛋白质酰胺I吸收带中各子峰归属的 研究结果表明,1650~1658 cm⁻¹是 α -螺旋的吸收带, 1610~1640 cm⁻¹是 β -折叠,1660~1700 cm⁻¹是 β -转角, 1640~1650 cm⁻¹为无规则卷曲^[25],根据实验测得的扇 贝界面贝壳的红外光谱,对不同超高压处理条件下的 红外光谱数据进行分析,得到在超高压作用下扇贝界 面贝壳有机质二级结构的变化规律,见图 2。



图 2 不同超高压力作用下扇贝壳有机质二级结构 质量分数变化



由图 2 可知,在实验压力为 100, 200 MPa 时, 扇贝界面贝壳蛋白质二级结构中的 α-螺旋含量明显 降低, β-折叠的含量也相应增加, β-转角的含量也明 显降低, 无规则卷曲含量增大, 说明在 100, 200 MPa 的实验压力下,蛋白质肽链间的氢键被破坏,导致α-螺旋伸长, α -螺旋结构逐渐消失, β -折叠的含量随着 氢键被破坏而增加,作为 α -螺旋和 β -折叠连接结构 的 β -转角的含量也由于 α -螺旋含量的减少而降低。 由于无规则卷曲的含量在 200 MPa 时也达到最大 (27.66%,均以质量分数计),比初始值提高 了 7.26%, 比 100 MPa 时提高了 17.32%, 这说明压 力升高到 200 MPa 时, 蛋白质结构被破坏得比较严 重,无规律的松散肽链结构增多,蛋白质发生变性。 当压力升高到 300 MPa 时, α-螺旋的含量又出现了回 升, β -折叠的含量降低, β -转角的含量也随着 α -螺旋 含量的增加而增大。这可能是由于超高压力保持较长 时间时,蛋白质还没有发生不可逆变性,在该实验条 件下,肽链间的氢键发生复性反应,使得蛋白质中的 α-螺旋结构含量增大。

综上所述,在保压时间相同的条件下,超高压力 的变化对扇贝界面贝壳的蛋白质二级结构有比较显 著的影响,特别是当压力为 200 MPa 时,蛋白质中的 α-螺旋含量最小,β-折叠的含量最高,贝壳蛋白质结 构最舒展,生物活性降低,与有机质间的相互作用被 减弱,这对扇贝的脱壳会起到至关重要的作用。

2.3 超高压作用对扇贝壳微观结构的影响

2.3.1 未处理扇贝界面贝壳内表面微观结构

经过不同超高压处理的扇贝壳与闭壳肌分离后, 利用去离子水和超声波对扇贝壳的内表面进行清洗, 以保证扇贝内表面的洁净,再对扇贝内表面进行喷金 导电处理后,置于场发射扫描电镜下进行观察^[26-27], 并与未处理的扇贝内表面结构进行对比,未处理扇贝 内表面的微观结构见图 3。



图 3 未处理扇贝界面贝壳内表面微观结构 Fig.3 Micro-structure of inner surface of untreated scallop shell interface

由图 3 可知,扇贝壳表面并不十分光滑,有很多 凸凹不平的结构,这些结构很可能是在贝壳与闭壳肌 之间进行连接的有机膜结构;凸凹不平的表面可以增 加贝壳与闭壳肌连接时的表面摩擦力,增加界面强 度;在贝壳内表面可以清晰地看到少量直径约为 0.7 μm 的小孔,这些小孔很有可能是生长在贝壳内部的 部分闭壳肌纤维在脱壳后被拔出留下的,这些小孔将 贝壳与闭壳肌纤维的连接应力进行分散,避免产生应 力集中现象,这也增大了扇贝壳与闭壳肌界面的连接 强度。

2.3.2 不同超高压作用下扇贝界面贝壳内表面微观 结构变化

将清洗干净并经过预处理的扇贝在超高压设备 中进行加压,在100,200,300 MPa 的超高压力下加 压 3min,取出并剥离后进行扫描电镜测定,得到不 同超高压条件下扇贝闭壳肌痕位置贝壳(界面贝壳) 内表面的微观结构,见图 4。



a 100 MPa

b 200 MPa

c 300 MPa



由图 4 可知,扇贝闭壳肌痕处的贝壳内表面结构 变化也比较明显,当实验压力为 100 MPa 时,原本保 持连续均匀的有机质膜也开始变得集中,说明膜的连 续介质状态被改变,在界面位置出现了应力集中,使 得扇贝脱壳的难度降低;当实验压力继续升高至 200 MPa 时,蛋白质表面分散的结构逐渐增多,并且分散 程度逐渐增大,这可能是由游离的蛋白质氨基酸残 基侧链在压力作用下由"包埋态"转变为"暴露态"引 起,蛋白质变性导致有机质膜对有机相-无机相的粘 合强度降低,扇贝脱壳变得更加容易;当实验压力 增加到 300 MPa 时,蛋白质氨基酸残基暴露和分散 的程度比 200 MPa 时有所加剧,在这个加工条件下, 扇贝脱壳过程更加轻松和彻底,达到了完整脱壳的 目的。

综上所述,扇贝闭壳肌痕处的贝壳内表面结构 在不同超高压加工条件下会产生非常显著的变化, 这一结构变化主要表征贝壳内表面介于无机相和 有机相之间的有机膜结构,这层透明有机膜的结 构变化导致扇贝界面力学特性的变化和结合力 减弱。

3 结语

研究了超高压作用下扇贝界面位置贝壳的矿物 质和有机质的结构变化。结果表明,虽然扇贝界面 贝壳在超高压作用下保持比较稳定的文石结构,但 少量 Ca²⁺沉积使矿物质松散,蛋白质在超高压作用 下二级结构发生变化,在200 MPa的超高压力下, 蛋白质中的 α-螺旋含量最小,β-折叠的含量最高, 贝壳蛋白质结构最舒展,生物活性降低,与有机质 间的相互作用被减弱,降低了扇贝闭壳肌与贝壳之 间的界面能和结合力;在扇贝壳的内表面有一层很 薄的有机质膜,这层有机质膜很有可能起到了连接 无机质和有机质的作用,在超高压作用下,随着有 机质膜蛋白质变性程度的加剧,界面原本均布的应 力被集中,导致某一处甚至某几处位置出现应力集 中现象,应力集中的位置越多、作用越明显,界面 失效的程度也越大。

参考文献:

- LIAN P Z, LEE C M, HUFANGEL L. Phisicochemical Properties of Frozen Red Hake(Urophycis Chuss)Mince as Affected by Cryoprotective Ingredients[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(7): 1117-1123.
- [2] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W C, THONGKAEW M T. Comparative Study on Physic Chemical Changes of Muscle Proteins from Some Tropical Fish during Frozen Storage[J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787–795.
- [3] MICHALCYZK M, SUROWKA K. Changes in Protein Fractions of Rainbow Trout(Oncorhynchus Mykiss)Gravads during Production and Storage[J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1006-1013.
- [4] 李亦易, 邹烨, 李冬敏, 等. 红外光谱法定量分析蛋白二级结构研究中水汽影响的评估[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2012, 32(6): 608—612.
 LI Yi-yi, ZOU Ye, LI Dong-min, et al. Evaluation of Water Vapor Effect on the Quantitative Analysis of Protein Secondary Structure by FTIR[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2012, 32(6): 608—612.
- [5] 赵鲁苹,徐焕志,陈东,等. 厚壳贻贝贝壳的微结构及光 谱分析[J]. 浙江大学学报(理学版), 2015, 42(3): 339—346. ZHAO Lu-ping, XU Huan-zhi, CHEN Dong, et al. Microstructure and Spectral Analysis of *Mytilus Corusus* Shell[J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2015, 42(3): 339—346.
- [6] 王新星,高鹏,鲍林飞,等.地中海贻贝贝壳肌棱柱 层蛋白质组学分析[J].浙江海洋学院学报(自然科学版), 2015, 34(5): 444—451.
 WANG Xin-xing, GAO Peng, BAO Lin-fei, et al. Proteomic Analysis of Myostracum of *Mytilus Galloprovincialis* Shell[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2015, 34(5): 444—451.
- [7] DAUPHIN Y. Infrared Spectra and Elemental Composition in Recent Biogenic Calcites: Relationships Between the v₄ Band Wave Length and Sr and Mg Concentrations[J]. Appl Spectrom, 1999, 53(2): 184–190.

[8] BALDAUF N, RODRIGUEZROMO L, MANNIGA, et

al. Effect of Selective Growth Media on the Differentiation of Salmonella Enterica Serovars by Fourier Transform Mid-Infrared Spectroscopy[J]. J Microbiol Meth, 2007, 68(1): 106—114.

- [9] GANG L, JI L, KE S, et al. Composition, Secondary Structure, and Self-Assembly of Oat Protein Isolate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(11): 4522-4558.
- [10] 石彦国, 郭庆启, 杨晓婉, 等. 大豆蛋白-络蛋白复 合物结构的红外光谱分析[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 225—231.

SHI Yan-guo, GUO Qing-qi, YANG Xiao-wan, et al. FTIR Analysis on the Structure of Soybean-Casein Protein Complex[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(11): 225–231.

 [11] 鲍林飞,高鹏,赵鲁苹.绿贻贝贝壳的微结构特征及 光谱分析[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2014, 33(4):347—353.
 BAO Lin-fei, GAO Peng, ZHAO Lu-ping, et al. Mi-

crostructural Characteristics and FTIR Analysis of the Shell from Green Mussel (*Perna Canaliculus*)[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2014, 33(4): 347—353.

- [12] 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(8):450-454.
 HE Peng, CHEN Jian-xin, SU Min, et al. Analysis of Chemical Composition and Structure Characteristics of Shells[J]. CIESC Journal, 2015, 66(8): 450-454.
- [13] 梁艳,赵杰,王来.贝壳的傅里叶变换红外光谱和热 分析[J]. 矿物岩石, 2007, 27(2): 12—16.
 LIANG Yan, ZHAO Jie, WANG Lai. The Fourier Transform Infrared Spectorscopy (FT-IR) and Thermal Analysis of the Mollusc Shell[J]. J Mineral Petrol, 2007, 27(2): 12—16.
- [14] 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, 8(1): 109—116.
 MA Yu-fei, QIAO Li, FENG Qing-ling. Research Progress on Biomineralization Mechanism of Freshwater Pearl[J]. Journal of Inorganic Materials, 2012, 8(1): 109—116.
- [15] 谢彩锋, 丘泰球, 陆海勤, 等. 超声作用下碳酸钙晶体的形态变化[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2007, 35(4): 62—66.
 XIE Cai-feng, QIU Tai-qiu, LU Hai-qin, et al. Morphology Variation of Calcium Carbonate Crystal Irradiated by Ultrasonic[J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2007, 35(4): 62—66.
- [16] LIN J Y, MA K Y, BAI Z Y, et al. Molecular Cloning and Characterization of Perlucin from the Freshwater Pearl Mussel, Hyriposis Cumingii[J]. Gene, 2013, 526(2): 210-216.
- [17] EVANS J S. "Tuning In" to Mollusk Shell Nacre-Associated Protein Terminal Sequences. Implications for Biomineralization and the Construction of High Performance Inorganic-Organic Composites[J].

Chemical Reviews, 2008, 108(11): 4455-4462.

- [18] STUPP S I, BRAUN P V. Molecular Manipulation of Macrostructures: Biomaterials, Ceramics, and Orientation by Soluble Mollusk Shell Proteins[J]. Nature, 1996, 381(6577): 56-58.
- [19] 袁立,刘晓军,白志毅,等. 三角帆蚌贝壳基质蛋白研究进展[J]. 水产学报, 2021, 45(6): 982—991.
 YUAN Li, LIU Xiao-jun, BAI Zhi-yi, et al. Research Progress of Matrix Proteins in *Hyriopsis Cumingii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(6): 982—991.
- [20] LIU Xiao-jun, CAI jin, WU Lei-ming, et al. Hic74, a Novel Alanine and Glycine Rich Matrix Protein Related to Nacreous Layer Formation in the Mollusc *Hyriopsis Cumingii*[J]. Aquaculture and Fisheries, 2017, 2(3): 119—123.
- [21] 侯雪.海洋贝壳的精细结构及其力学性能研究[D]. 海口:海南大学, 2020: 13-20.
 HOU Xue. Study on Fine Structure and Mechanical Properties of Sea Shells[D]. Haikou: Hainan University, 2020: 13-20.
- [22] 孙琦,姜雨婷,徐焕志,等.一种新型贝壳基质蛋白的重组表达与功能分析[J].浙江大学学报(理学版),2020,47(6):730—742.
 SUN Qi, JIANG Yu-ting, XU Huan-zhi, et al. Recombinant Expression and Functional Analysis of a New Type of Shell Matrix Protein[J]. Journal of Zhejiang University(Science Edition), 2020, 47(6): 730—742.
- [23] SUREWICZ W K, MANTSCH H H. New Insight into Protein Secondary Structure in Water from Second-Derivative AmideIInfrared Spectra[J]. Biochim Bilphys Acta, 1988, 952: 115-130.
- [24] 赵妍, 刘晓林, 王若兰, 等. 储藏微环境对小麦蛋白 质二级结构影响[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(1): 36—38. ZHAO Yan, LIU Xiao-lin, WANG Ruo-lan, et al. Influence of Storage Microenvironment to the Secondary Structure in Wheat Proteins[J]. Grain and Oil, 2014, 27(1): 36—38.
- [25] 安秀林,李庆忠,刘海萍,等.溴化十六烷基三甲基 铵与牛血清白蛋白相互作用的红外光谱研究[J].西 南师范大学学报,2005,30(4):699—702.
 AN Xiu-lin, LI Qing-zhong, LIU Hai-ping, et al. FT-IR Study of the Interaction Between Bovine Serum Albumins and Cetyltrimethyl Ammonium Bromide[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 2005, 30(4): 699—702.
- [26] 余凌竹,鲁建.扫描电镜的基本原理及应用[J]. 实 验科学与技术, 2019, 17(5): 85—93.
 YU Ling-zhu, LU Jian. The Fundamental Principles and Applications of Scanning Electron Microscopy[J]. Experiment Science and Technology, 2019, 17(5): 85—93.
- [27] 桂柳成,赖炳钊.贝壳的场发射环境扫描电镜形貌观察条件研究[J]. 广州化工,2013,41(4):72—78.
 GUI Liu-cheng, LAI Bing-zhao. Research Observation Conditions of Conch on Field Environmental Scanning Electron Microscope[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2013, 41(4): 72—78.