

## 电子背散射衍射法研究马氏珠母贝珍珠层中文石择优取向

何剑寒<sup>1</sup> 赵珊茸<sup>\*,1</sup> 杨明星<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中国地质大学地球科学学院, 武汉 430074)

(<sup>2</sup> 中国地质大学珠宝学院, 武汉 430074)

**摘要:** 贝壳珍珠层中的文石相对于在自然环境中生长的文石来说具有更优异的力学性能, 这种力学性能取决于其独特的晶体排布方式。通过电子背散射衍射(EBSD)技术获得了马氏珠母贝中不同文石的结晶学取向信息, 结果表明珍珠层中文石晶体的  $c$  轴均垂直于珍珠层面, 而  $a, b$  轴在平行珍珠层方向上具有两级取向畴结构; 在初级畴结构内, 相邻畴绕  $c$  轴偏转, 导致不同畴之间  $a$  轴或  $b$  轴的取向差约  $64^\circ$ 。在次级畴结构内, 文石板片围绕  $c$  轴偏转, 导致不同畴之间  $a$  轴或  $b$  轴取向差在  $10^\circ$  或  $20^\circ$  左右。这种畴结构为我们认识珍珠层中文石的生长机理提供了有益线索。

**关键词:** EBSD; 珍珠层; 文石; 择优取向; 畴结构

中图分类号: R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2014)10-2252-06

DOI: 10.11862/CJIC.2014.310

## Preferred Orientation of Aragonite in Nacre of Pinctada Martensii Shell Determined by Electron Backscatter Diffraction

HE Jian-Han<sup>1</sup> ZHAO Shan-Rong<sup>\*,1</sup> YANG Ming-Xing<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Faculty of Earth Sciences, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

(<sup>2</sup> Gemological Institute, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** Aragonite formed in biomaterials such as shells of bivalves has better mechanical properties due to the hierarchical structure when compared with aragonite grown in natural environment. Electron backscatter diffraction was applied to obtain the crystal orientation of nacre thin section. The results show that  $c$ -axes of most aragonite are perpendicular to the shell,  $a$  and  $b$ -axes are organized in two-level domain structure. In the primary domain structure, there are about a  $64^\circ$  misorientation of  $a$ -axes between different domains. In the secondary domain structure, the misorientation angles of different domains are around  $10^\circ$  or  $20^\circ$ . This kind of domain structure is important to study the growth mechanism of aragonite in nacre.

**Key words:** EBSD; nacre; aragonite; preferred orientation; domain structure

## 0 引言

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)是我国重要的用于养殖海水珍珠的母贝, 贝壳主要由外表的角质层, 次外层棱柱层以及内部珍珠层构成<sup>[1]</sup>。其中角质层主要成分为壳质素, 棱柱层由垂直于贝壳面方向

的方解石棱柱紧密平行排列构成, 而珍珠层则由文石板片平行于贝壳面方向呈层状堆叠形成, 在方解石棱柱之间以及文石板片之间均存在有机质<sup>[2-3]</sup>。这种无机-有机复合材料给予了贝壳优良的韧性<sup>[4-5]</sup>, 其结构为我们进行仿生材料的构筑带来了新的思路。

收稿日期: 2014-04-01。收修改稿日期: 2014-05-13。

国家自然科学基金(No.41372058)资助项目。

\*通讯联系人。E-mail: shanrongzhao@126.com

电子背散射衍射技术(EBSD)是用来进行微区晶体取向和晶体结构分析的技术,在材料微观结构的研究中广泛应用。EBSD 通常与 SEM 结合起来,在得到样品形貌的同时能够获取表面晶体的取向信息。但是 EBSD 对样品制备的要求较高,测试面需为抛光精良的平面,因而测试较为困难。目前对生物矿物结晶学取向的研究以原子力显微镜(AFM)、透射电镜(TEM)和 X 射线衍射(XRD)等方法为主<sup>[5-10]</sup>,利用 EBSD 还比较少,国外已有利用 EBSD 在珊瑚中发现了介观尺度的双晶(mesoscale twinning)<sup>[11]</sup>,也有对牡蛎壳(*Ostrea edulis*)方解石质棱柱层、面理化层的择优取向进行了研究等<sup>[12-13]</sup>。本工作采用了这种技术对马氏珠母贝珍珠层中的文石晶体择优取向进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 样 品

实验样品为马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*)的珍珠层。马氏珠母贝采集于广西北海珍珠养殖场,贝龄约 3~4 年。样品用自来水冲洗,挑选健康个体的珍珠层平整面(位于贝壳边缘),切割成多个约 1 cm×1.5 cm 小片,平行珍珠层方向磨制成薄片,薄片首先采用机械切磨和双面抛光,之后再使用 0.3 μm 的刚玉粉手动抛光数小时,直至抛磨掉表面的机械损伤层、凹坑、划痕。

### 1.2 测试条件

采用日本 Nikon YS100 偏光显微镜观察精细抛光后的薄片,在正交偏光下放大 100 倍和 500 倍。

对贝壳粉末样、珍珠层粉末样和薄片样的 X 射线衍射采用德国 Bruker AXS D8-Focus 衍射仪,采

用 Cu Kα 射线,λ=0.1540 598 nm, Ni 滤波,工作电压 40 kV,电流 40 mA, LynxEye 192 位阵列探测器,扫描范围 2θ=5°~70°,扫描步长 0.01°,步速 0.05 s·step<sup>-1</sup>,扫描过程约为 6 min。

薄片经过了 SEM 和 EBSD 的分析,两者结合得到样品表面形貌及晶体取向信息。SEM 设备为中国地质大学(武汉)地质过程与矿产资源重点实验室的 Quanta 200 型环境扫描电子显微镜,分析精度 3.5 nm。EBSD 测试所用设备为环境扫描电子显微镜上安装的电子背散射衍射仪(Nordlys-II, Channel 5.0 system),空间分辨率 1 μm,角度分辨率优于 1°。在 EBSD 测试过程中,样品台倾斜至与水平面成 70°角,分析条件为加速电压 20 kV,束流 6 μm,以及工作距离 23~25 mm。采用了自动模式测试了样品的晶体取向信息图。并利用了 Channel 5.0 软件的 Manbo 和 Tango 程序对数据进行了后期处理分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 测试结果

首先选取不同薄片进行偏光显微镜的观测,观测结果如图 1。在放大 100 倍和 500 倍后可见表面清晰的平行纹理。在正交偏光下旋转,样片呈现“花斑”状消光,即局部区域的文石板片消光现象相同,而不同区域的板片呈现不同的消光位。

接着选取贝壳粉末样、珍珠层粉末样以及上述薄片样品经过 XRD 测试,并与方解石和文石的标准粉晶衍射图对比,结果见图 2。图 2(a)为贝壳粉末 XRD 结果,出现了方解石和文石两种物相(图上 A 代表为文石的衍射峰, C 为方解石的衍射峰),在图 2(b)珍珠层粉末样中则只有文石的衍射峰。薄片样

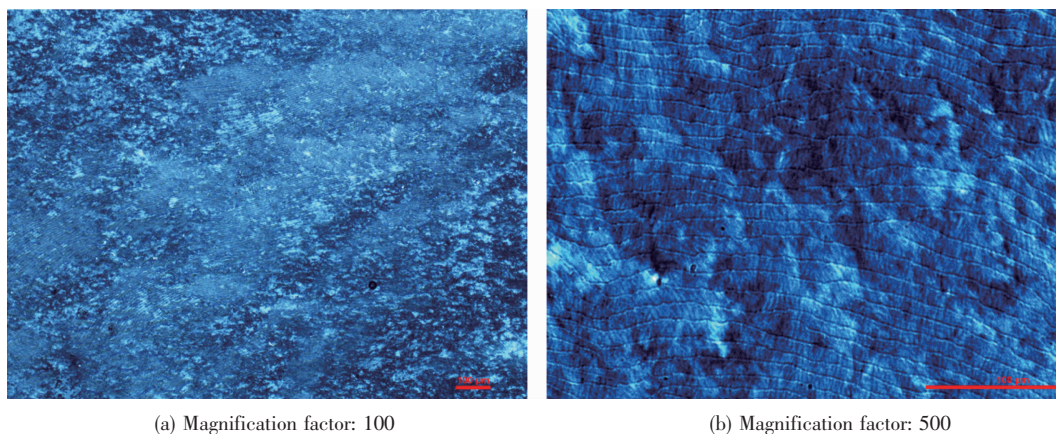


图 1 正交偏光下珍珠层薄片呈“花斑”状消光

Fig.1 Patchy patterns of nacre thin section under polarized microscope

品的衍射结果见图 2(c), 只存在一个主要的尖锐衍射峰, 对比粉晶衍射的结果可知该强峰为(002)的衍射峰, 其  $2\theta$  角约为  $31.26^\circ$ ,  $d$  值约为  $0.286\text{ nm}$ 。

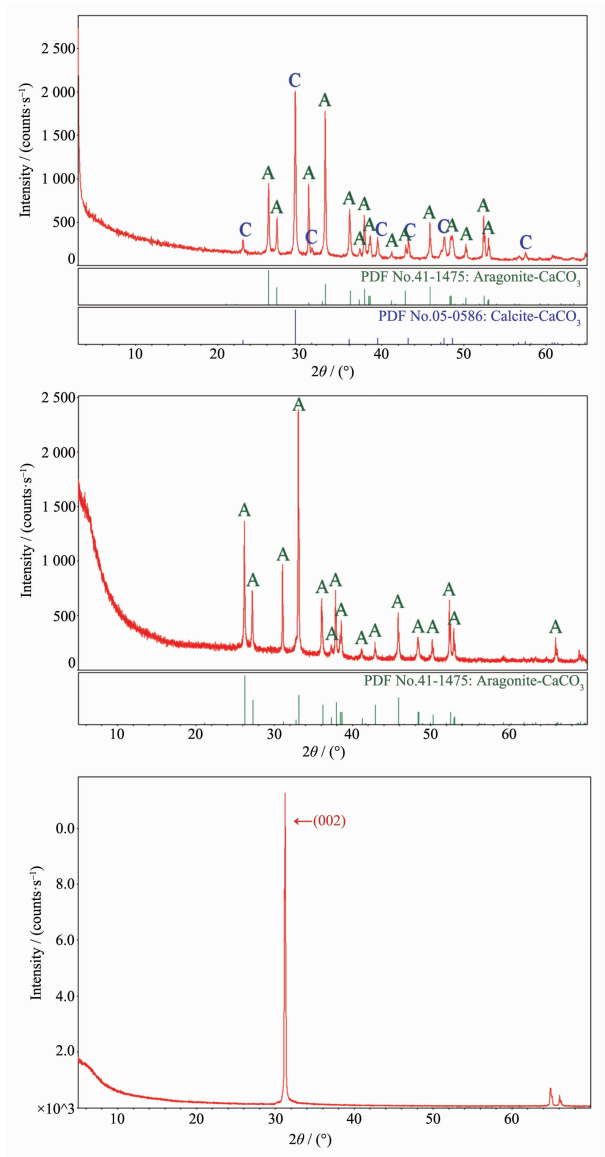


图 2 (a) 贝壳粉晶 XRD 结果; (b) 珍珠层粉晶 XRD 结果; (c) 珍珠层薄片的 XRD 结果

Fig.2 (a) XRD pattern of powder shells; (b) XRD pattern of powder nacres; (c) XRD pattern of nacre thin section

图 3 为薄片样品面扫描后得到的 SEM 图像(a)、EBSD 取向信息图(b)和极图(c)。扫描范围为  $292\text{ }\mu\text{m}\times 78\text{ }\mu\text{m}$ , 扫描步长为  $3\text{ }\mu\text{m}$ 。EBSD 系统数据库中用于解析衍射花样的数据为  $a=0.574\text{ }07\text{ nm}$ ,  $b=0.496\text{ }11\text{ nm}$ ,  $c=0.796\text{ }73\text{ nm}$ , 空间群为  $Pmcn$ <sup>[14]</sup>。但在前人研究里, 文石晶体常习惯采用  $a$  轴为最短轴、 $b$  轴为最长轴, 与上述 EBSD 数据库中文石的

轴名和轴长对应关系不同。为了符合常用习惯, 本文已更改为  $a=0.496\text{ }11\text{ nm}$ ,  $b=0.796\text{ }73\text{ nm}$ ,  $c=0.574\text{ }07\text{ nm}$ , 即在本文极图中,  $\{001\}$  对应垂直  $c=0.574\text{ }07\text{ nm}$  的面,  $\{100\}$  对应垂直  $a=0.496\text{ }11\text{ nm}$  的面,  $\{010\}$  对应垂直  $b=0.796\text{ }73\text{ nm}$  的面。

在取向信息图中, 颜色相近代表文石板片的结晶学取向相近, 不同颜色代表不同的结晶学取向, 空白处则为未标定出物相的区域。

获得每个晶体的取向信息后, 用 EBSD 软件生成所有晶体  $\{100\}$ 、 $\{010\}$ 、 $\{001\}$  和  $\{111\}$  四个面的极图, 图 3(c) 为图 3(b) 的生成结果, 极图中的颜色与取向信息图中的颜色相对应。

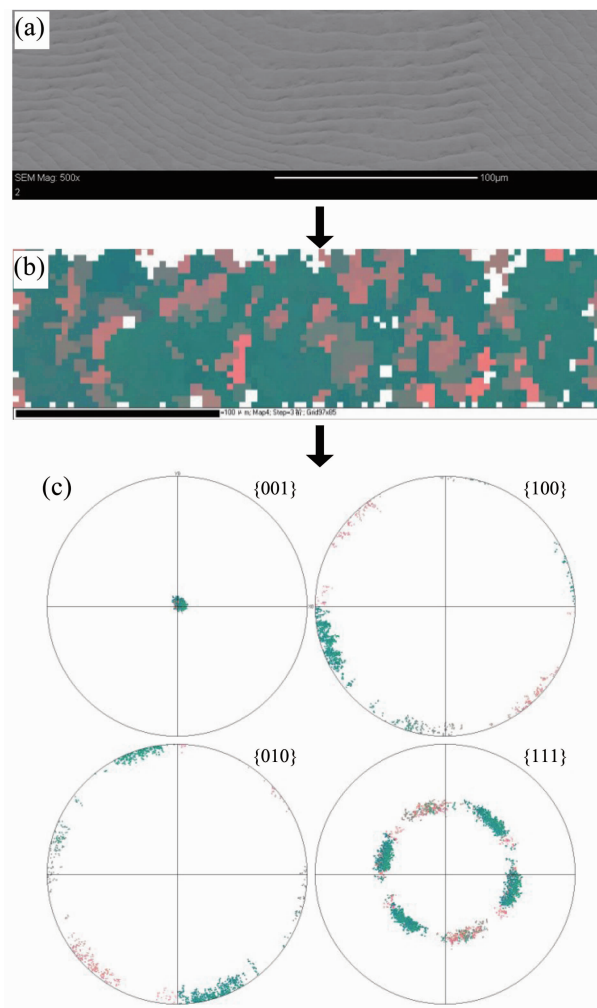


图 3 (a) 为面扫描区域 SEM 图像; (b) 为(a)区域的取向信息图(标尺均为  $100\text{ }\mu\text{m}$ ); (c) 为(b)内所有晶体的极图, 颜色互相对应

Fig.3 (a) SEM image of area of nacre thin section; (b) orientation map of (a) area; (c) pole figures of all the crystals in (b), the color of crystals in (b) is corresponding to that of poles in (c)

## 2.2 讨论

Schffer 等<sup>[15]</sup>通过 AFM 研究腹足类红鲍(*Haliotis rufescens*)文石层之间的有机质层时发现了大量纤维芯和孔洞,证实了在垂直贝壳方向上相邻的文石板片通过矿物桥外延生长,导致相邻板片取向的一致性,呈现畴结构。而 Feng 等<sup>[16]</sup>在研究紫贻贝(*Mytilus edulis*)时通过 TEM 测试发现平行贝壳方向上相邻的 1~5 个板片除  $c$  轴一致垂直于贝壳面外,  $a$  轴在水平方向上也具有一致的取向,因此推测贝壳在水平方向上也具有类似矿物桥的生长方式,从而拓展了贝壳珍珠层的取向畴结构。

在本工作中,偏光显微镜下马氏珠母贝珍珠层薄片呈现出“花斑”状消光,推测应与前人所述的晶体畴理论相符,即同一畴内的晶体消光方位一致,而不同畴的晶体取向有差别导致消光方位的不同。

在 XRD 的结果中,贝壳和珍珠层粉末样的差别进一步证明马氏珠母贝的棱柱层主要成分为方解石而珍珠层的主要矿物为文石。将薄片样与珍珠层粉末样对比发现,只有(002)为强衍射峰,说明整个样品内绝大部分晶体的择优取向十分强烈,主要平行于(002),该面网为(001)方向,即  $c$  轴垂直于珍珠层,这与前人关于大珠母贝(*Pinctada maxima*)、企鹅珍珠贝(*Pteria penguin*)、鲍鱼(*Haliotis diversicolor supertexta*)等海水产生物珍珠层研究的结论也十分吻合<sup>[6,17]</sup>。

图 3(a)为测试区域的 SEM 图像,图 3(b)为(a)经过 EBSD 测试后得到的取向信息图。在图 3(a)中可见抛光良好的珍珠层表面具有平行纹理,该纹理由层状结构导致。在取向信息图中可以直观地看到与偏光显微镜下类似的“花斑”状颜色分布,并且“花斑”的分布与 SEM 图中的平行纹理并无关联性,证明文石板片的分布在平行和垂直贝壳珍珠层方向上确实是以畴的形式存在,并且利用 EBSD 技术可以对这样的畴结构进行更详细的分析。图 3(c)中, {001} 投影都集中在圆心,证明晶体的 {001} 与测试面平行,即  $c$  轴垂直于贝壳珍珠层面,进一步证实了 XRD 中薄片样的结果。{010} 和 {100} 投在基圆上,不同颜色分布于不同区域,且 {111} 投影点分布形成了一个圆,说明文石晶体围绕  $c$  轴旋转了各种不同角度分布于珍珠层中。

观察畴结构的局部区域,如图 4(a)所示,该区域由 3 个晶畴 I、II、III 组成,在极图 4(b)上可见 3 个晶畴的 {010} 均投在基圆上,且相互之间的取向差较

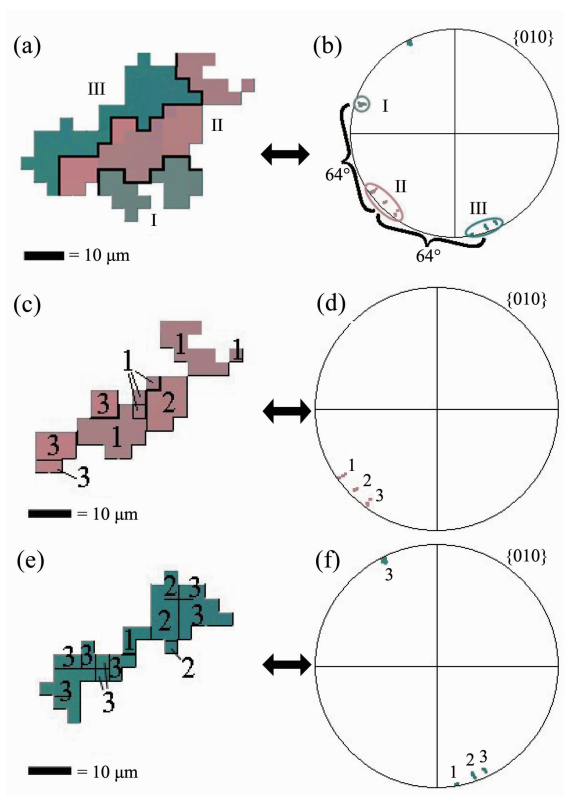


图 4 (a) 畴结构局部区域, (b) 为其 {010} 极图; (c) 为 (a) 中 II 号次级畴结构, (d) 为其 {010} 极图, 两图中数字所代表区域相对应; (e) 和 (f) 为 III 号级畴结构的取向信息图和 {010} 极图

Fig.4 (a) Part of the domain structure and its {010} pole figure (b); (c) Orientation map of the II domain structure and its {010} pole figure (d), the numbered color points in (b) correspond to the numbered aragonite sheets in (a); (e) III domain and its {010} pole figure (f)

大,取向差约为  $64^\circ$  左右。

将 4(a) 中的单个晶畴挑选出来进行极图研究发现: 同一晶畴文石板片的结晶学取向并非完全一致,而是存在次一级的畴结构。如将图 4(c) 区域(图 4(a) 中 II 号晶畴)的文石板片做 {010} 极图,颜色集中在图 4(d) 中的 3 个极点,极点之间夹角约为  $10^\circ$  左右。将 4(d) 中 3 个极点编号 1、2、3,并将 1、2、3 号对应的晶区标记到图 4(c) 中可得到不同板片所属的极点。EBSD 的测试精度很高,误差在  $1^\circ$  左右,因此可以看出这些板片的取向呈跳跃式的变化,如 1 号板片与相邻的 2 号板片之间取向差约  $10^\circ$ ; 1 号板片与 3 号板片也相邻,取向差则变为  $20^\circ$  左右,说明不同畴之间并非以  $10^\circ$  渐变。同样,图 4(a) 另一个区域内也发现了这种规律,见图 4(e)、4(f)。

谢先德等<sup>[6]</sup>在研究企鹅珍珠贝和大珠母贝珍珠层时,发现文石的  $a$  轴也具有强烈的择优取向,前者的  $a$  轴平行于贝壳生长纹,后者的  $a$  轴则与贝壳生长纹方向呈  $20^\circ$  夹角。与这两种贝壳不同,本文的结果表明马氏珠母贝文石板片的  $a$  轴并无完全一致的取向,而是呈两级畴结构分布。

我们将文石晶体绕  $c$  轴旋转  $64^\circ$  来建立 I 晶畴和 II 晶畴中两晶体之间的接触关系模型,如图 5(a) 所示,两晶体  $c$  轴与纸面垂直,  $b$  轴或  $a$  轴夹角  $64^\circ$ ,发现两晶体之间可以形成  $\{110\}$  共格晶界。 $\{110\}$  是简单指数面,以  $\{110\}$  共格接触从结晶学上是稳定的。我们将文石晶体绕  $c$  轴旋转  $10^\circ$  或  $20^\circ$  后,通过计算发现二级畴中取向差  $10^\circ$  左右两晶体之间以  $(710)$  为共格晶界,取向差  $20^\circ$  左右两晶体之间以  $(720)$  为共格晶界,这种高指数的共格晶界在结晶学上并不稳定,在自然界中是不易形成的,其形成原因肯定与有机质的作用有关。

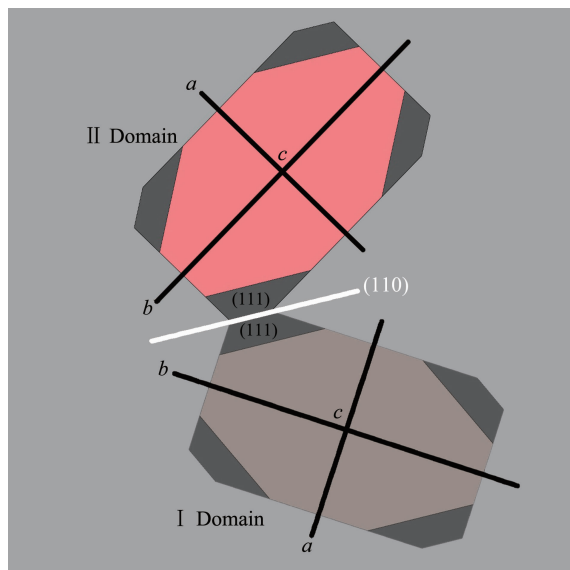


图 5 (a) I、II 晶畴中两晶体之间的接触关系模型

Fig.4 (a) Contacting mode of two crystals in I and II domain

Weiner 等<sup>[18-20]</sup>发现在双壳纲珍珠层中有机质由纤维状  $\beta$ -几丁质构成核,再由富含天冬氨酸的蛋白质覆盖上下表面,并提出有机质控制碳酸钙生长的可能模型:  $\text{Ca}^{2+}$  与  $\beta$ -折叠结构蛋白质表面上的 2~3 个天冬氨酸残基配位结合,而天冬氨酸残基之间的距离正好与垂直文石  $(001)$  方向上 ( $a$  轴和  $b$  轴)的  $\text{Ca}^{2+}$  之间的距离相吻合,从而引导文石晶体在生长时  $c$  轴方向一致。

Falini 等<sup>[21]</sup>将多种贝壳中富含天冬氨酸的可溶

性蛋白质提取出来,搭配乌贼中的  $\beta$ -几丁质和蚕茧中的丝素蛋白在体外模拟了有机质层,并设置不同实验组加入过饱和碳酸钙溶液结晶。通过对比体外碳酸钙形成的同质多象体与不同蛋白质来源贝壳中的原始物相,得出可溶性糖蛋白是碳酸钙在几丁质上结晶的必要条件,而几丁质、可溶性蛋白、丝素蛋白三者结合才能使碳酸钙在体外生成与体内相同的物相,进一步证实了有机质的确有控制碳酸钙晶相的作用。

Cartwright 等<sup>[22-23]</sup>通过 AFM 观察到了几丁质、可溶性蛋白、丝素蛋白三者的赋存情况。他认为贝壳母体先生成  $\beta$ -几丁质微晶,纤维状的几丁质在外套膜液中超过一定浓度时自发地形成胆固醇型液晶,这种液晶相呈层状排列,形成毡状交织网;之后与几丁质亲和的可溶性糖蛋白通过氢键作用覆盖在毡状几丁质上下表面和缝隙中构成复合层,复合层在已生成的文石板片前沿增长,并因为斥力使层与层之间保持一定距离和空间;然后无定形碳酸钙在两复合层之间矿化形成新的文石板片。

前人的研究成果表明,无机质结晶晚于有机质框架生成的时间,其形貌和结晶学取向受到了有机质成分和结构的制约,本文推测畴结构产生于有机质复合层形成之后,与  $\beta$ -几丁质和糖蛋白复合层的局部有序性相关,因蛋白质与碳酸钙之间的相互作用才导致了二级晶畴中形成了在自然界中不稳定取向差角度,但为何形成  $64^\circ$  和  $10^\circ$  左右的取向差还需要更深入的研究来解释这种形成机理。

### 3 结 论

(1) 偏光显微镜观察表明,马氏珠母贝珍珠层内文石具有畴状结构;XRD 结果表明珍珠层成分为文石,且具有  $c$  轴垂直珍珠层层面的定向结构;

(2) EBSD 测试表明,马氏珠母贝珍珠层中文石晶体的  $c$  轴垂直于珍珠层方向,其  $a$  轴和  $b$  轴在平行珍珠层方向上不具有一致的取向,而是呈两级畴结构分布;在初级畴结构内,不同畴之间的文石板片绕  $c$  轴旋转  $64^\circ$  左右;在次级畴结构内文石板片绕  $c$  轴旋转  $10^\circ$  左右,相邻次级畴之间取向差可呈  $10^\circ$  或  $20^\circ$ 。

### 参考文献:

[1] CHEN Jun-Hao(陈俊豪), CHEN Gui-Qing(陈贵卿). *Acta*

- Ocean. Sin.*(海洋学报), **1987**,**9**(6):753-759
- [2] ZHOU Pei-Ling(周佩玲). *J. Guilin Uni. Technol.*(桂林工学院学报), **1998**,**18**(1):47-54
- [3] MAO Zhen-Wei(毛振伟), ZHOU Gui-En(周贵恩), LI Fan-Qing(李凡庆), et al. *J. Chin. Electron Microsc. Soc.*(电子显微学报), **1996**,**15**(6):72
- [4] SONG Fan(宋凡), BAI Yi-Long(白以龙). *Mech. Eng.*(力学与实践), **1999**,**21**(6):18-21
- [5] LI Feng-Min(李凤敏). *Master Dissertation of Dalian University of Technology*(大连理工大学硕士论文). **2005**.
- [6] XIE Xian-De(谢先德), ZHANG Gang-Sheng(张刚生). *Acta Mineralogica Sin.*(矿物学报), **2001**,**21**(3):299-302
- [7] ZHANG Gang-Sheng(张刚生), XIE Xian-De(谢先德), QI Shao-Qi(戚绍祺), et al. *J. Mineral. Petrol.*(矿物岩石), **2002**, **22**(4):8-11
- [8] ZHANG Gang-Sheng(张刚生), XIE Xian-De(谢先德). *J. Inorg. Mater.*(无机材料学报), **2000**,**15**(4):765-768
- [9] ZHOU Gui-En(周贵恩), WANG Chang-Sui(王昌燧), ZHOU Ping(周平). *Physics*(物理), **1985**(1):29-30
- [10] WU Xiao-Jing(吴晓京), YANG Da-Yu(杨大宇), LI Fang-Hua(李方华), et al. *J. Inorg. Mater.*(无机材料学报), **1990**,**5** (3):272-277
- [11] Floquet N, Vielzeuf D. *Am. Mineral.*, **2011**,**96**(8-9):1228-1237
- [12] MacDonald J, Freer A, Cusack M. *Cryst. Growth Des.*, **2009**, **10**(3):1243-1246
- [13] Checa A G, Esteban-Delgado F J, Ramírez-Rico J, et al. *J. Struct. Biol.*, **2009**,**167**(3):261-270
- [14] Bertolasi V, Gilli P, Ferretti V, et al. *Acta Crystallogr. Sect. B: Struct. Sci.*, **1998**,**54**(1):50-65
- [15] Schffer T E, Ionescu-Zanetti C, Proksch R, et al. *Chem. Mater.*, **1997**,**9**(8):1731-1740
- [16] Feng Q L, Li H B, Cui F Z, et al. *J. Mater. Sci. Lett.*, **1999**, **18**(19):1547-1549
- [17] ZHANG Xue-Ao(张学骛), WU Wen-Jian(吴文健), WANG Jian-Fang(王建方). *Chin. Sci. Bull.*(科学通报), **2007**,**52** (17):2089-2092
- [18] Weiner S, Hood L. *Science*, **1975**,**190**(4218):987-989
- [19] Weiner S. *Biochemistry*, **1983**,**17**(22):4139-4145
- [20] Weiner S, Traub W, Parker S B. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B, Biol. Sci.*, **1984**,**304**(1121):425-434
- [21] Falini G, Albeck S, Weiner, S, et al. *Science*, **1996**,**5245** (271):67-69
- [22] Cartwright J H E, Checa A G. *J. R. Soc. Interface*, **2007**,**14** (4):491-504
- [23] Cartwright J H E, Checa A G, Escibano B, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2009**,**26**(106):10499-10504