

淡水文石珍珠可溶性有机质对 CaCO_3 结晶的影响

马玉菲, 高永华, 任冬妮, 冯庆玲

(清华大学材料科学与工程系 新型陶瓷与精细工艺国家重点实验室, 北京 100084)

摘要:以浙江诸暨淡水文石珍珠为实验原料, 提取文石珍珠中的两种基质蛋白——酸可溶蛋白(ASM)和水可溶蛋白(WSM), 并分别将其制备成一系列不同浓度的基质蛋白溶液。利用上述两种不同浓度的可溶性有机基质溶液采用扩散法开展了碳酸钙的体外模拟矿化实验, 探讨两种可溶性有机质的浓度在控制 CaCO_3 结晶方面的作用。通过扫描电子显微镜及显微共聚焦拉曼光谱等方法对体外模拟矿化结果进行了观察和分析。结果表明, 酸可溶蛋白对碳酸钙晶体的形貌和尺寸具有明显的调控作用, 而对晶型无影响, 不同浓度的酸可溶蛋白对碳酸钙晶体形貌影响差别不大, 对尺寸的影响略有不同; 水可溶蛋白对碳酸钙晶体的晶型、形貌及尺寸均有显著影响。不同浓度的水可溶蛋白对碳酸钙晶体的形貌和尺寸影响较大, 对晶型有一定的调控作用。

关键词: CaCO_3 ; 可溶性有机质; 淡水珍珠; 生物矿化; 体外模拟

中图分类号: P578.6⁺1; P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2009)06-0605-06

The effect of soluble matrix proteins from aragonite pearls on the crystallization of CaCO_3

MA Yu-fei, GAO Yong-hua, REN Dong-ni and FENG Qing-ling

(State Key Laboratory of New Ceramics and Fine Processing, Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Freshwater pearls (aragonite pearls) were selected as the main experimental materials to study the biomineralization of calcium carbonate. Two kinds of soluble matrix proteins, i. e., acid soluble protein (ASM) and water soluble protein (WSM), were extracted from aragonite pearls to prepare a series of aqueous solutions with different concentrations. *In vitro* study was carried out by using the above-mentioned aqueous solutions with different concentrations in the diffusion method. The effects of concentrations of ASM and WSM aqueous solutions were discussed in the controlled crystallization of calcium carbonate. Scanning electron microscopy (SEM) and Raman spectroscopy were used to observe and analyze the results of *in vitro* biomineralization of calcium carbonate. The results show some differences in regulation and controlled crystallization of CaCO_3 between ASM and WSM aqueous solutions. The concentration of ASM aqueous solutions seems to play an important role in controlling the crystal morphology and size of calcium carbonate but it has no effect on polymorphism, while the polymorph, morphology and size of crystals are obviously influenced by the concentration of WSM aqueous solutions.

Key words: calcium carbonate; soluble matrix proteins; freshwater pearls; biomineralization; *in vitro* study

我国的淡水珍珠主要产于长江中下游地区, 大部分淡水珍珠都具有光泽, 通常称这种有光泽的珍珠为文石珍珠 (aragonite pearls), 其矿物相由文石构成。珍珠的主要结构是

珍珠层, 它是一种天然复合材料, 其中无机相碳酸钙约占总质量的 95%, 以蛋白质-多糖为主的有机基质约占 5%。基质蛋白控制着碳酸钙晶体的成核、结晶与相变, 因此基质蛋白对于

收稿日期: 2009-08-30; 修订日期: 2009-09-16

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)(2007CB815600) 国家自然科学基金(50672052, 50672044)

作者简介: 马玉菲(1987-), 女, 汉族, 博士生, 研究方向: 生物矿化, E-mail: mayufeisw@163.com; 通讯作者: 冯庆玲, 教授, 研究方向为生物材料, E-mail: biomater@mail.tsinghua.edu.cn.

珍珠层的生物矿化具有关键作用。为了揭示有机质及各种大分子对碳酸钙晶体生长的调控作用, 研究者们大多采用体外饱和碳酸钙溶液模拟结晶的实验。张勇等(2004)通过分离纯化珍珠质中的水可溶基质蛋白并利用该有机质进行碳酸钙体外矿化模拟实验发现, 珍珠质的水可溶有机质在一定程度上抑制 CaCO_3 晶体的形成, 并使 CaCO_3 晶体的形态发生改变。Tong Hua 等(2003)则认为在矿化液中加入不同浓度的 L-Asp 溶液可以改变碳酸钙晶体的晶型, 随着 L-Asp 溶液浓度的增大, 晶体由最初的方解石、球文石混合晶型逐渐向球文石单一晶型转变, 且沉积物中球文石的含量与 L-Asp 添加剂的含量成正比。尽管前人已经开展了大量研究工作, 但对于可溶有机质和不可溶有机质分别对碳酸钙矿化的作用的认识还并未达到统一。

本研究利用从文石珍珠中所提取的酸可溶有机质(ASM)和水可溶有机质(WSM)配制成不同浓度的蛋白质溶液, 采用扩散法进行了碳酸钙的体外矿化模拟实验, 目的是利用不同浓度的有机质分别进行体外模拟碳酸钙晶体生长, 探讨两种可溶性有机质的浓度在控制碳酸钙晶型、形貌及尺度等方面的作用。

1 实验部分

1.1 样品和实验

1.1.1 可溶性有机质的提取

实验选取浙江省诸暨市珍珠养殖场的淡水文石珍珠若干, 清洗后于酒精中浸泡 20 h, 晾干。将珍珠样品在中药粉碎机中精细研磨, 过 300 目筛, 使粉体颗粒小于 $50 \mu\text{m}$ 。用去离子水清洗两次, 离心, 烘干待用。

将 60 g 珍珠粉末分散在 200 mL 去离子水中, 在室温下持续搅拌 20 h。将混合物在 4°C 、10 000 rpm 的转速下离心 15 min, 分离出上清液, 沉淀的粉体留做继续提取酸可溶有机质使用。选用 $0.22 \mu\text{m}$ 的滤纸将上清液抽滤, 过滤掉残余的固体颗粒。过滤好的液体放入 -20°C 冰箱中预冷, 待液体冰冻后, 放入冷冻干燥机, 直至得到水可溶有机质粉末。

用去离子水清洗沉淀, 并在 4°C 、10 000 rpm 的转速下离心 15 min, 重复两次, 称量剩余的粉末质量约为 53 g。配制 500 mL pH 值为 4.0 的醋酸溶液, 每次少量逐次向醋酸溶液中加入粉末, 将混合物在磁力搅拌机上持续搅拌 10 h, 在 4°C 、10 000 rpm 的转速下离心 15 min, 分离出上清液。选用 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤纸将上清液抽滤, 过滤掉残余的固体颗粒。将液体注入 8 000~14 000 kDa 的透析袋中进行透析, 每天换水 1 次, 共换水 7 次。将透析袋中物质置于冰箱中预冷后进行冷冻干燥, 得到酸可溶有机质粉末。

称量一定质量的水可溶有机质粉末和酸可溶有机质粉末并将其溶解在双蒸水中分别配制成浓度依次为 20、50、100、150、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液。在 -20°C 冰箱中冷冻保存, 待用。

1.1.2 体外模拟矿化实验方法

称量 0.222 g 无水 CaCl_2 , 加入去离子水 200 mL 配制成 0.01 mol/L 的 CaCl_2 水溶液, 于 4°C 冰箱中冷藏保存, 待用。

选取载玻片若干, 将切割好的玻璃片依次放入无水乙醇, 去离子水中超声清洗 10 min, 吹干待用。

实验采用密闭容器扩散方法进行碳酸钙晶体的合成, 如图 1。在密闭干燥器中, 放置 NH_4HCO_3 固体, 挥发以提供 CO_2 气体, 放置 1 杯浓 H_2SO_4 溶液吸收挥发的 NH_3 , 放置 1 个 12 孔板作为反应容器, 溶液底部放置玻璃片基底收集晶体。

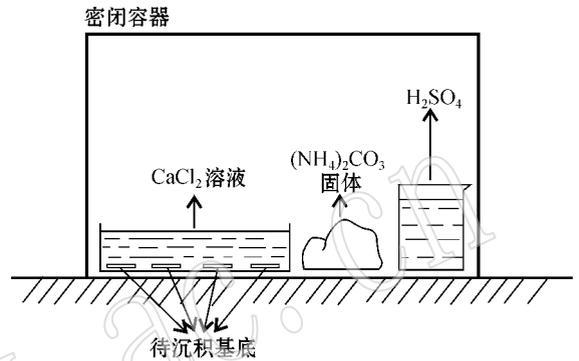


图 1 碳酸钙晶体制备装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the preparation of calcium carbonate crystals

将制备好的 CaCl_2 水溶液依次加入 12 孔板的 11 个孔中, 其中第 1 孔为对照组, 矿化液为 0.01 mol/L CaCl_2 水溶液, 其他 10 个孔的矿化液依次由 0.01 mol/L CaCl_2 水溶液和不同浓度的可溶性有机质溶液组成。将已制备的玻璃基底分别加入 11 个孔中, 矿化液没过玻璃基底并高于基底约 8 mm, 室温密闭条件下进行碳酸钙矿物沉积, 沉积时间为 24 h。然后将载有 CaCO_3 晶体的基底小心地从体系中取出, 室温干燥后备用。

1.2 分析仪器

实验采用捷克公司的 FEI Quanta 200 型扫描电子显微镜对晶体进行形貌观察, 分辨率为 3.5 nm(高真空模式, 30 kV)。采用英国 Renishaw 公司的 RM2000 型显微共聚焦拉曼光谱仪进行晶型确定, 氦离子激光器($\lambda = 514.5 \text{ nm}$), 拉曼位移范围为 $100 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$, 显微尺寸范围 $\geq 1 \mu\text{m}$, 光谱分辨率为 1 cm^{-1} 。

2 结果

2.1 拉曼光谱分析

图 2 是未添加任何可溶性有机质溶液的对照组矿化生成的碳酸钙晶体的拉曼光谱图。通过对其谱线的指认, 确认其晶型为方解石, 其中 284 cm^{-1} 、 715 cm^{-1} 、 $1\,088 \text{ cm}^{-1}$ 是方解石的特征峰(Kontoyannis and Vagenas, 2000)。

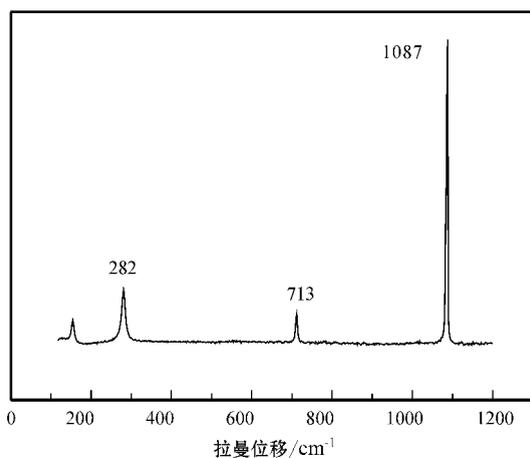


图 2 对照组沉积的 CaCO_3 的拉曼图谱

Fig. 2 Raman spectrogram of CaCO_3 in control group

图 3 是在矿化液中添加一系列不同浓度的酸可溶有机质矿化生成的碳酸钙晶体的拉曼光谱图,其中曲线 a、b、c、d、e 对应酸可溶有机质的浓度依次为 20、50、100、150 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。从图中可以看出,添加不同浓度的酸可溶有机质溶液后所诱导的碳酸钙晶体的拉曼谱图基本一致,对应的晶型均为方解石,只是个别峰强略有不同。这说明不同浓度的酸可溶有机质对诱导碳酸钙晶型没有显著影响。

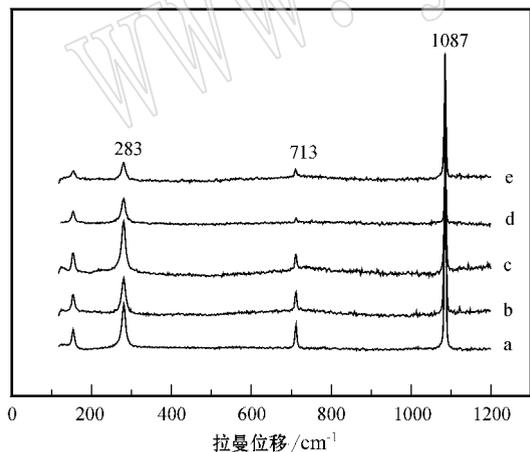


图 3 含不同浓度酸可溶有机质的溶液中沉积的 CaCO_3 的拉曼图谱

Fig. 3 Raman spectrograms of CaCO_3 induced by ASM aqueous solutions with different concentrations

图 4 是添加了不同浓度的水可溶有机质溶液沉积所得碳酸钙晶体的拉曼光谱分析结果,其中曲线 a、b、c、d、e 依次对应水可溶有机质的浓度为 20、50、100、150 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。153 cm^{-1} 、206 cm^{-1} 、704 cm^{-1} 和 1084 cm^{-1} 为文石的特征谱线。对比图中结果发现,当水可溶有机质的浓度在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

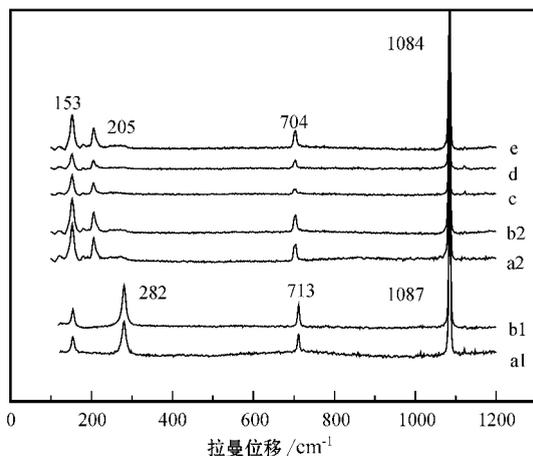


图 4 含不同浓度水可溶有机质的溶液中沉积的 CaCO_3 的拉曼图谱

Fig. 4 Raman spectrograms of CaCO_3 induced by WSM aqueous solutions with different concentrations

以下时,沉积的碳酸钙晶体同时出现两种晶型,分别是方解石和文石。由图中曲线可见,当水可溶有机质浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,沉积所得晶体 a1 为方解石,a2 为文石;当水可溶有机质浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,碳酸钙晶体 b1 为方解石,b2 为文石。随着矿化液中水可溶有机质浓度的增加,当有机质浓度大于(或等于)100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,碳酸钙晶体表现出单一文石晶型(曲线 c、d、e)。

2.2 扫描电子显微镜 (SEM) 分析

本次实验通过扫描电镜对晶体形貌进行了观察。图 5 是未添加任何可溶性有机质溶液的对照组所沉积的方解石晶体的扫描电镜图片,其中大量晶体呈现菱面体形态且(104)晶面发育,晶体尺寸较为均一,大多集中在 15~20 μm 。

图 6 所示为在矿化液中添加了一系列不同浓度酸可溶有

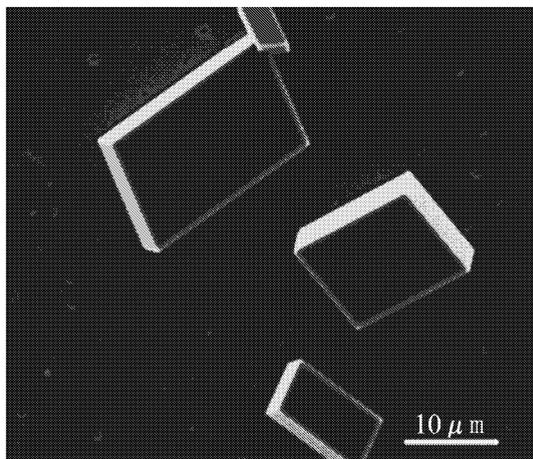


图 5 对照组沉积的 CaCO_3 的 SEM 照片

Fig. 5 SEM image of CaCO_3 in control group

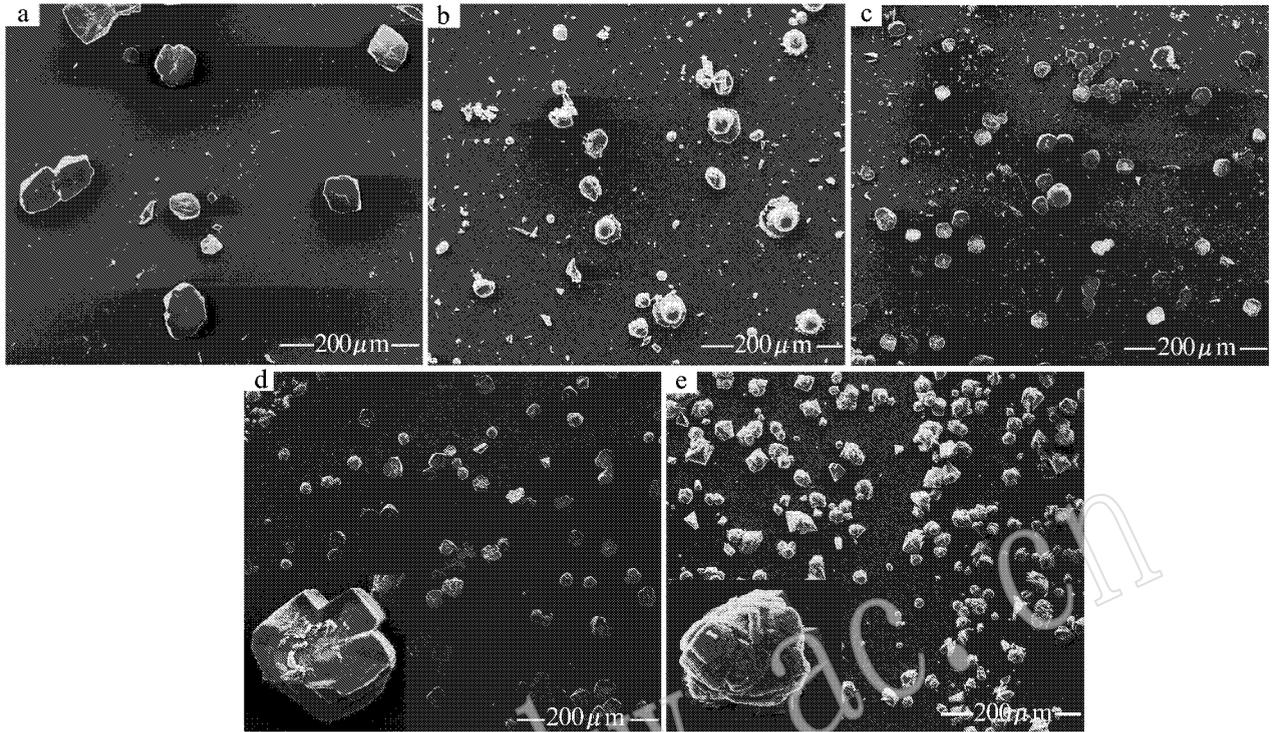


图 6 含不同浓度酸可溶有机质的溶液中沉积的 CaCO_3 的 SEM 照片

Fig. 6 SEM images of CaCO_3 induced by ASM aqueous solutions with different concentrations

机质溶液沉积的碳酸钙晶体扫描电镜图片。其中 a、b、c、d、e 分别对应添加浓度为 20、50、100、150 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的酸可溶有机质溶液所沉积的晶体。可以看出,随着酸可溶有机质浓度的增加,方解石晶体的形貌及尺寸均发生了变化。在酸可溶有机质浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,方解石的菱面体形态还略微可见,晶体棱角已明显退化,呈圆滑的方形,晶体的尺寸较为均一,大多集中在 60 μm ,如图 6a 所示;当有机质浓度达到 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,方解石晶体发生曲化现象,开始由圆滑的方形向圆形转变,晶体尺寸集中在 30~36 μm ,如图 6b 所示;当有机质浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,晶体进一步曲化成了圆形,晶体的尺寸约为 25 μm ,如图 6c 所示;当有机质浓度为 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,方解石表现为多层结构,晶体尺寸几乎都在 20 μm 以下。除此之外,还发现了一种表面较为光滑形态呈现台阶状的晶体,如图 6d 所示。当有机质的浓度继续增大,浓度上升至 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,方解石呈现了聚集体形貌,晶体尺寸没有继续减小,反而有所增加,晶体尺寸大多集中在 30~45 μm ,如图 6e 中结果显示。

图 7 所示为矿化液中添加了一系列不同浓度的水可溶有机质溶液制备的碳酸钙晶体的扫描电镜图片。图 a、b、c、d、e 依次对应水可溶有机质浓度为 20、50、100、150 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时矿化所得晶体。通过比较不难发现,随着水可溶有机质浓度的增加,碳酸钙晶体的形貌和尺寸有着很大区别。将图 7 中所有结果与图 5 对照组沉积的碳酸钙晶体对比,发现沉积物中除了具有和对照组相同的菱面体形态方解石之外,还出

现了具有特殊形貌的文石晶体。当水可溶有机质的浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,沉积物由大量菱面体的方解石和极少量菊花状文石组成,尺寸较为均一,大多集中在 25~30 μm ,如图 7a 所示。当水可溶有机质的浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,方解石和文石晶体的形貌与图 7a 类似,晶体的尺寸约 20 μm ,且随着水可溶有机质浓度的增大,方解石数量逐渐减少,而文石逐渐增多,如图 7b 所示。当浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,沉积物中文石晶体的数量占大部分,仅含有少量方解石,晶体尺寸集中在 15~18 μm ,如图 7c 所示;当有机质浓度增加到 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,菱面体方解石几乎完全消失,仅生成了呈果核状及短棒状的文石晶体,如图 7d 和图 7e。此时,晶体尺寸大约在 15 μm 以下。对比图中文石晶体的形貌,可以发现一个有趣的现象:随着水可溶有机质溶液浓度不断增大,大部分文石晶体的形貌变化规律,依次呈菊花状、果壳状及短棒状。图 7a 和图 7b 所示文石的主要形貌为菊花状,图 7c 中文石为菊花状和果壳状,图 7d 中以果壳状和短棒状形貌为主,图 7e 中文石几乎全部为短棒状。

3 讨论

当矿化液中添加了一定浓度的酸可溶有机质溶液时,方解石晶体发生曲化现象,形貌由较为圆滑的方形逐渐生长成圆形。造成这种现象的原因可能是大分子的吸附导致晶体生

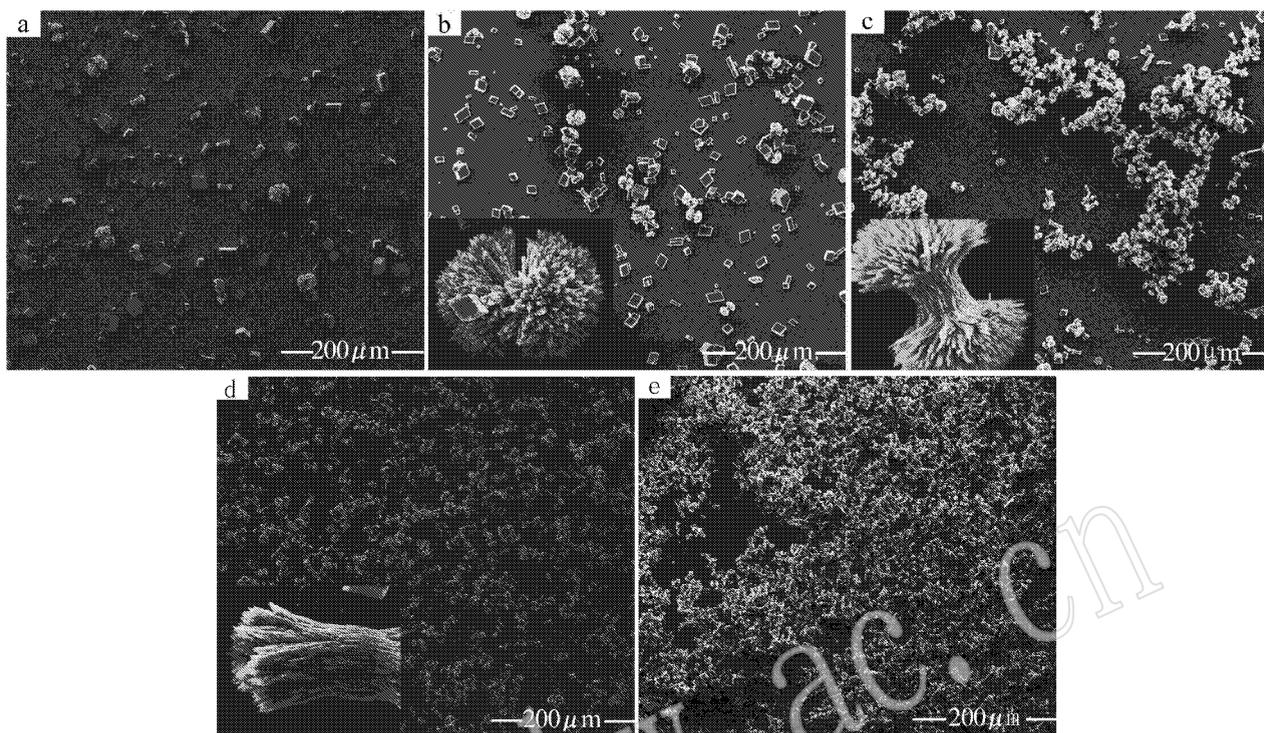


图 7 含不同浓度水可溶有机质的溶液中沉积的 CaCO_3 的 SEM 照片

Fig. 7 SEM images of CaCO_3 induced by WSM aqueous solutions with different concentrations

长受到抑制,且酸可溶有机质浓度越大,抑制作用越显著。乔莉(2008)在添加了球文石珍珠的酸可溶蛋白环境中诱导碳酸钙结晶,也发现了这种方解石的曲化现象。Grassmann 和 Lobman(2003)利用聚丙烯酰胺水凝胶制备出球状的方解石,而 Gower 和 Odom(2000)在研究中称这种歪曲的形貌为“熔化”形貌。当有机质浓度大于 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,在蛋白质的作用下,晶体形成了多层方解石结构。根据 PBC 理论,晶体生长过程中所能出现的晶面可划分为 3 种类型,分别为平坦面(flat planes, F)、台阶面(steped planes, S)和扭折面(kinked planes, K)。K 面上将获得最快的生长速度,其次是 S 面, F 面的生长速度最低(Hartman and Perdok, 1955)。因此,晶体最初的 K 面和 S 面将决定其最终的晶体形貌,而最终形成的晶体没有新的 K 面和 S 面。当溶液中加入有机质,有机质在调制过程中优先吸附在 K 面和 S 面上,这种择优性降低了相应方向上的晶体生长速度,作为蛋白抑制晶体生长的结果,新的晶体表面在边角上出现。这些新的晶面对蛋白有更高的亲和力,最终导致了晶体形貌的改变,因此台阶状方解石晶体的出现可能是因为蛋白质吸附在晶体特定的面上,而垂直于这个面方向上的生长被抑制。例如,在从软体动物贝壳中提取的富含天冬氨酸的蛋白质和海胆骨针糖蛋白存在下,晶体除(104)以外的面获得了发展,诱导产生的晶面通常是阶梯状或具有平台结构(丁爱民等,2007)。在控制晶体尺寸方面,浓度的影响略有不同。当浓度为 $20 \sim 150 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,随着酸可溶有机质浓度增大,晶体尺寸减小。浓度为 200

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 时出现例外,晶体尺寸反而增大。出现这种晶体尺寸反弹的现象可能是因为方解石不断团聚形成了聚集体形貌的方解石,在低浓度时,酸可溶有机质优先吸附在 K 和 S 面,但随着可溶性有机质浓度的不断增加,这些晶体平面上不能承受如此多的有机质,导致这些有机质也吸附在 F 面并在晶体空隙中大量聚集,最后导致了层状结构 CaCO_3 团聚在一起形成体积更大的聚集体形貌。

随着添加的水可溶有机质浓度的改变,碳酸钙晶体逐渐由方解石和文石混合晶型向单一文石晶型变化。这说明水可溶有机质能够诱导文石结晶,不同浓度的水可溶有机质对沉积碳酸钙晶体的晶型具有一定的调控作用。Tong Hua 等(2003)通过在饱和碳酸钙溶液中添加一系列不同浓度的 L-Asp 研究其对碳酸钙结晶的影响,他们认为 L-Asp 的浓度对碳酸钙晶体的晶型影响较大,晶型随溶液浓度由最开始的方解石和球文石向最终的单一球文石晶型转变。Giuseppe(1997)等的研究结果也表明只有在聚天门冬氨酸浓度较低($0.01 \text{ mg}/\text{g}$ gelatin)的条件下才能诱导文石晶体在单轴向变形成交联凝胶薄膜中沉积。在本次实验中,碳酸钙的形貌在不同浓度水可溶有机质的干预和调节下呈现不同的变化,随着水可溶有机质浓度的增加,文石出现了多种形貌。这可能是因为有机质的浓度将直接影响有机质分子在溶液中运动和伸展状态,使其在参与和诱导碳酸钙结晶的同时直接影响了其结晶方向和聚集行为,从而导致了晶体的特殊形貌。另外,有机质大分子在碳酸钙晶体沉积时对无机矿物晶面上作用力的

方向不一致,从而诱导出不同形貌的碳酸钙(姚成立等,2006)。水可溶有机质浓度对晶体尺寸和数量的影响也表现得十分显著,有机质浓度增大,晶体尺寸减小,单位面积上的晶体数量增加。这可能是由于有机质浓度增大,使得有机质分子链数量增多,各分子链之间的相互作用及缠绕在空间上限制了晶体粒子的生长,导致成核数量增加。

4 结论

本研究采用扩散法通过在矿化液中添加一系列不同浓度的可溶性有机质进行碳酸钙体外模拟矿化实验,初步确认了不同浓度的酸可溶有机质和水可溶有机质对碳酸钙结晶的影响。主要结论如下:

(1)在矿化液中添加不同浓度酸可溶有机质沉积所得碳酸钙晶体与对照组相同,均为方解石晶型,且浓度的改变对晶型无显著影响。随着浓度的增加,方解石晶体的生长逐渐受到抑制,尺寸随之减小,当浓度增加到一定阶段时方解石尺寸会略有增加。有机质浓度变化,使得方解石依次呈现“熔化”形貌、多层结构及聚集体形貌。

(2)不同浓度水可溶有机质对碳酸钙晶体的晶型具有一定的调控作用。当水可溶有机质达到一定浓度时,可诱导文石结晶。随着浓度的增加,文石晶体的形貌呈规律性变化,单位面积上晶体的数量增加,尺寸减小。

References

Ding Aimin and Yao Chengli. 2007. Research progress of the interaction of calcium carbonate and matrix[J]. Journal of Anhui Institute of Education, 25(6): 63~66 (in chinese with English abstract).

Giuseppe F, Simona F, Massimo G, et al. 1997. Biomimetic crystallization of calcium carbonate polymorphs by means of collagenous matrices[J]. Chem-Eur. J., 3(11): 1807~1814.

Gower L B and Odom D J. 2000. Deposition of calcium carbonate films by a polymer-induced liquid-precursor (PILP) process[J]. J.

Cryst. Growth, 21(4): 719~734.

Grassmann O and Lobmann P. 2003. Morphogenetic control of calcite crystal growth in sulfonic acid based hydrogel[J]. Chem-Eur. J., 9(6): 1310~1316.

Hartman P and Perdok W G. 1955. On the relations between structure and morphology of crystals. I[J]. Acta Crystallographica, 8: 521~524.

Kontoyannis C G and Vagenas N V. 2000. Calcium carbonate phase analysis using XRD and FT-Raman spectroscopy[J]. The Analyst., 125(2): 251~255.

Qiao Li. 2008. Structure of Freshwater Vaterite Pearl and Its Biomineralization Mechanism[D]. Beijing: Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University (in Chinese with English abstract).

Tong Hua, Ma Wentao, Wang Leilei, et al. 2003. Control over the crystal phase, shape, size and aggregation of calcium carbonate via a L-aspartic acid inducing process[J]. Biomaterials, 25(2004): 3923~3929.

Yao Chengli and Ding Aimin. 2006. The study of pepsin inducing the precipitation of calcium carbonate[J]. Journal of Anhui Institute of Education, 24(6): 67~70 (in Chinese with English abstract).

Zhang Yong, Xiao Rui, Ling Li, et al. 2004. Extraction and purification of water soluble matrix protein from nacre and its effect on CaCO₃ crystallization[J]. Marine Sciences, 28(1): 33~37 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

丁爱民,姚成立. 2007. 有机质对碳酸钙晶体生长的调控作用研究进展[J]. 安徽教育学院学报, 25(6): 63~66.

乔莉. 2008. 淡水球文石珍珠结构及其矿化机理研究[D]. 北京: 清华大学材料系.

姚成立,丁爱民. 2006. 胃蛋白酶诱导碳酸钙结晶的研究[J]. 安徽教育学院学报, 24(6): 67~70.

张勇,肖锐,凌立,等. 2004. 珍珠质水溶性基质蛋白的分离纯化及其对碳酸钙结晶的影响[J]. 海洋科学, 28(1): 33~37.