

文章编号 1004-924X(2014)09-2438-06

升温速率对活体硅藻壳提纯的影响

蒋文凯¹, 刘鹏玮¹, 景亚妮¹, 邓湘云^{1, 2*}, 李建保^{1, 3}

(1. 海南大学 热带岛屿资源先进材料教育部重点实验室, 海南海口 570228;

2. 天津师范大学 物理与材料科学学院, 天津 300387;

3. 清华大学 新型陶瓷与精细工艺国家重点实验室, 北京 100084)

摘要: 选用一种舟形藻作为实验材料, 研究了不同升温速率下硅藻壳的形态和成分变化。首先, 对从该种硅藻得到的细胞壳进行酸洗处理, 以去除金属离子和其它无机盐; 之后, 分别以 1, 3, 5 和 7 °C/min 的速率将硅藻壳升温至 600 °C, 并保温 2 h。然后, 使用扫描电子显微镜、能量色散 X 射线分析和傅里叶变换红外分析 3 种手段对不同阶段和不同处理条件下的硅藻壳进行分析表征。实验显示: 生物 SiO₂ 的含量随着升温速率的降低而升高, 以 1 °C/min 升温到 600 °C 并保温 2 h 的硅藻壳的 SiO₂ 含量最高, 其质量分数可达到 90%, 并且该硅藻壳能保持完整的原始形态。结果表明: 由于硅藻的生物 SiO₂ 结构具有较好的隔热性, 热传导速度慢, 故较快的升温速率很难使生物有机质充分分解, 而过高的温度或保温时间又会对硅藻壳形态造成新的威胁。所以, 较为缓慢的升温速率有益于有机质的充分去除和保证硅藻壳外观的完整性。

关键词: 活体硅藻; 硅藻壳; 焙烧; 升温速率; 生物二氧化硅; 提纯

中图分类号: Q949.27 文献标识码: A doi: 10.3788/OPE.20142209.2438

Effects of heating rate on biosilica structure purification of living diatoms

JIANG Wen-kai¹, LIU Peng-wei¹, JING Ya-ni¹, DENG Xiang-yun^{1, 2*}, LI Jian-bao^{1, 3}

(1. *Key Laboratory of Ministry of Education for Advanced Materials in Tropical Island Resources, Hainan University, Haikou 570228, China;*

2. *College of Physics and Materials Science,*

Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China;

3. *State Key Laboratory of New Ceramics & Fine Processing,*

Tsinghua University, Beijing 100084, China)

* *Corresponding author, E-mail: xiangyundtj@126.com*

Abstract: The morphology and composition of living diatoms were explored at different heating rates, in which the marine diatom *Navicula* sp. was selected as experimental materials. First, the frustules from living diatoms were cleaned by hydrochloric acid to remove metal oxide and other inorganic salts. After that, chemically purified frustules were heated to 600 °C at the heating rates of 1 °C/min, 3 °C/min, 5 °C/min and 7 °C/min for 2 h. The morphology and composition of diatom frustules at

收稿日期: 2014-03-04; 修订日期: 2014-05-20.

基金项目: 国家 863 高技术研究发展计划资助项目 (No. 2012AA03A610)

different stages were characterized by Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR), Scanning Electronic Microscopy (SEM), and Energy Dispersive X-ray Analysis (EDS). Obtained results show that the SiO_2 contents increase with the slowdown of the heating rate. The highest SiO_2 content in the diatom frustules is obtained when they are baked at 600°C at a heating rate of $1^\circ\text{C}/\text{min}$ for 2 h, reached about 90%, and they will maintain a shape perfectly with few impurities. These results mean that organic matter is difficult to be removed with a fast heating speed because the biosilica structures of frustules are characterized by good thermal insulator and slower heat transfer. Moreover, higher temperatures and longer maintaining temperature will effect the morphology of diatom frustules. Therefore, it suggests that the slower heating rate is beneficial to removing organic matters and ensuring the integrity of diatom appearance.

Key words: living diatom; frustule; baking; heating rate; biosilica; purification

1 引言

硅藻是一种真核单细胞藻类,大约有 20 万种,为地球提供了大约五分之一的初级生产力,其生活范围可以遍布任何淡水和海洋环境中^[1]。通常,硅藻的大小为 $2\sim 2\,000\ \mu\text{m}$,它们的细胞壁(frustules)主要由二氧化硅和有机质构成,其上遍布着许多大小在几十纳米到几微米的规则筛孔,用于交换营养物质和气体。硅藻壳具有良好的机械性能、光学性能和高比表面积,这些独特的结构特性已经在许多应用中展现出了极大的潜力,如气体传感器、光电器件、太阳能电池、生物化学催化、微流体控制、药物传输系统等^[2-7]。与硅藻土(硅藻的化石)相比,活体硅藻具有可持续生产能力、较完整的细胞壁、可纯化培养等优势^[8-9]。

硅藻产品的有效成分即为硅藻壁上的 SiO_2 ,如何提高硅藻细胞壁的 SiO_2 含量而不破坏硅藻的完整结构是硅藻壳提纯工作的关键。在已经记载的提纯方法中主要包括酸洗法、焙烧法、氧化剂清洗法、等离子刻蚀法等^[7-8],其中以焙烧法最为常用和有效^[10]。值得一提的是,不同的焙烧温度和保温时间会导致不同的结果,Umemura 等人^[11]发现硅藻壳在 400°C 下焙烧 6 h 后,其纳米孔结构不会发生任何改变;而在 800°C 下焙烧,结构变化就非常剧烈,这种变化随着保温时间的增加更加明显。然而,至今尚未看到有文献记载关于升温速率对硅藻二氧化硅壳体提纯的影响。本文从控制升温速率的角度,让硅藻在中低温区($300\sim 500^\circ\text{C}$)焙烧的时间加长,从而保证充分去除有机质且不影响硅藻壳外观的完整性。最后用扫描电镜(SEM)、能量色

散 X 射线分析仪(EDS)和傅里叶变换红外光谱技术(FTIR)来表征实验结果。

2 材料与方 法

2.1 藻源和培养

纯化单一品种的舟形藻(*Navicula* sp.)由海南大学海洋学院保种室提供。硅藻培养使用“宁波 3 号”培养基^[12](NaNO_3 100 mg/L, KH_2PO_4 10 mg/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg/L, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 mg/L, EDTA- Na_2 10 mg/L, V_{B1} 6.0×10^{-3} mg/L, V_{B12} 5.0×10^{-5} mg/L, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 10 mg/L)。硅藻置于锥形瓶中封口培养,光照强度为($2\,000 \pm 100$ lx),光暗周期为(12 h : 12 h),温度为(25 ± 1) $^\circ\text{C}$,盐度为 28。海水和任何有可能接触硅藻的实验器材使用前必须经过严格的消毒。

2.2 焙烧过程

硅藻在培养 10~15 d 后即可被离心提取。在焙烧前,为了去除无机盐和清理孔道杂物,硅藻需要用质量分数为 10%~15% 的盐酸煮沸酸洗持续 1 h,然后用蒸馏水清洗 3~5 遍,直到溶液 pH 接近中性后方可进入焙烧阶段。将硅藻分为 4 组,分别以 1, 3, 5 和 $7^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率升至 600°C 保温 2 h。

2.3 表征方法

样品的微观形态使用日立 S-4800 场发射扫描电子显微镜(FESEM)进行观察,工作电压和电流分别为 1.0 kV 和 $10.0\ \mu\text{A}$;用与电镜配套的能量色散 X 射线分析仪(EDS)进行元素分析,工作电压和电流分别为 15.0 kV 和 $20.0\ \mu\text{A}$ 。样品的

成分由傅里叶变换红外光谱仪 (Bruker TENSOR27) 测定, 分辨率和测量范围分别为 2 cm^{-1} 和 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 。

3 结果与分析

3.1 不同条件下硅藻壳的形态变化

图 1 所示为不同处理条件下硅藻的电镜 (SEM) 图。通过比较发现, 硅藻的整体结构没有发生较大改变, 只有一些细微的差别。图 1(a) 展示的是原始硅藻, 大部分的孔道被胞内物质堵塞, 且细胞周围布满了杂质。图 1(b) 为酸洗后的硅

藻壳, 一些硅藻细胞的上下瓣膜被打开, 孔道被清洗干净, 且周围几乎看不到杂质分布, 这充分说明了酸洗预处理对于净化硅藻样品的重要性。

图 1(c)~(f) 分别展现了不同升温速率下硅藻壳的形态变化。比较 4 幅图可以发现, 通过升温速率的放缓, 硅藻周围的杂质被进一步去除, 壳面干净光洁, 而且通过酸洗和焙烧, 硅藻的尺寸和形状没有发生任何变化。升温速率的降低, 实际上增加了有机质分解阶段 ($300\sim 500\text{ }^{\circ}\text{C}$) 的保温时间^[13], 有利于有机质的充分分解, 如果单纯依靠升高焙烧温度或延长最终温度 ($600\text{ }^{\circ}\text{C}$) 的保温时间, 会对硅藻壳结构造成破损的威胁。

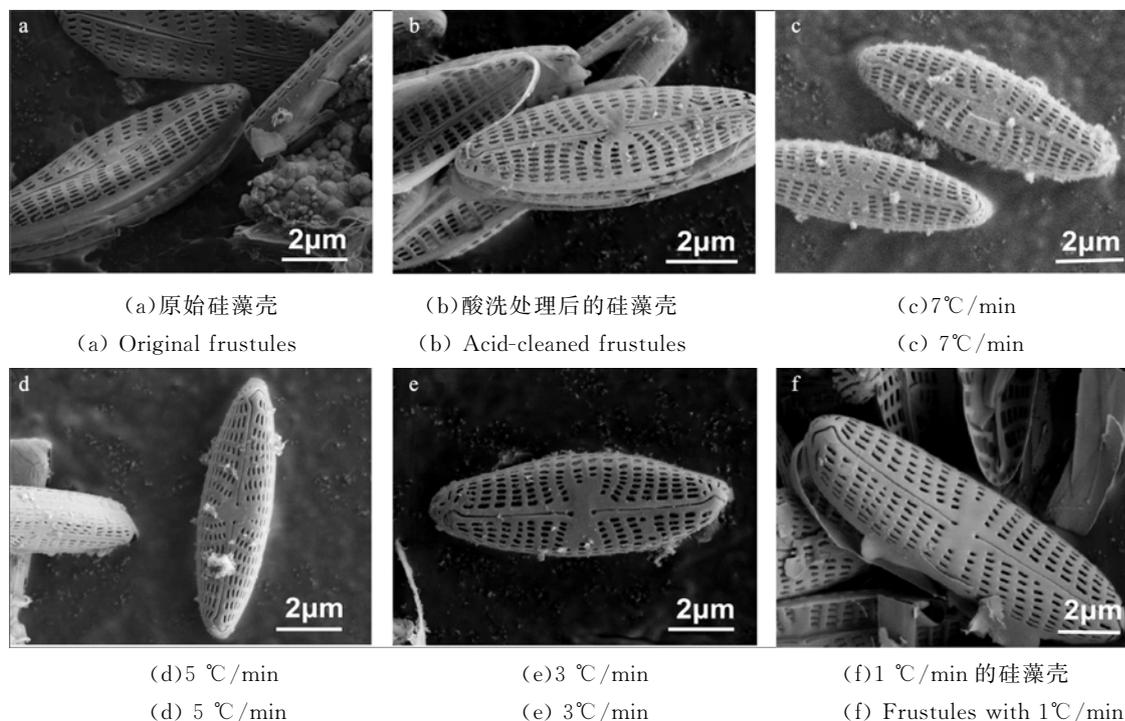


图 1 硅藻电镜图

Fig. 1 SEM images of frustules with different heating rates

3.2 不同条件下硅藻壳的成分变化

图 2 所示为各条件下硅藻壳的 EDS 分析谱图。从图 2(a) 中可以看到多种元素存在于原始硅藻壳当中, 其中的 C、N、P、Cl 和一些金属元素是不需要的。酸洗后, 大部分元素在反应和清洗过程中被移除, 只剩下 3 个强峰出现在图 2(b) 中, 分别是 C、O、Si 对应的特征峰。说明酸洗虽然去除了大量的金属离子、无机盐和有机质, 但是

仍然有部分以 C 链为主的有机质存在于硅藻壳中, 需要后续处理进一步去除。图 2(c)~(f) 为不同升温速率下硅藻壳的 EDS 分析谱图。随着升温速率的降低, Si、O 峰变的更加明显, 而 C 峰则逐渐减弱甚至有消失的迹象。表明焙烧能有效地去除残留的有机质, 并且随升温速率的降低而效果更好, 当升温速率为 $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 时, 效果最佳。

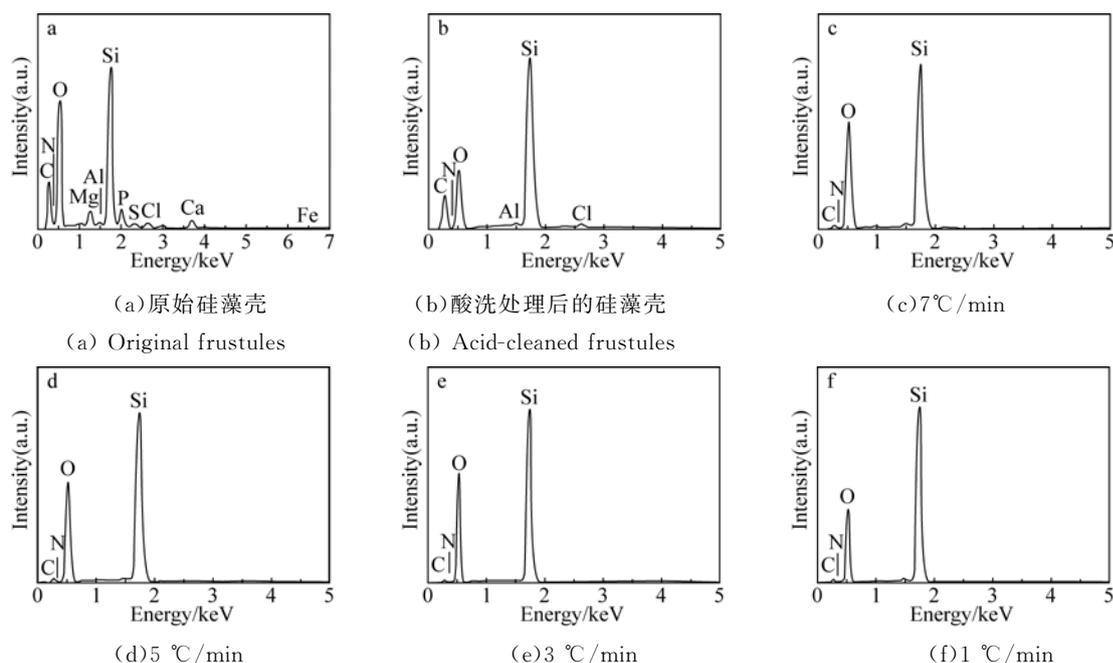


图2 EDS分析谱图

Fig. 2 EDS analysis of frustules

表1所示为EDS分析中各元素的原子百分比。数据同样证明了图谱的结果, Si、O元素的比例经过酸洗和焙烧后得到了明显的提升, 并且在升温速率为 $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 时达到最高值, 分别为 29.02% 和 64.75% , 其原子比接近于 $1:2$, 说明Si的存在形式主要为 SiO_2 。假设Si的存在形式唯一(其后的红外分析确实证明Si的存在形式唯一), 则组成 SiO_2 的Si、O原子占测得总原子数的 87.06% , 其换算成质量分数接近 90% (因为Si、O均比其C、N原子量大, 其它元素只占总原子数的 0.25% 可忽略不计)。

表1 不同条件下硅藻壳的EDS分析数据

Tab. 1 EDS analysis from diatom frustules in different treatments

Diatom frustules	Atomic percentage/%				
	Si	O	C	N	Others
Original	8.81	46.35	35.77	5.55	3.52
Acid-cleaned	14.92	36.21	46.85	1.58	0.44
$7\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$	23.05	64.76	7.68	3.52	0.99
$5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$	24.17	63.50	8.92	2.81	0.60
$3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$	25.90	64.12	7.86	1.55	0.57
$1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$	29.02	64.75	5.03	0.95	0.25

图3所示为各处理条件下硅藻壳的红外光谱图。通过比较6条曲线可以发现, 有几个峰在各条件下一直存在。位于 470 、 810 和 1090 cm^{-1} 的强峰分别为Si—O的弯曲振动峰、对称伸缩振动峰和反对称伸缩振动峰, 这3个峰的共同存在说明了硅藻壳Si—O—Si网络的存在^[14]。另外, 位于 3435 cm^{-1} 附近的宽峰和 1640 cm^{-1} 的尖峰(与N—H弯曲振动峰重叠)也能在每条曲线中观察到, 它们分别对应于O—H伸缩振动峰和弯曲振动峰, 他们的存在主要是由于硅藻壳表面的羟基基团和吸附于硅藻多孔结构内的水分子^[15-16]。随着升温速率的放缓, 两个峰逐渐变弱, 说明经过充分的加热, 能有效地去除表面羟基基团和吸附水。

在原始硅藻和酸洗硅藻的曲线中还观察到了一些小峰的存在, 他们分别是位于 1390 、 2855 和 2925 cm^{-1} 的C—H弯曲振动峰、对称伸缩振动峰和反对称伸缩振动峰, 位于 1525 和 1640 cm^{-1} 的N—H弯曲振动峰和伸缩振动峰, 以及位于 1735 cm^{-1} 的C=O伸缩振动峰^[17-18]。以上基团的存在充分说明了原始和酸洗硅藻壳中有机质成分的大量存在, 而在焙烧后, 这些基团明显减弱, 甚至消失不见。

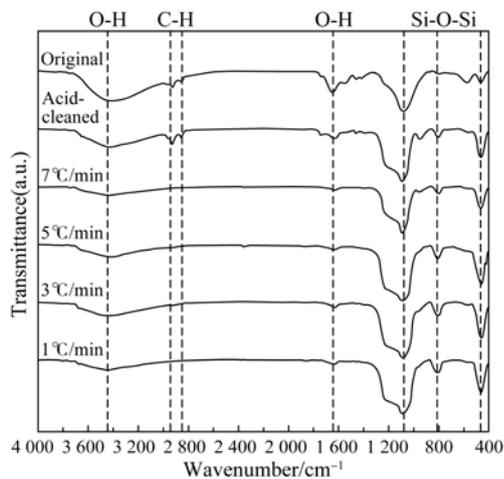
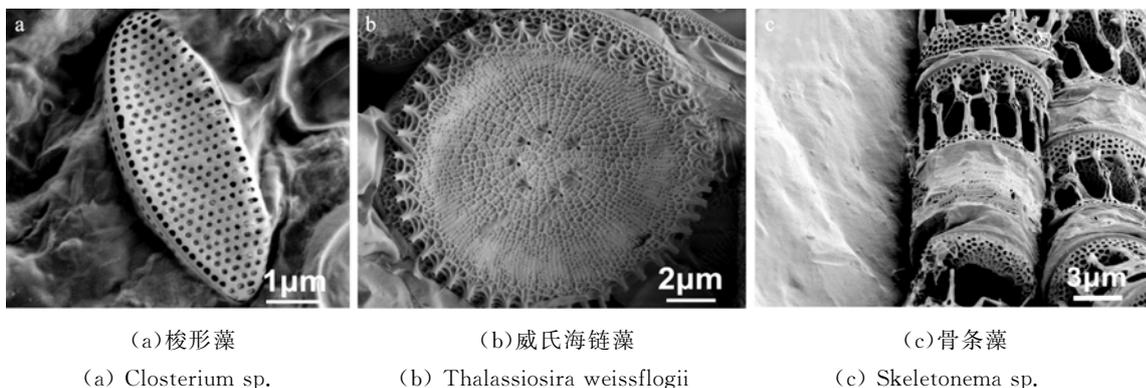


图 3 不同处理条件下硅藻壳的红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectra of diatom frustules in different treatments

在任何一条曲线中都没有检测到位于 $2\ 200 \sim 2\ 215\ \text{cm}^{-1}$ 的 Si—H 伸缩振动峰, $850\ \text{cm}^{-1}$ 的碳化硅 Si—C 伸缩振动峰, $690 \sim 890\ \text{cm}^{-1}$ 的有机硅 Si—C 伸缩振动峰和 $840 \sim 1\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 的 Si—N 吸收峰^[18-19], 证明硅藻壳中 Si 的存在形式只有唯一的 SiO_2 网络形式。

在该焙烧条件下 ($600\ ^\circ\text{C}$, $1\ ^\circ\text{C}/\text{min}$, $2\ \text{h}$), 我们还成功获取了多个品种的硅藻壳, 如图 4 所示。然而, 由于种间差异, 不同硅藻的 SiO_2 含量有所差异, 在同等条件下无法获取像舟形藻这么好的效果, 探索更多硅藻的最佳焙烧条件是我们今后重要的工作之一, 将为扩大硅藻壳的应用范围取得积极的进展。



(a) 梭形藻
(a) *Closterium* sp. (b) 威氏海链藻
(b) *Thalassiosira weissflogii* (c) 骨条藻
(c) *Skeletonema* sp.

图 4 几种实验室纯化培养的单体硅藻电镜图

Fig. 4 SEM images of several single diatom species in our laboratory

4 结 论

本文研究了不同升温速率下硅藻壳的形态和成分变化情况。通过实验表征发现硅藻壳中 Si 的存在形式只有唯一的 SiO_2 网络形式。由于硅藻的多孔 SiO_2 结构, 使它成为了一个很好的隔热材料, 其内部的有机质和水分子在快速加热过程中无法得到充分地分解和蒸发, 较为缓慢的升温

速率对于纯化硅藻的 SiO_2 壳结构是十分必要的, 其 SiO_2 含量随升温速度降低相应出现了明显的上升, 在升温速率为 $1\ ^\circ\text{C}/\text{min}$ 时达到最高值, 其质量分数接近 90% , 已经达到较高标准^[20-21]。与单纯地增加保温时间和提高最终温度的方法相比, 放缓升温速率只是增加了中间过程的时长, 对硅藻壳在高温中被破坏的威胁较小。另外, 硅藻壳在该加热条件下, 形态保持完整, 孔径大小无明显变化, 为制备多孔材料提供了极佳的原材料。

参考文献:

- [1] ARMBRUST E V. The life of diatoms in the world's oceans [J]. *Nature*, 2009, 459(7244):185-192.
- [2] FAN T X, CHOW S K, ZHANG D. Biomorphic mineralization: from biology to materials [J]. *Progress in Materials Science*, 2009, 54(5): 542-659.
- [3] LOSIC D, MITCHELL J G, VOELCKER N H. Diatomaceous lessons in nanotechnology and advanced materials [J]. *Advanced Materials*, 2009, 21(29):2947-2958.

- [4] SUMPER M, BRUNNER E. Learning from diatoms: nature's tools for the production of nanostructured silica [J]. *Advanced Functional Materials*, 2006, 16(1):17-26.
- [5] YANG W, LOPZE P J, ROSENGARTEN G. Diatoms; Self assembled silica nanostructures, and templates for bio/chemical sensors and biomimetic membranes [J]. *Analyst*, 2011, 136(1):42-53.
- [6] LOSIC D, ROSENGARTEN G, MITCHELL J G, et al.. Pore architecture of diatom frustules; potential nanostructured membranes for molecular and particle separations [J]. *Journal of Nanotechnology*, 2006, 6:1-8.
- [7] WANG Y, ZHANG D, CAI J, et al.. Biosilica structures obtained from *Nitzschia*, *Ditylum*, *Skeletonema*, and *Coscinodiscus* diatom by a filtration-aided acid cleaning method [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(5):1165-1178.
- [8] WANG Y, CAI J, JIANG Y, et al.. Preparation of biosilica structures from frustules of diatoms and their applications: current state and perspectives [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(2):453-460.
- [9] GUREL A, YILDIZ A. Diatom communities, lithofacies characteristics and paleoenvironmental interpretation of Pliocene diatomite deposits in the Ihlar-Selime plain (Aksaray, Central Anatolia, Turkey) [J]. *Journal of Asian Earth Sciences*, 2007, 30(1):170-180.
- [10] UMEMURA K, NOGUCHI Y, ICHINOSE T, et al.. Diatom cells grown and baked on a functionalized mica surface [J]. *Journal of Biological Physics*, 2008, 34(1-2):189-196.
- [11] UMEMURA K, NOGUCHI Y, ICHINOSE T, et al.. Morphology and physical-chemical properties of baked nanoporous frustules [J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2010, 10(8):5220-5224.
- [12] ZHANG G, JIANG W, WANG L, et al.. Preparation of silicate-based red phosphors with a patterned nanostructure via metabolic insertion of europium in marine diatoms [J]. *Materials Letters*, 2013, 110:253-255.
- [13] LEE D, WANG W, GUTU T, et al.. Biogenic silica based $Zn_2SiO_4: Mn^{2+}$ and $Y_2SiO_5: Eu^{3+}$ phosphor layers patterned by inkjet printing process [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18(31):3633-3635.
- [14] LI Y, CHIAN W, WANG X, et al.. Coordination assembly and characterization of red-emitting europium(III) organic/inorganic polymeric hybrids [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2011, 87(3):618-625.
- [15] DE STEFANO L, RENDINA I, DE STEFANO M, et al.. Marine diatoms as optical chemical sensors [J]. *Applied Physics Letters*, 2005, 87(23):233902-233902-3.
- [16] QIN T, GUTU T, JIAO J, et al.. Photoluminescence of silica nanostructures from bioreactor culture of marine diatom *Nitzschia frustulum* [J]. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2008, 8(5):2392-2398.
- [17] GALE D K, GUTU T, JIAO J, et al.. Photoluminescence Detection of Biomolecules by Antibody-Functionalized Diatom Biosilica [J]. *Advanced Functional Materials*, 2009, 19(6):926-933.
- [18] 翁诗甫. 傅里叶变换红外光谱分析[M]. 北京:化学工业出版社, 2010.
- WENG S F. *Fourier transform infrared spectroscopy* [M]. Beijing: Chemical Industrial Press, 2010. (in Chinese)
- [19] LETTIERI S, SETARO A, DE STEFANO L, et al.. The Gas-detection properties of light-emitting diatoms [J]. *Advanced Functional Materials*, 2008, 18(8):1257-1264.
- [20] LIU Z, FAN T, ZHOU H, et al.. Synthesis of $ZnFe_2O_4/SiO_2$ composites derived from a diatomite template [J]. *Bioinspiration and Biomimetics*, 2007, 2(1):30.
- [21] DUDLEY S, KALEM T, AKINC M. Conversion of SiO_2 diatom frustules to $BaTiO_3$ and $SrTiO_3$ [J]. *Journal of the American Ceramic Society*, 2006, 89(8):2434-2439.

作者简介:



蒋文凯(1988—),男,浙江金华人,2011年于上海理工大学获学士学位,主要从事海洋硅藻多孔材料方面的研究。E-mail:jiangwenkai555@126.com

导师简介:



邓湘云(1964—),女,江西南昌人,博士,教授,2008年在清华大学获得博士学位,近年来研究领域包括铁电、压电功能材料与器件、多孔陶瓷、纳米多层膜、生物复合材料等。E-mail:xiangyundtj@126.com

(版权所有 未经许可 不得转载)