

文章编号: 1674-5566(2020)03-0385-07

DOI:10.12024/jsou.20190502690

茎柔鱼角质颚的机械强度特性

林静远¹, 刘必林^{1,2,3,4}, 金 宵⁵

(1. 上海海洋大学 海洋科学学院, 上海 201306; 2. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306; 4. 农业农村部大洋渔业开发重点实验室, 上海 201306; 5. 华东理工大学 材料科学与工程学院, 上海 200237)

摘要: 茎柔鱼角质颚不仅表面存在色素沉积的梯度变化, 从喙部到翼部黑色素逐渐变浅, 其机械性能也存在显著的梯度变化, 喙部具有很高的机械强度, 从喙部到翼部机械强度逐渐变小, 韧性逐渐增大。测定无水以及水合状态下茎柔鱼角质颚不同部位(喙部、侧壁、翼部)的机械强度(杨氏模量), 以及主要化学成分、内部分子交联结构, 并利用电子扫描显微镜观察了其不同部位表面和断面上的物理结构, 探究茎柔鱼角质颚机械强度梯度变化的主要原因。研究显示: 无水茎柔鱼角质颚具有很高的杨氏模量, 模量从喙部到翼部差异不显著($P > 0.01$); 而水合的角质颚杨氏模量明显减小, 模量从喙部到翼部呈现显著梯度变化($P < 0.01$)。茎柔鱼角质颚主要含有蛋白质、儿茶酚、壳聚糖和水, 其机械强度随蛋白质、儿茶酚含量增加而增大, 机械强度同时与内部分子交联反应形成的多巴-多交联多聚体以及与其表面和断面上物理结构有关, 茎柔鱼喙部断面层状结构十分显著, 生物体中分层越明显, 其机械强度越大。

关键词: 茎柔鱼角质颚; 机械强度; 化学成分; 化学分子交联; 物理结构

中图分类号: S 917.4 **文献标志码:** A

生物体中往往存在机械性能完全不同的组织(例如骨和软骨, 外壳和内收肌, 指甲和皮肤)完美地连接在一起^[1]。在工业实践中, 具有不同机械性能材料的连接会导致高的界面应力和接触损坏^[2-3]。与此明显矛盾的是, 机械错配的生物分子组织之间的接触非常稳固。牙本质和釉质交界处^[4]、节肢动物外骨骼^[5]、多毛类颌骨和贻贝穗螺纹^[6]均表现出梯度。然而头足类角质颚也具有硬度梯度变化的特殊性质, 它是重要的摄食器官, 用于切碎食物, 由上颚和下颚两部分组成, 镶嵌在头足类的口球内^[7]。角质颚完全由有机物质构成, 其喙部的硬度往往可以媲美无机材料, 从喙部到翼部, 杨氏模量逐渐降低, 呈现出软硬结合的完美梯度变化^[8]。

本文主要对茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)角质颚

不同部位(喙部、侧壁、翼部)的化学成分、内部分子交联结构以及不同部位表面和断面上的微观结构进行测定分析, 同时测定水合以及无水角质颚不同部位的杨氏模量大小, 探讨造成角质颚机械强度梯度变化的本质原因, 为今后设计连接机械性能优异的材料提供基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料来源

2017年6月于赤道附近海域(00°09'S ~ 04°23'S, 85°15'W ~ 179°20'W)采集茎柔鱼样本共32尾, 在实验室解冻后, 用镊子把角质颚从茎柔鱼口球中取出, 并保存于75%的乙醇溶液内。

1.2 塑料-薄膜拉伸性能实验

使用2T/CMT 4202 万能拉力实验机对角质

收稿日期: 2019-05-31 修回日期: 2019-07-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(41876141, 41306127); 上海市高校特聘教授“东方学者”岗位计划项目(0810000243); 上海市“浦江人才”计划项目(18PJ1404100); 国家重点研发计划(2019YFD0901404); 上海市科技创新行动计划(19DZ1207502)

作者简介: 林静远(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源学。E-mail: 1045703396@qq.com

通信作者: 刘必林, E-mail: bl-liu@shou.edu.cn

颚样品进行杨氏模量测定。杨氏模量指的是单向应力状态下应力除以该方向的应变,它在整个拉伸过程中衡量物体抵抗弹性形变能力大小。首先将茎柔鱼角质颚由喙部到翼部分成相对称的两半,之后再按不同部位(喙部、侧壁、翼部)分3段,一半样品直接使用万用拉力试验机进行测定,另一半样品在冷冻干燥机中干燥24 h除去水分后再进行测试。

1.3 角质颚化学成分分析

水含量测定,使用冷冻干燥法,将角质颚在含水状态下称量质量,之后将角质颚冷冻干燥72 h,取出后再称量质量,相减得到其含水的质量。

壳聚糖测定,使用酸水解法,用标准水解溶液(6 mol/L HCl 和 5% 苯酚)在 1 mL 水解管中水解。

儿茶酚等染色物质测定,使用碱过氧化法,将冷冻干燥后的角质颚放入 5% NaOH 溶液中浸泡 24 h。110 °C 水解 24 h。测定蛋白质,最后采用总量相减法^[9]。

1.4 角质颚内部交联结构分析

使用 MALDL-TOF-MS 激光解吸电离飞行时间质谱仪对水合的茎柔鱼角质颚内部主要分子交联结构进行测定分析^[10]。

1.5 角质颚表面与断面微观结构

使用 SEM;Hitach S-4800 场发射扫描电子显微镜对水合的茎柔鱼角质颚不同部位(喙部、侧壁、翼部)的表面以及断面微结构进行观察拍照。

1.6 统计分析

采用方差分析(analysis of variance, ANOVA)比较无水以及水合状态下茎柔鱼角质颚各个部位杨氏模量差异的显著性。

2 结果

2.1 茎柔鱼角质颚杨氏模量测定

无水茎柔鱼角质颚喙部杨氏模量为(7.88 ± 0.90) GPa,侧壁为(6.70 ± 0.87) GPa,翼部为(5.99 ± 0.52) GPa,除侧壁与翼部杨氏模量差异不显著($P=0.10$),其余各部间杨氏模量差异显著($P<0.05$);而水合状态下的茎柔鱼角质颚喙部杨氏模量为(3.45 ± 0.11) GPa,侧壁为(1.95 ± 0.04) GPa,翼部为(0.79 ± 0.06) GPa,各部杨氏模量差异极显著($P<0.01$)。见图 1 和表 1。

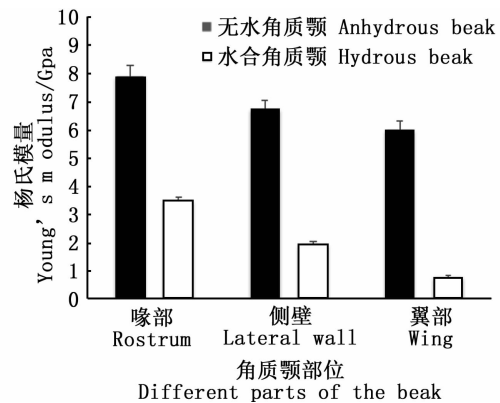


图 1 无水以及水合状态下的茎柔鱼角质颚不同部位杨氏模量

Fig. 1 Young's modulus of different parts of the *D. gigas*'s beak in wet and hydrated status

表 1 ANOVA 比较无水以及水合角质颚不同部位杨氏模量差异显著性

Tab. 1 ANOVA analysis the significant difference between the Young's modulus of different parts of hydrated and wet beaks

角质颚 beak	不同部位 Different parts	df	F	P
无水角质颚 Anhydrous beak	喙部/侧壁	1	5.52	0.03
	喙部/翼部	1	20.62	<0.01
	侧壁/翼部	1	3.07	0.1
含水角质颚 Hydrated beak	喙部/侧壁	1	1 224.86	<0.01
	喙部/翼部	1	3 213.48	<0.01
	侧壁/翼部	1	1 971.61	<0.01

2.2 角质颚化学与物理性质

2.2.1 茎柔鱼角质颚不同部位化学成分

对角质颚不同断面(喙部、侧壁、翼部)进行化学成分分析显示,喙部含水量占湿质量的 19.19% ± 1.61%,壳聚糖占湿质量的 10.21% ± 0.86%,儿茶酚等染色物质占湿质量的 11.10% ± 0.9%,蛋白质占湿质量的 59.51% ± 2.54%;侧壁含水量占湿质量的 42.90% ± 0.34%,壳聚糖占湿质量的 15.96% ± 0.61%,儿茶酚等染色物质占湿质量的 9.78% ± 0.81%,蛋白质占湿质量的 31.35% ± 0.16%;翼部含水量占湿质量的 70.69% ± 0.42%,壳聚糖占湿质量的 24.41% ± 0.84%,儿茶酚等染色物质占湿质量的 1.50% ± 0.26%,蛋白质占湿质量的 3.32% ± 0.88% (图 2)。

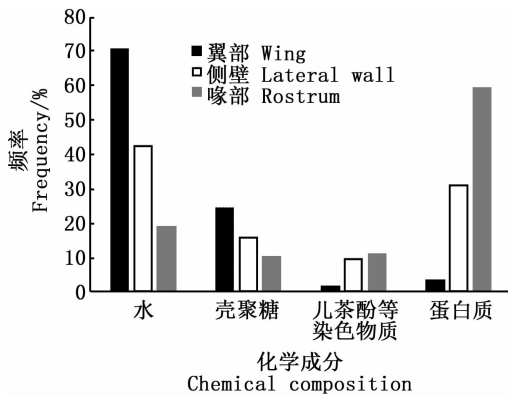


图 2 茎柔鱼角质颚不同部位化学成分
Fig.2 The chemical composition of the different parts of the *D. gigas*'s beaks

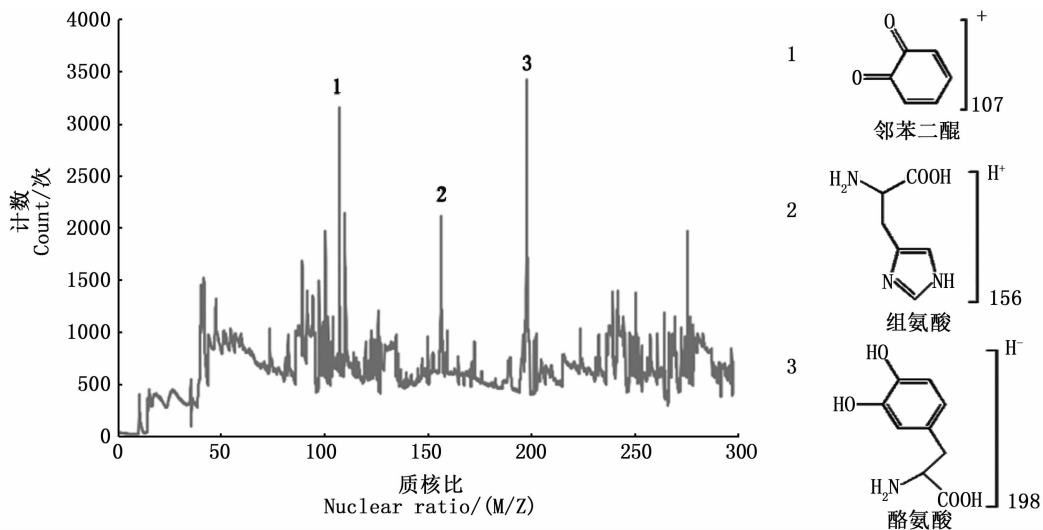


图 3 茎柔鱼角质颚内部的主要分子交联结构
Fig.3 Main molecular cross-linking structure inside the *D. gigas*'s beaks

通过扫描电子显微镜,在放大 10 000 倍数下观察了茎柔鱼角质颚喙部、侧壁、翼部表面上的微结构,发现喙部表面微结构最为平整,侧壁表面有少许云状结构出现,而翼部表面具有明显的云状结构(图 5)。

3 分析与讨论

茎柔鱼角质颚具有特殊的色素沉着现象,从喙部到翼部色素沉积程度逐渐变浅,其杨氏模量从喙部到翼部也逐渐降低,在经过冷冻干燥之后的角质颚喙部机械强度可与最好的工程高分子材料以及金属相媲美,从翼部到喙部,其杨氏模量更可达到 5 ~ 10 GPa 左右。而在含水状态下,其喙部机械强度极高,杨氏模量可以达到 5 GPa

2.2.2 茎柔鱼角质颚内部交联结构

通过激光解吸电离飞行时间质谱仪测试发现,角质颚内部主要由 107M/Z 邻苯二醌(儿茶酚氧化)、156M/Z 组氨酸、198M/Z 酪氨酸这 3 种聚集体交联组成,见图 3。

2.2.3 茎柔鱼角质颚微观物理结构

通过扫描电子显微镜,在放大 10 000 倍数下观察茎柔鱼角质颚喙部、侧壁、翼部断面上的微结构,发现喙部断面上的层状结构最为明显,侧壁断面上的分层没有喙部明显,而翼部断面的层状结构最不明显,见图 4。

左右,而翼部杨氏模量逐渐减低至约为 0.05 GPa^[9],本文测得无水角质颚的杨氏模从翼部到喙部为 5.99 ~ 7.88 GPa,水合角质颚的杨氏模量从翼部到喙部为 0.79 ~ 3.45 GPa,其模量大小也呈现出极显著的梯度差异($P < 0.01$),说明水的存在对于机械强度大小具有很重要的影响。因此,在冷冻干燥状态下,杨氏模量仅微弱地取决于蛋白质或几丁质含量,然而在水合状态下,它表现出对交联组合物的强烈依赖性。最值得注意的是,机械强度大小似乎与几丁质含量呈反比关系,这是一个意想不到的结果,因为几丁质纤维属于最硬的多糖(干燥状态下 $E = 40$ GPa)^[11]。然而角质颚机械强度梯度变化的特殊性与其化学组成、内部交联结构以及物理性质的变

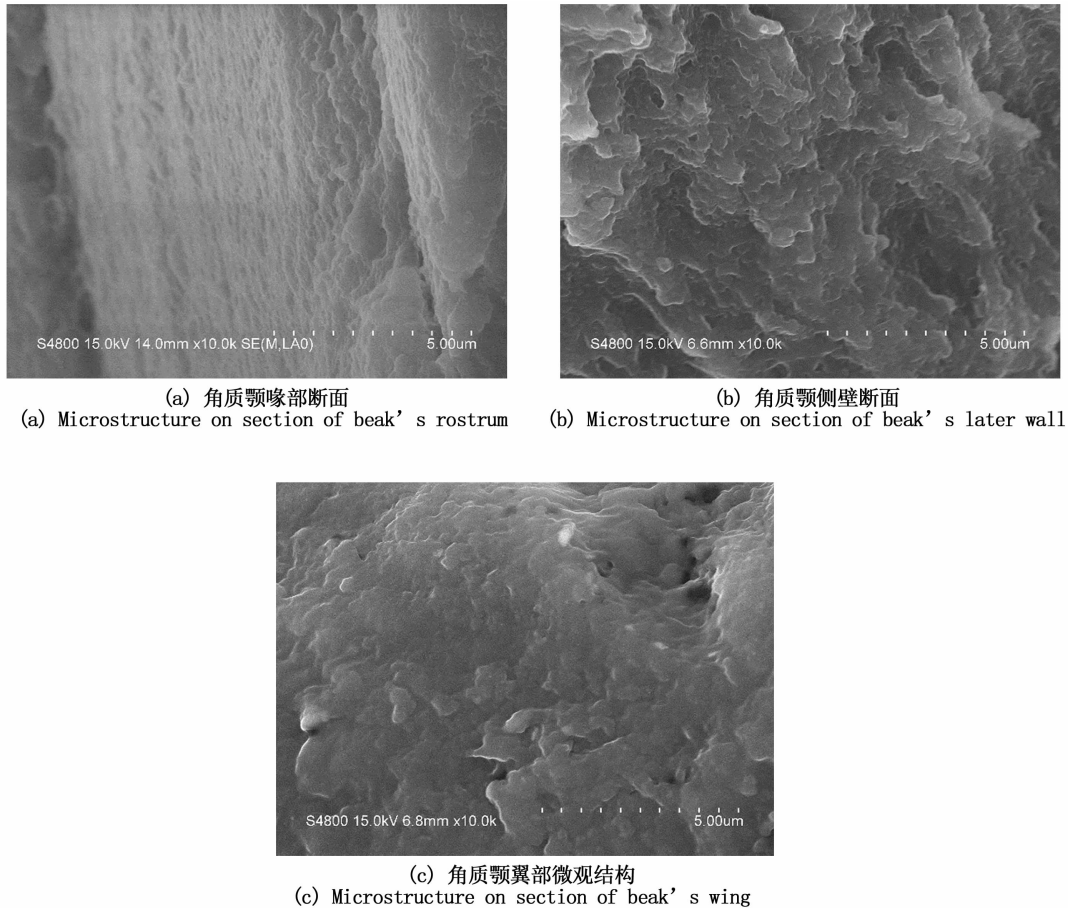


图 4 茎柔鱼角质喙断面微观结构

Fig. 4 Microstructure on section of the *D. gigas*' s beak

化有关。

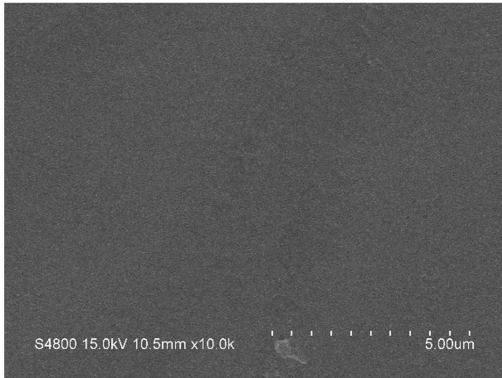
MISEREZ 等^[9]研究发现角质喙的机械强度大小与其化学成分有关,角质喙化学组成为蛋白质(组氨酸、二羟基苯丙氨酸 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine, Dopa)、壳聚糖、儿茶酚类物质以及水。其中蛋白质含量最高,约占角质喙湿质量的 40% ~ 45%,其主要组成氨基酸为甘氨酸、丙氨酸、组氨酸以及天冬氨酸。本文在对含水的角质喙不同断面(喙部、侧壁、翼部)进行化学成分分析后发现,茎柔鱼角质喙主要含有:蛋白质、儿茶酚、壳聚糖和水,其中蛋白质和儿茶酚等染色物质含量喙部 > 侧壁 > 翼部;壳聚糖和水含量翼部 > 侧壁 > 喙部。结合水合角质喙不同部位机械强度(杨氏模量大小),可知蛋白质和儿茶酚含量越高,角质喙对应的机械强度越大,反之壳聚糖和水含量越高,相应的机械强度越小。

角质喙的机械强度还和壳聚糖以及蛋白质这两种高分子的水化程度或者交联程度相关。虽然

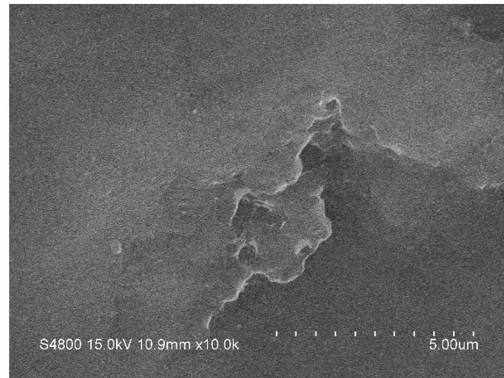
蛋白质的成分表征还不完全,但组氨酸多巴二肽(多巴也是一种氨基酸,这里指的是组氨酸和多巴相结合形成的二聚体)以及组氨酸多巴交联物和角质喙喙部两种氨基酸的成分相似。还有研究^[9]显示,影响茎柔鱼角质喙机械强度的关键,主要由邻苯二醌、乙亚胺咪唑、组氨酸和酪氨酸这几种基团交联反应形成多巴-多交联多聚体导致,这与本文测得的茎柔鱼内部主要的交联分子相吻合。角质喙喙部和昆虫角质层的成分类似,主要有 4 种成分,儿茶酚(包含一种叫 NADA^[12]的成分),具有富含 His 的结构域的蛋白质^[13-14],儿茶酚-组氨酸交联和增强的几丁质网络^[15]。但是这 4 种物质的成分有区别,相比于昆虫角质层中的低分子量 NADA,角质喙中的儿茶酚和蛋白质主链相连,这种相连限制了分子的扩散。另外在昆虫角质层中,NADA 的改变与几丁质和氨基酸无关,而在角质喙中有关。在角质喙中蛋白质里的酪氨酸转化为多巴,那么多巴的成分渐变就会和蛋白质的成

分变化相关。总之在角质颚中多巴和酪氨酸的比例未知,但黑色成分和蛋白质的比例基本不变。从以上研究结论中可以得出角质颚中蛋白质的主要特点与作用:(1)聚集成凝聚体,形成复杂微观结构;(2)自身交联,提供高强度;(3)与壳聚糖交

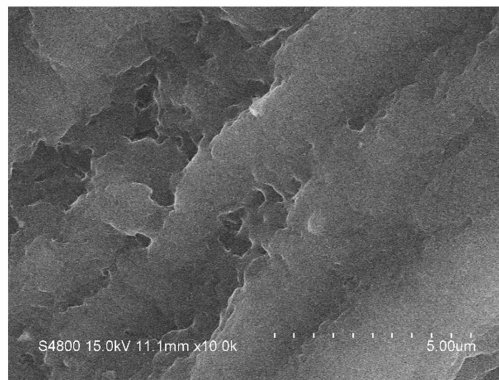
联形成稳定桥联,蛋白质的这些作用为角质颚提供了优异的性能。这证明了本文测得角质颚中邻苯二醌、组氨酸和酪氨酸这几种基团交联反应形成的多巴-多交联多聚体是导致角质颚具有很高的机械强度的关键。



(a) 角质颚喙部断面
(a) Microstructure on section of beak' s rostrum



(b) 角质颚侧壁断面
(b) Microstructure on section of beak' s later wall



(c) 角质颚翼部微观结构
(c) Microstructure on section of beak' s wing

图 5 茎柔鱼角质颚表面微观结构

Fig. 5 Microstructure on surface of the *D. gigas*' s beak

此外茎柔鱼角质颚的机械强度还与其物理结构有关。有研究发现,角质颚喙部的微观结构特点是成分呈层状排列,换言之,角质颚的喙部由大量厚度在 2~3 μm 的薄片组织构成,这些薄片组织平行于角质颚的顶部,而垂直于角质颚的外表面。该层状结构界面作用力较弱,使得喙部结构具有高的断裂韧性,可以承受较高的垂直于该层状结构界面方向上的接触应力。此外,在该层状结构最外部有一层厚度约为 50 μm 的防水保护层。这层保护层的存在能够分散平行于层状微观结构的作用力,使得角质颚喙部在各个方向都具有较高的强度^[8]。本文使用电子扫描显

微镜观察到:茎柔鱼角质颚喙部表面较侧壁、翼部平整,结构更加紧密,翼部表面上则出现明显的云状结构;而角质颚断面上的结构,由翼部、侧壁到喙部,逐渐呈现出越来越明显的分层现象,它由一层层薄片堆积而成,然而层状形态在生物体中往往可以提高其力学性能,分层越明显,对应的区域机械强度越大,这与角质颚喙部机械强度大于侧壁大于翼部的结论相一致。

参考文献:

[1] BENJAMIN M, TOUMI H, RALPHS J R, et al. Where tendons and ligaments meet bone: attachment sites ('entheses') in relation to exercise and/or mechanical load[J]. Journal of

- Anatomy, 2006, 208(4): 471-490.
- [2] HARDY G F. A review of: Adhesion and adhesives; Science and technology[J]. The Journal of Adhesion, 1989, 28(2/3): 199-200.
- [3] SURESH S. Graded materials for resistance to contact deformation and damage[J]. Science, 2001, 292(5526): 2447-2451.
- [4] IMBENI V, KRUZIC J J, MARSHALL G W, et al. The dentin-enamel junction and the fracture of human teeth[J]. Nature Materials, 2005, 4(3): 229-232.
- [5] RAABE D, SACHS C, ROMANO P. The crustacean exoskeleton as an example of a structurally and mechanically graded biological nanocompositematerial[J]. ActaMaterialia, 2005, 53(15): 4281-4292.
- [6] HERBERT WAITEJ, LICHTENEGGER H C, STUCKY G D, et al. Exploring molecular and mechanical gradients in structural bioscaffolds [J]. Biochemistry, 2004, 43(24): 7653-7662.
- [7] 刘必林, 陈新军. 头足类角质颚的研究进展[J]. 水产学报, 2009, 33(1): 157-164.
- LIU B L, CHEN X J. Review on the research development of beaks in Cephalopoda [J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(1): 157-164.
- [8] MISEREZ A, LI Y L, WAITE J H, et al. Jumbo squid beaks: inspiration for design of robust organic composites [J]. ActaBiomaterialia, 2007, 3(1): 139-149.
- [9] MISEREZ A, SCHNEBERK T, SUN C J, et al. The transition from stiff to compliant materials in squid beaks[J]. Science, 2008, 319(5871): 1816-1819.
- [10] 季怡萍, 张红明. 激光解吸电离飞行时间质谱技术及应用[J]. 现代仪器, 2002, 38(1): 14,18-19.
- JI Y P, ZHANG H M. The technology and application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Modern Instruments, 2002, 38(1): 14, 18-19.
- [11] NISHINO T, MATSUI R, NAKAMAE K. Elastic modulus of the crystalline regions of chitin and chitosan[J]. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 1999, 37(11): 1191-1196.
- [12] WAPPNER P, KRAMER K J, HOPKINS T L, et al. White pupa: a *Ceratitis capitata* mutant lacking catecholamines for tanning the puparium[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 25(3): 365-373.
- [13] ICONOMIDOU V A, WILLIS J H, HAMODRAKAS S J. Unique features of the structural model of 'hard' cuticle proteins: implications for chitin-protein interactions and cross-linking in cuticle [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2005, 35(6): 553-560.
- [14] KERWIN J L, TURECEK F, XU R D, et al. Mass spectrometric analysis of catechol-histidine adducts from insect cuticle[J]. Analytical Biochemistry, 1999, 268(2): 229-237.
- [15] KRAMER K J, HOPKINS T L, SCHAEFER J. Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 25(10): 1067-1080.

Mechanical strength of *Dosidicus gigas* beak

LIN Jingyuan¹, LIU Bilin^{1,2,3,4}, JIN Xiao⁵

(1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Exploration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 5. College of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: There is not only a gradient pigmentation change in the surface of *Dosidicus gigas*'s beak, but also a significant gradient change of its mechanical behavior. From the rostrum to the wing, the mechanical strength gradually becomes lower but the toughness becomes higher. In this paper, we determined the difference of Young's modulus in different parts of *Dosidicus gigas*'s beaks (rostrum, lateral wall, wing), the main chemical component and the internal molecular cross-linking was determined. The electronic microscope was used to observe the physical structure of the surface and section of different beak's parts. The reasons for the gradient change of the mechanical strength of keratin were discussed. Studies showed that the anhydrous beak has a high Young's modulus, the modulus is not significantly different from the rostrum to the wing ($P > 0.01$), while the hydrated beak's Young's modulus is significantly reduced, the modulus has a significant gradient change from the rostrum to the wing ($P < 0.01$). The main chemical composition of the beak contains protein, catechol, chitosan and water. The mechanical strength increases with the increasing protein and catechol. The mechanical strength influences from the internal molecular cross-linking structure and the microscopic physical structure on the surface and section. The internal molecules include: phthalic acid, ethylimidazole, histidine and tyrosine, which are cross-linked to Dopa-multi-cross linked multimers. According to the physical structure, the layered structure of the stalk of the squid is very significant. The stratification is more obvious in the organism and the mechanical strength is greater.

Key words: *Dosidicus gigas*'s beak; mechanical behavior; chemical composition; chemical molecular cross linked structure; physical structure