第40卷 第1期	中国岩溶	Vol. 40 No. 1
2021年2月	CARSOLOGICA SINICA	Feb. 2021

董鹏举,李琼芳,董发勤,等.雪宝顶流域黄龙彩池新生钙华生物沉积特性[J].中国岩溶,2021,40(1):88-98. DOI:10.11932/karst20210109

# 雪宝顶流域黄龙彩池新生钙华生物沉积特性

## 董鹏举<sup>1</sup>,李琼芳<sup>1</sup>,董发勤<sup>2,3</sup>,代群威<sup>3,4</sup>,刘凡<sup>5</sup>,宋娜<sup>1</sup>,赵晓夏<sup>1</sup>,崔杰<sup>3</sup>, 罗尧东<sup>3</sup>,Xin Zhang<sup>6</sup>,O'Driscoll Mike<sup>7</sup>

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院,四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学固体废物处理与资源化教育部重点实验室,四川 绵阳 621010; 3. 西南科技大学环境与资源学院,四川 绵阳 621010; 4. 西南科技大学核废物与环境安全国防重点学科实验室,四川 绵阳 621010; 5. 中国地质科学院岩溶地质研究所,广西 桂林 541004; 6. 西北太平洋国家实验室物理与计算科学指挥部,美国 华盛顿 99354; 7. 工业矿物服务与研究有限公司,英国 萨里 埃普索姆 KT17 4RH)

摘 要:为探究钙华沉积的生物特性,以雪宝顶流域黄龙景区的五彩池和争艳彩池为研究对象,采集 和分析研究点藻类的优势种类,利用傅里叶变换红外光谱仪和高效液相色谱确定优势藻胞外产物的 主要组成和含量,并采用X射线荧光光谱仪、X射线衍射光谱仪、傅里叶变换红外光谱仪和扫描电子 显微镜分析其新生钙华的元素组成、物相结构和微观形貌。结果表明:五彩池和争艳彩池的优势藻 类分别是黄藻门(Xanthophyceae)和硅藻门(Bacillariophyta),藻类的胞外产物主要为蛋白质、多糖和 有机酸;新生钙华以方解石为主,表面含羧基、甲基、醛基等基团;与无藻类参与的钙华沉积物对比, 新生钙华晶体无特定形状,并出现溶蚀及穿孔现象。藻类及其胞外产物参与钙华沉积过程,调控钙 华晶体微观形貌。 关键词:新生钙华;生物沉积;藻类;晶体形貌

中图分类号:P512.2 文献标识码:A 文章编号:1001-4810(2021)01-0088-11

**文章编号**:1001−4810(2021)01−0088−11 开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## 0 引 言

位于四川省阿坝藏族羌族自治州松潘县境内的 黄龙风景名胜区是中国5A级国家旅游景区,世界自 然遗产,享有"世界奇观"、"人间瑶池"等美誉。黄龙 景区由于独特的高寒钙华景观被世人所熟知,景区 海拔为3100~3569m,年平均气温为3~7°C。黄龙 是以岩溶地貌为主的钙华沉积区,在水流的作用下 形成了大大小小的钙华彩池景观。黄龙钙华景观主 要由岩溶泉、地下水等沉积形成大孔隙次生碳酸 钙<sup>[1]</sup>,外在特征一般表现为疏松多孔的海绵状结 构<sup>[2]</sup>。根据钙华的形成环境和沉积模式,可将钙华分 为河流沉积钙华、湖泊沉积钙华、沼泽沉积钙华和泉 流沉积钙华4种类型,黄龙景区的高寒钙华属于典型 的泉流沉积钙华<sup>[3]</sup>。关于钙华的形成,目前认为主要 是CaCO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>三者相互作用,以及生物、环境、 水文环境共同作用的结果<sup>[4-5]</sup>,关于钙华沉积中CO<sub>2</sub> 的来源,目前有热成因论<sup>[6]</sup>、冷成因论<sup>[7]</sup>两种观点:热 成因论主要认为地球内部CO<sub>2</sub>分压较高、外界CO<sub>2</sub>分 压较低,使得CO<sub>2</sub>溢出后诱导碳酸钙沉积;冷成因论 主要认为地壳表层的高寒岩溶使得水中CO<sub>2</sub>减少导 致碳酸钙沉积。

近年来,越来越多的研究证明,生物因素也参与 或影响钙华的形成过程。水中生物可以利用光合同 化作用,通过自身的生理生态习性,促进碳酸钙沉

基金项目:国家自然科学基金(41472309,41572035,41877288);四川省科技厅科技支撑项目(2016FZ0043)

第一作者简介:董鹏举(1997-),男,硕士研究生,主要从事环境微生物学研究。E-mail:1574951173@qq.com。

通信作者:李琼芳(1973-),女,博士,教授,博士生导师,主要研究领域为环境及地质微生物学。E-mail:liqiongfang1992@126.com。 收稿日期:2020-09-20

积<sup>[8]</sup>。关于生物参与钙华沉积的研究, Pentecost A 等<sup>[9]</sup>认为植物表面为碳酸钙稳定沉积提供了场所,植 物光合作用使二氧化碳从水中脱离出来,有利于碳 酸钙的沉积<sup>[10]</sup>;Kawaguchi等<sup>[11]</sup>也发现微生物的胞外 聚合物(EPS)对碳酸钙的晶形和形貌具有调控作用, 胞外聚合物由微生物分泌并附着于微生物表面<sup>[12]</sup>, 多含有机酸、氨基酸、多糖等物质。本课题组前期在 黄龙彩池水体中分离了两株嗜冷细菌,通过对嗜冷 细菌胞外产物的研究,发现黄龙嗜冷细菌的胞外产 物之一琥珀酸的浓度会在一定程度上抑制碳酸钙的 沉积,并调控晶体形貌[13]。实验室通过以嗜冷细菌 的胞外产物柠檬酸为研究对象,模拟柠檬酸对碳酸 钙矿化的影响,发现柠檬酸的浓度、pH等会抑制碳酸 钙沉积<sup>[14]</sup>。Winsoborough等<sup>[15]</sup>认为水中的藻类对钙 华沉积有促进作用,而钙华彩池中含有丰富的藻类, 也会对钙华的沉积产生影响,但目前对这方面的研 究文献较少。本课题组前期也研究了黄龙水体中藻 类的群落结构及分布情况,发现不同钙华彩池中藻 类的群落结构差异较大,其中五彩池以黄藻门占绝 对优势,争艳彩池以硅藻门占绝对优势<sup>16</sup>。为进一 步研究黄龙钙华形成过程中藻类参与沉积的生物特 性,此次实验选取五彩池、争艳彩池两个优势藻类不 同的典型彩池,通过研究新生钙华沉积特性,结合彩 池的水体环境,揭示钙华沉积过程中藻类及其代谢 产物对钙华形成的影响,进一步明确黄龙钙华的生 物成因,以期为钙华景观的保育措施提供理论基础。

## 1 材料与方法

#### 1.1 实验试剂

实验所需的主要试剂有无水乙醇、三氯乙酸、乙 醚、丙酮、0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH溶液、甲醇、0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl溶液、三氯甲烷、乙腈、醋酸钠、三氟乙酸、鲁哥氏 液、氨基酸标准品(天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨 酸、精氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、维氨 酸、精氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、苯丙 氨酸、赖氨酸)、单糖标准品(木糖、蔗糖、果糖、甘露 糖、核糖、鼠李糖、D-葡糖醛酸、D-半乳糖醛酸、葡萄 糖、半乳糖、阿拉伯糖)、有机酸标准品(草酸、苹果 酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、乳酸、乙酸)。

### 1.2 实验设备

分析测试的主要仪器有便携式水质测试仪 (DDB-303A电导率仪、GTPH30pH计)、荷兰飞利浦 X'Pert PRO型X射线衍射仪(XRD)、荷兰帕纳科 Axios X-射线荧光光谱仪(XRF)、Nicolet-5700(傅里 叶变换)红外吸收光谱仪(FT-IR)、德国 Leica Cambridge 公司 SteroscanS440型扫描电子显微镜(SEM)、 德国元素 Vario ELCUBE 元素分析仪、Aiglent1200/ 7700x 高效液相色谱、赛多利斯 BSA124S分析天平、 江南光电 Olympus BX51光学显微镜、上海三发科学 DHG-9202恒温干燥箱、美国 HACH HH-3 COD 分析 仪、美国 HACH LH-3BN 总氮总磷快速测试仪、江苏 汉邦科技 ICS-900离子色谱仪、德国 Elementar Liqui TOC II 总有机氮分析仪。

### 1.3 实验方法

1.3.1 五彩池、争艳彩池水化学参数及主要藻类 组成

五彩池、争艳彩池的水化学参数采用便携式水质测试仪现场测定 pH、电导率(*E*<sub>e</sub>)、水温(*T*)、溶解氧(DO),其余参数采样后带回实验室完成测定。

藻类样品采集:分别于2019年5月、10月两次在 五彩池、争艳彩池边石坝内外两侧刮取着生藻类各3 份,放置在含有蒸馏水的无菌样品瓶中,用鲁哥氏液 固定,做好标记后带回实验室观察。

藻类种类鉴定:取0.1 mL混匀的藻样,在光学显微镜下放大1000倍进行形态学鉴定。

1.3.2 优势藻类的胞外有机产物分析

为研究黄龙藻类及其代谢产物对钙华沉积的影 响,对采集藻样的胞外产物进行定性定量分析。

定性分析:将采集的藻类悬液经0.45 μm滤膜过滤,取滤液1~2滴于两块KBr硬片之间,固定后放入样品测量室,利用FT-IR测定藻类胞外产物的光谱信息,利用高效液相色谱仪测定胞外产物的种类及含量。

定量分析:包括单糖、有机酸和氨基酸含量的 测定。

多糖提取后进行水解,取10 mL滤液,加入30 mL 无水乙醇,于4 °C静置12 h后,4 °C,10 000 r·min<sup>-1</sup>离 心10 min,收集粗多糖沉淀,分别用3% 的三氯乙酸、 1% 乙醚和1% 丙酮洗涤后得到较为纯净的精制多 糖。将多糖样品中加入4 mol·L<sup>-1</sup>的三氟乙酸2 mL, 漩涡混匀后放置在90 °C水浴锅中水解4~5 h,冷却至 室温后加0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH溶液调至中性。分别取 200 μL多糖水解液、200 μL单糖标准混合液、200 μL 超纯水于10 mL离心管,分别加入0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液 600 μL,混匀后再加入0.5 mol·L<sup>-1</sup> PMP甲醇溶 液 200 μL, 于 90 °C水浴加热 2 h, 结束后冷却至室温, 加入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 调 pH 至 6.00, 加入三氯甲烷 2 mL, 充分反应后取上层液用 0.45 μm 滤膜过滤。

单糖的色谱条件:ZORBAX Eclipse XDB柱(4.6 ×250 mm,5 μm),柱温 35 °C,流动相为 pH=6.70,浓 度为0.05 mol·L<sup>-1</sup>的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-乙腈(体积比 83:17)缓 冲液,流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

有机酸的色谱条件:ZORBA SB-C18柱(4.6× 150 mm,5 μm),柱温 30°C,流动相为 pH=2.45 的 0.05 mol·L<sup>-1</sup>的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>OH(体积比3:97)缓冲 液,流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量为10 μL。

氨基酸的色谱条件:ZORBX Extend-C18柱 (4.6×250 mm,5 μm),柱温为40°C,流动相为0.1 mol·L<sup>-1</sup>的醋酸钠、乙腈,流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 为10 μL。

1.3.3 钙华的沉积速率测定

为能准确测算黄龙景区五彩池、争艳彩池钙华的沉积速率,反映不同水体环境对钙华沉积的影响, 实验设置五彩池、争艳彩池两个彩池的边石坝内、外 两侧为钙华沉积地点,放置干燥的毛玻璃片(7.6 cm× 2.6 cm×0.15 cm)为短期沉积组,每隔一个月后取回 测算钙华沉积速率,为期一年。放置毛玻璃片为长 期沉积组,半年后分析元素组成及晶体形貌结构。 实验室设置空白对照组,将黄龙彩池中的水经0.45 µm滤膜过滤去除藻类等物质后室内模拟钙华沉积, 沉积后利用SEM分析碳酸钙晶体的微观形貌。

将每月取回沉积有钙华的毛玻璃片烘干水分后 用电子天平称重,放置前后的载玻片质量之差为新 生钙华的沉积量,利用钙华沉积速率公式计算原位 新生钙华的沉积速率<sup>[17]</sup>。

$$R = \frac{W_{\rm ts} - W_{\rm s}}{A \times T}$$

式中: $W_{s}$ 为沉积后的总质量,g; $W_{s}$ 为载玻片质量,g;A为盖玻片的总表面积,cm<sup>2</sup>;T为沉积时间,v。

#### 1.3.4 钙华的元素组成及晶体参数测定

为探究钙华的元素组成,将沉积半年毛玻璃片上的钙华烘干研磨,采用XRF分析元素组成,检测依据JY/T016-1996波长色散型X射线荧光光谱方法通则,测样条件:采用最大功率为2.4 kW的陶瓷X射线光管(Rh靶),测角仪扫描方式为*θ/2θ*,角度重现性优于±0.0001°,精度0.0025°,分析元素范围为元素周期表9号—92号(F—U),含量精度为0.01%,试样直径为32 mm。XRD分析晶体参数,测样条件为:扫描角度3°~80°,Cu靶,管压40 kV,管流40 mA,步进扫描,步宽0.02°·min<sup>-1</sup>。

1.3.5 钙华晶体表面基团及晶体形貌分析

为分析钙华晶体的表面基团及晶体形貌,利用 FT-IR分析钙华表面有机基团,测样条件为:谱图范 围为400~4000 cm<sup>-1</sup>,分辨率为4 cm<sup>-1</sup>,扫描次数为1 次,红外图谱处理包括基线校准、平滑等,作谱图时 差减因子为0.95~1.00。利用SEM观察钙华的晶体 微观形貌,测样条件为:分辨率15 kV为0.8 nm,放大 倍数为12~900000×,样品移动最大范围指标不小于 120 mm(*X*,*Y*方向)、50 mm(*Z*方向)。

## 2 结果与分析

#### 2.1 不同彩池的水化学特性

五彩池、争艳彩池的水化学参数如表1所示,五彩池、争艳彩池pH均偏碱性,五彩池为7.33,争艳彩池为7.74,两个彩池中Ca<sup>2+</sup>浓度均高于100 mg·L<sup>-1</sup>,均有利于碳酸钙沉积。

Table 1	L	Hydroc	hemica	l pro	perties	of	W	ucaic	hi	and	Ź	Zhengy	anca	icl	1
---------	---	--------	--------	-------	---------	----	---	-------	----	-----	---	--------	------	-----	---

ᆄᅸ			无机离子质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>				水质参数/mg·L <sup>-1</sup>						
地点	рн	$E_{\rm c}/\rm{IIIS}$	$Ca^{2+}$	$SO_4^{2-}$	$\mathrm{Mg}^{2+}$	HCO <sub>3</sub>	Cl-	TOC	COD	TN	TP	TC	
五彩池	7.33	7.11	166.44	35.37	5.25	20.76	780.80	33.16	109.84	2.76	4.09	0.49	
争艳彩池	7.74	5.50	112.55	29.33	5.85	18.49	427.00	12.65	49.98	1.72	3.22	0.78	

#### 2.2 钙华彩池藻样群落观察

用显微镜观察五彩池、争艳彩池采集的藻样,采 样点及藻样显微镜图片如图1所示。图1a为五彩池, 彩池整体呈现黄色,显微镜下观察到几乎全部为丝 状黄丝藻(图1c,10×100倍);图1b为争艳彩池,彩池 边石坝外沿的藻席为褐色,用显微镜观察到藻类几 乎全部为单细胞的硅藻(图1d,10×100倍)。



图 1 彩池外观及藻类显微镜观察结果 Fig. 1 Color pool appearance and the morphology of algae

#### 2.3 黄龙彩池优势藻类胞外有机产物

对黄龙彩池优势藻类的胞外产物首先利用FT-IR进行定性分析,根据被测基团的红外特征吸收谱 带的位置,来确定该基团是否存在,结果如图2所示。 图2中均在(3433±5.0) cm<sup>-1</sup>处出现了水分子或酚类 分子内缔合的O-H伸缩振动;在(2925±5.0) cm<sup>-1</sup>处 出现了有机酸类或脂肪酸类的羧基、甲基、醛基、脂 肪族C-H键的伸缩振动;在(1635±5.0) cm<sup>-1</sup>处出现 了氨基酸、蛋白质和多肽物质中N-H酰胺的弯曲 振动。

由图2可知,藻类的胞外产物在(1268±5.0) cm<sup>-1</sup>出现的振动峰为多糖物质中的C-O-C和C-O键 伸缩振动;(1049±5.0) cm<sup>-1</sup>附近为多糖物质C-O的 伸缩振动区;波数在(600±5.0) cm<sup>-1</sup>附近出现一弱吸 收峰,为糖环骨架的伸缩振动峰。这表明两处彩池 中藻类的胞外产物中均存在有机酸、蛋白质、多糖类 物质。

为进一步定性并定量测定藻类胞外产物的主要 组成,利用高效液相色谱对氨基酸、有机酸、多糖进 行分析。首先用标准品建立单糖、有机酸、氨基酸的





回归方程,结果如表2所示。在标准混合液的回归方程中,单糖、氨基酸和有机酸浓度(*X*)与峰面积(*Y*)呈现良好的线性关系,相关系数分别为*R*<sup>2</sup>>0.85,*R*<sup>2</sup>>0.95,*R*<sup>2</sup>>0.84。

	名称		检测波长/ nm	回归方程	线性区间/ mg·L <sup>-1</sup>	相关系数
	木糖	1.28	250	Y = 5.85X - 83.76	5~500	0.9948
	蔗糖	1.36	250	Y = 7.40X + 50.04	5~500	0.9919
	果糖	1.67	250	Y=27.48X-403.50	5~500	0.9976
	甘露糖	1.93	250	Y = 11.05X + 820.09	5~500	0.8556
	核糖	2.22	250	Y = 2.86X + 280.83	5~500	0.8778
单糖	鼠李糖	2.51	250	Y = 0.43X + 71.52	5~500	0.9921
	D-葡糖醛酸	5.53	250	Y = 68.57X + 3808.00	5~500	0.9592
	D-半乳糖醛酸	7.96	250	Y=11.86X-213.19	5~500	0.9952
	葡萄糖	10.89	250	<i>Y</i> =0.92 <i>X</i> +457.64	5~500	1
	半乳糖	12.07	250	Y = 3.68X + 413.25	5~500	1
	阿拉伯糖	13.34	250	Y=18.19X+488.13	5~500	0.9907
	草酸	1.21	210	Y = 0.09X + 31.49	50~5 000	1
	酒石酸	1.30	210	Y=0.35X+36.19	5~50	1
	苹果酸	1.52	208	Y = 0.55X + 13.66	50~5 000	1
有机酸	乳酸	1.84	208	Y=0.82X-162.65	50~5 000	0.9962
有机酸	乙酸	2.09	208	Y = 0.26X + 153.71	50~5 000	0.9584
	柠檬酸	2.21	208	Y = 0.53X - 0.54	50~500	1
	琥珀酸	2.74	208	Y = 0.33X - 2.92	50~500	1
	天冬氨酸	1.20	248	Y = 909.70X + 270.35	0~500	0.9369
	谷氨酸	34.45	254	Y=3 236.98X+140.92	0~500	0.9905
	甘氨酸	55.77	254	Y=3 035.87X-165.66	0~500	0.9993
	组氨酸	56.03	254	Y=3 024. 19X-179. 08	0~500	0.9954
	精氨酸	56.53	254	Y = 526.56X + 1275.90	0~500	0.8475
氨基酸	酪氨酸	58.66	280	Y=3 747.76X-529.14	0~500	0.9145
	缬氨酸	59.31	262	Y = 2924.32X - 62.62	0~500	0.9964
	蛋氨酸	59.97	254	<i>Y</i> =3 500. 18 <i>X</i> -83. 18	0~500	0.9913
	半胱氨酸	62.86	257	<i>Y</i> =4 017. 97 <i>X</i> −1 578. 76	0~500	0.9931
	苯丙氨酸	67.42	257	<i>Y</i> =3 267. 53 <i>X</i> −78. 68	0~500	0.9123
	赖氨酸	68.85	273	Y = 5851.77X - 803.86	0~500	0,9456

表2 单糖、有机酸、氨基酸标准品的回归方程[16]

对比单糖、有机酸、氨基酸标准品的回归方程, 定性定量分析彩池藻样胞外多糖中单糖组分、有机 酸、氨基酸,结果如表3所示。两个彩池中的藻样均 含5种单糖组分,分别为木糖、蔗糖、甘露糖、核糖和 D-葡糖醛酸,其中,五彩池藻样胞外D-葡糖醛酸含 量最多,为438.67 mg·L<sup>-1</sup>,争艳彩池仅为293.04 mg·L<sup>-1</sup>。五彩池藻样胞外产物中有天冬氨酸、谷氨 酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、酪氨酸、缬氨酸、半胱 氨酸8种氨基酸,其中天冬氨酸含量最多,为1.044 3 mg·L<sup>-1</sup>。争艳彩池藻样的胞外产物中,并未检出谷氨酸、缬氨酸,而精氨酸含量可达2.4049 mg·L<sup>-1</sup>。两处彩池藻样的胞外产物中均含有草酸,五彩池藻样胞外有机产物中草酸含量达1796.05 mg·L<sup>-1</sup>,争艳彩池藻样中仅含有615.40 mg·L<sup>-1</sup>。

#### 2.4 钙华的沉积速率

测定五彩池、争艳彩池钙华的沉积速率,可直接反映该环境中钙华沉积的快慢,为分析钙华沉积特

表3 藻类胞外单糖、有机酸、氨基	酸含量
------------------	-----

Table 3 Contents of algae extracellular monosaccharide, organ-

ic acid and amino acid								
	反称	争艳彩池优势藻/	五彩池优势					
	石仰	$mg \cdot L^{-1}$						
	木糖	31.79	54.28					
	蔗糖	54.09	144.31					
单糖	甘露糖	41.14	248.08					
	核糖	125.80	357.22					
	D-葡糖醛酸	293.04	438.67					
	天冬氨酸	0. 278 5	1.0443					
	谷氨酸	—	0.034 9					
	甘氨酸	0.0590	0.1732					
	组氨酸	0.0624	0.4591					
氨基酸	精氨酸	2.404 9	0.1270					
	酪氨酸	0.1466	0.1479					
	缬氨酸	—	0.0255					
	半胱氨酸	0.5103	0.4197					
有机酸	草酸	615.40	1 796.05					

注:"一"为低于仪器检出限。

性提供基础。图3为五彩池、争艳彩池边石坝内外两侧钙华的沉积速率,五彩池边石坝内外两侧的钙华沉积速率分别为0.785g·cm<sup>-2</sup>·y<sup>-1</sup>和1.769g·cm<sup>-2</sup>·y<sup>-1</sup>,争艳彩池边石坝内外两侧的钙华沉积速率分别为0.677g·cm<sup>-2</sup>·y<sup>-1</sup>和1.382g·cm<sup>-2</sup>·y<sup>-1</sup>。由此可知,五彩池、争艳彩池边石坝外侧钙华的沉积速率均大于内侧的沉积速率,且边石坝外侧沉积速率约为内侧沉积速率的2倍。水流状态可能是影响钙华沉积的环境因素之一,随着彩池上游水体向下游流动,水和空

气界面的水层变薄,有利于水中CO<sub>2</sub>的溢出,使得在 彩池外侧水中碳酸钙的饱和程度下降,导致碳酸钙 沉积加快。



Fig. 3 Deposition rates of newly generated travertine in Wucaichi and Zhengyancaichi

#### 2.5 钙华的元素组成及晶体参数

为比较两个彩池中钙华的元素组成差异,利用 元素分析仪对毛玻璃片上沉积的钙华进行元素分 析,结果如表4所示。由表4可知,五彩池、争艳彩池 钙华成分中均含有Ca、Si、Al、K、S、Sr、P、Mg元素。不 同彩池钙华中元素含量不同,五彩池钙华成分中Ca 元素含量较高,为98.35%,争艳彩池钙华成分中Si元 素含量较高,为2.12%,这可能与争艳彩池中硅藻含 量较多有关。对钙华的元素组成分析表明,钙华的 元素组成受到了生物的影响。

表4 五彩池、争艳彩池钙华元素组成	
-------------------	--

Table 4 Composition of travertine deposits in Wucaichi and Zhengyancaichi																		
					元表氏具	△米/ 0/												
地点					儿系贝里	<b>)] 51</b> /70					LOI / %							
	Ca	Si	S	Mg	Al	Sr	Ba	Fe	Κ	Р								
五彩池	98.35	0.87	0.34	0.28	0.06	0.03	—	—	0.05	0.01	48.00							
争艳彩池	96.90	2.12	0.43	0.22	0.1	0.08	0.04	0.04	0.03	0.01	44.12							

对两个彩池钙华晶体参数的分析如图4所示,图 4a为五彩池、争艳彩池钙华的XRD图谱,均出现了以 CaCO<sub>3</sub>为主的方解石特征衍射峰,其对应的主要优势 面均为(012)、(104)、(110)、(113)、(202)、(108)、 (116)和(122)等。五彩池内侧、争艳彩池外侧钙华 中出现了优势面为(114)、(118)文石型碳酸钙的特 征衍射峰,说明钙华主要以方解石型碳酸钙为主, 还有少部分文石型碳酸钙。图4b为五彩池、争艳彩





Fig. 4 XRD and FT-IR of newly generated travertine in Wucaichi and Zhengyancaichi

池钙华的FT-IR图谱,两处彩池的钙华红外吸收峰 基本一致,均出现了7个吸收峰,波数在(3425± 5.0) cm<sup>-1</sup>为水分子或酚类分子内缔合的 O-H 伸缩振 动,波数在(2970±5.0) cm<sup>-1</sup>为有机酸类或脂肪酸类 的羧基、甲基、醛基、脂肪族C-H键的伸缩振动,波数 在(2513±5.0) cm<sup>-1</sup>为羧酸羧基中的 O-H伸缩振动, 波数在(1798±5.0) cm<sup>-1</sup>为酮、酯、醛或酸类C=O双键 伸缩振动,波数在(1425±5.0) cm<sup>-1</sup>处为方解石中  $CO_3^{2-}$ ,脂肪族、伯酰胺中 $CO_3^{2-}$ 、CH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>的非对称伸缩 振动,波数在(875±5.0) cm<sup>-1</sup>处为方解石 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>中O-C-O面外弯曲振动,波数在(712±5.0) cm<sup>-1</sup>处为方解  $T CO_3^2 = 0 - C - 0$  面内弯曲振动。可见, 五彩池、争 艳彩池边石坝内外侧钙华晶体表面均含有机基团, 说明钙华中除了碳酸钙外还含有有机成分,这些有 机基团可能来源于藻类分泌的胞外有机物,也可说 明钙华的形成受到藻类生长代谢的影响。

## 2.6 新生钙华的微观形貌结构特征

为更好表征两个彩池钙华晶体的微观形貌特征,对采集的钙华样品进行了SEM分析,结果如图5 所示。图5a为争艳彩池边石坝外侧钙华的SEM图, 钙华晶体无特定形状,晶体表面有部分硅藻,晶体之 间相互黏结,部分晶体出现溶蚀现象。图5b、图5d为 五彩池边石坝外侧钙华的SEM图,钙华晶体并无特 定结构,方解石结构不明显,晶体之间相互黏结,晶 体表面有丝状藻附着的痕迹。图5c为碳酸钙晶体 SEM图,晶体呈明显的方解石结构,晶体之间相互分 散,晶体表面并无溶蚀现象。通过对比分析黄龙景 区五彩池、争艳彩池中钙华微观形貌结构,发现在不 同彩池生境中,由于不同水体沉积环境,钙华的晶体 形貌有明显差异,并显著区别于纯净碳酸钙的晶体 形貌,这表明藻类的参与影响了钙华晶体的微观形 貌,不同的优势藻类对钙华的晶体形貌也有不同影 响,部分晶体的穿孔及棱角溶蚀现象与藻类及其代 谢产物有关。

## 3 讨 论

#### 3.1 新生钙华的沉积速率

黄龙景区独特的地理环境造就了壮观的高寒钙 华景观。钙华的沉积速率直接反映了钙华沉积的快 慢,许多研究者对黄龙景区钙华沉积速率进行了研 究。刘再华等[5]利用理论模型,得出钙华的沉积速率 为0.43~4.70 mm·a<sup>-1</sup>。陈先等<sup>[18]</sup>利用同位素标记法 测得黄龙钙华的沉积速率为0.4~5.0 mm·a<sup>-1</sup>。钙华 的沉积速率受到多方面影响,张金流<sup>[10]</sup>认为造成这 种沉积速率不同的原因由水体流动引起,水流动过 程中,增大了与空气的接触面积,部分溶于水中的 CO,溢出,随着CO,溢出,使得水体酸度增加,碳酸钙 的溶解度降低,使得碳酸钙在水中饱和,有利于沉 淀。章典[20]通过实验表明,在其他条件相同时,钙华 沉积速率取决于水一气界面的大小,界面越大,沉积 速率越快。刘再华等<sup>[21]</sup>也通过CaCO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>流动 体系建立固液界面扩散边界层(DBL)理论模型,发现 水流速度加剧了水分子间摩擦,使水温上升,水层变 薄,水-空气界面变大,有利于CO,的逃逸与碳酸钙 沉积。张英俊等<sup>[22]</sup>根据薄冰效应理论得出,沉淀平

94



图 5 钙华和纯净碳酸钙的 SEM 图 Fig. 5 SEM images of travertine and pure calcium carbonate

衡时间越短,水流速度越快,碳酸钙沉积速率越快。 钙华的沉积速率除了水流因素影响外,气候及季节 因素也会影响碳酸钙沉积。Kano等<sup>[23]</sup>认为碳酸钙沉 积的晶体形态及沉积速率受到季节性的影响,夏一 秋沉积速率较快,冬一春沉积速率较慢,沉积速率快 时将产生致密的方解石结构,沉积速率慢时形成疏 松层。

黄龙彩池边石坝内外两侧水流状态不同,随着 彩池上游水体向下游流动,水和空气界面的水层变 薄,有利于水中CO<sub>2</sub>的溢出,使得在彩池外侧水中碳 酸钙溶解度下降,导致边石坝外侧碳酸钙沉积加快。 其次,五彩池水体中Ca<sup>2+</sup>含量比争艳彩池高,更有利 于碳酸钙的沉积,钙华的沉积速率也高于争艳彩池。 另外,造成这种沉积速率不同的原因也与水体环境 有关,水中的藻类等通过光合作用加速吸收水中的 CO<sub>2</sub>,使得水中CO<sub>2</sub>分压降低,有利于碳酸钙沉积。而 彩池边石坝内外侧水深不同,温度对水中的生物起 着调控作用,也可间接影响钙华的沉积。此外,争艳 彩池海拔比五彩池稍低,沉积速率较五彩池相比较 低,可能是由于下游水中碳酸钙不断沉积,碳酸钙趋 于饱和,导致沉积速率变小。

#### 3.2 藻类对钙华晶体特征的影响

由于藻类强大的生存及繁殖能力,其在自然界 中广泛存在。在探究黄龙高寒钙华形成过程的生物 沉积特性中,藻类是不可忽视的因素。黄龙景区由 于海拔较高、气温低等原因,彩池中藻类结构丰富, 其中主要以嗜冷藻类为主。李永新等<sup>[24]</sup>通过采集黄 龙景区藻类,发现黄龙景区藻类分为4门19属86种, 同时发现不同优势藻类对碳酸钙沉积影响不同,蓝 藻为优势藻则主要参与黄龙钙华坝的形成,硅藻为 优势藻则主要参与黄龙钙华坝的形成,且藻类 的生长既能参与钙华的形成,在长期缺乏岩溶水补 给时也会破坏钙华景观。刘明学等<sup>[25]</sup>研究了黄龙钙 华藻类多样性及分布规律,发现黄龙钙华水体藻类 以硅藻占绝对优势,绿藻门、黄藻门、蓝藻门次之,裸 藻门、金藻门最少。从季节交替变化来看,春季小球 藻最多,夏秋季节硅藻最多;从分布规律来看,夏季 以海拔最高的泉眼处藻类最多,沿海拔降低藻类数 量递减。

对两个彩池藻样胞外产物的分析表明,不同优 势藻的胞外产物含量不同,但均含氨基酸、有机酸和 多种单糖组分。两个彩池中钙华晶体表面含有有机 基团,这可能与藻类的生长代谢有关。彩池边石坝 处藻席的积聚生长,为钙华的沉积提供了环境基础。 争艳彩池钙华中Si元素含量较高,而五彩池钙华Si 元素含量占比不大,这与争艳彩池优势藻为硅藻相 对应,硅藻参与或者影响了争艳彩池钙华的形成,并 对其晶体元素组成产生了影响。水中的藻类不仅能 够作为骨架为钙华沉积提供支撑作用[26],藻类分泌 的胞外代谢产物也可以对 CaCO<sub>3</sub> 微晶体产生黏结作 用[27-28]。藻类在钙华形成过程中广泛存在,其中最常 见的是蓝藻和硅藻<sup>[29]</sup>,它们既可以捕获碳酸盐颗粒, 并为其提供沉积的场所<sup>[9]</sup>,还可通过光合作用帮助碳 酸盐沉淀,并给钙华着色[30]。白天藻类进行光合作 用对水体中的CO2进行同化调节<sup>[31]</sup>,使得水中CO2的 浓度降低,水中的碳酸钙由于过饱和而沉积。王智 慧等[32-33]认为微型生物在钙华沉积过程中的贡献主 要有:为钙华沉积提供晶体附着、形成、发育和结核 的场所;蓝藻、绿藻通过光合作用转移了水中的CO,, 加速钙华的沉积;硅藻、绿藻形成的藻席构成了基本 沉积骨架席,加速了岩溶物的沉积和生长;藻类等微 型生物还可参与调控钙华表面微观结构。汪智军 等[34]认为细菌、藻类广泛参与钙华的形成,生物沉积 过程主要包括:①生物生长扰动水流使得CO,逸出; ②代谢作用(如光合作用)过程诱导碳酸钙沉积;③ "表面控制"过程影响晶体成核及生长。郭云等[35]认 为藻类在钙华的形成过程中起着非常重要的生物控 制作用,硅藻对地表钙华沉积的生物作用,主要包括 同化作用、拦截和黏结作用、结壳作用、胶结作用。

#### 3.3 藻类对钙华的溶蚀作用

藻类在钙华沉积过程中的促进作用是值得肯定的,另一方面,藻类的生长代谢也会给钙华的沉积带 来不利影响,二者相互作用,共同影响钙华景观的形成。五彩池、争艳彩池钙华晶体表面存在有机物的 特征官能团,结合对硅藻、黄丝藻的分析可知,藻类 的胞外产物含有多糖、氨基酸和草酸,这表明藻类的 存在介入了钙华的沉积过程,五彩池优势藻胞外产 物中草酸含量较高,藻类分泌的草酸可能会影响钙 华的沉积,并通过调节水体pH造成钙华溶蚀的现象。 其次,白天藻类进行光合作用,合成有机物质供自身 生长,夜间通过呼吸作用,释放CO,,遇水生成碳酸, 从而引起微环境中碳酸盐溶解。藻类的胞外代谢产 物(如有机酸)可侵蚀碳酸盐岩,多糖可被水中的微 生物氧化分解,生成具有溶蚀作用的草酸等[36-37],则 可破坏碳酸钙的晶体形貌,使碳酸盐岩表面的硬度 明显下降,变得疏松。SEM图片显示,钙华晶体形状 不同于纯净碳酸钙的晶体形状,晶体并无明显的棱 角,部分晶体表面还存在孔状结构,这可能与藻类及 其胞外产物有关。张捷等[38]认为藻类还具有穿孔作 用;钙华沉积区水域内藻类繁多,钙华晶体表面存在 的孔状结构可能与不同环境中藻类有关<sup>[39]</sup>。Salgado 等[40]研究发现生物藻类的代谢过程及代谢产物也会 影响钙华的形成。钙华的溶蚀作用使钙华晶体的棱 角溶蚀,使晶体出现孔状结构,另外,由于藻席及其 代谢产物的积累,导致部分钙华发黑,出现了退化和 砂化的现象。

## 4 结 论

(1)黄龙景区的五彩池和争艳彩池的优势藻类 分别是黄藻门和硅藻门,藻类的胞外产物含有蛋白 质、多糖和有机酸;

(2)五彩池新生钙华的沉积速率高于争艳彩池, 且彩池边石坝外侧的钙华沉积速率大于内侧;

(3)藻类均参与钙华晶体的形成过程,钙华晶体 表面均存在藻类生长代谢的痕迹;藻类的胞外有机 产物对钙华晶体外形具有调控作用,导致钙华晶体 出现不同程度的溶蚀及穿孔现象。

#### 参考文献

- [1] 袁道先. 岩溶学词典[M]. 北京:地质出版社, 1988: 42-43.
- [2] 刘再华,田友萍,安德军,等.世界自然遗产-四川黄龙钙华 景观的形成与演化[J].地球学报,2009,36(6):841-847.
- [3] 田友萍,何复胜.石灰华的生物成因研究:以四川九寨沟和贵 州黄果树等地石灰华为例[J].中国岩溶,1998,17(1):49-56.
- [4] 刘再华, W Dreybrodt, 韩军, 等. CaCO<sub>3</sub>-CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O 岩溶系
  统的平衡化学及其分析[J]. 中国岩溶, 2005, 24(1):49-56.
- [5] 刘再华,袁道先,W Dreybrodt,等.四川黄龙钙华的形成

[J]. 中国岩溶, 1993, 12(3): 185-191.

- [6] 周绪纶.关于四川黄龙钙华CO2成因的讨论[J].四川地质学报,2006,26(3):143-146.
- [7] 李刚.高原冷水环境黄龙典型硅藻的钙华复合沉积作用研究 [D].绵阳:西南科技大学,2018.
- [8] 廖长军.钙华沉积的生物效应[D].桂林:广西师范大学, 2006.
- [9] Pentecost A, Zhang Z. The travertine flora of Juizhaigou and Munigou, China, and its relationship with calcium carbonate deposition[J]. Cave & Karst Science, 2000, 27(2): 71-78.
- [10] Drysdalea R N, Carthewb K D, Taylor M P. Larval caddis fly nets and retreats: a unique biosedimentary paleocurrent indicator for fossil tufa deposits [J]. Sedimentary Geology, 2003, 161(3): 207-215.
- [11] Kawaguchi T, Decho A W. A laboratory investigation of cyanobacterial extracellular polymeric secretions (EPS) in influencing CaCO<sub>3</sub> polymorphism [J]. Journal of Crystal Growth, 2002, 240(1-2): 230-235.
- [12] Decho A W, Visscher P T, Ferry J, et al. Autoinducers extracted from microbial mats reveal a surprising diversity of Nacylhomoserine lactones (AHLs) and abundance changes that may relate to diel pH[J]. 2009, 11(2): 409-420.
- [13] 李骐言,李琼芳,代群威,等.黄龙嗜冷细菌胞外琥珀酸组分 对碳酸钙矿化的影响[J].岩石矿物学杂志,2013,32(6): 773-781.
- [14] 李琼芳, 董发勤, 李琪言, 等. 柠檬酸对黄龙碳酸钙矿化影响 的模拟实验研究[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2015, 34(2): 294-300.
- [15] Winsoborough B M, Golubić S. The role of diatoms in stromatolite growth: Two examples form modern freshwater settings[J]. Journal of Phycology, 2010, 23(2): 195-201.
- [16] 张存凯.黄龙藻类群落结构分析及优势类群对碳酸钙沉积的 影响[D].绵阳:西南科技大学,2017.
- Zaihua L, Svensson U, Dreybrodt W, et al. Hydrodynamic control of inorganic calcite precipitation in Huanglong Ravine, China: field measurements and theoretical prediction of deposition rates [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1995, 59 (15): 3087-3097.
- [18] 陈先,朱学稳,周绪纶.黄龙风景区岩溶水及泉华沉积的同 位素研究[J].中国岩溶,1998,17(3):209-211.
- [19] 张金流.黄龙钙华景观退化的人为和自然影响机理研究[D]. 北京:中国科学院,2012.
- [20] 章典. 洞穴碳酸钙沉积的水运动条件[J]. 中国岩溶, 1983,2 (1): 33-41.
- [21] 刘再华, W Dreybrodt. DBL 理论模型及方解石溶解、沉积速 率预报[J]. 中国岩溶, 1998, 17(1): 3-6.
- [22] 张英俊, 程星, 祝安. 石灰华沉积机制的实验研究[J]. 中国 岩溶, 1994, 13(3):197-205.

- [23] Kano A, Kawai T, Matsuoka J, et al. High-resolution records of rainfall events from clay bands in tufa [J]. Geology, 2004, 32(9): 793-796.
- [24] 李永新,田友萍,李银.四川黄龙钙华藻类及其生物岩溶作用[J].中国岩溶,2011,30(1):86-92.
- [25] 刘明学,董发勤,孙仕勇,等.黄龙钙华水体藻类多样性及分 布规律研究[J].环境科学与技术,2013,36(1):182-186.
- [26] 刘海生,周训,张彧齐,等.温泉钙华沉积的影响因素[J].中 国岩溶,2020,39(1):11-16.
- [27] Nys Y, Gautron J, Garcia-Ruiz J M, et al. Avian Eggshell Mineralization: Biochemical and Functional Characterization of Matrix Proteins [J]. Comptesrendus—Palevol, 2004, 3 (6-7): 549-562.
- [28] 李坚, 邱坚. 生物矿化原理与木材纳米结构符合材料[J]. 林 业科学, 2005, 41(1): 189-193.
- [29] Pentecost A, Zhaohui Z. A Review of Chinese travertines [J]. Cave & Karst science, 2001, 28(1): 15-28.
- [30] Pentecost A, Zhaohui Z. A note on freshwater research in China, with some observation the algae from Doupe Pool, Guizhou Province[J]. Freshwater Forum, 2001, 15: 77-84.
- [31] 李华举,廖长君,姜殿强,等.钙华沉积机制的研究现状及展望[J].中国岩溶,2006,25(1):57-62.
- [32] 王智慧,张朝晖,李建华.琵琶潭瀑布岩溶沉积物生物多样 性研究[J].中国岩溶,2007,26(2):178-182.
- [33] 王智慧,张朝晖,李建华.石灰华扇(Tufa Fan)沉积物中的 微型生物多样性[J].沉积学报,2008,26(4):670-675.
- [34] 汪智军,殷建军,蒲俊兵,等.钙华生物沉积作用研究进展及 展望[J].地球科学进展,2019,34(6):606-617.
- [35] 郭云,支崇远,赵宇中,等.硅藻对地表石灰华沉积的生物作 用及其意义[J].上海地质,2007,28(1):21-24.
- [36] Shiyong Sun, Faqin Dong, Hermann Ehrlich, et al. Metabolic influence of psychrophilic diatoms on travertines at the Huanglong Natural Scenic District of China [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, 11 (12): 13084-13096.
- [37] 田友萍,何复胜.贵州香纸沟瀑水钙华藻席研究[J].中国岩溶,1997,16(2):145-154.
- [38] 张捷,李升峰,陈舒泛.石灰岩表面溶针孔的初步研究:以川 西北九寨沟、南斯拉夫第那尔喀斯特区域为例[J].中国岩 溶,1991,10(1):151-157.
- [39] Zhang Zhaohui, Allan Pentecost. New and noteworthy list of bryophytes from active ravertine sites of Guizhou and Sichuan,
   S. W. China[J]. Journal of Bryology, 2000, 22(1): 66-68.
- [40] Salgado L T, Filho G M A, Fernandez M S, et al. The effect of alginates, fucans and phenolic substances from the brown seaweed padina gymnospora in calcium carbonate mineralization in vitro [J]. Journal of Crystal Growth, 2011, 321(1): 65-71.

## Study on Bio-deposition properties of newborn travertine in the Huanglong area of the Xuebaoding watershed

DONG Pengju<sup>1</sup>,LI Qiongfang<sup>1</sup>,DONG Faqin<sup>2,3</sup>,DAI Qunwei<sup>3,4</sup>,LIU Fan<sup>5</sup>,SONG Na<sup>1</sup>, ZHAO Xiaoxia<sup>1</sup>,CUI Jie<sup>3</sup>,LUO Yaodong<sup>3</sup>,XIN Zhang<sup>6</sup>,O'Driscoll Mike<sup>7</sup>

School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China;
 Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010,

China; 3. School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China;

4. Fundamental Science on Nuclear Wastes and Environmental Safety Laboratory, Southwest University of Science and Technology, Mianyang,

Sichuan 621010, China; 5. Institute of Karst Geology, CAGS, Guilin, Guangxi 541004, China; 6. Physical& Computational Science Directorate, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington 99354, USA; 7. Industrial Mineral Forums & Research Ltd., Epsom, Surrey KT17 4RH, UK)

**Abstract** The purpose of this work was to explore the effect of algae on travertine deposition. Two typical color pools with different dominant algae, named Wucaichi and Zhengyancaichi, were selected for the research, which lie in the Huanglong scenic area of the Xuebaoding watershed. The dominant algae was collected and the main composition and content of its extracellular products were determined by Fourier transform infrared spectroscopy and high performance liquid chromatography. The elemental composition, phase structure and morphology of the new travertine were analyzed by a x-ray fluorescence spectrometer, x-ray diffraction spectrometer, Fourier transform infrared spectrometer and scanning electron microscope. The results show that the dominant algae in Wucaichi and Zhengyancaichi are Xanthophyceae and Bacillariophyta, respectively, and the extracellular products of the algae are mainly protein, polysaccharide and organic acid. New travertine is mainly calcite with carboxyl, methyl, aldehyde and other groups on the surface. Compared with the travertine sediment without algae, the new travertine crystal has no specific shape, and there are dissolution and perforation on the crystal. Research indicates that algae and their extra-cellular products participate in the process of travertine deposition and regulate the crystal morphology of travertine.

Key words newborn travertine, biological deposition, algae, crystal morphology

(编辑 黄晨晖)