

参赛队员姓名： 林 宗 恺

中学： 华东师范大学第二附属中学

省份： 上 海

国家/地区： 中 国

指导教师姓名： 钱 峰

指导教师单位： 华东师范大学第二附属中学

论文题目： 仿生蛋壳膜复合鲍鱼壳材料制备研究

A NOVEL BIONIC MATERIAL COMPOSED OF

EGGSHELL MEMBRANE AND ABALONE SHELL

仿生蛋壳膜复合鲍鱼壳材料制备研究

A NOVEL BIONIC MATERIAL COMPOSED OF EGGSHELL MEMBRANE AND ABALONE SHELL

学 校：华东师范大学第二附属中学

班 级：高二（8）班

姓 名：林 宗 恺

指导教师：钱 峰

摘要

本研究由易碎的蛋壳膜和坚硬的鲍鱼壳而受到启发,利用蛋壳膜的抗菌性、生物相容性及可以为新材料提供空间网状结构的特点,结合了鲍鱼壳珍珠层特殊的二维碳酸钙纳米片层与生物高分子层状的“砖-泥”结构,而研究制备具有两者优点的新型材料。研究表明蛋壳膜呈现约 30 μm 厚的网状纤维结构,纤维的直径约 1 μm 左右,但蛋壳膜力学性能很差,拉伸强度只有 12 Mpa,模量为 300 Mpa。鲍鱼壳文石片力学性能研究表明其拉伸强度 77.6 Mpa,模量有 1.8 Gpa,以微、纳片的形式存在,直径约为 4–6 μm ,厚度约为 0.3–0.5 μm 。这些碳酸钙纳米片层相互平行堆叠成为层状结构。

为了能复合优异生物相容性的蛋壳膜复合鲍鱼壳仿生材料,本研究试着将聚多巴胺修饰在文石片表面进行表面改性,并将此物质与和蛋壳膜中提取的可溶性蛋壳膜蛋白复合制备得到仿生复合材料。以鲍鱼壳文石片/可溶性蛋壳膜蛋白 7:3 比例,层层组装抽滤制备得到 75 μm 的薄膜,薄膜的结构基本能达到预期,但力学性能拉伸强度只有 8 Mpa,并且材料不够致密。为了提高材料致密度和性能,本研究尝试了热压或紫外光固化的方法制备仿生复合材料,热压结果显示材料致密度大大提高,并能保持一定的物理结构。将鲍鱼壳文石片、可溶性蛋壳膜蛋白 7:3 和 5:5 配比后以 15%质量比加入固化液中后涂敷紫外光固化成膜,结果显示成膜性很好,虽然拉伸强度、模量和断裂伸长率较原膜有一定程度下降,但模量能保持在 280~350Mpa,强度在 10Mpa 并有一定的韧性,聚多巴胺对体系相容性有一定程度改善,但不是很明显。该不同复合方式的尝试和结果,给后续研究提供很多有意义的数据,该新材料具有一定的力学性能和生物相容性且可成型,可用于比较昂贵的医用修复手术用材料,如牙科材料。

关键词: 蛋壳膜, 鲍鱼壳, 表面修饰, 医学自修复材料

Abstract

Inspired by the fragile eggshell membrane and hard abalone shell, this study utilized the good antibacterial and biocompatibility of natural eggshell membrane with its space network structure, and combined with the special two-dimensional calcium carbonate nano sheet of abalone shell pearl layer and the "bricks-mortar" structure of biopolymer layer, a new material with both advantages was prepared. The research shows that the eggshell membrane presents a network fiber structure with a thickness of about 30 μm , and the diameter of the fiber is about 1 μm , but the mechanical properties of the eggshell membrane are very poor, with a tensile strength of only 12 MPa and a modulus of 300 MPa. The study on the mechanical properties of abalone shell aragonite flakes shows that its tensile strength is 77.6 MPa and its modulus is 1.8 GPa. It exists in the form of micro and nano flakes, with a diameter of about 4-6 μm and a thickness of about 0.3-0.5 μm . These calcium carbonate nanosheets are stacked parallel to each other to form a layered structure. In order to compound the excellent biocompatible eggshell membrane composite abalone shell biomimetic material, polydopamine was modified on the surface of aragonite, and the biomimetic composite was prepared by compounding this material with the soluble eggshell membrane protein extracted from eggshell membrane. The 75 μm film was prepared by layer assembly and filtration with the ratio of abalone shell aragonite / soluble eggshell membrane protein 7:3. The structure of the film can basically meet the expectation, but the mechanical properties and tensile strength are only 8 MPa, and the material is not dense enough. In order to improve the density and properties of materials, this study tried to prepare biomimetic composites by hot pressing or UV light curing. The hot-pressing results show that the density of materials is greatly improved and a certain physical structure was maintained. The ratio of abalone shell aragonite and soluble eggshell membrane protein 7:3 and 5:5 was added to the curing solution at a mass ratio of 15% and then coated with UV curing to form a film. The results showed that the film formation was very good.

Although the tensile strength, modulus and elongation at break decreased to a certain extent compared with the original film, the modulus could be maintained at 280 ~ 350Mpa, the strength was 10MPa and had a certain toughness, Polydopamine can improve the compatibility of the system to a certain extent, but it is not very obvious. The attempts and results of the different composite methods provide a lot of meaningful data for subsequent research. The new material has certain mechanical properties and biocompatibility and can be formed easily. It can be used for more expensive medical repair and surgical materials, such as dental materials.

Key words: Eggshell membrane, abalone shell, surface modification, medical self-repairing material

目 录

摘 要	3
正 文	8
1. 前言	8
1.1 课题由来	8
1.2 蛋壳膜及鲍鱼壳简介	9
1.3 国内外研究现状	11
1.4 研究意义	13
1.5 研究流程与技术路线	13
1.5.1 蛋壳膜材料结构和性能研究	13
1.5.2 鲍鱼壳的组成材料研究	14
1.5.3 蛋壳膜复合鲍鱼壳仿生复合材料的制备和表征	14
2. 实验部分	15
2.1 实验材料	15
2.2 实验仪器	16
3 实验方法	16
3.1 蛋壳膜及可溶性蛋壳膜蛋白制备	16
3.2 鲍鱼壳文石片的制备和表面处理	17
3.3 蛋壳膜文石片复合制备	17
3.3.1 层层组装抽滤法蛋壳膜复合鲍鱼壳制备方法	17
3.3.2 紫外光固化蛋壳膜复合鲍鱼壳制备方法	17
4. 结果与分析	19
4.1 蛋壳膜结构和机械性能分析	19
4.2 鲍鱼壳结构和性能分析	20
4.3: 蛋壳膜/鲍鱼壳仿生复合材料制备和性能分析	22
4.3.1 聚多巴胺修饰鲍鱼壳文石片以及蛋壳膜蛋白制备表征	22
4.3.2 抽滤自组装法蛋壳膜复合鲍鱼壳材料制备和研究	24
4.3.3 紫外光固化法蛋壳膜复合鲍鱼壳文石片复合材料制备和研究	26
5. 结论与展望	28
5.1 课题结论	28
5.2 课题的研究展望	28

6. 参考文献	30
7. 收获与体会	32
8. 致谢	32

2021 S.-T. Yau High School Science Award

正文

1. 前言

1.1 课题由来

生活中有各种各样被忽视的“宝藏”，它们藏在我们身边的每一个角落，等待被发现。而一些经过自然选择的生物“宝藏”有着天然的特殊性能，令我着迷。而开始感兴趣对蛋壳膜的研究源自一次意外，那次奶奶意外手指受伤出血，家里正好创可贴用完，她居然直接让我取了一个鸡蛋，然后让我打破鸡蛋一个头部，倒出里面的蛋液后，留着鸡蛋壳，然后告诉我轻轻的用小调羹敲击外壳，龟裂外壳，再把龟裂的硬蛋壳慢慢去除，就得到薄薄的内膜，取一片大一些的鸡蛋内膜按照奶奶要求以靠近蛋清面敷在伤口上，我将信将疑地看着奶奶的手，果然没多久，血居然止住了。

这是为什么？我赶紧上网查找，看到原来蛋壳膜的确是一味中药，名叫“凤凰衣”，具有加速上皮形成、消炎及促进肌肤生长的作用。早在两千年前，我国就用其治疗褥疮，手足体癣、烫伤、声哑、角膜溃疡等病症^[1-3]，如果切菜时不小心把手弄破了，也可以把凤凰衣剥下来贴在伤口上，发挥它的收敛、止血、消炎作用。现代医学研究表明，凤凰衣是一种半透膜，能让水分子等小分子透过，而葡萄糖、蛋白质一类的大分子则被阻拦。用它来治疗外伤，就是利用这一点，原来奶奶用它来止血的确是由医学依据的。

我随即翻看科学杂志和查找文献去了解蛋壳膜的科学知识。真正让我有思路 and 兴趣做蛋壳膜课题研究来源于以下的一个科苑快讯如图 1 所示：蛋壳膜是一种超级材料，可以用于吸收重金属，生物传感器等等。这短短了快讯完全将我的思路打开了，既然如此优异易得的材料为什么目前使用还是很少呢？主要还是取出来的过程不易，再加上薄而脆，极大限制应用。

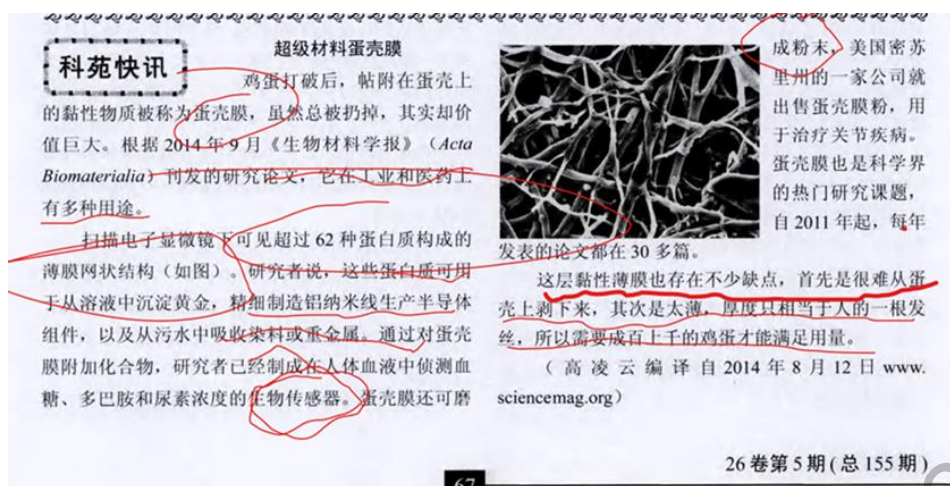


图 1. 科苑快讯《超级材料蛋壳膜》 简图

如何才能让蛋壳膜变得坚韧呢？带着好奇我查找了很多文献。在文献检索中无意中看到一篇华北理工大学高雁凌^[4]的硕士论文，其介绍的贝壳类碳酸钙优异的性能引起我浓厚的兴趣，文献介绍贝壳珍珠层的成分大约是 95% 的碳酸钙，它的力学性能比普通单相碳酸钙高出 100~1000 倍，其硬度是普通文石的两倍，韧性是普通文石的 1000 倍。如此优异的天然材料，如果能与蛋壳膜复合，是不是可以结合两者的有点，得到一种新型仿生材料？而鲍鱼壳是人们在生活中随意丢弃，没有得到充分利用而含有贝壳珍珠层的材料，其含有一定量的特殊文石片具有超强机械性能以及坚硬的特点，两种天然材料有效结合有可能产生一种新型仿生材料。

1.2 蛋壳膜及鲍鱼壳简介

蛋壳膜是蛋壳与蛋白之间的纤维网状半透明膜，成分中含有大于 80% 的蛋白质，约 3% 的酯质体和约 2% 的糖等。它是由大量胶原纤维通过二硫键形成的高度交联且不溶于水的网状结构，在纤维的表面有一层不同于胶原蛋白或弹性蛋白的特殊蛋白层^[5]。蛋壳膜可以分为内外两层，如图 2 扫描电镜所示：内层与蛋白相接触，结构较为致密，外层与蛋壳相连，结构较为疏松，表面布满一种名叫 Calcium Reserve Body 的特殊有机锥形结构，以此与蛋壳的结晶体栅栏层相连。



图 2. 蛋壳膜的基本结构

因这种特殊的结构，蛋壳膜具备良好的水通透性，并且成为一种亲水的生物活性膜。半透实验表明蛋壳膜可以选择性地通过乙酸、水等小分子物质，不能通过葡萄糖、蔗糖等大分子^[6]。由于蛋壳膜结构的特殊性及其溶菌酶的存在，蛋壳膜还能在一定程度上阻止外来微生物入侵、防止感染。而且内外蛋壳膜具有特殊的空间网状结构，其中外膜较稀疏，较不均匀，而气室周围的内蛋壳膜则十分致密，具有规整的空间网状结构。其独特的成分构造，保证了其具有良好的生物相容性、微生物阻隔性、并且一侧致密一侧疏松，与引导组织再生膜结构极为相似，但因其力学强度差而限制了其使用。而且天然蛋壳膜不溶于水、质脆、强度极差，不能直接作为力学性能要求比较高的组织工程支架材料使用，而且分子结构中含有大量二硫键，难以用溶液法进行再加工。

鲍鱼壳珍珠层由文石片碳酸钙组成，它以二维碳酸钙纳米片层与生物高分子以层状的“砖-泥”结构组装而成^[7]，其结构如图 4 所示。其中碳酸钙纳米片层的体积分数高达 95%，而其断裂韧性是碳酸钙片层的 3000 倍。这种有机-无机层状交替策略，克服了纳米材料在组装过程中的团聚问题，规整取向了二维碳酸钙纳米片层；同时丰富的各种界面作用存在于片层之间，有效地将应力传递到纳米片层，提高了鲍鱼壳的力学性能。这种特殊层状的复合结构，赋予其良好的抗压强度，耐磨，耐化学性和韧性，可以长期在特殊环境中使用。

如果将两种材料的特性和结构有效的结合，利用鲍鱼壳中文石片层及蛋壳膜中的有机质组份，也许可以制备出力学强度好的材料。该材料可用于医用修复手

术用支架材料、创口自修复材料、牙科材料等。从而提高材料的使用价值，降低医用自修复材料的价格。



图 3. 鲍鱼壳全貌

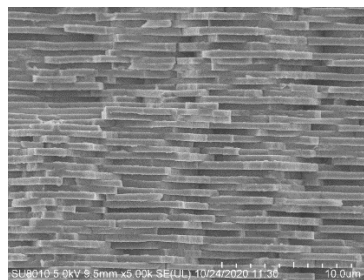


图 4. 鲍鱼壳扫描电镜断层照片

1.3 国内外研究现状

天然生物材料，如贝壳、骨和牙等生物矿化材料或蛋壳膜、蚕丝、蜘蛛丝等结构蛋白，是生物体为了适应环境，经历亿万年的演变和进化形成的，其结构和功能已达到近乎完美的程度，远远超出人们的想象。受自然界生物启发利用新颖的合成策略和源于自然的仿生原理来设计合成有机、无机、有机无机杂化结构材料和功能材料是近年来迅速崛起的研究领域，并已经成为化学、材料、生命和力学等学科交叉研究的前沿热点之一^[8-12]。虽然天然生物材料种类繁多，功能迥异，但也存在许多共同的特点，如其构成物质简单，却具有复杂的自组装分级结构和有机-无机杂化的复合特性，以及优异的综合性能等。该优异的综合性能用于目前医学上特别需要的组织结构材料创新和开发上，将极大的为人类健康做出很大的贡献。

鸡蛋壳膜是一种具有开发潜力的生物材料，目前虽然有少量鸡蛋壳膜可以应用于伤口敷料、细胞生长支架材料、离子吸附、酶固定化^[13]、化妆品制造、纺织工业等方面的研究报道，但是由于天然鸡蛋壳膜脆性的问题，极大地限制了其应用和应用研究的开展，总体上相关研究工作极其有限。目前对于蛋壳膜的研究主要是在结构研究和初探上，清华大学的熊曦^[14]等做了鸡蛋壳膜蛋白在生物相容性材料中的应用研究，工作围绕可溶性鸡蛋壳膜蛋白的提取及其在生物相容性材料制备方面的应用展开，有望将蛋壳膜蛋白应用于组织工程支架材料、外伤敷料等领域。第四军医大学的刘更^[15]就仿生化的蛋壳膜，作为引导组织再生膜的初步

研究。赵洪斌等^[16]探讨鸡蛋膜,作为组织工程支架材料同大鼠骨髓间充质干细胞复合培养的可行性,数据结果证明了细胞同鸡蛋膜复合培养后容易贴附生长,7天后鸡蛋膜表面有大量的细胞生长,14天后细胞连接成片且鸡蛋膜网状孔隙中有大量的细胞生长。蛋壳膜特殊空间网状结构,适合细胞生长、增殖,是作为组织工程的理想支架材料之一。但是,由于其力学强度没有聚羟基乙酸等聚合物强,其在骨组织工程中应用有一定的局限性,只能作为软组织如软骨、皮肤、角膜等组织工程的应用具有潜在的价值。

鲍鱼壳是由角质层、棱柱层和珍珠层与有机材料组成的复合材料。珍珠层由文石片碳酸钙(约 95%) 及有机质(约 5%) 组成,其超常的力学性能归因于珍珠层独特的多尺度、多级次“砖-泥”组装结构。北京航空航天大学的彭景淞,程群峰^[17]系统介绍鲍鱼壳石墨烯多功能纳米复合材料领域近年来的工作,构筑仿鲍鱼壳结构和反鲍鱼壳结构两种策略,在一定程度上解决了石墨烯材料在自组装过程中的问题。目前对于鲍鱼壳珍珠层的研究主要在仿生复合材料,如石墨烯仿生鲍鱼壳结构,代替珍珠粉等。孙娜^[8]等在“贝壳珍珠层及其仿生材料的研究进展”一文中系统介绍了贝壳珍珠层的结构和仿贝壳材料的制备方法及其研究进展,该文中介绍的自下而上自组装方式可以用于目前蛋壳膜和鲍鱼壳的组装方式中,这种自组装方式在生物体构建多级次精细结构过程中普遍存在。在这种方式的组装过程中,以有机相为模板控制晶体生长的取向,无机相晶体在过饱和溶液中成核,通过消耗无定形相的方式取向生长。

Andreas 等^[18]利用吸附作用将聚合物包覆在纳米黏土片表面,然后引入聚电解质通过共价键自组装制备层状结构,最后借助热压等工艺提高其强度得到拉伸强度为 250 MPa,杨氏模量高达 45 GPa 的层状复合薄膜,而且这一工艺大大缩短了材料的制备周期。最近,Yu 等^[19]引入新工艺,利用壳聚糖-蒙脱土(MMT)杂化组分自组装制备了类贝壳珍珠层结构的 MMT/壳聚糖复合薄膜。首先将制备的 MMT 纳米片的水溶液与壳聚糖水溶液混合搅拌使壳聚糖能够充分吸附 MMT 表面,随后利用水分蒸发或真空过滤诱导壳聚糖-MMT 杂化组分发生取向进行自组装。该方法制备的杂化膜具有高度规整的“砖-泥”类贝壳珍珠层结构,表现出良好的机械性能、透光性和耐火性能。

1.4 研究意义

本课题研究的基本物质是生活中大量存在的天然废物蛋壳膜和鲍鱼壳，可以在获得新型生物材料的同时，解决这些天然材料随意丢弃而造成的环境污染和资源浪费。

虽然对于蛋壳膜的医用有些报道，但是对于如何提高机械性能而用于结构材料，特别是结合另一种天然材料优异性能进行复合仿生非常少。在材料结构设计上，利用蛋壳膜无毒、无免疫原性、具有空间网状结构和良好的生物相容性；鲍鱼壳独有的“砖-泥”层层交替结构，有效抵抗裂纹扩展以及优异的力学性能弥补了鸡蛋膜力学性能的不足。基于这两者的优点试着制备的新材料将大大拓宽了天然材料在生物支架材料中的应用，如图 5 所示。

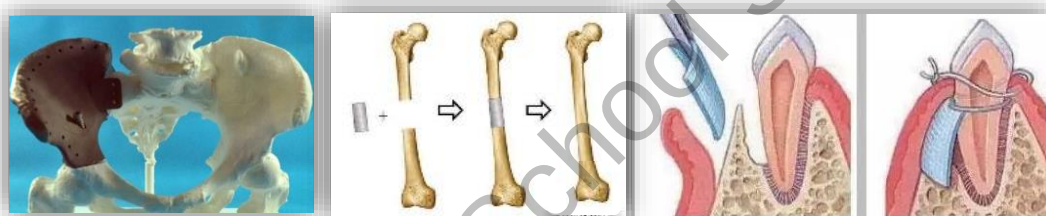


图 5. 蛋壳膜复合鲍鱼壳材料在医学中可能的应用

1.5 研究流程与技术路线

1.5.1 蛋壳膜材料结构和性能研究

- 1) 采用稀酸获得完整蛋壳膜（稀酸破坏蛋壳膜结构程度小）对其进行基本的实验研究或使用稀盐酸和异丙醇，在学校实验室借到稀盐酸和镊子，剥离内外蛋壳膜，并用去离子水冲洗干净。
- 2) 采用扫描电镜初步获得蛋壳膜表面&截面结构。
- 3) 利用拉伸机械设备判定材料力学性能
- 4) 也可以用以下方式提取可溶性蛋壳膜蛋白用于和鲍鱼壳文石片材料的复合

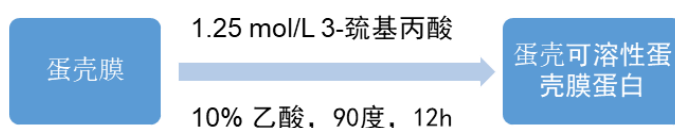


图 6. 蛋壳膜内提取可溶性蛋壳膜蛋白的方式

1.5.2 鲍鱼壳的组成材料研究

- 1) 打磨鲍鱼壳去掉有机质等杂质；配制溶液(氢氧化钠: 尿素: 去离子水=1:2:10)
- 2) 将打磨好的珍珠层放入上述溶液中搅拌 2-3 天；抽滤、洗涤至中性，烘干得到黄白色粉末。如图 7 所示

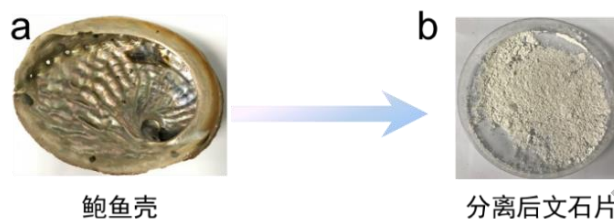


图 7. 鲍鱼壳及分离后的文石片

- 3) 利用扫描电镜，红外，X 衍射等设备研究鲍鱼壳的材料特点。
- 4) 利用拉伸机械设备判定材料力学性能。

1.5.3 蛋壳膜复合鲍鱼壳仿生复合材料的制备和表征

由于鲍鱼壳文石片是无机材料，无反应基团能和蛋壳膜表面的官能团直接进行复合。如何提高鲍鱼壳文石片和蛋壳膜表面之间的界面作用成为复合的重点。

我们可以发现贝壳类软体生物能够很牢固地粘附在坚硬的石壁上、航船的底部，甚至养殖网箱表面，并能在一定程度上能经受住海浪的冲击。贝壳类具有超强粘附能力的原因是其分泌的粘液蛋白^[20]，而这粘液蛋白中的主要官能团是二羟基苯丙氨酸中的儿茶酚结构和赖氨酸中的氨基官能团，与基材形成多种非共价相互作用力。多巴胺是生物体脑内分泌的一种神经递质，它的分子结构也含有儿茶酚和伯胺等官能团。在 2007 年，Messersmith^[21]教授等人发现多巴胺能够在弱碱性环境（pH 8.5）发生氧化自身聚合，并在不同基材表面都能形成聚多巴胺纳米薄膜。这种类聚合物的物质同样含有儿茶酚和伯胺等官能团。因此设想通过在复合材料中引入聚多巴胺，通过对鲍鱼壳文石粉进行表面修饰，从而有利于鲍鱼壳文石粉与蛋壳膜材料的复合。

所以在本研究中，将多巴胺对无机材料表面修饰技术应用到文石片上，将文石片用聚多巴胺处理，经过处理的文石片和与从蛋壳膜中得到的可溶性蛋壳膜蛋白进行复合，期望得到相容性好，又有优异力学性能，生物相容性的蛋壳膜复合鲍鱼壳文石片仿生复合材料。

实验制备方法设想以下两种：

a)方法一：如图 8 所示,将鲍鱼壳文石片用多巴胺进行表面处理，制备得到文石片-聚多巴胺材料，然后以一定比例和可溶性蛋壳膜蛋白通过层层组装方式制备成 75 μm 的薄膜，再进行性能测试。

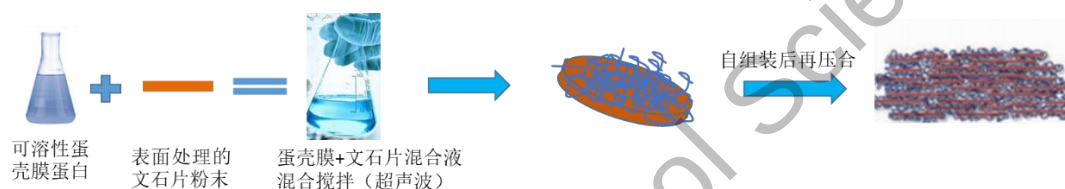


图 8. 复合工艺流程图一

b)方法二：如图 10 所示：将蛋壳膜乳液和紫外固化单体混合后，加入表面处理或未处理的文石片，混合分散后，涂敷在离型膜上进行紫外固化，可多次涂敷，多次固化，再脱模后制备相应厚度的材料，再进行力学和其它性能分析。该方法得到的材料机械性能可大大提高，并有效利用两种材料的结构。

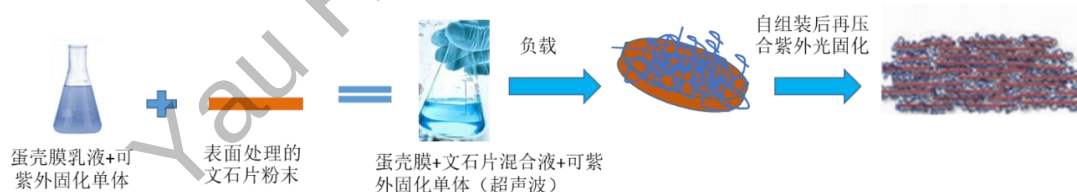


图 9. 复合工艺流程图二

2. 实验部分

2.1 实验材料

原材料：市售新鲜鸡蛋、新鲜鲍鱼壳

化学试剂：异丙醇（AR 国药试剂）、多巴胺（AR 国药试剂）、乙醇（AR 国药试剂）、3-巯基丙酸（AR 国药试剂）、乙酸（AR 国药试剂）等。

2.2 实验仪器

1. 量筒、烧杯、镊子、三口烧瓶、电子天平、离心机、加热套、真空干燥机、超声分散机等
2. 涂敷机 TQC SHEEN 1133N
3. 手持大功率紫外 LED 固化灯：波段 390~395nm
4. 拉伸性能测试仪：Shimadzu AGS-X
5. 扫描电镜：Quanta 250 FEG 和 JSM-7500F
6. X 光衍射仪：Shimadzu LabX XRD-6000
7. 傅里叶红外：Thermo Nicolet nexus-470

3 实验方法

3.1 蛋壳膜及可溶性蛋壳膜蛋白制备

蛋壳膜制备：取若干鲜鸡蛋，剥离出蛋壳膜，用去离子水和乙醇清洗数次，放入烘箱中干燥。得到蛋壳膜。

可溶性蛋壳膜蛋白制备：取 0.9 g 蛋壳膜置于三口烧瓶中，加入 30 ml 去离子水，再加入 3 ml 10%乙酸搅拌分散，再加入 3.2 ml 的 3-巯基丙酸(1.25 mol/l)，放入加热套恒温 90 °C，搅拌 12 h 后停止搅拌，离心机 8000 rpm 离心 10 min，取上层清液。

将氢氧化钠溶液（30 ml，5 mol/l）加入到上述清液中，得到白色沉淀，离心机在 8000 rpm 离心 15 min。取得的固体粉用去离子水洗涤 3 次，11000 rpm 下离心 20 min，收集下层固体。用液氮冷冻干燥，得到可溶性蛋壳膜蛋白待用。

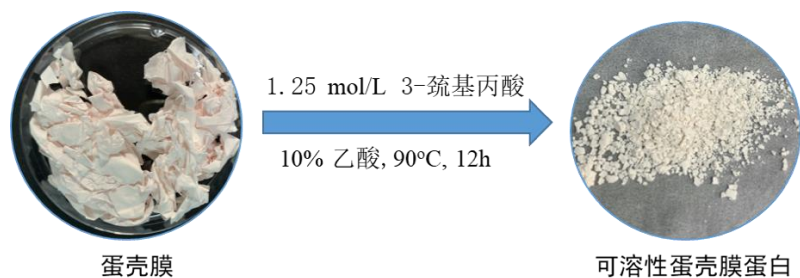


图 10. 蛋壳膜提取得到可溶性蛋壳膜蛋白

3.2 鲍鱼壳文石片的制备和表面处理

鲍鱼壳文石片制备：

清洗鲍鱼壳去掉表面附着杂质，将鲍鱼壳放入配制好的氢氧化钠-尿素溶液中（氢氧化钠：尿素：去离子水=1:2:10），得到白色浑浊溶液，大概 2~3 天后。将上层清液倒掉，取底部白色沉淀物，并用去离子水洗涤，除掉残余氢氧化钠和尿素；干燥得到白色粉末，即得到剥离后文石片待用。

鲍鱼壳文石片的聚多巴胺处理：

配置 300 ml 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲溶液（pH = 8.5），加入 1.5 g 剥离好的文石片以及 1.5 g 多巴胺盐酸盐，超声 5 min 后，混合溶液颜色变成棕黑色，然后用磁力搅拌器在常温下以搅拌分散 8 h。超声同时用去离子水洗 3 次，再用液氮冷冻干燥，得到文石片-聚多巴胺材料，如图 11 所示。

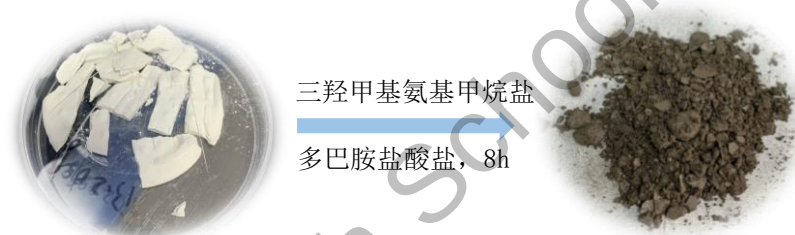


图 11. 鲍鱼壳文石片聚多巴胺处理前后的图片

3.3 蛋壳膜文石片复合制备

3.3.1 层层组装抽滤法蛋壳膜复合鲍鱼壳制备方法

将 32.4 mg 从蛋壳膜中分离的可溶性蛋白加入到 2.88 ml 去离子水中超声 15 min 后，加入 47 ml 乙酸，超声 20 min，另取 75.6 mg 处理好的文石片-聚多巴胺加入到 37 ml 去离子水中超声 10 min 分散，将可溶性蛋白膜溶液多次加入到文石片-聚多巴胺的水溶液中，搅拌 60 min，抽滤，得到一张非常薄的深褐色膜，约 75um 厚度，将所得到的膜进行性能测试和表征。

3.3.2 紫外光固化蛋壳膜复合鲍鱼壳制备方法

紫外光固化液由上海雷利电子材料有限公司友情提供，主要将紫外固化单体聚氨酯丙烯酸酯，丙烯酸羟乙酯和稀释剂和其它添加剂加入一定的光引发剂

后得到稳定的并有较好机械性能的光固化液。一次性配好能做 5 个点的样品，但由于技术原因，不能将具体配方成分配比写于论文。

将处理过或未处理的文石片以及蛋壳膜蛋白以质量比 7:3 或 5: 5 比例混合后，取 0.66g 混合物和 3.82g 光固化液混合(1#复合材料配方，其它几个配方请看表 1)，在分子级离心机分散后，涂于离型膜上，然后用手持紫外灯照射约 5~10 s 固化成厚度 75 μm ~140 μm 的膜。去除离型膜，得到一定韧性的复合膜。实验流程如图 12 所演示，该涂敷成膜实验一共准备了包括纯紫外固化膜在内 5 种膜，具体配方和比例如表 1 所示。



12. 紫外固化涂敷成膜实验

表 1. 紫外固化蛋壳膜复合文石片成膜基础配方设计

种类	鲍鱼壳文石片和蛋壳膜配比	紫外固化液和两种材料的配比
0# 薄膜	无	100%紫外固化液
1# 复合材料	蛋壳膜蛋白：聚多巴胺处理文石片质量比=3： 7	紫外固化液含量85.3%
2# 复合材料	蛋壳膜蛋白：未处理鲍鱼壳文石片质量比=3： 7	紫外固化液含量85.3%
3# 复合材料	蛋壳膜蛋白：聚多巴胺处理文石片质量比=5： 5	紫外固化液含量85.3%
4# 复合材料	蛋壳膜蛋白：未处理鲍鱼壳文石片质量比=5： 5	紫外固化液含量85.3%

4. 结果与分析

4.1 蛋壳膜结构和机械性能分析

将蛋壳膜制成 20 mm x3 mm 的尺寸的拉伸样条，以 1 mm/min 的速度在拉伸设备上拉伸测试，图 13，14 是天然蛋壳膜进行拉伸测试后的性能数据以及拉伸前后的扫描电镜照片。

从拉伸曲线图 13 中可以看到，蛋壳膜强度很低，材料表现很强的脆性断裂。蛋壳膜拉伸强度只有 12 Mpa,模量为 300 Mpa，几乎没有屈服和伸展。断裂后的蛋壳膜断面和表面如图 14c 和 14d 可以看到断面呈现清晰的纳米纤维网状结构，纤维的直径约 1 μm 左右，断裂面也是光滑清晰，呈现脆性断裂。

将蛋壳膜拉伸前的断面和表面进行扫描电镜观察，如图 14a, 14b 所示，蛋壳膜呈现清晰的网状纤维结构，和文献介绍一致，并且它的厚度大约在 30 μm 左右。表面有一层为 2 μm 左右的薄膜层保护该纤维结构。

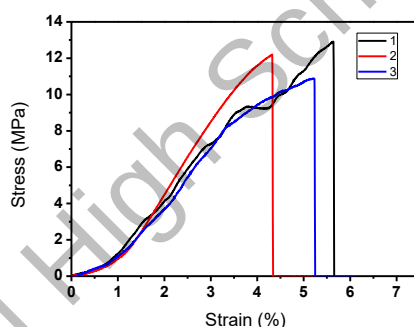


图 13. 蛋壳膜拉伸性能曲线图

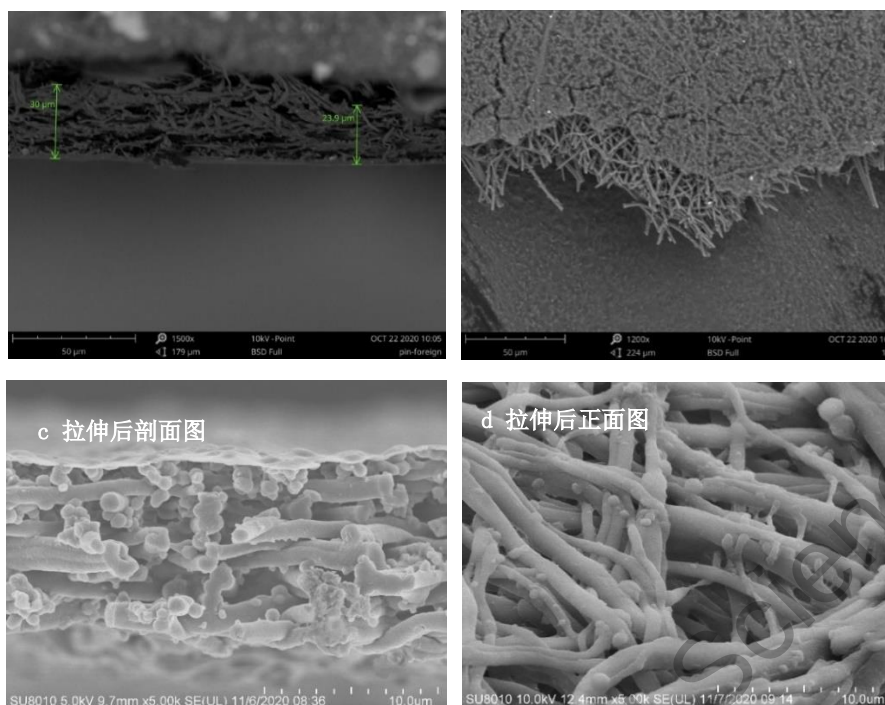


图 14. 蛋壳膜拉伸前后的扫描电镜照片图

4.2 鲍鱼壳结构和性能分析

将分离得到的鲍鱼壳珍珠层进行 XRD 分析确认是否就是碳酸钙的一种文石片，图 15 XRD 图谱结果表明剥离得到的粉末图谱与标准文石片图谱基本一致，说明剥离得到的珍珠层基本都是文石片。

图 17 是鲍鱼壳体文石片的扫描电镜图，鲍鱼壳由体积分数占 95%的碳酸钙片层和生物高分子,包括蛋白质和几丁质构成。如拉伸前扫描电镜照片图 17a~17e 显示，这些碳酸钙以文石纳米片的形式存在，堆叠是表面看着是六边形结构，其直径约为 4–6μm，厚度约为 0.3–0.5 μm。这些碳酸钙纳米片层相互平行堆叠成为层状结构，同时，碳酸钙纳米片层之间通过生物高分子粘接起来，构成类似“砖-泥”的有机-无机层层交替的有序结构，而剥离得到的文石片表面放大后可以看到纳米级孔隙如图 17d, 17e 所示，空隙比较均匀。

将磨得的 2cm × 3mm 文石片进行拉伸测试，数据如图 16 显示通过鲍鱼壳而得到的文石片拉伸强度和模量远远高于鸡蛋膜，拉伸强度 77.6Mpa，（一般工程塑料聚碳酸酯的拉伸强度为 60MPa 左右），模量有 1.8Gpa，刚性 1.8MJ/m³。非常优异。但材料拉伸中几乎没有延展，可能和材料的坚硬度以及几乎 95%都是无

机材料有关系。图 17f~h 中的材料断裂形貌的扫描电镜图可以看到材料规整的排布，拉伸后的取向非常小，说明刚性非常好。

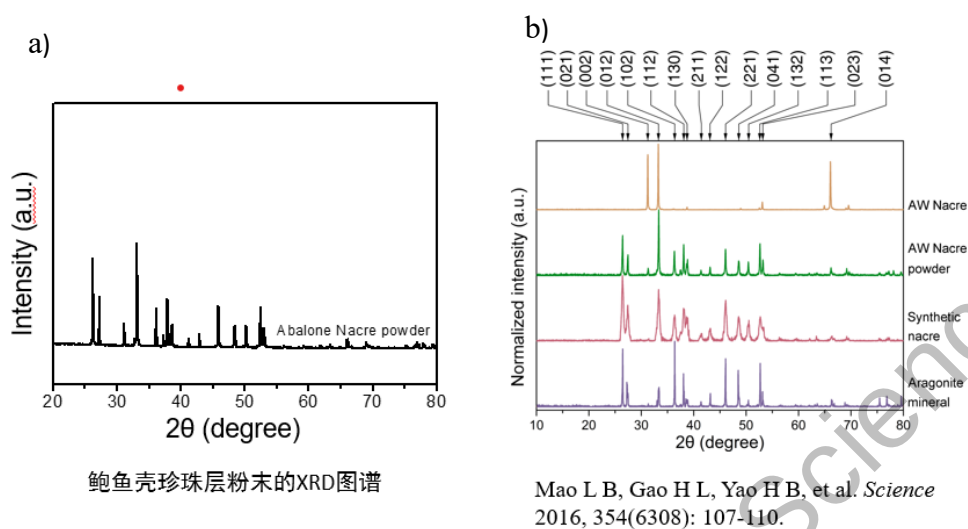


图 15：鲍鱼壳珍珠层文石片的 XRD 图谱

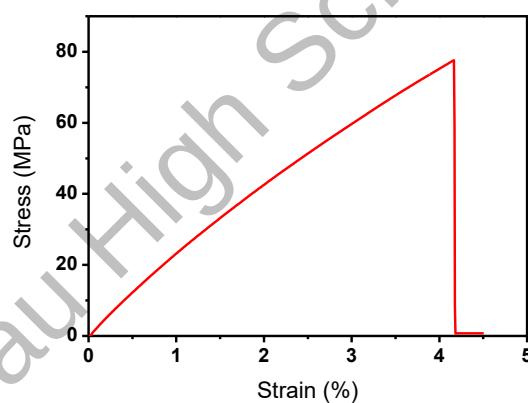


图 16. 鲍鱼壳珍珠层拉伸试验曲线

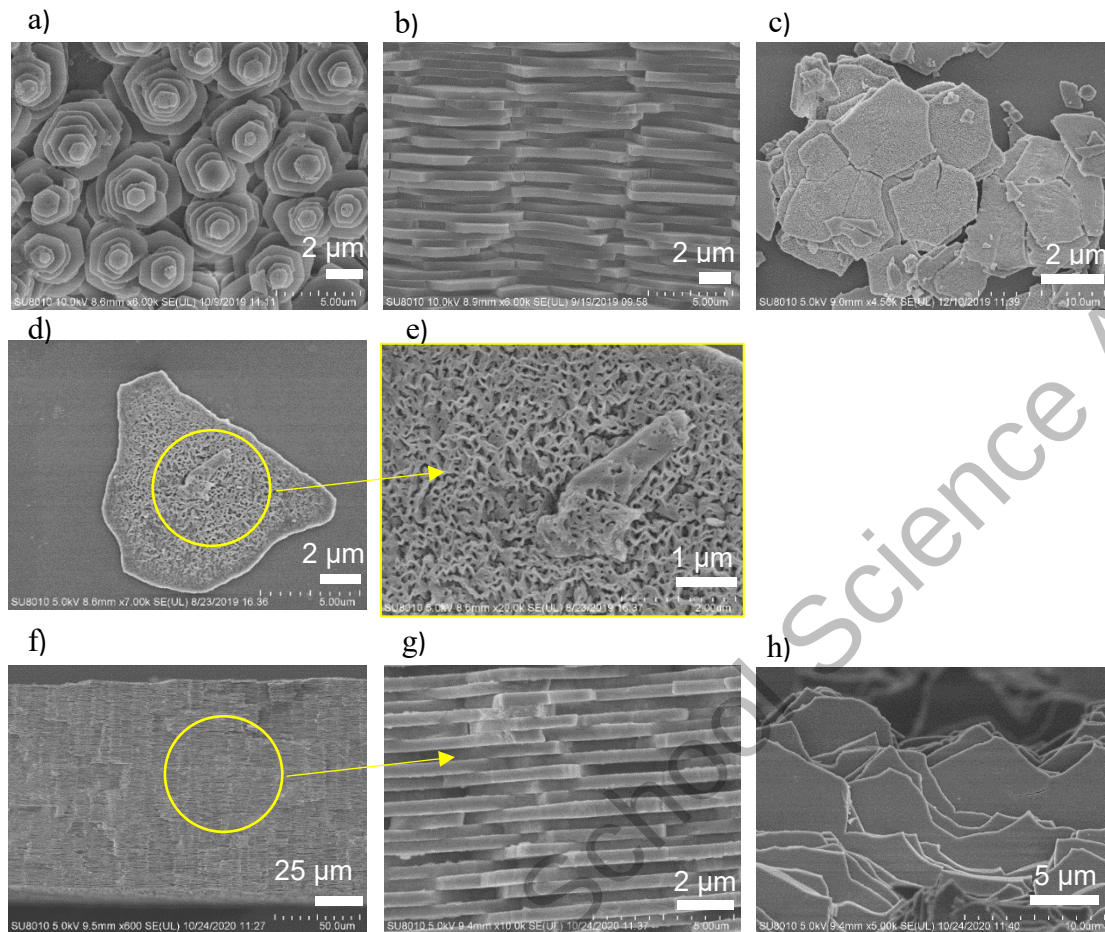


图 17. 鲍鱼壳珍珠层文石片表面和断面以及粉末的 SEM 形貌

a) 鲍鱼壳文石片堆叠正面图 b) 鲍鱼壳文石片断面图 c) 文石片正面放大 d) 文石片单片正面放大 e) 单片表面继续放大 f) 鲍鱼壳文石片拉伸后断面 g) 鲍鱼壳文石片拉伸后断面放大 h) 鲍鱼壳文石片拉伸后正面图

4.3: 蛋壳膜/鲍鱼壳仿生复合材料制备和性能分析

4.3.1 聚多巴胺修饰鲍鱼壳文石片以及蛋壳膜蛋白制备表征

将鲍鱼壳文石片用多巴胺处理后，洗涤干燥得到“聚多巴胺”修饰的文石片材料。用红外表征了聚多巴胺处理的文石片，图 18 显示 3340cm^{-1} 处有一吸收峰，主要是聚多巴胺中氨基的 N-H 和羟基的 O-H 键伸缩振动。表面聚多巴胺已经成功在文石片表面负载。对该材料进行扫描电镜分析，如图 19d-f 所示，文石片的表面不再呈现光滑清晰，有被聚多巴胺包覆的样子，但材料继续显示纳米级层状结构。

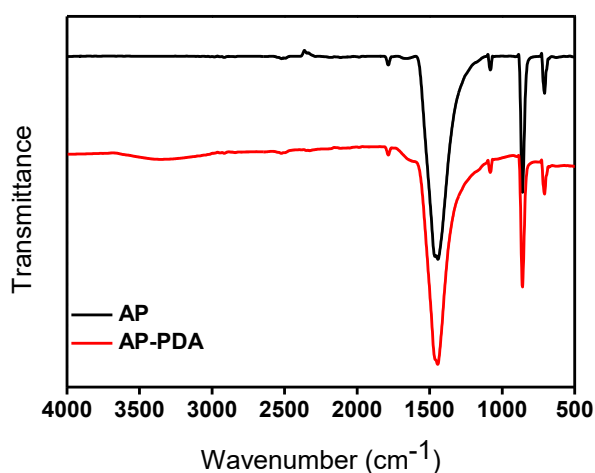


图 18. 文石片-聚多巴胺红外图谱

在蛋壳膜中得到的可溶性蛋壳膜蛋白的基本结构情况也做了扫描电镜，如图 19a、19b 和 19c 所示，该蛋白团聚成微米结构，大小一般小于 10 μm ，结构如海绵状，略显蓬松。

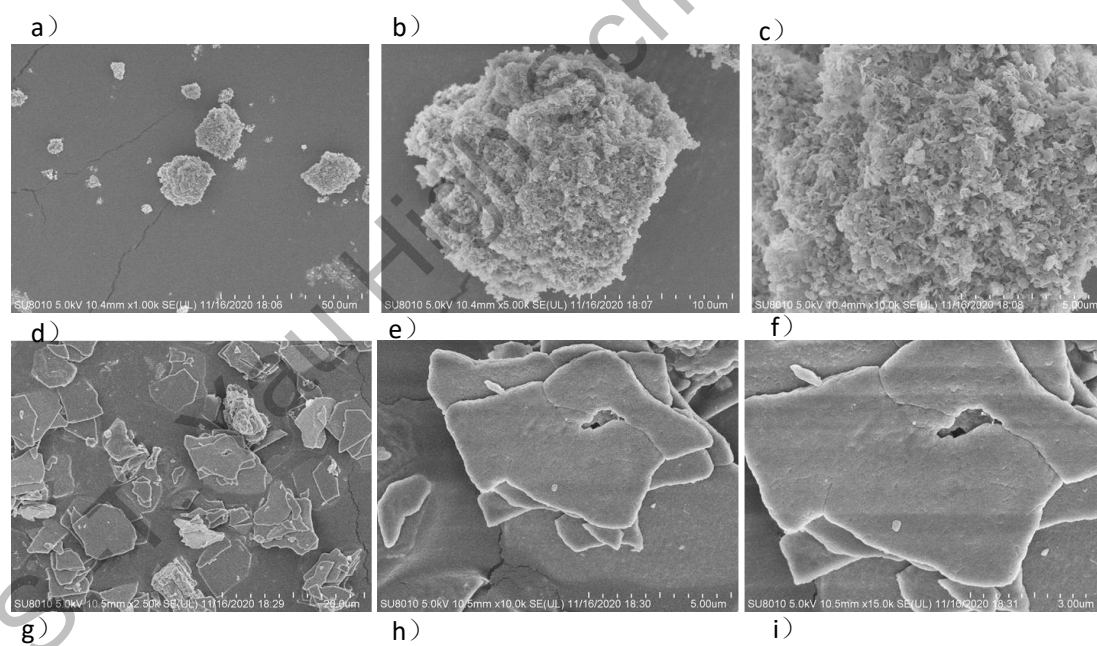


图 19. 可溶性蛋壳膜蛋白，聚多巴胺处理的文石片扫描电镜照片

a-c 可溶性蛋壳膜蛋白；d-f 聚多巴胺处理的鲍鱼壳文石片；

4.3.2 抽滤自组装法蛋壳膜复合鲍鱼壳材料制备和研究

将修饰的文石粉和可溶性蛋壳膜蛋白以 7: 3 的比例进行混合、多次叠加后抽滤制成 75 μm 的薄膜后, 将制得的薄膜进行了力学性能测试, 如图 20 所示, 由于制备的材料太薄, 该材料易断裂, 拉伸强度低, 材料呈现脆性断裂。图 21 扫描电镜照片显示该材料的横截面蛋白膜和文石片复合后的结构并不是特别规则有序, 不是很致密, 而且文石片也过多, 这可能也是材料比较脆的主要原因。

为了提高材料的致密性, 同时了解成膜过程中材料的组装规律, 将修饰的文石粉和可溶性蛋壳膜蛋白以 5: 5 的比例进行混合, 先单次抽滤, 再进行热压, 通过扫描电镜观察整个过程, 以在后续研究中提高整个材料的规则性和机械性能。图 22 是制备的单层的复合材料热压前后的电镜照片, 从 22a 和 22b 的对比图中可以看到抽滤后的单层膜约 10~12 μm , 表面有点起伏不平, 热压后约为 6~7 μm , 相对比较平整。图 22c、20e 是热压前复合膜的侧面和正面图, 侧面图可以清晰看到较光滑脆断表面, 并分布着很多小孔和空隙, 而正面图中清晰可见蛋壳膜蛋白的呈现一定网状结构, 文石片也分散其中, 直径约为 8 μm , 20 d、20f 是经过热压后材料的侧面和正面照片, 侧面图显示该热压后的膜表面平整, 厚度均匀, 其表面光滑, 虽然能看到文石片和蛋壳膜蛋白的痕迹, 但是已经被物理压合在一起。从 5: 5 的材料制备和热压实验可以看到, 该方法较好的得到蛋壳膜蛋白的物理结构, 文石片均匀分散, 热压能使材料比较致密。但由于材料制备太少, 薄膜太薄没有足够的样品测试拉伸性能, 所以暂时没有性能数据, 但该实验粗探给后续的研究提供了很多有意义的参考, 后续可以增加蛋壳膜的制备量, 以满足制备较厚的 75 微米或更厚的薄膜来进一步验证其它性能是否有提高。

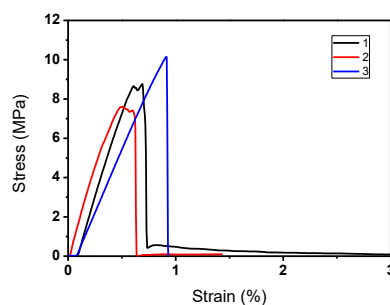


图 20. 蛋壳膜/鲍鱼壳复合薄膜拉伸曲线图

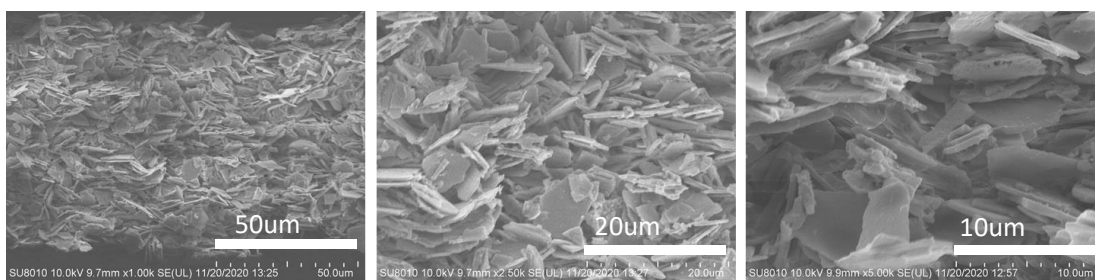


图 21. 鲍鱼壳文石片/可溶性蛋壳膜蛋白 7: 3 多层抽滤得到仿生复合材料
断裂面扫描电镜照片

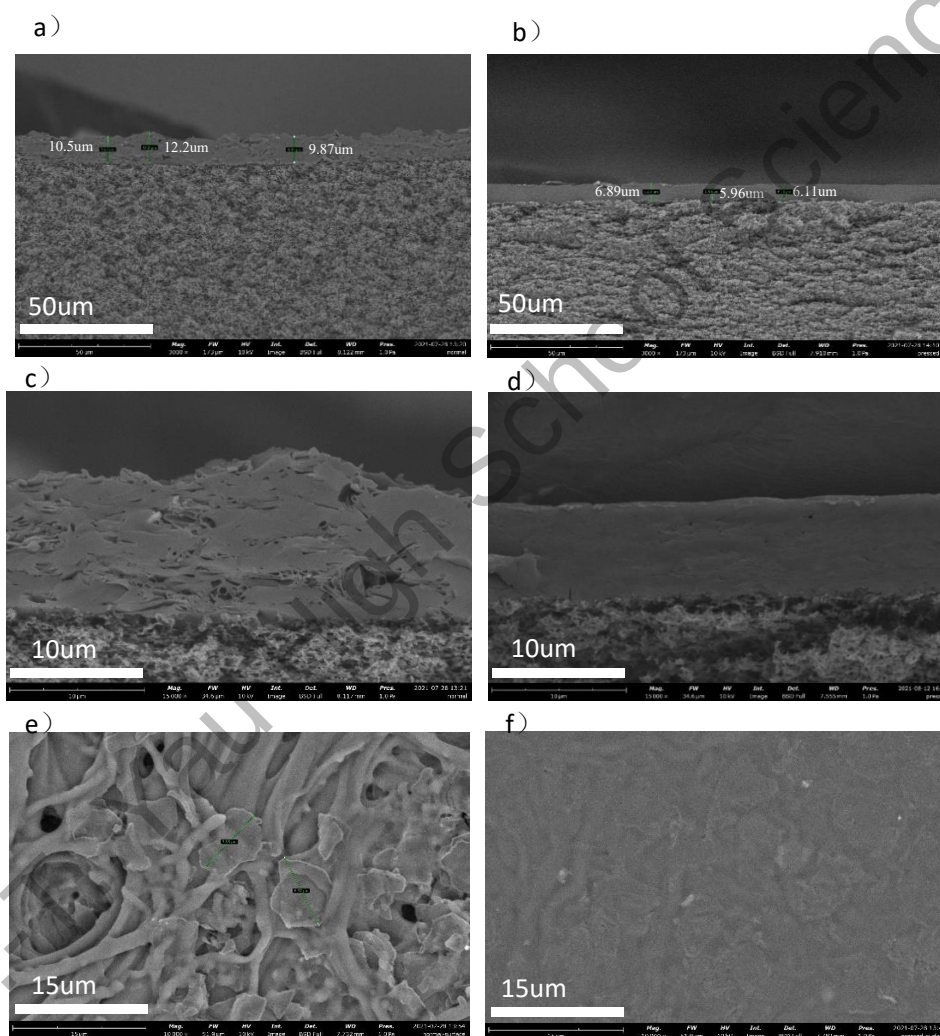


图 22. 鲍鱼壳文石片/可溶性蛋壳膜蛋白 5: 5 单层抽滤仿生复合材料
扫描电镜照片

a 热压前复合膜侧面厚度；b 热压厚复合膜侧面厚度；c 热压前复合膜侧面；d
热压后复合膜侧面；e 热压前复合膜正面；f 热压后复合膜正面

4.3.3 紫外光固化法蛋壳膜复合鲍鱼壳文石片复合材料制备和研究

将光固化得到的表 1 中的 5 种紫外固化后的薄膜进行拉伸测试，并互相比较，结果如图 23-25 和表 2 所示，纯紫外固化的原膜 0#样品表现较为优异的拉伸性能。而在添加 14.7%质量比的蛋壳膜和鲍鱼壳文石片（两物质的质量比为 3: 7 或 5: 5）后再光固化得到复合材料，分别按照鲍鱼壳文石片是否聚多巴胺处理以及两者比例的不同而得到 1#复合材料到 4#复合材料，从拉伸图 23~25 以及表 2 中可以比较看到四种复合材料的拉伸模量，强度和断裂伸长率都有不同程度的下降，而且两种配比降低的幅度非常接近，这和一致的蛋壳膜蛋白和鲍鱼壳文石片总添加量都为 14.7%有关，两种材料以类似填料形式加入于该体系并分散于该光引发体系中，再光引发聚合，一定程度降低了该光引发材料本身的拉伸性能，并且聚多巴胺处理过的文石片 1#和 3#较未处理文石片 2#和 4#显示较低的拉伸模量，但相对略高的断裂伸长率。说明聚多巴胺还是略微提高了材料间的相容性。图 26 中的断面形貌照片显示文石片较均匀的分散于体系中，但是从扫描电镜上很难看到处理前后分散的差异性。图 26 的扫描电镜图显示蛋壳膜蛋白和文石片都较均匀分散于紫外固化膜中，文石片片层比较大，无论是否多巴胺处理，都以片状结构分散在体系中。这次紫外固化初探，发现该方法在改善材料加工，分散以及成膜方面都是可行的，但是由于时间紧张，原材料缺少，所以没有对机理和之间的化学反应做理论研究，这在后续的工作中可以继续展开。

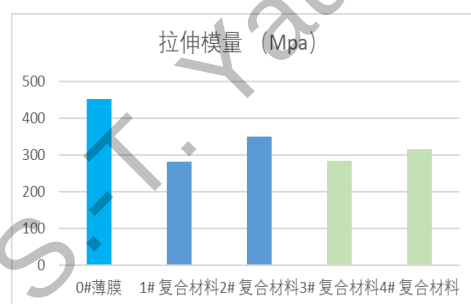


图 23. 紫外固化得到复合膜拉伸模量

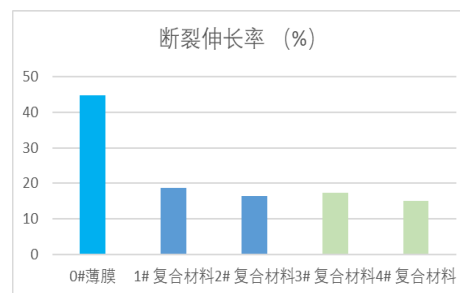


图 24. 紫外固化得到复合膜断裂伸长率

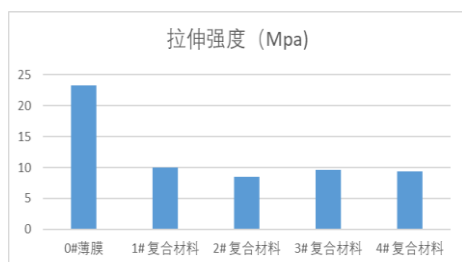


图 25. 紫外固化得到复合膜拉伸强度

表 2. 紫外固化得到的复合膜配方说明以及拉伸性能数据

	配方说明	拉伸模量 (Mpa)	拉伸强度 (Mpa)	断裂伸长率 (%)
0# 薄膜	100% UV固化液	451.64	23.24	44.75
1# 复合材料	蛋壳膜蛋白: 聚多巴胺处理文石片质量比=3: 7	281.6	10.03	18.81
2# 复合材料	蛋壳膜蛋白: 未处理鲍鱼壳文石片质量比=3: 7	350	8.45	16.4
3# 复合材料	蛋壳膜蛋白: 聚多巴胺处理文石片质量比=5: 5	284.1	9.63	17.24
4# 复合材料	蛋壳膜蛋白: 未处理鲍鱼壳文石片质量比=5: 5	317.1	9.31	15.12

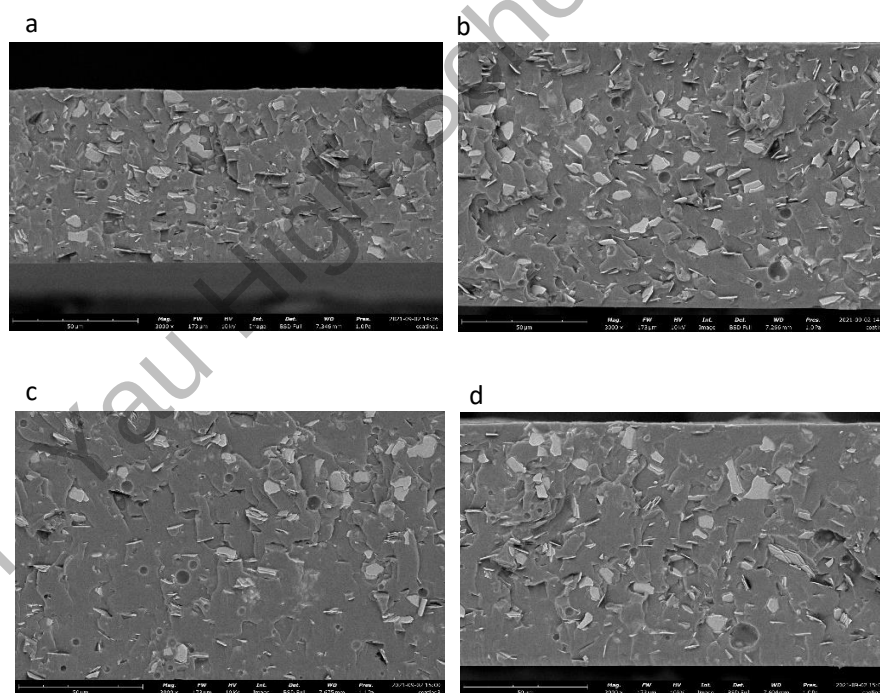


图 26. 紫外固化鲍鱼壳文石片/可溶性蛋壳膜蛋白仿生复合材料扫描电镜照片

a 1#复合材料; b 2#复合材料; c 3#复合材料; d 4#复合材料

5. 结论与展望

5.1 课题结论

1. 研究了蛋壳膜具有清晰的空间纤维网状结构，但是力学性能很差，拉伸强度只有约 12 MPa。而鲍鱼壳有清晰的“砖-泥”层层交替结构，厚度约为 0.3–0.5 μm ，以及优异的力学性能，拉伸强度有 77.6 Mpa，刚性远远高于蛋壳膜。
2. 单纯用鲍鱼壳上负载聚多巴胺后与蛋壳膜的可溶性蛋白进行抽滤组装复合的方式得到的 75 μm 薄膜材料比较脆，未达到预计的性能，结构与原设计有较大程度破坏。
3. 本研究尝试用热压的方式改善抽滤成膜的工艺，制备研究了热压前后抽滤组装复合的仿生复合膜，结果显示蛋壳膜蛋白和聚多巴胺处理的鲍鱼壳文石片 5: 5 配比抽滤成膜，单层膜厚约 10~12 μm ，表面有点起伏不平，热压后约为 6~7 μm ，致密平整。该方法较好的得到蛋壳膜蛋白的物理结构，文石片均匀分散，热压能使材料比较致密。但由于材料制备太少，薄膜太薄没有足够的样品测试拉伸性能，所以暂时没有性能数据，但该实验粗探给后续的研究提供了很多有意义的参考。
4. 本研究还用紫外光固化的方式制备了仿生蛋壳膜复合鲍鱼壳复合材料，结果显示，以 3: 7 或 5: 5 配比的蛋壳膜和鲍鱼壳文石片加入紫外光固化液后，拉伸模量和断裂伸长率都有不同程度的下降，但分散性成膜性还是非常不错，能达到预期，值得后期继续尝试研究。

5.2 课题的研究展望

此课题在初步的研究中得到了很多实际有意义的数据，虽然用第一种自组装的方法得到的复合薄膜性能没有达到预期，但是在接下来的研究中可以进行以下优化。

1. 首先, 如何提高两种生物材料的界面相容性, 制备致密的结构材料, 提高机械性能, 并且不破坏生物相容性。研究尝试了几种不同的复合方法, 并实验了热压的方式, 都得到了相应的数据和结果, 几种方法值得继续研究, 利用材料不同配比, 调整自组装的工艺过程可以提高材料性能。

2. 其次本研究初探了紫外光固化的工艺方式制备蛋壳膜蛋白复合鲍鱼壳文石片的复合材料，得到了比较实际有意义的结果，鲍鱼壳文石片和蛋壳膜蛋白能分散在紫外固化液中成膜，虽然拉伸性能有所降低，但是还是能保持在一定基础上，并能成膜，这些初步的结果给后续的优化和深入研究提供了有意义的方向和基础。
3. 然后也可以做实验比较其他碳酸钙晶体与鲍鱼壳珍珠层片状碳酸钙负载鸡蛋膜纤维后具体的性能差异。
4. 之后还可以比较不同蛋壳膜如鸡蛋膜、鸭蛋膜、鸽子蛋膜等的结构差异和负载在鲍鱼壳粉末上后性能差异，旨在拓宽材料来源并区分材料性能，为商业化打下基础。

6. 参考文献

- [1]张晓慧.新鲜鸡蛋壳内膜配合碘伏、DTP 照射治疗褥疮的疗效观察[J].中国现代药物应用, 2007,1(8):42-443.
- [2]张肖英.鸡蛋壳膜贴敷加吹氧治疗期压疮效果观察[J].护理研究, 2007,21(3):723-724.
- [3]刘文君, 梁建华.新鲜鸡蛋内膜治疗慢性皮肤溃疡[J].甘肃中医, 2007,20(4):27.
- [4]高雁凌.纳米碳酸钙仿生复合材料的研究[硕士论文], 河北: 河北联合大学, 2014, 3-4
- [5] Tsai WT, Yang JM, Lai CW. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane [J]. Bioresour Technol, 2006,97(3):488-493.
- [6]刘瑜, 赵法利, 刘静波.鸡蛋中功能成分的研究[J].食品科学, 2006,27(12):798-802.
- [7]Wegst, U.G.; Bai, H.; Saiz, E.; Tomsia, A. P.; Ritchie, R. O. Nat. Mater. 2015, 14, 23. doi: 10.1038/nmat4089
- [8]孙娜, 吴俊涛, 江雷. 高等学校化学学报[J]. 2011, 32, 2231-2239
- [9]刘全勇, 江雷.高等学校化学学报[J].2010, 31(6): 1065~1071
- [10]江雷, 冯琳.仿生智能纳米界面材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007,
- [11]王女, 赵勇, 江雷. 高等学校化学学报[J] 2011, 32(3): 421~428
- [12]贾贤. 天然生物材料及其仿生工程材料[M].北京: 化学工业出版社, 2007
- [13]邓健, 袁亚莉, 许金生.分析化学, 1998 , 26:1257-1259.
- [14]熊曦, 李强, 弋峰, 陆建巍, 郭朝霞, 于建. 高分子通报[J]. 2011.04: 25~33
- [15]刘更.仿生化蛋壳膜的制备及其作为 GTR 膜的初步研究[硕士论文] 西安: 第四军医大学, 2012, 16-18
- [16]赵红斌, 张西正, 李瑞欣, 解宏伟, 陈旭义.骨髓间充质干细胞在鸡蛋膜为支架材料上复合培养的实验研究.生物医学工程与临床[J]. 2006,10 (4): 206-209
- [17]彭景淞, 程群峰.物理化学学报[J]. 2021, 37, 2005006: 1-13
- [18] Andreas W., Ingela B., Jani M.M., Jaakko P., Janne R., Lars A. B., Olli I. Nano Lett. [J] 2010, 10: 2742-2748
- [19] Yao H.B., Tan Z.H., Fang H.Y., Yu S. H. Angew. Chem.Int. Ed.[J]. 2010, 49 (52) : 10127-10131

[20] Silverman H. G., Roberto F. F., Biotechnology, Understanding marine mussel adhesion, Marine [J]. 2007, 9, 661-681.

[21] Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W M.; Messersmith, P. B. Mussel-inspired surface Chemistry for multifunctional coatings. Science [J]. 2007, 318, 426-430.

2021 S.-T. Yau High School Science Award

7. 收获与体会

该课题涉及的知识面广，从开始的蛋壳膜，到鲍鱼壳文石片，再到文石片和聚多巴胺表面处理以及可溶性蛋壳膜蛋白，我搜索了大量的文献，了解了蛋壳膜和鲍鱼壳等类似天然生物材料的结构研究和应用，并学习了仿生学，医学研究，化学实验设计，各种实验测试仪器如 XRD，拉伸仪器，扫描电镜的基本原理与基本操作，大大拓宽了我的视野。

在做课题过程中，遇到了很多困惑，比如初期的时候只是感兴趣蛋壳膜的研究，对研究意义不是特别清楚，请教了学校老师和高校的教授后对于后期实际的应用可能性进行了深入探讨，从而引入医学领域，学习了解组织再生材料目前的瓶颈等等，将课题慢慢引入到一个比较完整而又有实际意义的研究中，非常有意义。

在实验过程中，由于疫情的影响，有些实验不能去实验室完成，或者有些表征的实验设备学校没有，比如扫描电镜，微型的拉伸设备，这时得到了老师和高校教授的大力支持，从不懂到懂，深入浅出的指导我，让我对课题的进一步研究有了比较清晰的理解。特别是我有幸入选复旦大学英才计划后，利用暑假比较长的时间，以及平时的周末，在复旦大学邵正中教授以及课题组其它各位教授和博士师兄姐的指导和帮助下，利用高校实验室的资源，做了一系列的实验，得到很多有意义的数据，让我对课题以及科研有了更深入的理解和体会。大大拓宽了我的视野和科研思维。

8. 致谢

该课题得到了学校科创导师钱峰老师的大力支持以及指导，学校提供了优质的资源如图书馆，实验室以及网上文献查找等，大大方便了文献查找，并开放实验室让我们做一些力所能及的实验。感谢英才计划让我有幸得到复旦大学邵正中教授的指导，并免费提供实验室和实验设备用于制备和表征样品，为该论文提供了很多指导和必要的实验数据。感谢上海雷利电子材料有限公司提供紫外固化液以及实验室进行样品制备。

1. 论文的选题来源

本论文源于我一次生活意外，奶奶受伤用蛋壳膜止血，由于对其止血功效的好奇，开始查找文献，为了改善蛋壳膜脆性，又查找文献，并请教科创老师以及仿生学专家教授，开始了本课题整个研究，这点在论文开头‘论文由来’部分已经介绍和阐述。

2. 研究背景

本课题是通过科学研究解决大量天然材料随意丢弃而造成的环境污染和资源浪费。我从小就对仿生学有比较大的兴趣，在选题文献研究中看到了蛋壳膜和鲍鱼壳特殊的结构，就想着可否利用这两种天然材料，利用仿生技术来获得新型生物材料，从而变废为宝，本研究试想利用材料特殊的结构以及生物相容性等，用于一些如牙科材料类的医用材料上。

3. 指导老师与学生的关系：

指导老师是本校科创老师钱峰博士，开学初是我自己根据课题方向自选的导师。所有指导和论文修改等都是无偿的，包括文献查找知网，也是学校提供给我们的免费资源。钱老师在课题开展过程中给了我很多技术指导，比如理清课题思路，明确课题技术方向，为何做聚多巴胺处理蛋壳膜蛋白等等进入深入的思考，要有理论研究的思维。在论文撰写过程中理清论文脉络，修改不规范的地方等等，耐心而又专业，并且在如何做好 PPT，如何答辩上也给出了技术意见和指导，非常敬业。

指导老师的简历：

钱峰，中共党员，工学博士，2009年毕业于华东理工大学，专业工业催化。中学高级教师，副高职称，华东师范大学第二附属中学科技教育总辅导员。主要指导学生开展与化学领域相关问题的研究。先后指导多名学生在“上海市青少年科技创新大赛”、“明日科技之星”科技竞赛中获奖，十名同学在“全国青少年科技创新大赛”、“明天小小科学家”活动中获奖，五名同学在“ISEF”、“I-SWEEP”等国际科技竞赛中获得好成绩。2014年获评“上海市优秀科技辅导员”。2016年荣获上海市科普促进奖。2020年获中国青少年科技辅导员协会认证高级科技辅导员。