

蛋壳膜的应用研究进展

Research progress on application of eggshell membrane

张改平^{1,2,3}牛明福^{1,2,3}何 皎^{1,2,3}ZHANG Gai-ping^{1,2,3}NIU Ming-fu^{1,2,3}HE Jiao^{1,2,3}

(1. 食品微生物河南省工程研究中心, 河南 洛阳 471000; 2. 河南科技大学微生物资源开发与利用校级重点实验室, 河南 洛阳 471000; 3. 食品原料河南省工程技术研究中心, 河南 洛阳 471000)

(1. Food Microbiology Henan Province Engineering Research Center, Luoyang, Henan 471000, China; 2. Key Laboratory of Microbial Resources Development and Utilization at Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China; 3. Food Ingredients Henan Province Engineering Technology Research Center, Luoyang, Henan 471000, China)

摘要:文章从蛋壳膜(ESM)的来源、结构性质及其在各行各业的应用进行了总结,并对 ESM 的应用限制及未来前景进行了分析和展望。

关键词:蛋壳膜; 结构性质; 新型材料; 废物利用; 环境保护

Abstract: This review summarized the source, structural properties and applications of eggshell membrane (ESM) in various industries. The application limitation and future prospect of ESM were analyzed and prospected.

Keywords: eggshell membrane; structural properties; new material; waste utilization; environmental protection

蛋壳(eggshell, ES)是禽蛋消费产业的主要副产物; 作为垃圾填埋处理, 或作为动物饲料和肥料进行低价值利用^[1]。随着废物处理成本(经济、环境)的增加及变废为宝战略理念的建立, 科学家们开始探索 ES 及蛋壳膜(ESM)的高价值应用。近年来, 越来越多的研究证明了 ESM 的独特性, 其不仅包含多种蛋白质及活性物质, 还具有许多优秀的结构特性, 扩展了 ESM 的应用范围。ESM 作为一种新型的、安全无害的、天然可再生的生物材料, 可在食品、美容、饲料、化学、轻工、医药、环境保护等许多领域进行有益应用, 这不仅有助于科学和工业的发展, 也有利于环保事业的进行。在查阅大量文献资料的基础上, 文章就 ESM 的结构性质及应用范围进行综述, 以期 ESM 的进一步研究应用提供参考。

基金项目:河南省自然科学基金(编号: 202300410154)

作者简介:张改平, 女, 河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:牛明福(1979—), 女, 河南科技大学副教授, 博士。

E-mail: mingfuniu@163.com

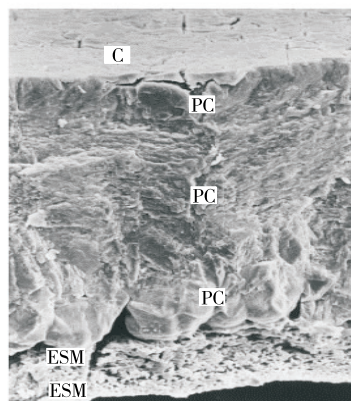
收稿日期:2022-05-14

改回日期:2022-09-22

1 蛋壳膜的结构与性质

ES 是一个科学有序的结构^[2], 从外到内分别是角质层(C)、孔道(PC)和 ESM^[3](图 1), C 和 ESM 作为天然屏障可抵御细菌进入卵子内部^[4]。ESM 的化学成分已被多人研究, 公认其包含约 90% 的蛋白质、3% 的脂类和 2% 的碳水化合物^[5], 其碳水化合物主要是透明质酸(HA)(占碳水化合物的 81%)^[6], HA 具有抗炎、促凝等生物活性, 在医疗、美容、食品等领域有重要应用^[7]。Ahmed 等^[8]对 ESM 溶解物进行蛋白质组学分析, 鉴定出 472 种蛋白质, 其中 124 种在 ESM 中具有高度特异性。此外, ESM 中还存在多种矿物质、氮、氨基酸、唾液酸、糖醛酸及溶菌酶等其他活性成分^[9-10]。

ESM 是由高度交联的纤维蛋白组成的多孔网状结构, 其在保证 ES 矿化的同时也可保护内部蛋清不被矿



C. 角质层 PC. 孔道 ESM. 蛋壳膜

图 1 蛋壳纵切面^[3]

Figure 1 Longitudinal section of eggshell

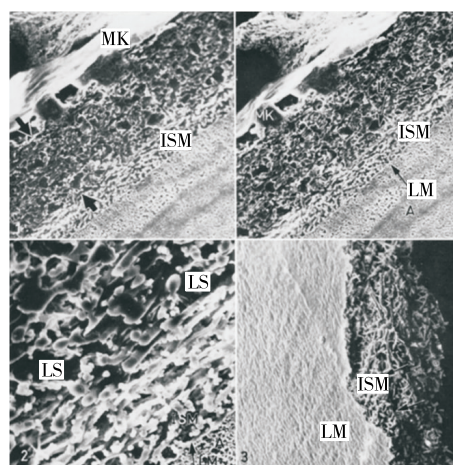
化^[11]。ESM 整体结构包含外壳膜、内膜和限制膜三部分^[12],虽 ESM 整体由纤维组织形成,但各部分膜中包含的纤维并不完全一致,作用也不尽相同。外壳膜包含的纤维最多,也最粗糙、最厚,纤维厚度可达 $3.6\ \mu\text{m}$,其纤维相互交织成网,与蛋壳内侧乳头旋钮紧密相连^[13-14](图 2);内壳膜厚度不到外壳膜的 $1/2$,纤维直径极少超过 $2\ \mu\text{m}$,与外壳膜相比,内壳膜纤维分布更密集,呈凹凸状^[13];限制层的纤维直径最小,直接与内部蛋清接触,具有相对光滑的表面^[13](图 3)。3 层膜螺旋排列形成的完整网状结构是 ESM 阻止外部细菌进入鸡蛋内部的重要基础。在实际应用中,这种天然的网状多孔结构比人工多孔结构有更优越的性能和更广泛的用途。

由于胶原蛋白的存在,ESM 中有大量的二硫键和水不溶性纤维,这使 ESM 具有难溶于水的特性^[15],一定程度上会限制其在某些方面的应用。但是 ESM 作为各种天然活性物质的潜在来源,具有较高的安全性和较低的自身免疫及过敏反应,同时还具有优秀的物理性能,如:多孔结构、低吸水率、低膨胀性、良好的机械性能、可生物降解性等,这使其在医疗美容、功能饮食、环境保护、资源回收、仪器制造等很多领域都有极大的应用空间。因此,ESM 是一种利远大于弊的新型生物材料。

2 蛋壳膜的应用

2.1 在美容方面的应用

人体内不断产生的自由基会致使衰老,因此常借助外源产品延缓自由基对人体的损伤^[16]。因 ESM 中含有丰富的活性物质,从古至今都被认为具有美颜护肤等功效。Yi 等^[17]发现含有 ESM 蛋白的组织培养液可促进皮肤纤维再生,ESM 蛋白浓度愈大效果愈明显,该研究还发



左上角宽箭头之间(外壳膜) LS. 外壳膜中的孔状结构
MK. 乳头旋钮 ISM. 内壳膜 LM. 限制膜

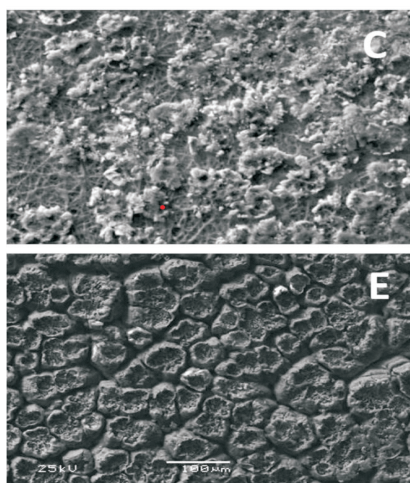
图 3 蛋壳膜电镜结构^[13]

Figure 3 Electron microscopic structure of ESM

现 ESM 蛋白与人体皮肤具有很好的生物相容性,为 ESM 在美容方面的应用提供了安全保障;Yoo 等^[18]通过研究 ESM 水解物对无毛小鼠皱纹形成的影响得出,ESM 对皮肤有保湿舒缓作用;张伟云^[19]以脱发模型小鼠为对象,证明 ESM 多肽具有促进毛发生长的作用;Furukawa 等^[20]通过研究新生儿角质细胞与观察服用 ESM 粉末的小鼠发现,ESM 酶解物具有改变角质细胞形态、促进生长因子表达、抑制皮肤变薄等功效;Ohto-Fujita 等^[21]发现 ESM 溶解物有促进无毛小鼠体内胶原蛋白 III 产生的潜力,且可以明显改善皮肤弹性,减少皱纹产生;Park 等^[22]研究表明,ESM 水解物对皮肤美白、伤口愈合和紫外线防护有一定的积极作用。与合成物质相比,人们会更偏好 ESM 中的天然活性成分,基于 ESM 活性物质的产品有很大的开发潜力。

2.2 在生命医学方面的应用

伤口愈合过慢会增加感染的风险,严重的会引起死亡^[23],Mogosanu 等^[24]研究表明作为天然聚合物的 ESM 可促进人体表皮细胞再生及伤口愈合。日本相扑运动员在受伤时会直接选择 ESM 作为敷料来处理伤口^[25];Ahmed 等^[23]通过动物试验表明,ESM 可促进小鼠伤口闭合形成肉芽组织;Mensah 等^[26]通过对 ESM 的结构性能及安全性分析,肯定了其在再生医学中的应用,其不仅可用于治疗眼部损伤,还可以作为烧伤病人的生物敷料。Li 等^[27]将 ESM 和壳聚糖(CS)混合制备出了具有抑菌活性的伤口护理敷料;Pillai 等^[28]采用静电纺丝等方法,将可溶性 ESM 蛋白(SEP)、CS、姜黄素等物质组合在一起制备了具有抗菌、抗炎、抗氧化功能的双层贴片,试验证明 SEP 可改善细胞的迁移能力;Gautron 等^[29]发现了与 ESM 相关的新型潜在抗菌蛋白 Ovocalyxin-36 (OCX-36),其与很多已知参与先天免疫反应的蛋白质具有较高



C. 黏附在外膜表面的乳头旋钮 E. 膜完全脱离后蛋壳内测留下的凹陷

图 2 外壳膜电镜结构^[14]

Figure 2 Electron microscopic structure of the outer membrane

的序列同源性。

除了可促进外伤愈合,ESM 还可以修复关节炎及损伤。Wedekind 等^[30]以大鼠为研究对象,证明天然 ESM 对关节炎的治疗有效;Hewlings 等^[31]研究证明关节疼痛患者连续服用一定量的 ESM 后可明显改善其关节疼痛感和僵硬程度,还可缓解运动后的不适,效果优于安慰剂。这可能与 ESM 中存在的多糖(如透明质酸、硫酸软骨素)有密切联系^[30]。ESM 对人体其他各类疾病的治疗也有益处,如改善高尿酸血症^[32]、降低体内胆固醇含量^[33]、促进神经再生^[34]、缓解胃肠道相关疾病等^[35]。此外,ESM 优秀的天然结构及性质还使其可参与医用器具的制作,Hirata 等^[36]用 ESM 辅助制作了可用于手术练习的眼睛模型;Xiong 等^[37]利用 SEP 与其他可生物降解合成聚合物结合制备出了具有良好机械性能和生物相容性的纤维支架。ESM 具有来源丰富、成本较低的优点,应用于医疗后可降低医疗成本,在现有研究的基础上,未来可进一步对其在血管、神经、骨细胞再生等方面的作用进行研究。

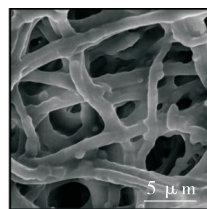
2.3 在功能性食品方面的应用

ESM 中多样的活性物质是天然的膳食补充剂,这保证了其在食品工业中作为功能性和营养性食品成分的潜在用途。Ruff 等^[38]对人体细胞及大鼠进行了短时间内高剂量的 ESM 处理,结果表明大量补充 ESM 是安全的。Matsuoka 等^[39]通过大鼠饲喂试验确定了 ESM 的吸收率及净蛋白效用,结果表明超过 80% 的 ESM 可被吸收,且 ESM 水解物的吸收率更高;刘春叶^[40]通过酶法溶解 ESM 并从中提取了多糖和人体必需氨基酸,进而研制出具有高营养价值的保健功能饮料;王蕊等^[41]研究表明,基于 ESM 的功能性食品具有降血脂、抗凝血、抗炎症等功效;苏薇^[42]从 ESM 中提取的 *N*-乙酰神经氨酸补充剂可提高大鼠的空间学习记忆能力,表明 ESM 在功能性食品中具有高价值应用潜力;在日本,很多公司及个人利用 ESM 生产各种调味料^[43],ESM 使调味料中含有较多对人体有益的氨基酸,这使调料具有丰富的口味和较高的营养,且 ESM 中的活性物质还可以赋予其抗氧化等功效。ESM 的安全性和营养性使其可以被广泛应用于各种食品生产中。

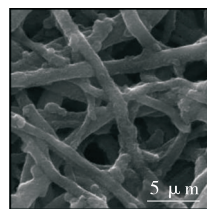
2.4 在纳米技术中的应用

ESM 的还原能力和独特的三维纤维网状膜结构使其可以作为纳米晶体良好生长的平台,可将其用于各种纳米技术应用中的仿生化学处理。Alcaraz-Espinoza 等^[44]通过多壁碳纳米管(MWCNT)对 ESM 的修饰和随后的聚吡咯(PPy)原位聚合,制备了具有多孔表面的高导电纳米结构(见图 4),此结构可用于超级电容器中;Shao 等^[45]利用 ESM 制备的荧光金属纳米团簇可应用于可回收催化剂、传感纸、荧光表面图案化和防伪;Tang 等^[46]基于 ESM 制作的柔性大孔网络结构催化剂和银纳米颗粒

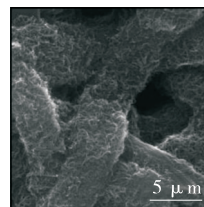
(AgNPs)催化剂对甲醇氧化具有很好的催化活性;Liang 等^[47]将 AuNPs 沉积在 ESM 表面制备出新型功能性生物纳米复合材料,其可以催化 4-硝基苯酚的还原反应;Selvam 等^[48]利用 ESM 的还原性及稳定性以其为模板制备了新型 V_2O_5/ZnO 纳米抗菌复合材料,其具有制备简便、效果优良的特点;王玲^[49]以 ESM 为载体制备了 AgNPs/石墨烯/ESM 复合膜,其具有很强的光热转化性能,此材料可在生物医学的光热治疗领域进行应用;Park 等^[50]制作了基于 ESM 的纳米纤维支架,此支架结构以天然生物材料为基础,可应用于组织或细胞工程合成关于人体细胞再生的组织结构。



(a) 原始蛋壳膜(光滑)



(b) 掺入碳纳米结构(MWCNT-ESM)



(c) MWCNT-ESM的放大图像(粗糙)

图 4 碳纳米管修饰前后蛋壳膜电镜对比图^[44]

Figure 4 Comparative electron microscopy of ESM before and after carbon nanotube modification

2.5 用于环境治理和资源回收

水体污染的主要来源是染料及重金属,出于环境保护和资源回收的考虑,水质净化是必要的。而传统的净化介质如活性炭、泥炭、生物质等具有操作繁琐、二次污染等问题。ESM 大的表面积和较多的微孔结构使其具有良好的透气性和吸附性,同时,ESM 中大量氨基酸的存在使其具有很多特殊官能团,如羟基(—OH)、硫醇(—SH)、羧基(—COOH)、氨基(—NH)、酰胺(—CONH₂)等,使其具有催化及还原特性,表明 ESM 在环境治理及物质勘测领域大有用途。

研究^[51-55]证明,ESM 对多种染料如孔雀石绿、品红、刚果红、硫化染料和反应性红 120(RR120)等都有很好的吸附能力。此外,ESM 对重金属离子的吸附能力也很强,甚至优于羽毛,研究^[56-59]表明很多重金属离子如 Cr(Ⅳ)、Cd(Ⅱ)、Cu(Ⅱ)、Hg(Ⅱ)、Pb(Ⅱ)、和 Ag(Ⅰ)都可以被 ESM/功能化 ESM 很好的吸附。ESM 中糖与糖醛酸结合形成的醛基(R—CHO)还可以作为还原剂将金属离子还原为元素状态^[60],表明 ESM 在消除环境中金属离子污

染的同时还可以作为贵金属回收(如冶金)的重要工具。

ESM 优秀的吸附特性可检测出环境中的痕量离子。Zhang 等^[61]证实 ESM 对水中的痕量 Mn(II)和 Mn(VII)离子有很好的吸附能力;Zou 等^[62]研究表明,经聚乙烯亚胺(PEI)功能化的 ESM 可以对环境和饮食中的痕量 Cu²⁺选择性的萃取和富集;Cheng 等^[63]将 ESM 用作固相萃取(SPE)吸附剂来分离和预富集样品,然后结合电感耦合等离子体质谱法测定了地质样品中的痕量 Au。表明 ESM 对金属离子具有高度敏感性,在高水平、高精密度的检测仪器中有潜在应用。

2.6 在生物传感器上的应用

ESM 具有较大的比表面积和多孔结构,同时其作为惰性材料不会对其他物质造成干扰,因此 ESM 是制作生物传感器的良好载体。Liu 等^[64]在 ESM 上将固定的葡萄糖氧化酶与具有催化效应的铂纳米颗粒结合,制作了可用于人血清葡萄糖浓度测定的生物传感器;Liu 等^[65]将 Au 和 CeO₂ 纳米复合材料负载于 ESM 上构建了一种可以灵敏检测多巴胺的电化学生物传感器;Mohammad 等^[66]使用超声法将氧化石墨烯纳米片掺入 ESM,经普鲁士蓝修饰后其可成为新型灵敏型 H₂O₂ 电化学传感器;Xue 等^[67]开发了一种基于 CdTe 量子点和双酶固定 ESM 的生物传感器,可用于检测水果及蔬菜中的有机磷;Wen 等^[68]基于 ESM 制备出一种能准确测定乙醇含量的新型微生物生物传感器;Zhang 等^[69]发现经 PEI 处理后的 ESM 可以固定脲酶,从而促进电位尿素生物传感器的制作;Li 等^[70]发现有 ESM 存在的吡啶黄素固定式荧光生物传感器可以更灵敏、稳定地检测苏丹 I~IV。

2.7 其他作用

ESM 在其他方面的应用也很多。Zhao 等^[71]研究表明 ESM 酶解肽具有抗菌的生物学活性,可抑制细菌生物膜的形成;温越等^[72]发现在制作包装膜时加入一定量的 ESM 不仅可增强膜的抗拉扯、抗氧化、抗菌等能力,还能提高膜的机械、密封、环保性;还有研究^[73]证明,经 ESM 加工过的衣物可给人更加舒适的穿着体验;Trimbos 等^[74]通过对 ESM 进行 DNA 鉴定来辅助研究鸟类群体遗传学,其具有不易变异和交叉污染等优点;方绍培等^[75]发现添加了 ESM 的鸡饲料可明显提高鸡血清中的总蛋白量并增强其免疫力与抗病力;Liu 等^[76]利用 ESM 粉末作为孔原改善了 CS 颗粒的孔隙率,当加入的 ESM 粉末达到 20% 时,其颗粒孔隙度可满足固定蛋白酶最大活性;此外,ESM 在太阳能、半导体和燃料电池的生产中也有一定的积极作用^[77]。综上,ESM 的应用几乎遍布人类生活的各个领域。

2.8 蛋壳膜应用相关文献统计及分析

通过查阅大量文献对 ESM 的应用领域及文献年份进行了整理,结果见图 5。ESM 几乎在人类生活的各个

领域都有应用,人们对 ESM 的深入研究主要集中在近 20 年特别是近 10 年间,这与人们环保意识的增强是一致的。从图 5 可以看出,ESM 在医学领域的研究一直备受关注,近 10 年更甚;其次,ESM 在材料学及环保领域的应用也是人们持续关注的热点;在电化学领域的应用研究近 10 年间异军突起;在生物工程、美容护肤、功能性食品方面的研究也一直在进行;其在群体遗传学、轻工业及其他尚未涉及的领域还有很大的研究发展空间。

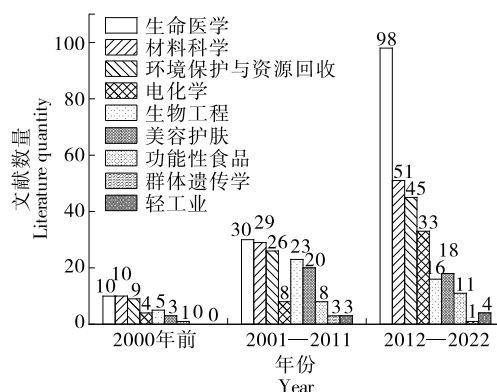


图 5 蛋壳膜应用范围及文献年份分布

Figure 5 Application scope and literature year distribution of eggshell membrane

另外,从相关文献可以看出,ESM 在各领域之间的交叉应用越来越流行,材料科学更是 ESM 在其他领域扩大应用的基础。ESM 在医学上的应用多数处于材料科学、化学、生物工程和细胞生物学的交叉处,如基于 ESM 的纳米生物敷料、纳米支架等;ESM 在电化学中的应用也需要纳米技术及生物工程技术支持;基于纳米技术的 ESM 生物材料更方便其在超级电容器、生物传感器、重金属及染料吸附等领域的应用。未来各领域间基于 ESM 的应用会交叉结合的越来越紧密、越来越复杂,这也是发展的必然性。

3 问题与展望

蛋壳膜虽用途广泛,但也有限制其应用的因素。首先,蛋壳膜中大量二硫键的存在使其结构性质比较稳定,不溶于水。这虽是其优点,但在实际应用中会增加操作难度,如蛋壳膜的颗粒大小、形状和孔隙率等都对其吸附率有很大影响。为了使蛋壳膜能拥有更加便捷、广泛的用途,应考虑在不破坏其本身活性的基础上对其进行改性处理,使其成为可溶或易溶状态。其次,蛋壳膜单片质量小、贮存不便、分离困难,因此想要产业化利用蛋壳膜并非易事,而且不同的应用需要不同形态的蛋壳膜,如固态、液态、片状、粉末状及纳米粒子,这些都对工业生产中的相关技术水平提出了很高的要求。另外,目前对蛋壳膜的利用多依赖于其本身的结构性质,但其包含的丰富蛋白质及其他活性物质也是蛋壳膜在许多领域发挥作用

的重要基础,如医疗、美容、饮食等。虽已有科研人员对蛋壳膜的各种活性物质进行了单独提取(如抗氧化肽、透明质酸、胶原蛋白、硫酸软骨素、角蛋白、溶菌酶等),但尚未见到成熟的相关产品在市场上流通或大规模应用,这可能是因为产品纯度不高、产率较低、活性较弱、质量稳定性差等,未来是否应把重心放在对蛋壳膜活性物质的提取及保存上值得思考。最后,蛋壳膜在精密仪器中的应用还不成熟,可重复性较差。元件中微小的变化可产生不同的化学和机械效应,若想蛋壳膜对其有更好的应用,还需更加全面、系统、深入地了解蛋壳膜的性质及作用机理。

问题固然存在,但这并不影响蛋壳膜是人们关注的特殊生物材料。近期 Kim 等^[78]发现蛋壳膜支持的正向渗透薄膜可用于海水淡化,这是一个很有价值的新发现,可开展新的研究方向。相信随着科技的发展,蛋壳膜及其衍生物的应用领域会更广泛,在各领域的应用也会更深入,更成熟。

参考文献

- [1] AJALA E O, ELETTA O A A, AJALA M A, et al. Characterization and evaluation of chicken eggshell for use as a bio-resource[J]. *J Arid Zone Engineer, Technol and Environ*, 2018, 14(1): 26-40.
- [2] PARSONS A H. Structure of the eggshell[J]. *Poult Sci*, 1982, 61(10): 2 013-2 021.
- [3] CARL B, PRADIP P. Encyclopedia of food microbiology[M]. 2nd ed. London: Academic Press, Elsevier, 2014: 610-616.
- [4] MARIE P, LABAS V, BRIONNE A, et al. Quantitative proteomics and bioinformatic analysis provide new insight into protein function during avian eggshell biomineralization[J]. *J Proteomics*, 2015, 113: 178-193.
- [5] CHEN L, KANG J, SUKIGARA S. Preparation and characterization of polyurethane/soluble eggshell membrane nanofibers[J]. *Biomed Mater Eng*, 2014, 24(6): 1 979-1 989.
- [6] LIU Z, ZHANG F, LI L, et al. Compositional analysis and structural elucidation of glycosaminoglycans in chicken eggs[J]. *J Glycoconj*, 2014, 31(8): 593-602.
- [7] FALLACARA A, BALDINI E, MANFREDINI S, et al. Hyaluronic acid in the third millennium[J]. *Polymers (Basel)*, 2018, 10(7): 701.
- [8] AHMED T, SUSO H P, HINCKE M T. In-depth comparative analysis of the chicken eggshell membrane proteome [J]. *J Proteomics*, 2017, 155: 49-62.
- [9] NAKANO T, IKAWA N I, OZIMEK L. Chemical composition of chicken eggshell and shell membranes[J]. *Poult Sci*, 2003, 82(3): 510-514.
- [10] KOZUKA M, MURAO S, YAMANE T, et al. Rapid and simple purification of lysozyme from the egg shell membrane[J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2015, 61(1): 101-103.
- [11] CORDEIRO C M, HINCKE M T. Quantitative proteomics analysis of eggshell membrane proteins during chick embryonic development[J]. *J Proteomics*, 2016, 130: 11-25.
- [12] LEE S M, GRASS G, KIM G M, et al. Low-temperature ZnO atomic layer deposition on biotemplates: Flexible photocatalytic ZnO structures from eggshell membranes[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2009, 11(19): 3 608-3 614.
- [13] BELLAIRS R, BOYDE A. Scanning electron microscopy of the shell membranes of the hen's egg[J]. *Austria, Zellforsch Mikrosk Anat*, 1969, 96(2): 237-249.
- [14] LI Y, LI Y, LIU S, et al. New zonal structure and transition of the membrane to mammillae in the eggshell of chicken *Gallus domesticus*[J]. *J Struct Biol*, 2018, 203(2): 162-169.
- [15] BEEN S, CHOI J, CHO H, et al. Preparation and characterization of a soluble eggshell membrane/agarose composite scaffold with possible applications in cartilage regeneration[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2021, 15(4): 375-387.
- [16] LI S, SHAH N P. Antioxidant and antibacterial activities of sulphated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* and *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275[J]. *Food Chem*, 2014, 165: 262-270.
- [17] YI F, GUO Z X, ZHANG L X, et al. Soluble eggshell membrane protein: Preparation, characterization and biocompatibility [J]. *Biomaterials*, 2004, 25(19): 4 591-4 599.
- [18] YOO J H, KIM J K, YANG H J, et al. Effects of egg shell membrane hydrolysates on UVB-radiation-induced wrinkle formation in SKH-1 hairless mice[J]. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 2015, 35(1): 58-70.
- [19] 张伟云. 鸡蛋壳膜多肽的酶解工艺及其对脱发模型小鼠的影响[D]. 长春: 长春工业大学, 2021: 37-42.
- [20] ZHANG W Y. Enzymatic hydrolysis of polypeptides from eggshell membrane and its effect on alopecia mice [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2021: 37-42.
- [21] FURUKAWA K, KONO M, KATAOKA T, et al. Effects of eggshell membrane on keratinocyte differentiation and skin aging in vitro and in vivo[J]. *Nutrients*, 2021, 13(7): 2 144.
- [22] OHTO-FUJITA E, SHIMIZU M, SANO S, et al. Solubilized eggshell membrane supplies a type III collagen-rich elastic dermal papilla[J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 376(1): 123-135.
- [23] PARK K M, YOO J H, SHIN Y J. Effects of egg shell membrane hydrolysates on skin whitening, wound healing, and UV-protection [J]. *Korean J Food Sci Animal Res*, 2012, 32(3): 308-315.
- [24] AHMED T, SUSO H P, MAQBOOL A, et al. Processed eggshell membrane powder: Bioinspiration for an innovative wound healing product[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 95: 192-203.
- [25] MOGOSANU G D, GRUMEZESCU A M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing[J]. *J Int Pharm*, 2014, 463(2): 127-136.
- [26] SAH M K, RATH S N. Soluble eggshell membrane: A natural protein to improve the properties of biomaterials used for tissue engineering applications[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 67: 807-821.
- [27] MENSAH R A, JO S B, KIM H, et al. The eggshell membrane: A potential biomaterial for corneal wound healing [J]. *J Biomater*

- Appl, 2021, 36(5): 912-929.
- [27] LI X, MA M, AHN D U, et al. Preparation and characterization of novel eggshell membrane-chitosan blend films for potential wound-care dressing: From waste to medicinal products[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 477-484.
- [28] PILLAI M M, DANDIA H, CHECKER R, et al. Novel combination of bioactive agents in bilayered dermal patches provides superior wound healing [J]. *Nanomedicine*, 2022, 40: 102495.
- [29] GAUTRON J, MURAYAMA E, VIGNAL A, et al. Cloning of ovocalyxin-36, a novel chicken eggshell protein related to lipopolysaccharide-binding proteins, bactericidal permeability-increasing proteins, and plunc family proteins[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(8): 5 273-5 286.
- [30] WEDEKIND K J, RUFF K J, ATWELL C A, et al. Beneficial effects of natural eggshell membrane (NEM) on multiple indices of arthritis in collagen-induced arthritic rats[J]. *Mod Rheumatol*, 2017, 27(5): 838-848.
- [31] HEWLINGS S, KALMAN D, SCHNEIDER L V. A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective clinical trial evaluating water-soluble chicken eggshell membrane for improvement in joint health in adults with knee osteoarthritis[J]. *J Med Food*, 2019, 22(9): 875-884.
- [32] SUNG Y Y, KIM D S. Eggshell membrane ameliorates hyperuricemia by increasing urate excretion in potassium oxonate-injected rats[J]. *Post-Oviposition*, 2021, 13(10): 3 323.
- [33] RAMLI N S, JIA H, SEKINE A, et al. Eggshell membrane powder lowers plasma triglyceride and liver total cholesterol by modulating gut microbiota and accelerating lipid metabolism in high-fat diet-fed mice[J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(5): 2 512-2 523.
- [34] FARJAH G H, HESHMATIAN B, KARIMPOUR M, et al. Using eggshell membrane as nerve guide channels in peripheral nerve regeneration[J]. *J Iran Basic Med Sci*, 2013, 16(8): 901-905.
- [35] JIA H, HANATE M, AW W, et al. Eggshell membrane powder ameliorates intestinal inflammation by facilitating the restitution of epithelial injury and alleviating microbial dysbiosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43993.
- [36] HIRATA A, IWAKIRI R, OKINAMI S. A simulated eye for vitreous surgery using Japanese quail eggs[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2013, 251(6): 1 621-1 624.
- [37] XIONG X, LI Q, LU J W, et al. Fibrous scaffolds made by co-electrospinning soluble eggshell membrane protein with biodegradable synthetic polymers[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2012, 23(9): 1 217-1 230.
- [38] RUFF K J, ENDRES J R, CLEWELL A E, et al. Safety evaluation of a natural eggshell membrane-derived product[J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(3/4): 604-611.
- [39] MATSUOKA R, KURIHARA H, YUKAWA H, et al. Eggshell membrane protein can be absorbed and utilised in the bodies of rats[J]. *BMC Res Notes*, 2019, 12(1): 258.
- [40] 刘春叶. 鸡蛋壳的研究和利用进展[J]. *中国化工贸易*, 2017(6): 232-233.
- LIU C Y. Research and utilization progress of eggshell[J]. *China Chemical Trade*, 2017(6): 232-233.
- [41] 王蕊, 吕军仁. 蛋膜保健功能及其在食品加工方面的应用[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2013(14): 70-71.
- WANG R, LU J R. Health function of egg membrane and its application in food processing[J]. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2013(14): 70-71.
- [42] 苏薇. 鸡蛋壳膜 N-乙酰神经氨酸的制备及对幼年大鼠学习记忆能力的影响[D]. 长春: 吉林大学, 2014: 85.
- SU W. Preparation of egg shell membrane N-acetylneuraminic acid and its effect on the learning memory ability of young rats[D]. Changchun: Jilin University, 2014: 85.
- [43] 日本利用蛋壳膜生产调味料[J]. *中国禽业导刊*, 2001(11): 47.
- Eggshell membrane is used to produce seasoning in Japan [J]. *China Poultry Industry Guide*, 2001(11): 47.
- [44] ALCARAZ-ESPINOZA J J, DE MELO C P, DE OLIVEIRA H P. Fabrication of highly flexible hierarchical polypyrrole/carbon nanotube on eggshell membranes for supercapacitors [J]. *ACS Omega*, 2017, 2(6): 2 866-2 877.
- [45] SHAO C, YUAN B, WANG H, et al. Eggshell membrane as a multimodal solid state platform for generating fluorescent metal nanoclusters[J]. *J Mater Chem*, 2011, 21(9): 2 863-2 866.
- [46] TANG Q, TANG Z, WU J, et al. A facile route to a microporous silver network for methanol oxidation[J]. *RSC Adv*, 2011, 1(8): 1 453-1 456.
- [47] LIANG M, SU R, QI W, et al. Synthesis of well-dispersed Ag nanoparticles on eggshell membrane for catalytic reduction of 4-nitrophenol[J]. *J Mater Sci*, 2014, 49: 1 639-1 647.
- [48] SELVAM P S, CHINNADURAI G S, GANESAN D, et al. Eggshell membrane-mediated V₂ O₅/ZnO nanocomposite: Synthesis, characterization, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration, and its mechanism [J]. *Appl Phys A*, 2020, 126 (11): 893.
- [49] 王玲. 基于金属纳米粒子和氧化石墨烯的蛋壳膜光热性能研究[D]. 武汉: 武汉纺织大学, 2020: 12-29.
- WANG L. Study on photothermal properties of eggshell membrane based on metal nanoparticles and graphene oxide [D]. Wuhan: Wuhan Textile University, 2020: 12-29.
- [50] PARK S, GWON Y, KIM W, et al. Rebirth of the eggshell membrane as a bioactive nanoscaffold for tissue engineering[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(6): 2 219-2 224.
- [51] CHEN H M, LIU J, CHENG X Z, et al. Adsorption for the removal of malachite green by using eggshell membrane in environment water samples[J]. *Adv Mater Res*, 2012, 573/574: 63-67.
- [52] BESSASHIA W, BERREDJEM Y, HATTAB Z, et al. Removal of Basic Fuchsin from water by using mussel powdered eggshell membrane as novel bioadsorbent: Equilibrium, kinetics, and thermodynamic studies[J]. *Environ Res*, 2020, 186: 109484.
- [53] ZHAO J, WEN X, XU H, et al. Fabrication of recyclable magnetic biosorbent from eggshell membrane for efficient adsorption of dye

- [J]. *Environ Technol*, 2021, 42(28): 4 380-4 392.
- [54] CHOI H J. Use of methyl esterified eggshell membrane for treatment of aqueous solutions contaminated with anionic sulfur dye[J]. *Water Sci Technol*, 2017, 76(9/10): 2 638-2 646.
- [55] SARATALE R G, SUN Q, MUNAGAPATI V S, et al. The use of eggshell membrane for the treatment of dye-containing wastewater: Batch, kinetics and reusability studies [J]. *Chemosphere*, 2021, 281: 130777.
- [56] DARAEI H, MITTAL A, MITTAL J, et al. Optimization of Cr(VI) removal onto biosorbent eggshell membrane: Experimental & theoretical approaches[J]. *Desalin Water Treat*, 2014, 52(7/8/9): 1 307-1 315.
- [57] PEIGNEUX A, PUENTES-PARDO J D, RODRÍGUEZ-NAVARRO A B, et al. Development and characterization of magnetic eggshell membranes for lead removal from wastewater [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 192: 110307.
- [58] WANG S, WEI M, HUANG Y. Biosorption of multifold toxic heavy metal ions from aqueous water onto food residue eggshell membrane functionalized with ammonium thioglycolate[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(21): 4 988-4 996.
- [59] 邹雪, 龚正君. 黄原酸功能化蛋壳膜及其对 Pb(II) 的吸附研究[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2020, 42(11): 141-146.
- ZOU X, GONG Z J. Xanthate functionalized eggshell membrane and its adsorption of Pb(II) [J]. *Journal of Southwest University: Natural Science Edition*, 2020, 42(11): 141-146.
- [60] ZHENG B Z, XIE S P, QIAN L, et al. Gold nanoparticles-coated eggshell membrane with immobilized glucose oxidase for fabrication of glucose biosensor[J]. *Sensors Actuators B: Chem*, 2011, 152(1): 49-55.
- [61] ZHANG R H, YANG X L, LIU J, et al. Eggshell membrane biomaterials for adsorption and determination of Mn (II , VII) in environmental water[J]. *Adv Mater Res*, 2012, 457/458: 536-539.
- [62] ZOU X, HUANG Y. Solid-phase extraction based on polyethyleneimine-modified eggshell membrane coupled with FAAS for the selective determination of trace copper(II) ions in environmental and food samples[J]. *Anal Methods*, 2013, 5(22): 6 486-6 493.
- [63] CHENG X, JIN L, YANG X, et al. Eggshell membrane microcolumn solid-phase extraction and determination of trace gold in geological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *At Spectroscopy*, 2011, 32(5): 175-181.
- [64] LIU W, WU H, BO L, et al. Immobilization of platinum nanoparticles and glucose oxidase on eggshell membrane for glucose detection[J]. *Anal Methods*, 2013, 5(19): 5 154-5 160.
- [65] LIU Q, CHEN X, KANG Z W, et al. Facile synthesis of eggshell membrane-templated Au/CeO₂ 3D nanocomposite networks for nonenzymatic electrochemical dopamine sensor[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2020, 15(1): 24.
- [66] MOHAMMAD-REZAEI R, RAZMI H, DEHGAN-REYHAN S. Preparation of graphene oxide doped eggshell membrane bioplatfrom modified Prussian blue nanoparticles as a sensitive hydrogen peroxide sensor[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 118: 188-193.
- [67] XUE G, YUE Z, BING Z, et al. Highly-sensitive organophosphorus pesticide biosensors based on CdTe quantum dots and bi-enzyme immobilized eggshell membranes[J]. *Analyst*, 2016, 141(3): 1 105-1 111.
- [68] WEN G, LI Z, CHOI M. Detection of ethanol in food: A new biosensor based on bacteria[J]. *J Food Eng*, 2013, 118(1): 56-61.
- [69] ZHANG D, ZHAO H, FAN Z, et al. A highly sensitive and selective hydrogen peroxide biosensor based on gold nanoparticles and three-dimensional porous carbonized chicken eggshell membrane[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130156.
- [70] LI Y, WANG A, BAI Y, et al. Acriflavine-immobilized eggshell membrane as a new solid-state biosensor for Sudan I ~ IV detection based on fluorescence resonance energy transfer[J]. *Food Chem*, 2017, 237: 966-973.
- [71] ZHAO J, GUO L, ZENG H, et al. Purification and characterization of a novel antimicrobial peptide from *Brevibacillus laterosporus* strain A60[J]. *Peptides*, 2012, 33(2): 206-211.
- [72] 温越, 张宏, 汪乐川, 等. 蛋壳膜酶解肽对大豆蛋白包装膜抑菌、抗氧化性能的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(3): 194-202.
- WEN Y, ZHANG H, WANG L C, et al. Effects of enzymolysis peptides from eggshell membrane on antibacterial and antioxidant properties of soy protein packaging film[J]. *Food Science*, 2022, 43(3): 194-202.
- [73] TANI A, SAKASHITA R, MOROOKA H, et al. Effect of processed fabric with eggshell membrane and phospholipid polymer on thermal performance when wearing[J]. *Japan J Res Association for Textile End-Uses*, 2019, 60(3): 255-261.
- [74] TRIMBOS K B, BROEKMANN J, KENTIE R, et al. Using eggshell membranes as a DNA source for population genetic research[J]. *J Ornithology*, 2009, 150(4): 915-920.
- [75] 方绍培, 刘晨龙, 尧国荣, 等. 蛋壳膜对生产肉鸡抗病力和免疫力的影响[J]. *江西农业学报*, 2017, 29(12): 77-81.
- FANG S P, LIU C L, YAO G R, et al. Effect of eggshell membrane on disease resistance and immunity of broilers. *Journal of Jiangxi Agriculture*, 2017, 29(12): 77-81.
- [76] LIU Y Y, CAI Z X, MA M H, et al. Effect of eggshell membrane as porogen on the physicochemical structure and protease immobilization of chitosan-based macroparticles [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 242: 116387.
- [77] PARK S, CHOI K S, LEE D, et al. Eggshell membrane: Review and impact on engineering[J]. *Biosystems Eng*, 2016, 151: 446-463.
- [78] KIM T, PARK S, LEE Y, et al. Thin film biocomposite membrane for forward osmosis supported by eggshell membrane [J]. *Membranes (Basel)*, 2022, 12(2): 166.