

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生活與應用科學科

第三名

040802

痘高一尺，膜高一丈—以蛋殼膜製備消炎乳液

學校名稱：國立蘭陽女子高級中學

作者： 高二 林宜萱 高二 楊文瑄	指導老師： 陳美蓮 簡森乙
-------------------------	---------------------

關鍵詞：蛋殼膜、消炎、抗菌

摘要

本研究以環保為出發點，藉由常見的廢棄物——蛋殼為主軸，針對蛋殼膜萃取物進行其抗菌、消炎、保濕等層面之實驗。據結果顯示，蛋膜萃取物對於金黃色葡萄球菌以及大腸桿菌均有良好的抑制功效。由巨噬細胞的消炎測試得知，當萃取物濃度為 $40\mu\text{g}/\text{mL}$ 時即可將 NO 生成率降低至與未添加 LPS 組相近；而自小鼠的傷口試驗中，可知少量的蛋膜萃取物對動物亦有很好的消炎效果。對於人體皮膚的保濕率測定，其萃取液亦有不錯的保濕能力。綜合以上結果均證明蛋殼膜在許多層面上確實為極具開發潛力的物質。

壹、研究動機

許多人上了高中，壓力愈來愈大，不知不覺中痘痘便長了滿臉，而且剛好是在這最尷尬的年紀，想要好好的保養皮膚卻總是沒有足夠的時間，因此我們便想要找出一種不費事不費時的方法來「善待」自己的臉。

偶然間讀到一本名為《搶救頭號病人》的科普書籍，裡面談到蛋白也有殺菌的功用，所以我們便感到些許好奇，因為蛋殼外含有數不盡的細菌，可是為何蛋白卻具有阻隔與殺菌的作用呢？我們開始覺得小小的一顆雞蛋不是那麼簡單了，決定想對它有更深入的認識。

在查閱更多的資料後，發現一顆蛋的最神奇之處是「蛋殼膜」這個構造，它內中富含角質蛋白、粘蛋白與玻尿酸等，性質與膠原蛋白類似，具有極佳的吸水性與親膚性^[2]，可吸附大量水分，並形成保水層，增加新陳代謝，還可用來敷臉或當化妝水^[9]。而這些資料彷彿在我們的腦海中點燃一盞明燈。

其實大家對於蛋殼膜一定不陌生，它就是黏附在蛋殼上的那層薄膜，每當我們順手把蛋殼丟進垃圾桶時，這個神奇的小東西也被我們忽略了。

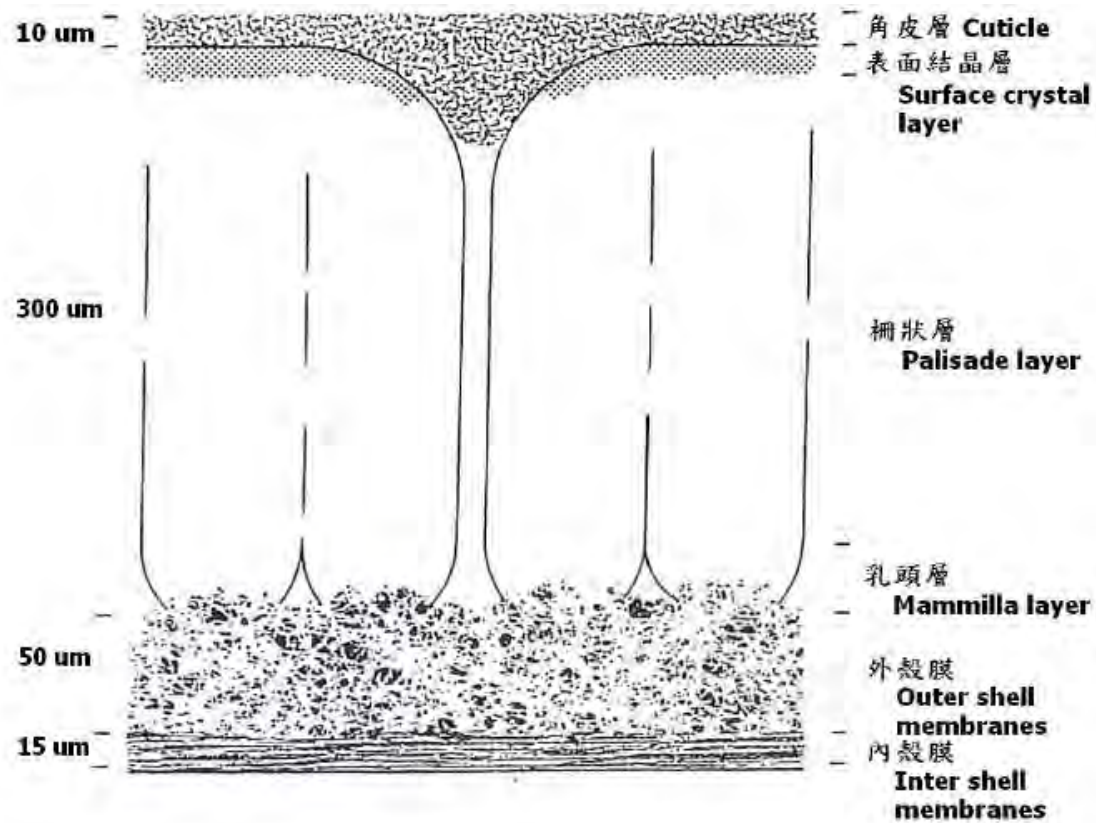
加上近年來環保意識高漲，雞蛋又是全球都在食用的食物，而台灣人食用雞蛋的比例尤較平均為高^[1]，每年的蛋殼廢棄物更是有 692 公噸之多。如果我們可以善用這些廢棄物，讓不起眼的蛋殼膜發揮最大的效用，不但可以利用它本身的特色，開發出近來深受大眾喜愛的生物性化妝品，更可以改善環境問題，以達到廢棄物再利用的環保理念。

下定決心後，我們便借用附近大學的實驗室，作了一些初步的分析，發現萃取出的蛋殼膜果然如資料所言，具有消炎、抗菌、保濕…等等的功用。於是，更確立了利用它來開發出同時具強效保濕、絕佳防護與自我修復等實用價值的機能性保養品，並不單單只是個幻想了！

貳、 研究背景與目的

一、蛋殼及蛋殼膜簡介

蛋殼的組成是多層的孔狀結構，其各層分佈方式如圖一所示，由內而外分為 6 層。最內層為蛋殼膜，蛋殼膜又分為內外兩層，由膠原蛋白、角質蛋白與纖維蛋白等多種蛋白質、少量碳水化合物及多量的羥脯胺酸(Hydroxyproline)、胱胺酸(Cystine)及羥離胺酸(Hydroxylysine)，共同交互連結為緻密且不溶於水的網狀結構，且具有防止外來物質入侵的功能；蛋殼膜上鑲嵌著圓錐形的碳酸鈣結晶，這些錐體稱之為乳頭層 (mamillary layer)，而在乳頭層上方緊密連結著柵狀層又稱海綿狀基質層 (pallisadelayer)，以垂直乳頭層的方式平行延伸而出，最後終止於表面結晶層(surface crystal layer)，形成堅硬的蛋殼主體^[3]。蛋殼膜與蛋殼形成比例大約為 1：50；而蛋殼的為最外層為角皮層又稱表膜層，其富含纖維蛋白、礦物質與蛋殼色素等，所含的蛋白質可填補於蛋殼表面的粗糙孔洞，具有防止微生物入侵與蛋殼著色的功能^[4]。



圖一 蛋殼膜構造

二、目前研究成果

起先蛋殼膜蛋白被稱為卵角蛋白 (ovokeratin)，因為其中含大量的雙硫鍵，與毛髮及蹄的主要蛋白質成分類似。然而至 1997 年的研究應用角蛋白抗體探討蛋殼膜的成分，顯示蛋殼膜水解時產生羧脯胺酸，這表示蛋殼膜纖維中含有膠原蛋白，其結果與原先的假說並不一致，但與其他研究室應用生化及免疫方法所得之結果一致^[5]。

至今已有多篇報告顯示在蛋殼膜中有數種膠原蛋白存在，在外蛋殼膜主要是第一型，而在內蛋殼膜則為第一及第五型。此外，中國免疫組織化學分局結果顯示第十型膠原蛋白皆存在於內外殼膜中。因此，第一、五及十型膠原蛋白可能佔有蛋殼膜纖維中相當大的部分。

至今國內外許多實驗室也陸續參與開發蛋殼及蛋殼膜之再利用實驗，期許不久後，將有此類藥物或化妝品上市，讓更多民眾受惠，並達到廢棄物再利用之環保理念。

三、研究目的

(一) 首先，當我們萃取出蛋殼膜後，想要對它有基本的認識，因此先做了以下兩種測定：

1. 萃取出蛋白質之定量分析。
2. 利用 SDS 分析萃取出蛋白質的平均分子量。

(二) 想要抗痘，不論是預防或者治療，抗菌都是基本的效果，所以我們探討萃取液對以下兩種常見菌種的抑菌效果：

1. 大腸桿菌→革蘭氏陰性菌。
2. 金黃色葡萄球菌→革蘭氏陽性菌。

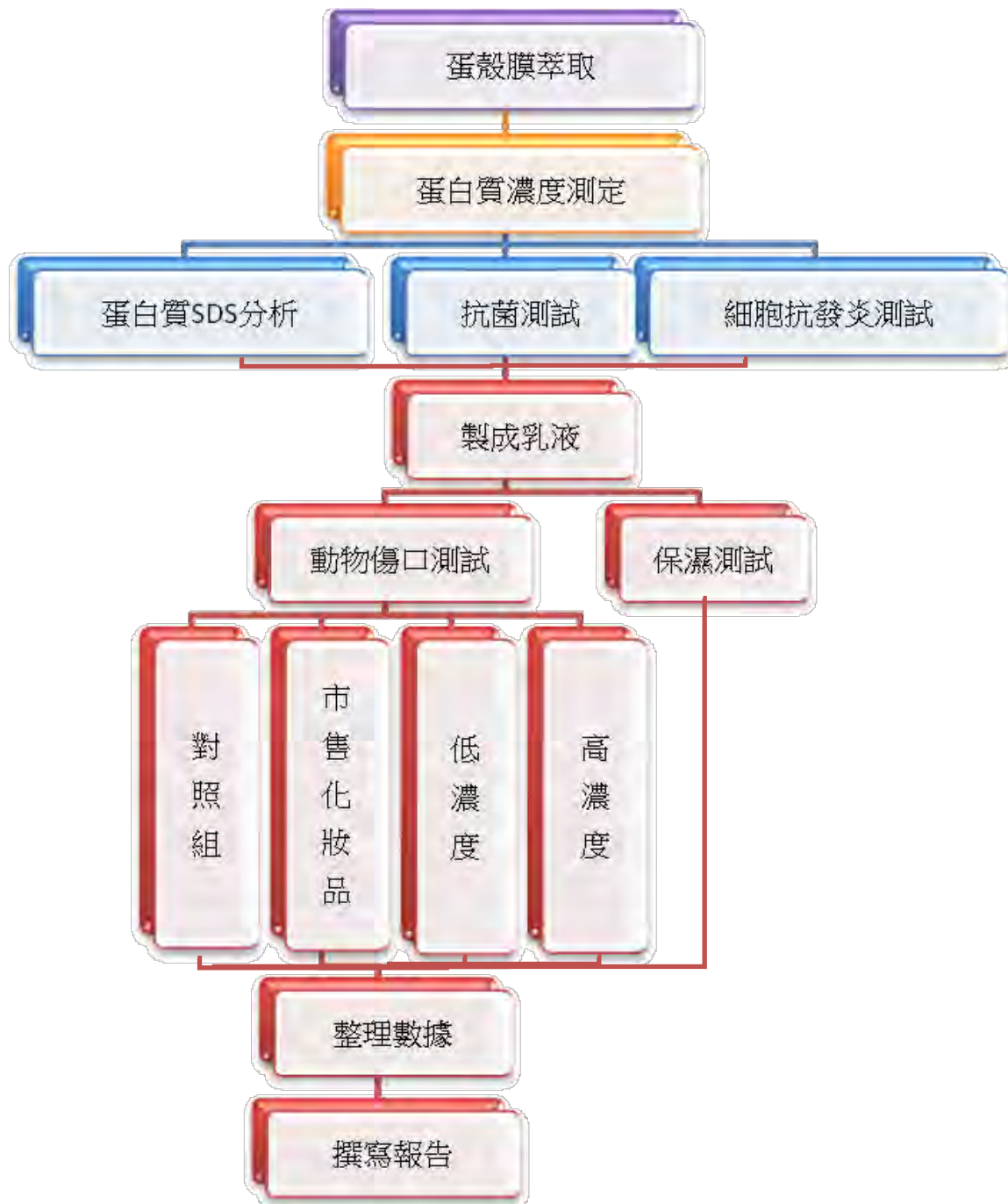
(三) 當長出痘痘後，白血球對抗細菌時，便會引起發炎反應。作為抗痘產品，消炎功效自然是必須的，因此我們便設計了下列兩種實驗：

1. 利用巨噬細胞檢測消炎效果→最直接且避免複雜免疫反應與個體差異的方法。
2. 製成乳液後，進行動物傷口測試→進一步觀察傷口恢復情形及探討在不同個體的穩定性。

(四) 我們的目的是為了開發具消炎效果的「乳液」，其名為「乳液」，保濕效果也是不可或缺的，所以我們探討了蛋殼膜萃取出物對人體皮膚的保濕效果。

(五) 目標：開發生物性兼具環保性質之消炎抗菌產品。

四、研究流程：



參、 研究設備及器材

一、 萃取蛋殼膜之實驗器材



圖二 藥品減壓濃縮系統
(註一)



圖三 均質機
(註二)



圖四 冷凍乾燥機
(註三)

註一：

減壓濃縮亦稱作解壓濃縮。其原理在真空狀態下，讓水或有機溶劑的沸點降低，並利用有機溶劑易揮發的特性，藉此進行濃縮。解壓濃縮能在低壓下讓溶劑快速蒸發，防止溶液中部分化合物因高溫而產生變性，所以較適用於低沸點的溶液。(如圖二)

註二：

均質機原理係在高速運轉下，將液體原料強制吸入均質刀內部，在細密的空間間隙裡剪切、分散，並產生高壓噴出狀態，從側面噴出使產品快速達到微粒化的效果，獨特的無碳刷馬達結構設計，運轉中不會有碳粉及火花產生，低噪音、防干擾、無污染，適合無塵、無菌室使用。一機多用途的刀頭結構設計，可依處理量的多寡作選擇。(如圖三)

註三：

冷凍乾燥機在真空環境下，能利用液體(水)在固態(冰)時能直接昇華成氣態(水蒸氣)的特性，將多餘的水分去除。在高沸點的溶液中，雖也可利用加熱將多餘的溶液去除，但高溫可能會使萃取物中的有效成分變性，因此使用冷凍乾燥機的方法對於高沸點的溶液較為適合。(如圖四)

二、蛋白質濃度分析之實驗器材



圖五 全光譜分光光度計

- (一) Protein Assay Dye
- (二) BSA(牛血清白蛋白)標準液
- (三) 滅菌蒸餾水
- (四) 蛋殼膜萃取物(1.2mg/ml)
- (五) 96 孔盤
- (六) 全光譜分光光度計

三、SDS 分析之實驗器材



圖六 SDS 分析之實驗器材

- (一) 蛋白質電泳設備(如A)
- (二) 微量吸管(pipette)與微量滴管尖(如B)
- (三) 蛋白質製膠試劑(如C)
- (四) 試驗樣本(如D)

四、抗菌測試之實驗器材

- (一) 蛋殼膜萃取物
- (二) 大腸桿菌
- (三) 金黃色葡萄球菌
- (四) 市售抗痘產品
- (五) 固態培養基(Nutrient broth, NB 及 Trypticase soy agar, TSA)

五、細胞抗發炎測試之實驗器材

- (一) RAW264.7 小鼠巨噬細胞株
[CCRC60001, 源自於 ATCC (American Type Culture Collection); 編號為 TIB-71], 購自於新竹食品工業發展研究所之細胞庫。
- (二) 10%胎牛血清之 DMEM 培養基
- (三) 蛋殼膜萃取物
- (四) LPS(Lipopolysaccharide) 是一種內毒素
- (五) 培養箱
- (六) 24 孔盤
- (七) Nitrite 分析試劑套組
- (八) 全光譜分光光度計

六、傷口測試實驗設備及材料

- (一) 高溫滅菌釜
- (二) 解剖器材
- (三) 蒸餾水
- (四) 市售化妝品
- (五) 蛋殼膜萃取液
- (六) 甲基纖維素
- (七) 丙二醇(PG) (註四)
- (八) 聚乙二醇(PEG) (註四)
- (九) Tween-20 (註四)
- (十) 麻醉藥
- (十一) 除毛機
- (十二) 除毛膏
- (十三) 愛爾能吸入劑(AErrane) (註五)

註四：

丙二醇、聚乙二醇、Tween-20 皆作為乳化劑使用。

註五：

艾爾能吸入劑為氣麻用，屬於吸入麻醉劑。

七、保濕測試之實驗器材與材料

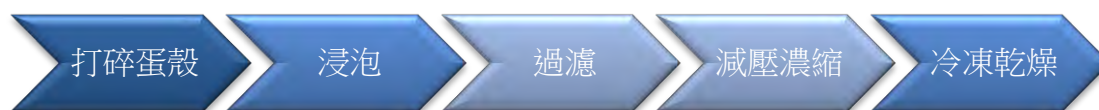


- (一) 對照組藥物
- (二) 市售化妝品
- (三) 蛋殼膜萃取液
- (四) 水分測量美容儀

圖七 水分測量美容儀

肆、 研究方法

一、 蛋殼膜萃取



- (一) 將所收集到的蛋殼洗淨後陰乾，用果汁機將蛋殼打碎後，加入 70%的酒精浸泡，並以均質機將蛋殼攪碎成均勻粉末。
- (二) 將蛋殼與溶液浸泡一天後，過濾將蛋殼分離，再使用減壓濃縮機將濾液中的酒精去除。
- (三) 再置於-80℃的冷凍庫內等待完全冰凍，並將凝固的萃取物放入冷凍乾燥機中將水除去。

二、 蛋殼膜萃取物之蛋白質濃度分析^[8]

- (一) 備製 Protein Assay Dye。
- (二) 依照配方將 BSA 和 Protein Assay Dye 配好加入 well 中混勻。

表一 BSA 和 Protein Assay Dye 配方

Flnol BSA standard conc. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		3	6	9	12	15	30
Protein Assay Dye		40 μl	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl
BSA standard solution	BSA ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	6 μl	12 μl	18 μl	24 μl	30 μl	60 μl
	D.D water	154 μl	148 μl	142 μl	136 μl	130 μl	100 μl

- (三) 將蛋膜萃取液稀釋成 50、100、200、400 倍，並分別取 protein assay dye 加入餘下 4 個 well 中並混勻。
- (四) 以全光譜分光光度計測量其 595 nm 波長之吸光值。
- (五) 依據標準曲線圖估計樣品之蛋白質濃度($\mu\text{g}/\text{ml}$)。

三、 蛋殼膜萃取物之 SDS 分析



- (一) 戴上實驗用乳膠手套，將電泳分析用的玻璃片經70%酒精擦拭後晾乾組裝。
- (二) 膠體配製：先配製分離蛋白質之電泳膠(下層膠)，待其凝固後再配置樣品層之電泳膠(上層膠)，其配製劑量如下表所示：

表二 SDS膠體配方

試劑	15%下層膠	5%上層膠
二次蒸餾水(ddH ₂ O)	2300 μ l	3400 μ l
30% Acrylamide mix	5000 μ l	830 μ l
1.5M Tris buffer(pH=8.8)	2500 μ l	-
0.5M Tris buffer(pH=6.8)	-	630 μ l
10% SDS	100 μ l	50 μ l
10% APS	100 μ l	50 μ l
TEMED	4 μ l	5 μ l

(三) 將膠片裝置置於裝有電泳反應溶液中，再將樣品注入電泳膠體中，以120伏特電壓進行蛋白質電泳，費時2小時。

(四) 將膠片取出，去除上層膠後將之浸染在Comassie Brilliant Blue染劑中緩慢搖晃作用20分鐘，再利用退染劑將膠片退染3小時後，呈相拍照。

四、蛋殼膜萃取物之抗菌能力分析^[7]

(一) 抗菌 MIC 試驗

1. 使用乙醇將蛋膜萃取物回溶為 5 mg/ml，再分別配成不同標準濃度(0 mg/ml、2.5 mg/ml、5 mg/ml)
2. 將所試驗的病原菌(大腸桿菌(*Escherichia, E.coli*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus, S.a*) 接種於 NB 和 TSA 培養於 37°C 生長箱中，隔夜後取 135 μ l 於 96 well 進行最小抑菌濃度試驗。
3. 再取不同濃度蛋膜萃取物 10 μ l 加入 96well 中，進行 MIC 試驗。
4. 操作 MIC 試驗也同時執行標準菌株(*E.coli* 與 *S.a* 之 MIC)來比對蛋膜萃取物的準確性範圍。

(二) 抑菌環試驗(agar disc diffusion method)

1. 將所試驗的病原菌(大腸桿菌(*E.coli*)、金黃色葡萄球菌(*S.a*) 接種於 NB 和 TSA broth 培養於 37°C 生長箱中，隔夜後取 100 μ l 培養於固態培養基。
2. 將培養基分成四等分，並分別滴上 10 μ l 的 10 mg/ml 的蛋殼萃取物、水、乙醇及市售化妝品的滅菌濾紙分散貼於 NB 和 TSA 培養基。
3. 12 小時後測量周圍透明抑菌環的直徑。

五、細胞發炎測試

(一) 巨噬細胞 (RAW264.7) 培養

RAW 264.7 小鼠巨噬細胞株 [CCRC60001，源自於 ATCC (American Type Culture Collection); 編號為 TIB-71]，購自於新竹食品工業發展研究所之細胞庫。

1. 將 RAW264.7 細胞培養於含 10%胎牛血清之 DMEM (Dulbecco's minimal essential medium) 培養基 (Hyclone, USA), 於 37°C, 5%二氧化碳之培養箱內培養。
2. 待細胞長滿後以 2×10^4 cells/ml 之細胞密度接種至 24 孔盤培養。
3. 隔夜待細胞貼附好後移除培養基, 添加不同濃度的蛋殼膜萃取物及 LPS 進行 Nitrite 生成量測定。

(二) Nitrite 生成量測定

Nitric oxide (NO) 的半衰期極短, 而 nitrite (NO_2^-) 為 NO 穩定的氧化代謝產物。當 RAW264.7 細胞經 LPS 誘發生成 NO 後, NO 會很快氧化成 nitrite, 因此透過測量 nitrite 的累積量, 可以間接測定 NO 的生成量。

1. 本實驗採用市售 Nitrite 分析試劑套組 (Amresco, Inc., USA) 進行分析。
2. 取處理蛋殼膜萃取物樣品之上清培養基加入等量之 Griess reagent, 避光反應 20 分鐘, 產生紫紅色產物。
3. 以 ELISA reader 讀取 550 nm 之吸光值, 並與未添加 LPS 的標準曲線比較。
4. 扣除 Nitrite 的背景值, 即可換算出其在培養液中的濃度, 進而間接代表 NO 之生成量。

六、動物傷口測試——蛋殼膜萃取物與市售化妝品消炎功效之比較



(一) 麻醉

每組準備 5 隻 ICR 小鼠, 先用 70%酒精消毒腹部, 將麻醉針(50 μ l/隻)注射於消毒過之部位, 再等待約五至十分鐘使老鼠失去知覺。

(二) 傷口測試

1. 以電動剃刀將背部欲剪傷口附近的毛刮除, 再將剃毛處塗上除毛膏, 以除去更細的雜毛, 避免傷口感染。
2. 等待 5 分鐘後用溫水洗去除毛膏。
3. 將裸露的皮膚以簽字筆畫上 1cm^2 的方格, 並在周圍塗上碘酒消毒。
4. 依照記號剪出 1cm^2 的傷口後, 在傷口上分別塗上 100 μ l 的對照組(水)、市售消炎化妝品、高濃度以及低濃度之蛋殼膜萃取物藥物, 等待約 3 分鐘確認藥物滲入皮膚即可。
5. 拍照紀錄傷口(近焦模式, 放大 3.8 倍, 閃光)。
6. 用檯燈照射未恢復知覺的小鼠以避免失溫, 並每天定時敷藥與觀察。
7. 四天後以電腦程式(Image-Pro Plus)計算傷口面積。
8. 傷口恢復率% = $\frac{\text{實驗前傷口面積} - \text{實驗後傷口面積}}{\text{實驗前傷口面積}} \times 100\%$

表三 藥品配方

對照組 (代號：O)	市售消炎化妝品	低濃度 (代號：A)	高濃度 (代號：B)
1. Tween20 2. PG 3. PEG 4. 蒸餾水 5. 甲基纖維素	1. Glycerin 2. Mangifera indica 3. Polyethylene 4. Hydrolyzed Soy Flour 5. Tocopheryl Acetate 6. Algin 7. Triticum vulgare Protein 8. Faex 9. Calcium pantetheine sulfonate 10. Malva sylvestris 11. Sodium Hyaluronate 12. Hydrolyzed soy protein 13. Aframomum angustifolium 14. Ruscus aculeatus 15. Oenothera Biennis 16. Acetyl Tetrapeptide-5 17. Palmitoyl Pentapeptide-3 18. 其他	1. Tween20 2. PG 3. PEG 4. 蒸餾水 5. 甲基纖維素 6. 蛋殼膜萃取物 1.2 mg/ml	1. Tween20 2. PG 3. PEG 4. 蒸餾水 5. 甲基纖維素 6. 蛋殼膜萃取物 2.4 mg/ml
以均質機攪拌均勻			

七、蛋殼膜萃取物與市售化妝品保濕效果之比較



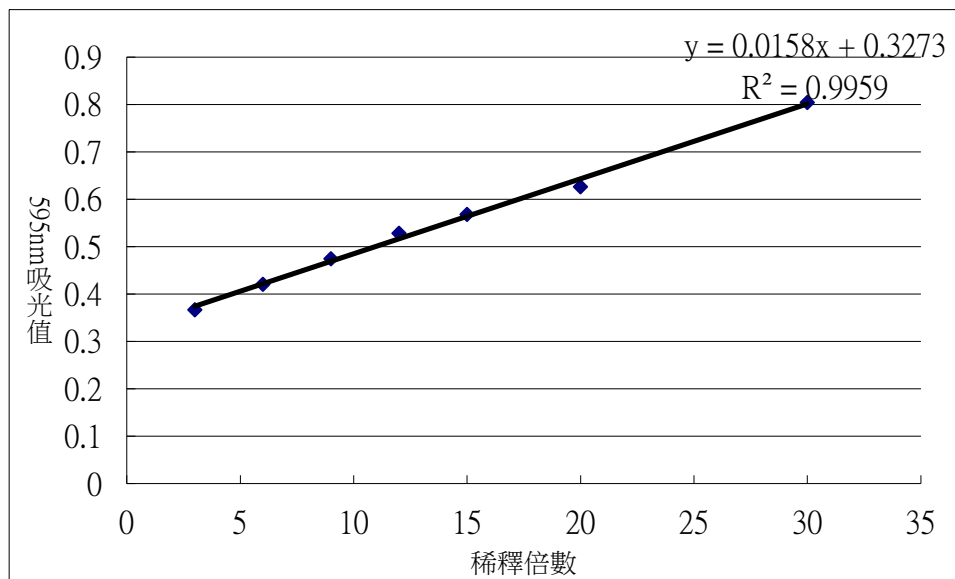
1. 將欲測試部位之皮膚以清水洗淨後擦乾，避免油脂及其他物質干擾，並利用水份測量美容儀測量未塗抹之皮膚含水量。
2. 分別將 100 μ l 的對照組(水)、市售化妝品及低濃度蛋殼膜萃取物(1.2 mg/ml)塗抹於 15 cm² 的手背上。
3. 30 分鐘後測量皮膚濕度，並計算各組的保濕效果。
4. 保濕率% = $\frac{\text{實驗後含水量} - \text{實驗前含水量}}{\text{實驗前含水量}} \times 100\%$

伍、 研究結果

一、 蛋殼膜萃取物之蛋白質濃度分析

表四 蛋白質濃度分析結果

溶液種類	稀釋倍數	595nm
BSA 標準液	3	0.3672
	6	0.421
	9	0.4748
	12	0.5286
	15	0.5684
	20	0.6267
	30	0.8045
蛋殼膜萃取液	100x	0.9364
	200x	0.8082
	400x	0.646



圖八 BSA 標準液 OD 值

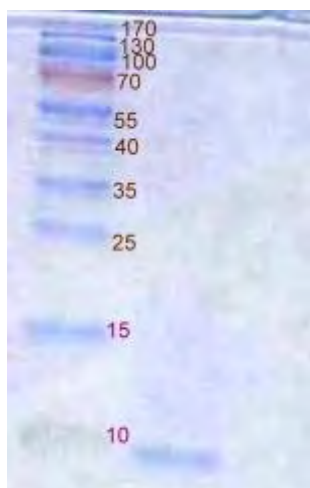
由數據可知，稀釋 400x 的蛋膜萃取液的 OD 值落於標準液的曲線之間，因此選擇 400x 來計算其蛋白質濃度。

→經計算後得蛋白質濃度為 $134.98\mu\text{g}/\text{ml}$

→共萃取 10 管，故總蛋白質含量為 $1349.85\mu\text{g}$

→用 2000g 蛋膜萃取，因此 1g 蛋殼膜約可萃取 $0.675\mu\text{g}$ 的蛋白質。

二、蛋殼膜萃取物之蛋白質 SDS 分析



圖片中左側為標準液。

右邊為 50 mg/ml 蛋殼膜萃取物的分子量分析。

由實驗可知，蛋殼膜萃取物的分子量大約 10 KDa。

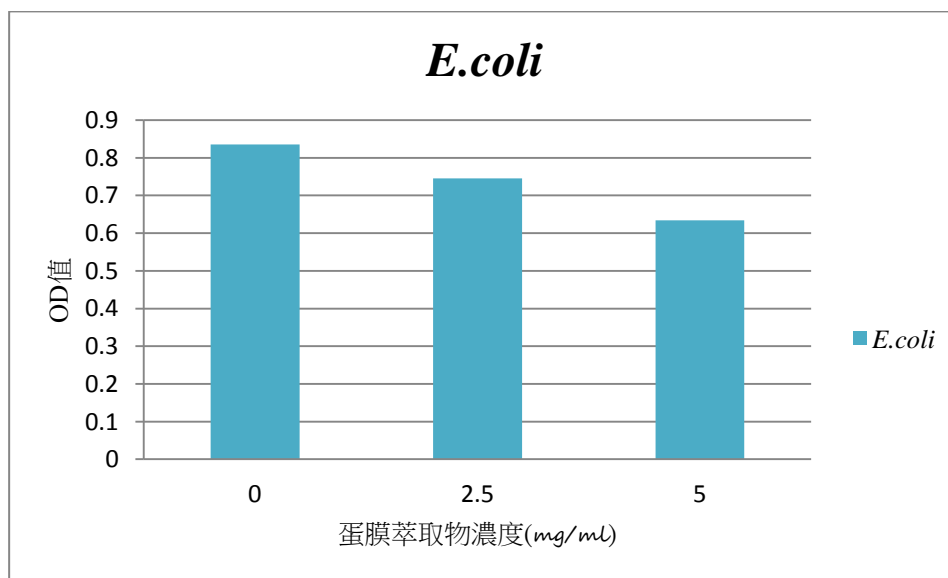
圖八 SDS 分析圖

三、蛋殼膜萃取物之抗菌能力測試

(一) 抗菌 MIC 試驗

表五 大腸桿菌之 OD 值

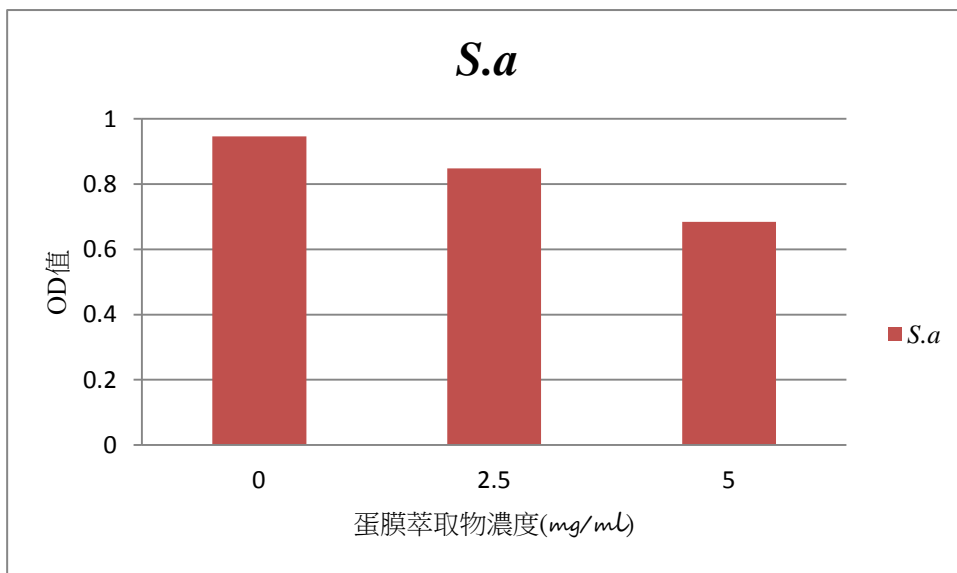
菌種	蛋殼膜萃取物濃度(mg/ml)	OD 值
<i>Escherichia</i>	0	0.8356
	2.5	0.7455
	5	0.6343



圖九 大腸桿菌之 OD 值

表六 金黃色葡萄球菌之 OD 值

菌種	蛋殼膜萃取物濃度(mg/ml)	OD 值
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0.9459
	2.5	0.8479
	5	0.6838

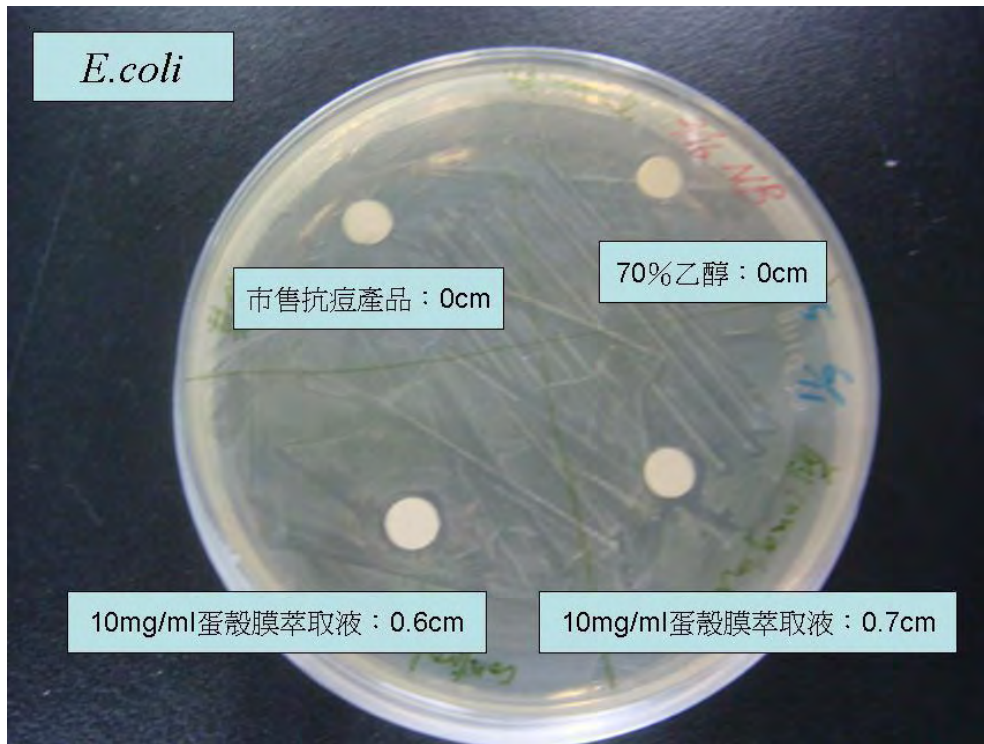


圖十 金黃色葡萄球菌之 OD 值

(二) 抑菌環試驗

表七 大腸桿菌之抑菌環直徑

菌種	大腸桿菌(<i>E.coli</i>)		
樣本	70%乙醇	市售抗痘產品	蛋殼膜萃取物 10mg/ml
抑菌環直徑(mm)	0	0	6.5

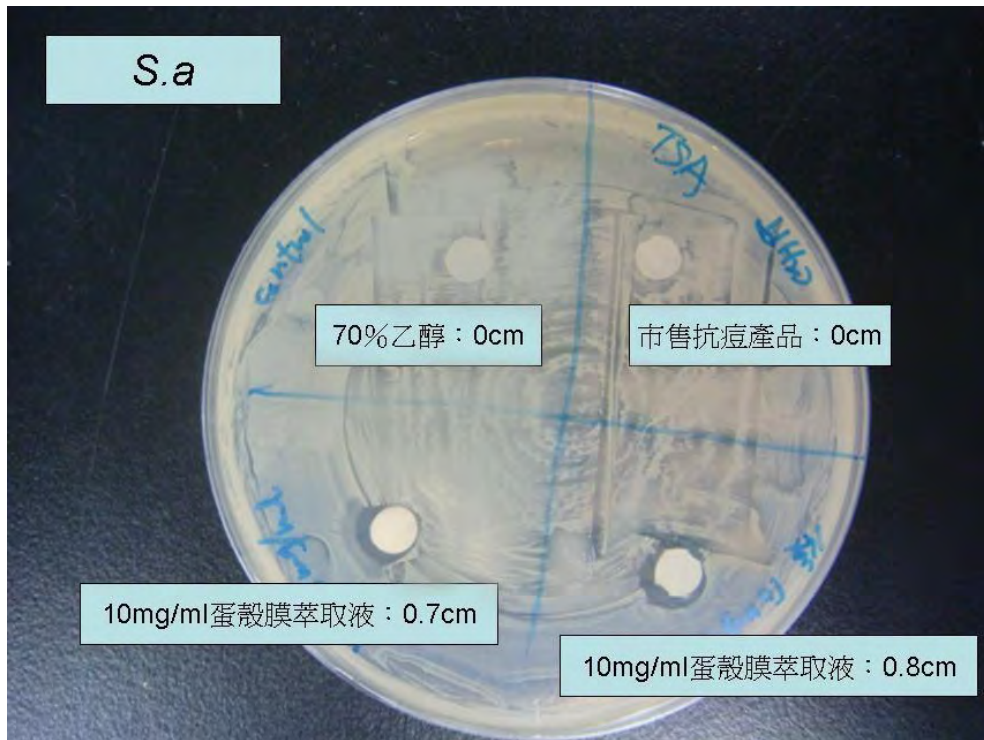


圖十一 大腸桿菌之抑菌環

實驗後發現，作為蛋殼膜萃取物溶劑的乙醇及市售標榜抗痘產品對於大腸桿菌無抑制功效，而蛋殼膜萃取物則具有抑菌效果。

表八 金黃色葡萄球菌之抑菌環直徑

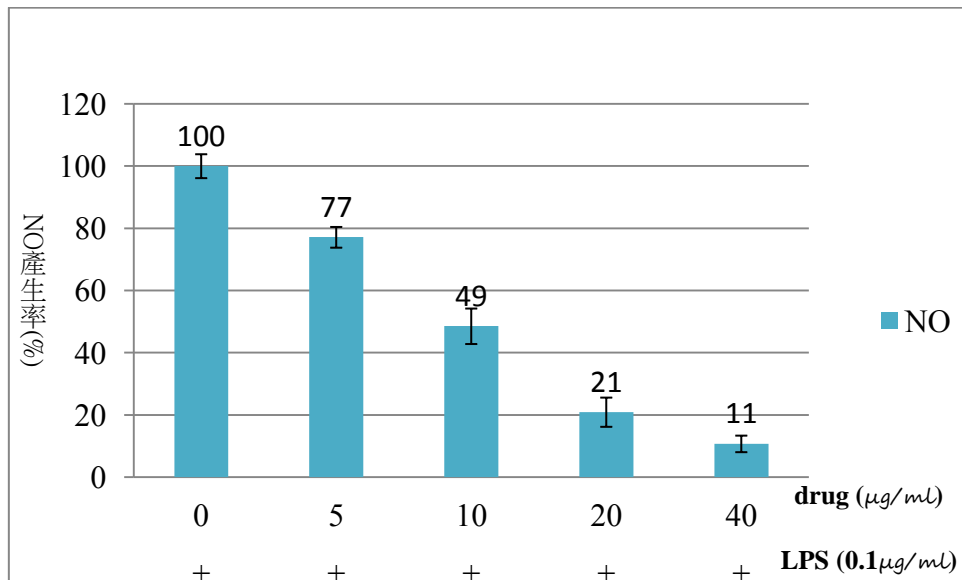
菌種	金黃色葡萄球菌		
樣本	70%乙醇	市售抗痘產品	蛋殼膜萃取物 10mg/ml
抑菌環直徑(mm)	0	0	7.5



圖十二 金黃色葡萄球菌之抑菌環

實驗後發現，作為蛋殼膜萃取物溶劑的乙醇及市售標榜抗痘產品對於金黃色葡萄球菌無抑制功效，而蛋殼膜萃取物則具有不錯的抑菌效果。

四、蛋殼膜萃取物之細胞抗發炎能力測試



圖十三 蛋殼膜對 RAW264.7 NO 產生率之影響

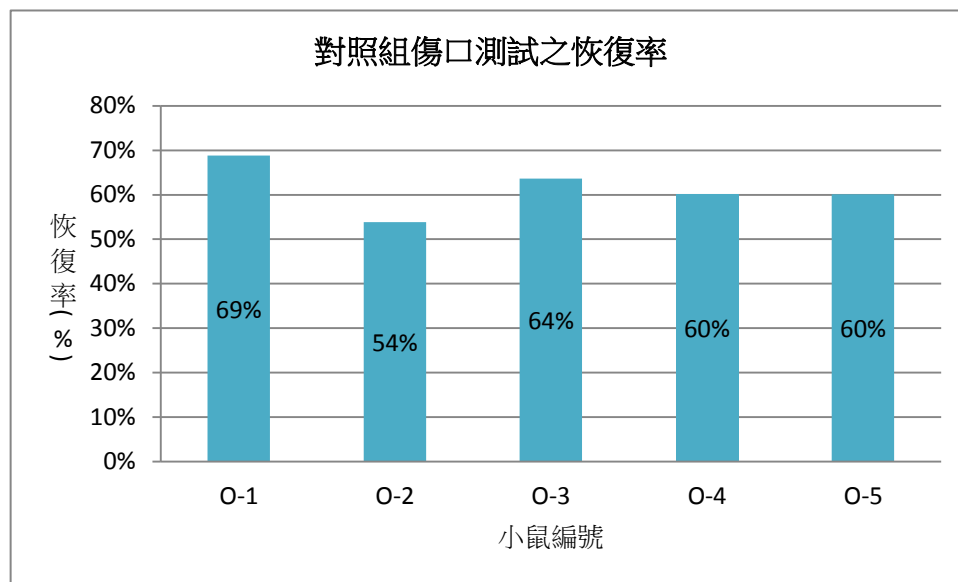
經過實驗之後，我們發現加入蛋殼膜萃取物濃度為 40(µg/ml)時即可將 NO 生成率降低至與未添加 LPS 組相近。

五、不同濃度之蛋殼膜萃取物消炎功效比較

(一) 對照組(O)

表九 對照組傷口測試之恢復率

樣本	day0 面積(cm ²)	day4 面積(cm ²)	差(cm ²)	恢復率(%)	平均恢復率(%)
O-1	1.787939	0.558024	1.229915	69%	61%
O-2	1.602857	0.739734	0.863123	54%	
O-3	1.824043	0.662964	1.161079	64%	
O-4	1.027177	0.410434	0.616743	60%	
O-5	1.020432	0.407062	0.61337	60%	
標準差	0.400235	0.148808	0.291851	0.054807	

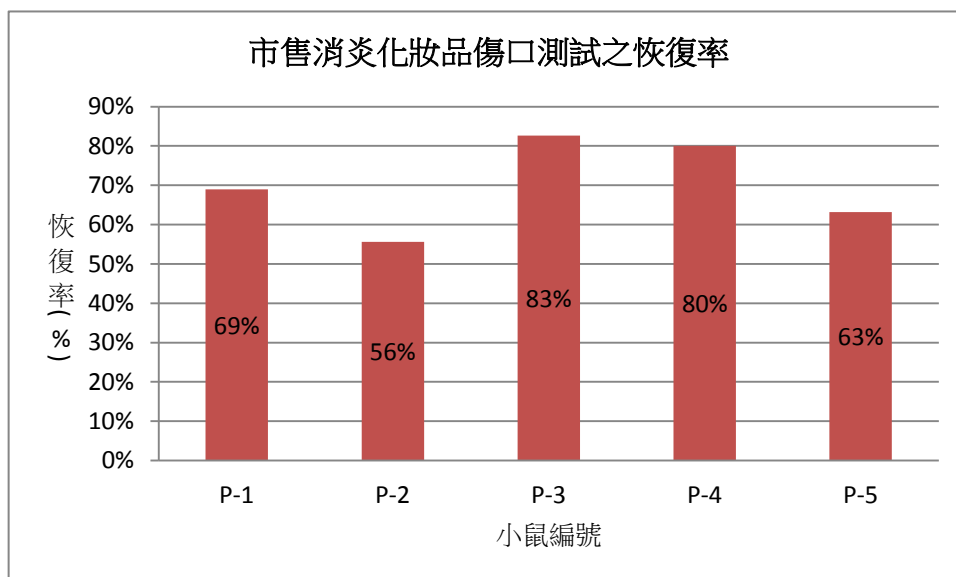


圖十四 對照組傷口測試之恢復率

(二) 市售消炎化妝品(P)

表十 市售化妝品傷口測試之恢復率

樣本	day0 面積(cm ²)	day4 面積(cm ²)	差(cm ²)	恢復率(%)	平均恢復率(%)
P-1	0.718707	0.22317	0.495537	69%	70%
P-2	1.243206	0.552271	0.690935	56%	
P-3	1.217417	0.211069	1.006348	83%	
P-4	0.774846	0.154731	0.620115	80%	
P-5	0.992281	0.365007	0.627274	63%	
標準差	0.242758	0.160292	0.191502	0.113587	

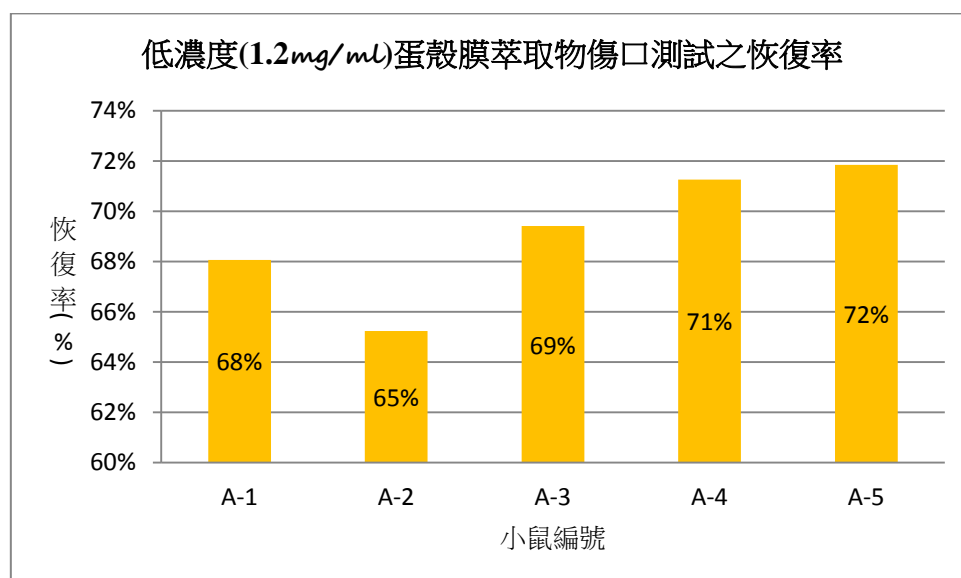


圖十五 市售化妝品傷口測試之恢復率

(三) 低濃度(A, 1.2 mg/ml)

表十一 低濃度(1.2mg)蛋殼膜萃取物傷口測試之恢復率

樣本	day0 面積(cm ²)	day4 面積(cm ²)	差(cm ²)	恢復率(%)	平均恢復率(%)
A-1	1.069827	0.341599	0.728228	68%	69%
A-2	1.155326	0.401706	0.75362	65%	
A-3	1.379488	0.42194	0.957548	69%	
A-4	1.377901	0.395953	0.981948	71%	
A-5	1.219203	0.343186	0.876017	72%	
標準差	0.136962	0.036437	0.115458	0.026631	

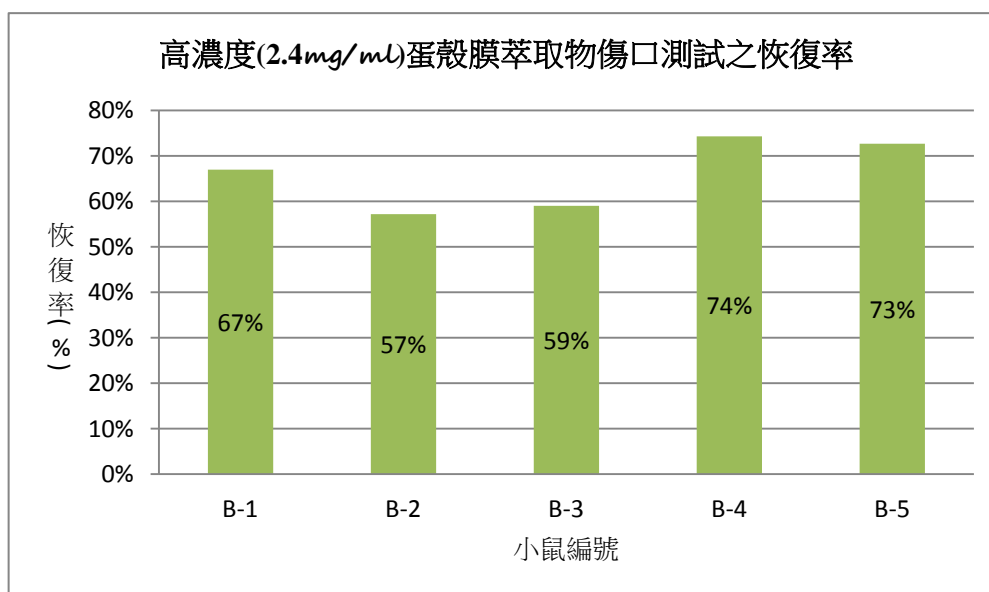


圖十六 低濃度(1.2mg)蛋殼膜萃取物傷口測試之恢復率

(四) 高濃度(B, 2.4 mg/ml)

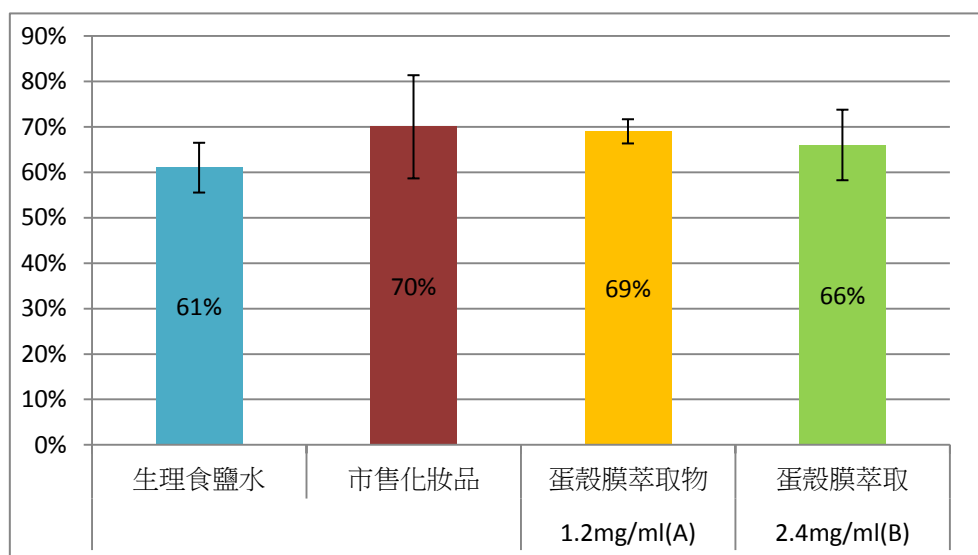
表十二 高濃度(2.4mg)蛋殼膜萃取物傷口測試之恢復率

樣本	Day0 面積(cm ²)	day4 面積(cm ²)	差(cm ²)	恢復率(%)	平均恢復率(%)
B-1	1.361635	0.449514	0.912121	67%	66%
B-2	1.098393	0.470542	0.627851	57%	
B-3	0.879587	0.360444	0.519143	59%	
B-4	1.458441	0.374529	1.083912	74%	
B-5	0.944362	0.258252	0.68611	73%	
標準差	0.253962	0.084008	0.228487	0.077668	



圖十七 高濃度(2.4mg)蛋殼膜萃取物傷口測試之恢復率

(五) 綜合比較

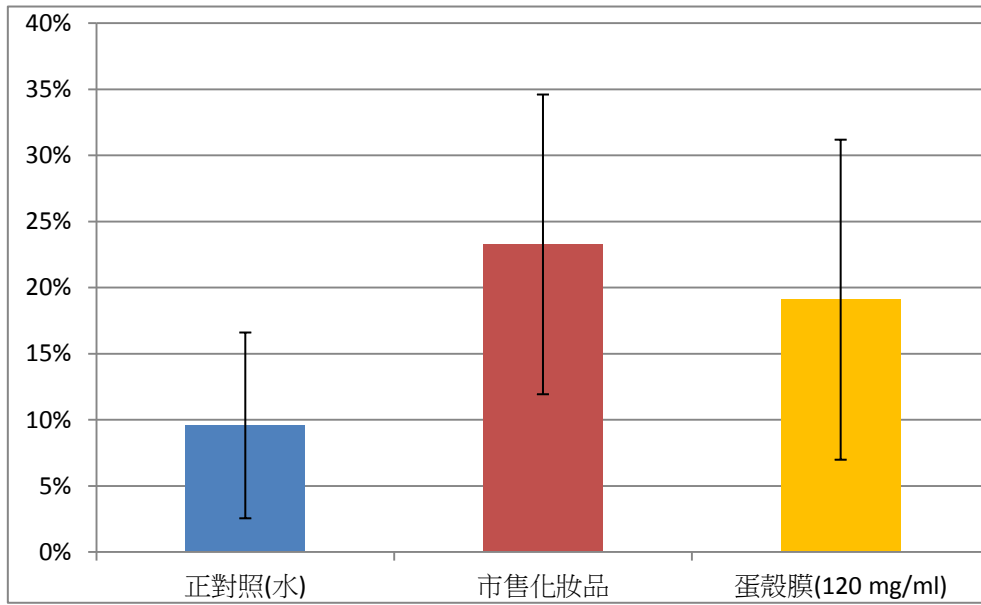


圖十八 不同敷料對於小鼠傷口測試之恢復率

六、 蛋殼膜萃取物與市售化妝品之保濕率比較

表十三 蛋殼膜萃取物與市售化妝品之保濕率比較

時間	塗料種類	樣本一	樣本二	樣本三	樣本四	樣本五	樣本六
0 hr 前	正對照(水)	29.8	31.3	34.2	32.8	32.8	32.3
	市售化妝品	27.7	31	32.1	26.4	32.8	30.7
	蛋殼膜萃取 (1.2 mg/ml)	27.7	30.5	32.9	32.4	32.7	28.8
0.5 hr	正對照(水)	37	32.9	37.8	35.6	35.1	33
	市售化妝品	38.1	32.3	38.3	33.5	42.6	37.4
	蛋殼膜萃取 (1.2 mg/ml)	38.8	34.7	37.3	33.8	39.5	35.2
差	正對照(水)	7.2	1.6	3.6	2.8	2.3	0.7
	市售化妝品	10.4	1.3	6.2	7.1	9.8	6.7
	蛋殼膜萃取 (1.2 mg/ml)	11.1	4.2	4.4	1.4	6.8	6.4
保 濕 率	正對照(水)	0.241611	0.051118	0.105263	0.085366	0.070122	0.021672
	市售化妝品	0.375451	0.041935	0.193146	0.268939	0.29878	0.218241
	蛋殼膜萃取 (1.2 mg/ml)	0.400722	0.137705	0.133739	0.04321	0.207951	0.222222
平 均 保 濕 率	正對照(水)	10%					
	市售化妝品	23%					
	蛋殼膜萃取 (1.2mg/ml)	19%					
標 準 差	正對照(水)	7%					
	市售化妝品	11%					
	蛋殼膜萃取 (1.2mg/ml)	12%					



圖十九 不同塗料之人體皮膚保濕率比較

陸、 討 論

一、 重質不重量！

在蛋殼膜萃取物之蛋白質濃度分析實驗中，我們計算出平均 1g 的蛋殼，可萃取出 1.2mg 的蛋殼膜，也得知其中含有 0.675 μ g 的蛋白質。雖然 1g 的蛋殼只萃取出少量的蛋殼膜，但仍然可達到顯著的功效，相當具有發展潛能。

二、 質輕志氣高！

繼蛋白質濃度分析實驗後，我們進一步地分析蛋白質分子量，實驗結果顯示蛋殼膜萃取物之蛋白質平均分子量約為 10 KDa，可知蛋殼膜萃取液中的蛋白質分子量普遍較小。

三、 抗菌小尖兵

在蛋殼膜萃取物之抗菌能力結果中，得知蛋殼膜萃取物對金黃色葡萄球菌及大腸桿菌均具有抑菌效果。在抗菌 MIC 試驗中，分別加入 0 mg/ml、2.5 mg/ml、5 mg/ml 蛋殼膜萃取物後，菌株數量皆降低。而在抑菌環試驗中，分別滴上 10 μ l 的 10 mg/ml 的蛋殼萃取物、水、70%乙醇及市售抗痘化妝品後，發現蛋殼膜萃取物仍對於金黃色葡萄球菌及大腸桿菌有抑菌效果，但市面上標榜抗痘的化妝品及作為蛋殼膜萃取物溶劑的 70%乙醇卻無抑菌效果。而金黃色葡萄球菌是引起傷口發炎的主要菌種，因此我們更確實了蛋殼膜在抗菌方面的功效。

四、 細胞我罩你！

由細胞抗發炎能力測試之結果顯示，蛋殼膜萃取液與 RAW264.7 NO 產生率成負相關，當加入蛋殼膜萃取物濃度為 40 μ g/ml 時即可將 NO 生成率降低至與未添加 LPS 組相近，這表示蛋殼膜萃取液能有效降低 nitrite 的產生量，幫助巨噬細胞進行細胞消炎反應。

五、 消炎我在行！

由蛋殼膜萃取物消炎功效之動物實驗結果得知，低濃度組(1.2 mg)、高濃度組(2.4 mg)與市售化妝品組之平均傷口恢復率皆高於對照組，且其中又以低濃度組(1.2 mg)之平均傷口恢復率略優於高濃度組(2.4 mg)，可知不同濃度蛋殼膜對於抗消炎的能力差異不大，而蛋殼膜萃取物與市售化妝品之消炎效果於伯仲之間，可見蛋殼膜對傷口有良好的恢復能力。

六、 膜力保濕佳

由蛋殼膜萃取物與市售化妝品之保濕率比較結果得知，市售化妝品及蛋殼膜萃取物之保濕效果皆優於正對照(水)，顯示市售化妝品及蛋殼膜萃取物均有益於皮膚保濕。雖然結果顯示市售化妝品之保濕率高於蛋殼膜萃取物，但由於市售化妝品為複合型成份化妝品，其中添加許多具有保濕效果之成份，而純蛋殼膜萃取液的保濕率卻能與之相近，

這表示蛋殼膜萃取物於保濕方面也極具開發潛能。

柒、 結 論

不經意丟棄的蛋殼，事實上有著意想不到的功用，薄薄的蛋殼膜中似乎藏著無窮無盡的奧妙，不但內含許多開發藥品或保養品的潛能；從環保的角度觀之，更具有維護環境的功效，茲節錄其重要結果如下：

- 一、 蛋殼膜萃取物經計算得 1g 蛋殼膜中約有 0.675 μ g 的蛋白質。
- 二、 利用蛋白質電泳分析可得知蛋殼膜分子量約為 10KDa。
- 三、 蛋殼膜萃取物對於金黃色葡萄球菌與大腸桿菌均有不錯的抗菌能力。
- 四、 經巨噬細胞的消炎反應測試可發現當蛋殼膜濃度為 40 μ g/ml 時，NO 產生率與未加入 LPS 時相當。
- 五、 藉由小鼠的傷口試驗可知少量的蛋殼膜萃取物對於發炎即有良好的減緩能力。
- 六、 蛋殼膜萃取液在保濕上也具有不錯的保濕能力，對此方面亦具開發潛能。

誌 謝

感謝林教授及其研究室的學長姐們親切地給予指導與協助，並提供實驗室與器材，使本研究更加順利且完善地完成。特別感謝研究生梁學姊，於實驗期間細心地帶領我們完成實驗流程，並耐心地從旁引導我們。在此，我們致上誠摯的謝意。

捌、 參考文獻

1. 林易叡、賴柏丞、林韋辰(2011) 膜力奇蹟—以蛋殼膜粉吸附重金屬離子與色素之研究。中華民國第五十一屆中小學科學展覽會 化學科。
2. 文紀茹(2005) 蛋殼膜膠原蛋白之萃取及其水解液機能性之研究。台灣大學畜產研究所碩士論文。
3. 何若瑄、文紀茹、蘇和平(2007) 蛋殼膜水溶性膠原蛋白之萃取及其水解物機能性之研究。中畜會誌 36(3):193-206。
4. 汪世崇(2008) 鴨蛋殼中抗氧化與抗腫瘤物質之萃取與分析。國立宜蘭大學動物科技學系碩士論文。
5. 黃振芳、林佳靜(1997) 1997 國際雞蛋研討會簡介。中國畜牧雜誌 48-51 頁。
6. 楊竹茂、張藍文、藍毓鈞(2003)。蛋殼膜粉與其他吸附劑對巴拉刈吸附移除之體外研究。嘉南學報，29，77-86。
7. 李青蓀、莊銀清(2004)。動物與細胞研究模式在抗生素抗發炎相關研究之應用。感染控制雜誌。14(6)：383-389。
8. 蛋白質定量分析原理 <http://brc.se.fju.edu.tw/protein/analysis/amount.htm>
9. 蛋黃、蛋白、蛋殼及蛋殼膜萃取物及綜合利用 <http://www.91abc.com/sy/Html/?4242.html>

【評語】 040802

著眼於本土蛋殼廢棄物的資源化，開發集抗菌、消炎、保濕等效能的機能性保養品。研究方法嚴謹，分工合作合宜，成果豐碩，具實用價值。