

文章编号: 1673-3851 (2012) 02-0277-06

# 鳖甲的显微结构与成分分析

周后恩<sup>a</sup>, 王家俊<sup>a,b</sup>, 刘亚平<sup>a</sup>, 沈 洁<sup>b</sup>

(浙江理工大学, a. 材料与纺织学院, b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018)

**摘 要:** 为了设计开发出高强轻量型仿生复合材料,对鳖甲的微结构和化学成分进行观察和分析,发现鳖甲是一种坚硬又富有韧性的多尺度层状超混杂复合材料。外密质层外层中 4 小层按不同方向定向排列的细小棒状羟基磷灰石晶体和 4 小层片层状羟基磷灰石晶体相互交替存在。中间松质层为封闭的孔隙结构,孔隙周围缠绕着胶原纤维。内密质层含平行肋骨长轴方向定向排列的丝状胶原纤维。测试了鳖甲的弯曲性能,发现其不含横凹缝时的弯曲性能较好。

**关键词:** 仿生复合材料; 鳖甲; 微结构; 结构特征

**中图分类号:** TB303 **文献标识码:** A

## 0 引 言

复合材料学的发展与结构仿生的研究关系密切,自然界的生物材料大都具有微观复合、宏观完美的结构<sup>[1]</sup>。近年来,对蟹或龙虾外壳、软体动物外壳、节肢动物外骨骼、鹿角、牙齿和鸟喙微观结构和材料性能的研究被广泛报道<sup>[2]</sup>。其中,龟类经过 2 亿多年长时间的进化<sup>[3]</sup>,其背甲结构的优化程度较高。同时,背甲暴露在身体上表面,起着保护和支持内部躯体的作用,必须具有足够的强度和冲击韧性。相对硬壳龟而言,软壳龟(鳖类)背甲在保证高强度的同时韧性更大。这意味着鳖甲生物复合材料是最重要的自然结构复合材料之一。

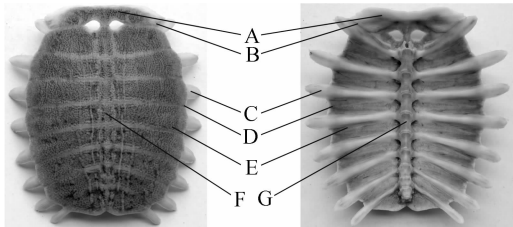
目前对鳖甲的研究集中在其化学成分和药理药效等方面,特别是在抗衰老,促进免疫功能,抗肿瘤方面<sup>[4]</sup>。现有对鳖甲结构的研究也是集中在将其宏观结构应用于工程结构方面,而对其微观结构的研究则很少,主要是发现含胶原纤维和羟基磷灰石,特别是将鳖甲的微观结构应用到结构复合材料方面,国内外还未见仿鳖甲微观结构复合材料的相关报道。本文将在总结前人的研究成果基础上,结合复合材料的材料力学和结构力学,对鳖甲的微观结构

和化学成分作进一步深入的观察和分析,并从仿生学角度出发,归纳其结构和力学特征,为后期开发出具有仿鳖甲微结构复合材料的节约化和结构优化设计提供仿生理理论方面的指导。

## 1 实验部分

### 1.1 实验样品

实验对象为成年的野生雄性中华鳖,选取鳖甲的颈板(图 1A)和肋板(图 1E)为实验测试样。如图 1 正面所示,鳖甲的前端为一块颈板,其余是为被椎板(图 1F)完全分隔的 8 对肋板。颈板无椎骨(图 1G)和肋骨(图 1C)支撑,刚性和冲击韧性可能较高,肋板类似一块被分割的蒙皮覆盖在 8 对肋骨上,起着保护内部躯体的作用,具有优异的力学特性。



A. 颈板; B. 骨刺; C. 肋骨; D. 横凹缝; E. 肋板; F. 椎板; G. 椎骨

图 1 鳖甲正面与反面图

收稿日期: 2010-11-26

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目(IRT0654)

作者简介: 周后恩(1984-),男,湖南衡南人,硕士研究生,主要从事新型功能材料的研究。

## 1.2 实验步骤

### a) 取样

取鳖甲前端的一块颈板和中间的一块肋板为实验测试样。用液氮脆断的方法在肋骨长轴方向取若干个断面。

### b) 固定

选用2.5%的戊二醛固定,0.1 mol/L的磷酸盐溶液为缓冲液,其中磷酸盐缓冲液用磷酸二氢钾和氢氧化钠配制<sup>[5]</sup>。25℃时,在pH=7.4下固定12~24 h。

### c) 脱水干燥

分别选用50%、70%、85%、95%、100%的乙醇进行5级脱水,每级脱水时间在0.5~1 h。用真空干燥箱在50~55℃下干燥5~6 h,然后温度下调至40~45℃下干燥24~48 h。

### d) 扫描电镜观察

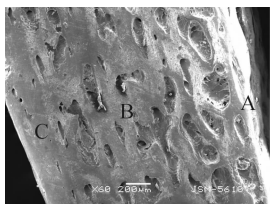
在JSM-5610LV扫描电镜下观察和拍照,并利用扫描电镜配套的INCA能谱仪进行表面元素成分测定。

## 2 结果和讨论

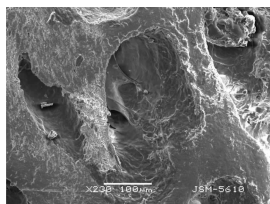
鳖甲是一种不完全钙化的骨质结构<sup>[3]</sup>,目前普遍认为骨是天然有机-无机复合材料,主要由水(约10%)、有机物(约65%)和无机盐(约24%)组成。有机物中约90%是胶原蛋白,还有少量的非胶原蛋白、多糖和酯类等,无机盐中磷酸钙类矿物占骨质量的60%~70%,最主要的是羟基磷灰石,此外还存在非晶磷酸钙、磷酸钙和二水磷酸氢钙等,它们被认为是磷灰石的前体相而存在,骨的主体骨架是胶原纤维结构<sup>[6]</sup>。

### 2.1 颈板微结构分析

颈板位于鳖甲前端,起保护头部的作用,分为内密质层(图2(a)中的C)、外密质层(图2(a)中的A)和中间松质层(图2(a)中的B)3个部分。其中,内密质层和外密质层又分别称为内板和外板,内密质层位于内侧与内部软体组织相连,外密质层位于外侧与革质软皮相连。



(a) 总整结构(×60)



(b) 中间松质层孔隙微结构(×200)

图2 颈板微结构 SEM图

如图2所示,颈板密质层与中间松质层之间是逐渐过渡,无明显的分界线。内密质层的厚度相对外密质层厚,厚约350 μm,含少量微孔,直径在20~30 μm之间;外密质层较薄,厚约200 μm,内外密质层都为片层状结构;中间松质层为孔隙结构(图2(b)),孔隙分布无规则可循,有些地方排列得较为整齐,有些地方排列松散,孔隙大小不一,直径在100~400 μm之间,部分孔隙相联成开孔结构,孔隙结构周围缠绕丝状胶原纤维,Rhee H等对龟壳背甲的研究也表明这类缠绕的丝状纤维为胶原纤维<sup>[7]</sup>。

### 2.2 肋板微结构分析

肋板属扁骨,骨化程度低,动物在系统发生和个体发育过程中,机能影响结构,结构又决定机能,骨的进化是负重和力作用的结果,由于中华鳖为爬行动物,其鳖甲(背甲)承受的力较小,因此骨化程度不高<sup>[8]</sup>。肋板也分为内密质层(图3(a)中的C)、外密质层(图3(a)中的A)和中间松质层(图3(a)中的B)3个部分。但肋板外密质层板又分为外密质层外层(图3(a)中的A<sub>1</sub>)和外密质层内层(图3(a)中的A<sub>2</sub>),外密质层外层中可见明显的层状结构,外密质层内层没有明显的分层现象。肋板中间松质层中的孔隙结构不如颈板明显。

如图3所示,肋板密质层与中间松质层之间也是逐渐过渡,无明显的分界线。外密质层外层厚约160 μm,存在明显的分层现象,4小层深颜色层(图3(b)和图3(c)中的A<sub>1a</sub>)和4小层浅颜色层(图3(b)和图3(c)中的A<sub>1b</sub>)相互交替穿插排列存在。深颜色层为按不同方向明显定向排列的细小棒状羟基磷灰石晶体,棒状晶体之间由有机质膜相连,徐永东<sup>[9]</sup>对龟壳背甲的研究也表明这种棒状晶体是羟基磷灰石,同时,徐永东和Scheyer T M<sup>[9-10]</sup>也发现棒状晶体之间有有机质膜存在。每层棒状晶体排列方向不一致,由外到内,外面3层(图3(b)中的1、2、3)棒状晶体排列方向大致平行,与鳖甲肋板(肋骨方向)成20~30°角,第4层(图3(b)中的4)与鳖甲肋骨成反向20~30°角。浅颜色层为片层状羟基磷灰石,Weiner<sup>[11]</sup>的研究也表明这种片层状晶体是羟基磷灰石,微显结构松散,片层晶体之间很少有有机质膜的存在,因此片层状晶体之间的结合力相对较弱。由于棒状羟基磷灰石晶体之间这层有机层质膜的存在,使鳖甲不仅具有较高的强度,同时又表现出较高的断裂韧性;外密质层内层(图3(a)中的A<sub>2</sub>和图3(d))结构紧密,起过渡作用;中间松质层厚约450 μm,

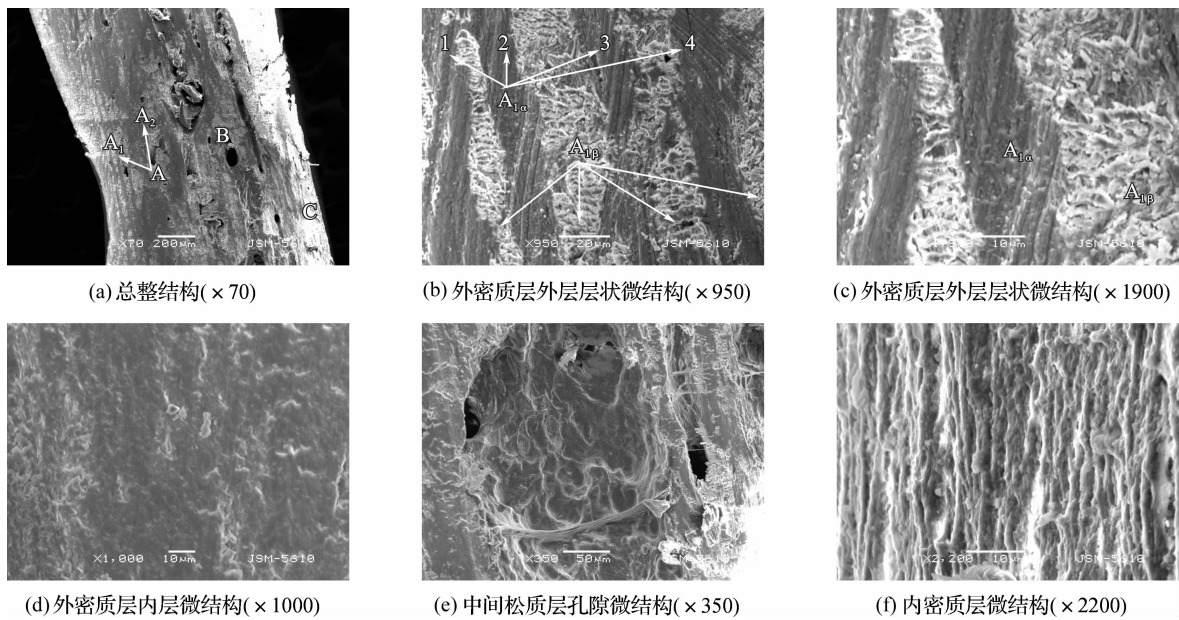


图 3 肋板微结构 SEM 图

呈孔隙结构(图 3(e)),孔隙率比颈板中间松质层低,多为闭孔结构,孔隙大小差异较大,直径在 30~200  $\mu\text{m}$  之间,孔隙多呈长孔状,孔隙周围缠绕着丝状纤维,同胫板一样,缠绕的丝状纤维为胶原纤维<sup>[7]</sup>。内密质层(3(a)中的 C 和图 3(f))厚约 300  $\mu\text{m}$ ,上面分布着极少的微细孔隙,直径在 20~40  $\mu\text{m}$  之间,内密质层为堆积的纤维结构,丝状胶原纤维呈有规律的平行于肋板方向(肋骨方向)排列,纤维空隙区域可见大量的片层状晶体,晶体的片层状平面与胶原纤维的长轴呈定向平行排列,晶体的片层状垂直面与胶原纤维的长轴垂直。同样,这些片层状晶体是羟基磷灰石。

2.3 鳖甲化学成分分析

对鳖甲化学成分的研究在 20 世纪 80 年代已经展开<sup>[12]</sup>,但都是将鳖甲作为一个整体来确定其各种化学元素成分及其含量。由于没有将鳖甲微观结构与相应的结构成分分析组成联系,以至于缺乏鳖甲生物结构复合材料相关结构成分的实验性数据库。本文从鳖甲结构成分分析出发,寻求其微观结构与化学成分之间的关系,有助于进一步了解鳖甲微结构仿生设计方法。

鳖甲肋板外密质层外层结构复杂,为进一步了解外密质层外层不同小层化学成分的异同,分别对外密质层外层的 4 小层深颜色层和 4 小层浅颜色层作能谱分析,结果如图 4 所示。

鳖甲是一种不完全钙化的骨质结构,中间松质层含较多的孔隙,为了解鳖甲骨质实质结构和孔隙结构的化学成分,分别对鳖甲肋板骨质实质

结构和孔隙结构周围作能谱分析,结果如图 5 所示。

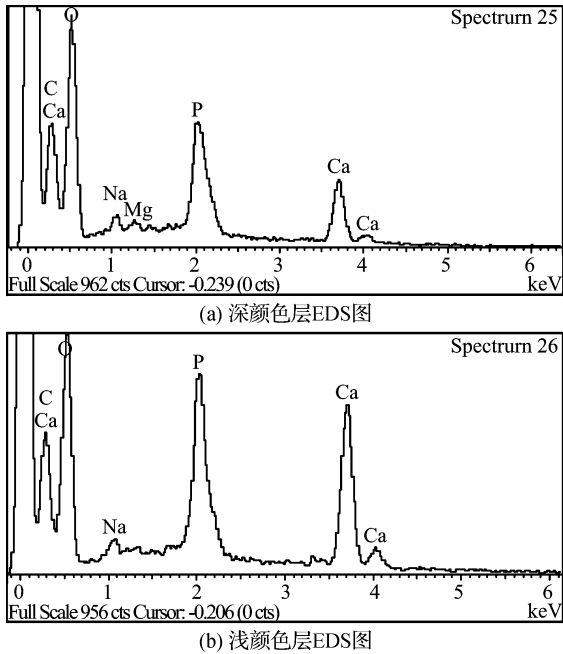


图 4 外密质层外层 EDS 图

如图 4 所示,深颜色层和浅颜色层中所含元素种类相同,都含有 C、O、N(C、O 的峰值相近,N 的峰值介于 C、O 之间,同时 C、O 含量相对 N 高,N 的峰被覆盖,表现为不可见)、P 和 Ca,还有少量的 Na、Mg 等微量元素,只是浅颜色层中 P 和 Ca 的含量相对高一些,这也说明深颜色层和浅颜色层是由相同的物质组成。深颜色中 P 的含量为 9.83%~10.07%,Ca 的含量为 16.17%~17.11%;浅颜色层 P 的含量为 11.02%~11.63%,Ca 的含量为

25.46%~28.87%。这是因为深颜色层中棒状羟基磷灰石晶体结构紧密,棒状晶体之间的有机质膜含量比浅颜色层中片层状羟基磷灰石晶体之间的高。

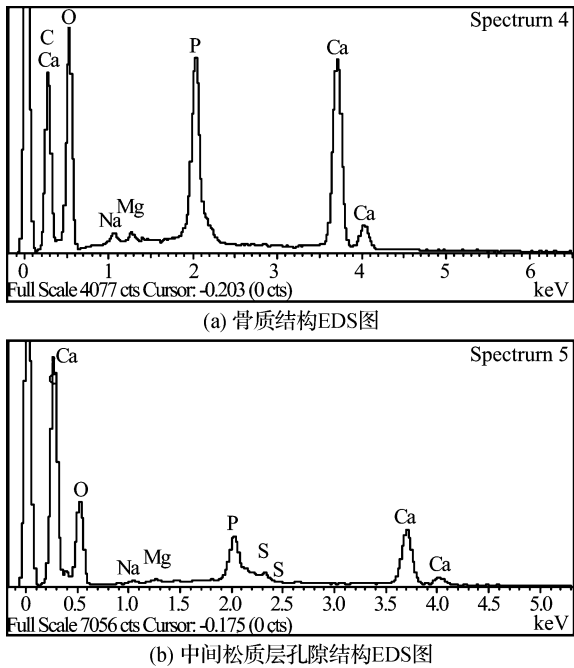


图5 鳖甲 EDS 图

如图5所示,鳖甲主要含有C、O、N(表现为不可见,原因同图4中的N)、P和Ca,还含少量的Na、Mg等微量元素,经过多次对密质层和中间松质层不同位置进行能谱图测试,发现鳖甲骨质结构中各元素相同,且各元素含量差别不大,这也可以说明鳖甲密质层和中间松质中的纤维和无机晶体分别是相同的。但中间松质层孔隙结构中的P和Ca的含量明显低于骨质结构,还含有少量的S,这是因为孔隙结构疏松以及其周围缠绕着丝状胶原纤维所致。

2.4 鳖甲的弯曲力学性能分析

鳖甲的8对肋板完全覆盖在8对肋骨上,肋板类似一块被分割的蒙皮,肋骨起支架结构的作用,相邻的两块肋板之间都由横凹缝(图1D)相连。为了解相邻两块肋板之间的连接弯曲性能和一块完整肋板自身的弯曲性能,分别取含有横凹缝的两块肋板(横凹缝正好处于试样中间段)和鳖甲中间的一块完整肋板为实验测试样,取样分别如图6(a)中的A和图6(b)中的B所示。鳖甲的肋板和肋骨已经融合成为一个总体,因此,对鳖甲宏观弯曲力学性能测试时肋板连同肋骨一起测试。

试验所用设备为REGER-200A型微机控制电子万能试验机,采用简支梁3点弯曲加载测试鳖甲的弯曲强度和弯曲模量。

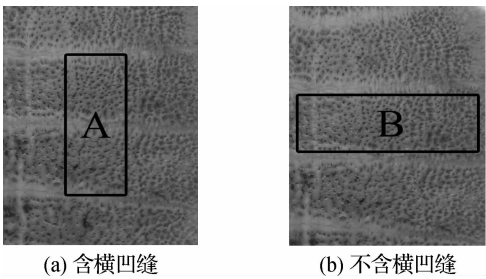


图6 试样选取示意图

弯曲试样尺寸为:8 mm×25 mm×d mm(d为鳖甲的平均厚度),跨距为20 mm。鳖甲的外表面为加载面,加载速度为2 mm/min。在常温常湿条件下进行测试,取5个测试样品的数学平均值,测试结果如表1所示。

表1 鳖甲的弯曲力学性能测试值

试样	两块肋板(含横凹缝)		一块完整的肋板(不含横凹缝)	
	弯曲强度 /MPa	弯曲模量 /GPa	弯曲强度 /MPa	弯曲模量 /GPa
平均值	34.345	0.352	117.800	1.109

从表1测试结果可以得出,含横凹缝的两块肋板之间的连接弯曲强度和弯曲模量分别比一块完整的肋板的弯曲强度和弯曲模量小,说明肋骨对鳖甲抗弯力学性能有明显的增强作用。同时,由于相邻两块肋板之间横凹缝的存在,弯曲破坏裂纹都发生在横凹缝上,测试结果反映的是两块肋板之间的连结弯曲性能,因此在仿生复合材料的开发和设计过程可以将肋板看成一个总体,略去横凹缝。

2.5 鳖甲微结构力学特征理论分析

通过上述对鳖甲自然生物复合材料颈板和肋板微结构和化学成分分析,发现颈板和肋板都分为3大层,内、外密质层结构紧密,中间松质层为封闭的孔隙结构,这样的各向异性使得鳖甲在压缩方向的弹性和强度都得到强化,中间层存在着大量的孔隙,可以控制裂纹的进一步扩展,同时部分孔隙相连成开孔结构,这样就进一步增加了鳖甲的缓冲性能<sup>[6,13]</sup>,孔隙结构周围缠绕丝状胶原纤维,有利于孔隙结构的稳定和提高其抗冲击性能<sup>[6]</sup>。颈板上下密质层都为紧密的片层状晶体,而肋板的内、外密质层结构不一致,肋板外密质层外层中4小层按不同方向定向排列的细小棒状羟基磷灰石晶体和4小层片层状羟基磷灰石晶体相互交替排列,同时棒状晶体之间由有机质膜相连,使鳖甲在发生断裂时裂纹发生无数次偏转,增加扩展阻力<sup>[14]</sup>,从而提高鳖甲吸

收的断裂功,提高其断裂韧性。肋板内密质层中的丝状胶原纤维平行于肋骨长轴方向排列,可使鳖甲在承受压力和冲击时实现应力的较理想传递,从而提高其力学强度和刚性,特别是提高鳖甲沿肋骨长轴方向的拉伸强度和弯曲强度。片层状羟基磷灰石晶体存在于丝状胶原纤维空隙区域之间,而且晶体片层状平面与胶原纤维的长轴呈定向平行排列,可阻止应力在裂纹扩散过程中发生终止、转向或偏移,从而改善鳖甲的韧性。

由于无椎骨和肋骨的支撑,颈板钙化程度可能比肋板高,内、外密质层都由紧密的片层状晶体组成,刚性较大,但其中间孔隙层所占比例高,孔隙的密度和直径都比肋板大,可适度提高其冲击韧性。肋板覆盖在肋骨上,是鳖甲最主要的受力面,其上下密质层结构不一致,呈各向异性且不连续,受力、增强和增韧机制都相对较复杂,因此在对鳖甲微结构仿生复合材料的设计和开发过程中,主要以肋板微结构为仿生对象,同时结合颈板的微结构特征。

### 3 结 论

a) 鳖甲是一种坚硬又富有韧性的多尺度层状超混杂复合材料,内、外密质层结构紧密,中间松质层为封闭的孔隙网状结构,孔隙结构周围缠绕着胶原纤维。

b) 鳖甲肋板外密质层外层中相互交替存在 4 小层按不同方向明显定向排列的细小棒状羟基磷灰石晶体和 4 小层片层状羟基磷灰石晶体,内密质层含平行于肋骨方向排列的丝状胶原纤维。

c) 含横凹缝的两块肋板之间的弯曲强度和弯曲模量分别比一块完整的肋板的弯曲强度和弯曲模量小。

后期的工作将以肋板微结构为仿生对象并结合颈板的微结构特征,设计和开发具有实用价值的高强轻量型仿生复合材料,推广其在交通运输、建筑、日常生活用品以及航天、国防等领域的应用。

### 参考文献:

[1] 胡巧玲, 李晓东, 沈家嫔. 仿生结构材料的研究进展

[J]. 材料研究学报, 2003, 17(4): 337-344.

[2] Chen P Y, Lin A Y M, Lin Y S, et al. Structure and mechanical properties of selected biological materials [J]. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2008, 1(3): 208-226.

[3] 史海涛. 中国的龟类[J]. 生物学通报, 2004, 39 (5): 13-17.

[4] 温 欣, 周洪雷. 鳖甲化学成分和药理药效研究进展 [J]. 西北药学杂, 2008, 23(2): 122-124.

[5] Lorenzo A, Enzo S, Mattia T. Differentiation of the epidermis in turtle: an immunocytochemical, autoradiographic and electrophoretic analysis [J]. Acta Histochemica, 2004, 106(5): 379-395.

[6] 马云海, 闫久林, 佟 金, 等. 天然生物材料结构特征及仿生材料的发展趋势[J]. 农机化研究, 2009, 8(8): 6-10.

[7] Rhee H, Horstemeyer M, Hwang F Y, et al. A study on the structure and mechanical behavior of the Terrapene carolina carapace: a pathway to design bio-inspired synthetic composites [J]. Materials Science and Engineering C, 2009, 29(8): 2333-2339.

[8] 李军德, 徐海宁, 赵丽云, 等. 鳖甲的生药学研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(9): 518-523.

[9] 徐永东, 张立同. 龟壳的力学性能与显微结构初探[J]. 复合材料学报, 1999, 12(3): 53-57.

[10] Scheyer T M, Sander P M, Walter G J, et al. A plywood structure in the shell of fossil and living soft-shelled turtles (Trionychidae) and its evolutionary implications [J]. Organisms Diversity & Evolution, 2007, 7(2): 136-144.

[11] Weiner S, Wagner H D. The material bone: structure mechanical function relations[J]. Annu Rev Mater Sci, 1998, 2(8): 271-298.

[12] 李 彬, 郭力城. 鳖甲的化学成分和药理作用研究概况[J]. 中医药信息, 2009, 26(1): 25-27.

[13] 刘琴李, 胜 龚, 浏 澄. 结构泡沫塑料的开发与应用[J]. 塑料科技, 2009, 37(8): 50-55.

[14] 张刚生. 生物矿物材料及仿生材料工程[J]. 矿产与地质, 2002, 16(2): 98-102.

Analysis on the Microstructure and Chemical  
Composition of Trionychid Turtle Shell

ZHOU Hou-en<sup>a</sup>, WANG Jia-jun<sup>a,b</sup>, LIU Ya-ping<sup>a</sup>, SHEN Jie<sup>b</sup>

(Zhejiang Sci-Tech University, a. School of Materials and Textiles,  
b. The Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing  
Technology, Ministry of Education, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** In order to design and develop high-intensity and light-weight biomimetic composite material, trionychid turtle shell microstructure is observed, and its chemical composition is analyzed. Results reveal that trionychid turtle shell is a kind of multi-scale layer super-hybrid composite material which is hard and tough. The outer part of the outer dense layer contained overlappes alternately 4 pieces of different o-rientation-arranged slim and clubbes hydroxyapatite crystal and 4 pieces of thin platelike hydroxyapatite crystal separately. The intermediate spongy layer has a closed-cell structure with collagen fibers enwinding round the holes. In the inner dense layer there are filamentous collagen fibers arrayed in a alignment paral-  
lel with costal prolate axis. The bending property of trionychid turtle shell without horizontal concave crack is better by laboratory tested.

**Key words:** biomimetic composite material; trionychid turtle shell; microstructure; structure charac-  
teristic

(责任编辑: 许惠儿)