[19]中华人民共和国专利局

[11] 公开号 CN 1112368A

[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94190510.1

[51]Int.Cl[6]

[43]公开日 1995 年 11 月 22 日

D21H 17/22

[22]申请日 94.5.27

[30]优先权

[32]93.6.16 [33]US[31]08/078,932

[86]国际申请 PCT/US94/06040 94.5.27

[87]国际公布 WO94/29522 英 94.12.22

[85]进入国家阶段日期 95.3.17

[71]申请人 兰帕克公司

地址 美国俄亥俄

[72]发明人 K·E·休斯 D·C·马思特松

D·J·芬克 G·E·皮克特

B·A·莫茨 P·M·戈莫

R·S·布罗迪

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

代理人 任宗华

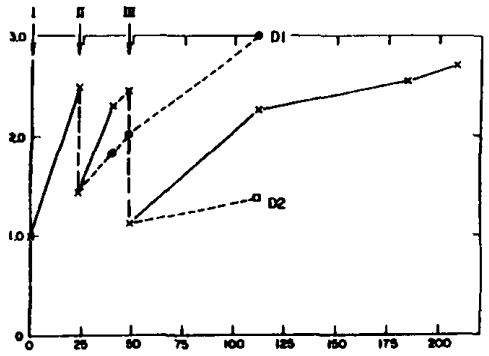
C07K 15/00

说明书页数: 59 附图页数: 4

[54]发明名称 用增溶的胶原加强的纸张及其制法

[57]摘要

本发明涉及用酶催方法制造增溶的胶原、以及通过将增溶的胶原与纤维素纸浆混合来制造用增溶胶原增强的纸张的方法，该方法优于已知的增强纸张的方法，特别适合于制造机械性能改进而且价格低廉的再生纤维素纸。本发明还介绍了这种改进的增溶胶原和用此方法制造的性能改进的纸张。



(BJ)第 1456 号

权　利　要　求　书

1. 一种制造胶原加强的纤维素片材的方法，其中包括：

a. 形成纤维素纸浆；

b. 向纸浆中加入增溶的胶原，混合一段时间，使纤维素纸浆能有效地与增溶的胶原相互作用；

c. 将相互作用的纤维素纸浆和增溶的胶原制成片材；和

d. 将片材干燥。

2. 权利要求1的方法，其中的片材是纸页。

3. 用增溶的胶原加强纸张的方法，其中包括：将增溶的胶原与纤维素纸浆混合；将该混合物模压并干燥。

4. 一种增强的纤维素纸浆组合物，其中包括：增溶胶原与纤维素纸浆混合物的干燥的反应产物。

5. 一种增强的纸产品，其中含有由增溶胶原和纤维素的混合物制备的纸。

6. 一种制造胶原增强的纤维素片材的方法：

a. 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的纸箱纸或它们的混合物的一种纤维素材料与一种含有水或水与苛性碱的溶液相混合并以机械方法成浆，直到形成按干浆固体计浓度约为3—6%重量的纸浆；

b. 将该纸浆稀释到按干浆固体计浓度约为1—3%重量，调节PH约为3.5—7.0；

c. 向稀释的纸浆中加入约0.1—2%（干重）的可溶性胶原（按纤维素材料的干重计），在一定的剪切速度下混合一定时间，使稀释的纸浆固体和可溶性胶原能相互作用，从而使至少一大部分可溶性胶原结合到纸浆上，形成胶原—纸浆浆体；

d. 将胶原—纸浆浆体稀释到按干重计浓度为0.1—1%；

e. 将胶原—纸浆浆体制成片材；和

f. 将该片材干燥。

7. 权利要求6的方法，其中步骤c的混合至少15分钟。

8. 权利要求6的方法，其中用选自盐酸、HCl、HNO_3、H_2SO_4和乙酸的一种酸调节PH。

9. 权利要求6的方法，其中包括在干燥之前向步骤e的片材涂胶的附加步骤。

10. 权利要求6的方法，其中的胶料还包括：平均数均分子量为100，000道尔顿或更小的胶原水解产物。

11. 权利要求6的方法，其中还包括将干燥的片材压光。

12. 权利要求6的方法，其中步骤a中的NaOH溶液按固体干重计的浓度约为0.25—1.00%重量，PH为10—14。

13. 权利要求6的方法，其中增溶的胶原的数均分子量高于300，000道尔顿。

14. 权利要求 6 的方法，其中增溶的胶原的数均分子量高于 1，000，000 道尔顿。

15. 权利要求 6 的方法，其中在适合促进胶原—纸浆相互作用而不使胶原三股螺旋结构变性的剪切速度下混合。

16. 权利要求 6 的方法，其中所述胶原—纸浆的浓度为约 0.5%（干重）。

17. 权利要求 6 的方法，其中在步骤 a 成浆后或在步骤 b 稀释后加入明矾/松香添加剂。

18. 权利要求 6 的方法，其中在步骤 e 内形成片材后，将该片材在干燥之前先湿压到预先选定的厚度。

19. 权利要求 6 的方法，其中当步骤 a 中只选用水时，还包括以下的附加步骤：

a1. 对步骤 a 中的纸浆/水浆体进行精磨，使浆体中的纤维素纤维纤丝化，以得到一定的游离度，在步骤 e 中形成片材时达到选定的排水量。

20. 权利要求 19 的方法，当选定的主要是回收的新闻纸时，游离度在约 100CSF 和约 150 CSF 之间，当选定的主要是回收的纸箱纸时，游离度在约 300CSF 至约 400CSF 之间。

21. 权利要求 19 的方法，其中在步骤 a1 的精磨之后加入明胶/松香。

22. 一种制造胶原增强的纤维素片材的方法，其中包括：

a. 将选自新鲜纸浆、损纸、回收新闻纸、回收的纸箱纸或它们的混合物的一种纤维素材料与一种含水或含水与NaOH的溶液混合，用机械方法浆化，直到形成按干浆固体计浓度约为3—6%重量的纸浆；

b. 将该纸浆稀释成按干浆固体计浓度约为1—3%重量，将PH调节到约3.5—7.0；

c. 在步骤a之后向纸浆中，或在步骤b之后向稀释的纸浆中加入明矾/松香添加剂；

d. 将含有明矾/松香的稀释的纸浆制成片材；

e. 用数均分子量为100，000或更小的胶原水解产物涂敷该片材的一面或两面。

f. 将该片材干燥。

23. 一种制造胶原增强的纤维素片材的方法，其中包括：

a. 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱或它们的混合物中的一种纤维素材料与一种含水或含水与NaOH的溶液混合，用机械方法浆化，直到形成按干浆固体计浓度约为3—6%重量的纸浆；

b. 将该纸浆稀释到按干浆固体计浓度约为1—3%重量，调节PH至约3.5—7.0；

c. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；

d. 调节该磨细浆体的水含量或固体含量，使不溶性胶原的浓度

能大大增进最终产物中增溶胶原的最大浓度和分子量；

e. 调节步骤d中该浆体的PH以获得对于步骤f中所加蛋白水解酶的活性；

f. 向调节过PH的浆体中加入蛋白水解酶，在温度T下反应一定的时间t，使得能够由不溶性胶原颗粒形成高分子量增溶胶原的溶液；

g. 通过同时测定增溶胶原的浓度和该增溶胶原的分子量，控制上述反应，以得到高增溶度的胶原和能使胶原与纤维素纸浆相结合的一定的分子量，当分子量与浓度基本上达到最高值时，该反应完成；

h. 向步骤f的含有高分子量增溶胶原的溶液中加入不溶性胶原并混合之，加或不加补充的水。

i. 将至少一部分含高分子增溶胶原的溶液与不溶性胶原分开，将不溶性胶原返送到步骤d，从而使至少一部分蛋白水解酶再循环，抽出分离出来的含高分子量可溶性胶原的溶液；

j. 将分离出的步骤i中含约0.1—2%（干重）的可溶性胶原（按纤维素材料的干重计）的溶液加到稀释过的纸浆中，在一定的剪切速度和时间下混合，使稀释的纸浆固体和可溶性胶原能相互作用，从而使至少一大部分可溶性胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆体；

k. 将该胶原—纸浆浆体稀释成浓度为约0.1—1%干重。

l. 将胶原—纸浆浆体制成片材；和

m. 将该片材干燥。

24. 一种制造胶原增强的片材的方法，其中包括：

a. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体，调节该浆体的PH，以获得对于步骤b中加入的蛋白水解酶的活性；

b. 向调节过PH的浆体中加入蛋白水解酶；

c. 使浆体与步骤b或e中的酶在温度T下反应一段时间t，以便形成高分子量增溶胶原增多的溶液；

d. 将不溶性胶原加到步骤c的溶液中并混合之，加或不加补充的水；

e. 将至少一部分步骤d的含高分子量增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离，从而使至少一部分蛋白水解酶再循环到步骤c，分离出的含高分子量增溶胶原的溶液作为产物抽出；

f. 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的纸箱纸或其混合物的一种纤维素材料与含有水或含有水与苛性碱的溶液混合，机械成浆，直到形成按干浆固体计浓度约为3—6%重量的纸浆；

g. 将该纸浆稀释到按干浆固体计浓度为约1—3%重量，调节PH至约3.5—7.0；

h. 将步骤e中的可溶性胶原加到稀释过的纸浆中，其数量约为0.1—2%可溶性胶原干重（按纤维素物质的干重计），在一定的剪切速度下混合一段时间，以便使稀释的纸浆固体能与可溶性胶原相互作用，从而使一大部分可溶性胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆

体；

i. 将该纸浆—胶原浆体稀释到浓度约为0.1—1%重量（干重）；

j. 将该胶原—纸浆浆体制成片材并干燥之。

25. 一种制造高分子量增溶胶原水溶液的方法，其中包括：

a. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；

b. 调节磨细的湿浆体的水含量或固体含量，使不溶性胶原的浓度能大大促进增溶胶原在最终产物中的最大浓度及分子量；

c. 调节步骤b中浆体的PH，以获得对于步骤d中加入的蛋白水解酶的反应活性；

d. 将蛋白水解酶加入调节过PH的浆体中并混合之；

e. 使步骤d的浆体在温度T下反应一段时间t，以便能形成含有由不溶性胶原颗粒衍生得到的高分子量增溶胶原的溶液；

f. 向步骤e的含高分子量增溶胶原的溶液中补加水和不溶性胶原并混合之；

g. 使至少一部分步骤f的含高分子量增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离，将不溶液性胶原送回到步骤e，从而使至少一部分蛋白水解酶再循环，分离出的含高分子量增溶胶原的溶液则作为产物抽出；

h. 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱纸或其混合物的一种纤维素材料与含水或含水与NaOH的溶液混合，用机械方法成浆，直到形成按干浆固体计浓度约为3—6%重量的纸浆；

i. 将该纸浆稀释到按干浆固体计浓度约为1—3%，调节PH至约3.5—7.0；

j. 向稀释过的纸浆中加入步骤e的可溶性胶原，其数量约为0.1—2%可溶性胶原干重（按纤维素材料的干重计），在一定剪切速度下混合一段时间，使稀释过的纸浆固体能与可溶性胶原相互作用，从而使至少一大部分可溶性胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆体；

k. 将该胶原—纸浆浆体稀释成浓度为约0.1—1%干重；

l. 将胶原—纸浆浆体制成片材并干燥之。

26. 一种制造胶原增强的纤维素片材的方法，其中包括：

a. 形成一种纤维素纸浆；

b. 向纸浆中加入增溶的胶原，使纤维素纸浆和增溶胶原的浓度达到约2%重量，混合一段时间，使纤维素纸浆与增溶胶原能够相互作用，混合过程在约40℃以上的温度下进行；

c. 将相互作用的纤维素纸浆和增溶胶原制成片材；和

d. 将该片材干燥。

27. 一种制备增溶胶原水溶液的方法，其中包括：

a. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体，调节该浆体的PH以获得对步骤b中加入的蛋白水解酶的活性；

b. 将蛋白水解酶加到调节过PH的浆体中；

c. 使该浆体与步骤b的酶和/或再循环的不溶性胶原与步骤e的酶在温度T下反应一段时间t，使之能形成增溶胶原增多的溶液；

d. 将不溶性胶原加到步骤c的溶液中并混合之；

e. 将至少一部分步骤d的含增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离开，借此将至少一部分不溶性胶原和蛋白水解酶再循环到步骤c，将分离出的含增溶胶原的溶液作为产物抽出。

28. 权利要求27的方法，其中还包括重复步骤c、步骤d和步骤e两次或更多次。

29. 权利要求27的方法，其中包括一个连续过程。

30. 权利要求27的方法，其中还包括向步骤e的再循环的不溶性胶原中加入补充的酶，使其基本上代替与抽出的产物一起除掉的酶。

31. 权利要求27的方法，其中还包括，当再循环时的反应速度降低到预定值以下时，向步骤e的再循环的不溶性胶原中补加酶。

32. 权利要求27的方法，其中包括用以下手段停止反应：(1)将PH调节到蛋白水解酶基本上无活性的水平；和/或(2)将温度降低到蛋白水解酶基本上无活性的水平。

33. 权利要求27的方法，其中在步骤a还包括，调节磨细的湿浆体的液体或固体含量，以便将固体的浓度调节到约0.1—1.0%重量。

34. 权利要求27的方法，其中所述的温度T包括约5—30℃。

35. 权利要求27的方法，其中所述的温度T包括约15—28℃。

36. 权利要求33的方法，其中固体浓度为约0.3—0.35%重量，

步骤 c 的反应在约 10—30℃下进行 12—72 小时。

37. 权利要求 36 的方法，其中所述的温度为 15—28℃。

38. 权利要求 27 的方法，其中还包括：从猪粘膜胃蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胶原酶、无花果蛋白酶、木瓜酶、肽酶、蛋白酶 A、蛋白酶 K、胰蛋白酶、微生物蛋白酶以及它们的组合物中选择所述的蛋白水解酶。

39. 权利要求 27 的方法，其中还包括：所述的蛋白水解酶是一种微生物酸性蛋白酶。

40. 权利要求 38 的方法，其中还包括：当选用胃蛋白酶时，将 PH 调节到约 1.5—3.0，温度调节到约 18—28℃。

41. 权利要求 27 的方法，其中还包括：将至少 80%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原，其数均分子量在 300，000 道尔顿以上。

42. 权利要求 27 的方法，其中还包括：将至少 90%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原。

43. 一种制造增溶胶原水溶液的方法，其中包括：

a. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；

b. 调节上述磨细的湿浆体的水或固体含量，使不溶性胶原的浓度能大大增进增溶胶原在最终产物中的最大浓度和分子量；

c. 调节步骤 b 的浆体的 PH，以获得对于步骤 d 中加入的蛋白水解酶的活性；

d. 向调节过 PH 的浆体中加入蛋白水解酶并混合之，

e. 使步骤 d 的浆体和/或步骤 g 的再循环的不溶性胶原在温度 T 下反应一定的时间 t，以便能形成含有由不溶性胶原颗粒衍生得到的增溶胶原的溶液；

f. 将不溶性胶原加到步骤 e 中含增溶胶原的溶液中并混合之，加或不加补充的水；

g. 将至少一部分步骤 f 的含增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离开，将不溶性胶原送回步骤 e，从而使至少一部分蛋白水解酶再循环，分离出的含增溶胶原的溶液则作为产物抽出。

44. 权利要求 43 的方法，其中还包括重复步骤 e 至步骤 f 两次或更多次。

45. 权利要求 43 的方法，其中包括用以下手段停止反应：(1) 将 PH 调节到蛋白水解酶基本上无活性的水平；和/或 (2) 将温度降低到蛋白水解酶基本上无活性。

46. 权利要求 43 的方法，其中还包括向步骤 e 的不溶性胶原中补加酶，使其基本上代替随产物一起抽出的酶。

47. 权利要求 43 的方法，其中还包括，当再循环时的反应速度低于预定水平时，向步骤 e 的不溶性胶原中补加酶。

48. 权利要求 43 的方法，其中步骤 b 内还包括，调节磨细的湿浆体的液体或固体含量，以便将固体的浓度调节到约 0.1—1.0%重量。

49. 权利要求 43 的方法，其中步骤 e 的温度 T 包括约 5—30℃。

50. 权利要求 43 的方法，其中步骤 e 的温度 T 包括 15—28℃。

51. 权利要求 43 的方法，其中步骤 b 的固体浓度为约 0.3—0.35%重量，步骤 e 的反应温度为约 10—30℃，反应时间 12—72 小时。

52. 权利要求 51 的方法，其中所述的温度为 15—28℃。

53. 权利要求 43 的方法，其中还包括：从猪粘膜胃蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胶原酶、无花果蛋白酶、木瓜酶、肽酶、蛋白酶 A、蛋白酶 K、胰蛋白酶、微生物蛋白酶以及它们的组合物中选择所述的蛋白水解酶。

54. 权利要求 43 的方法，其中还包括：所述的蛋白水解酶是一种微生物酸性蛋白酶。

55. 权利要求 43 的方法，其中还包括，当选用胃蛋白酶时，在步骤 c 中将 PH 调节到 1.5—3.0，在步骤 e 中将温度调节到约 18—28℃。

56. 权利要求 43 的方法，其中还包括：将至少 80%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原，其数均分子量高于 300，000 道尔顿。

57. 权利要求 43 的方法，其中还包括：将至少 90%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原。

58. 一种制造增溶的胶原水溶液的方法，其中包括：

a. 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；

b. 调节磨细的湿浆体的水或固体含量，使不溶性胶原的浓度能

大大增进增溶的胶原在最终产物中与所增强的纸相适应的最大浓度。

c. 调节步骤b中浆体的PH，以获得对于步骤d中加入的蛋白水解酶的活性；

d. 向调节过PH的浆体中加入蛋白水解酶，在一定温度下反应一段时间t，使之能由不溶性胶原颗粒形成增溶的胶原；

e. 通过测量增溶胶原的浓度和分子量，控制反应条件，以便得到高浓度的可溶性胶原，当数均分子量级分高于300，000道尔顿而且浓度基本上达到最大值时，反应完成；和

f. 将增溶的胶原的水溶液作为产物抽出。

59. 权利要求58的方法，其中包括用以下手段停止反应：(1)将PH调节到蛋白水解酶基本上无活性的水平；和/或(2)将温度降低到蛋白水解酶基本上无活性。

60. 权利要求58的方法，其中还包括所述的粘度至少为最大值的75%。

61. 权利要求58的方法，其中还包括，在步骤b中调节磨细的湿浆体的液体或固体含量，以便将固体浓度调节到约0.1—1.0%重量。

62. 权利要求58的方法，其中的温度T包括约5—30℃。

63. 权利要求58的方法，其中的温度T包括约15—30℃。

64. 权利要求58的方法，其中步骤b的固体浓度为约0.3—

0.35%重量，在步骤e中，将反应温度控制在约15—30℃，时间为10—48小时。

65. 权利要求58的方法，其中还包括：从猪粘膜胃蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胶原酶、无花果蛋白酶、木瓜酶、肽酶、蛋白酶A、蛋白酶K、胰蛋白酶、微生物蛋白酶及它们的组合物中选择蛋白水解酶。

66. 权利要求58的方法，其中还包括：当选择胃粘膜胃蛋白酶时，将PH调了至约1.5—3.0，温度调节到约15—28℃。

67. 权利要求58的方法，其中还包括：将至少80%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原，数均分子量在300，000道尔顿以上。

68. 权利要求58的方法，其中还包括：将至少80%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原。

69. 权利要求58的方法，其中还包括，将至少90%重量的不溶性胶原转化成可溶性胶原。

说　　明　　书

用增溶的胶原加强的纸张及其制法

本发明涉及制造增溶的胶原和制造用增溶的胶原加强的纸张的方法，该方法优于已知的改进纸张的方法。本发明还涉及改进的增溶胶原和用上述方法制成的改进的纸张。本发明可用于制造廉价的增溶胶原和纤维素质产品的粘合剂，特别是用于制造机械性能改进、而且价格低廉的再生纤维素纸。

将动物的生皮加工成皮革是一种古老的工艺，现在已是很成熟的工业。四十年代和五十年代由 Mclauglin，G. D. 等写的“The Chemistry of Leather Manufacture”(Reinhold 出版公司，N. Y. 1945) 和 Gustavson，K. H 的“The Chemistry and Reactivity of Collagen”(Academic 出版社，N. Y，1956) 是关于皮革制造化学和胶原反应活性的极好的参考书，而且仍然是对现今工艺的基本描述。“胶原”一词来自希腊文的胶，就象“胶体”一词在希腊文中意味着“胶状物”一样。

生皮由四个不同的层组成，由外向里是：(1) 称作“上皮”的薄的外皮层，该层富含角蛋白，不含胶原；(2) 称作“表皮”或“粒面”层的富含胶原的致密层，从前的文献中也称作“保温”层；

（3）一个富含胶原结缔组织、不太致密的较厚层，称作“真皮”层；和（4）内部的“皮下组织”层，制革工人称之为“肉”，皮肤通过它与下层组织相连。

虽然生皮只能在盐和/或其它生物杀伤溶液中“熟化”以停止微生物降解，但是很多准备用来制革的生皮是“浸灰的”，也就是说，将其浸泡在水合石灰（氢氧化钙）的饱和水溶液中。浸灰过程引发了上皮和皮下层的松解，而且是脱毛过程的第一步。在浸灰完成后，用机械刮擦的方法除掉毛、上皮和任何残留的肉、脂肪及表面肌肉，将表皮层和足够的真皮层一起用机械方法切割，留下靠里的真皮层，使最终的皮革具有所要求的厚度。

在制革时主要关心的是致密的富含胶原的表皮层，它大约为真皮层厚度的25%。在制革过程中，表皮组织要进行分别的化学及鞣制处理，以使胶原结构稳定。

从表皮层中分离出的残余的那部分真皮层被称作“浸灰剖层皮”，是制革过程的副产物废料。正是这些浸灰剖层皮成为制造香肠肠衣的富含胶原的原料，并被用来作为本文实施例中胶原的来源。

在浸灰过程中，皮吸收水并与之结合，变成高度溶胀；此过程中需要pH约为12.5的强碱性。浸灰过程的化学已了解得相当清楚。在进一步作皮革加工之前和在本文所讨论的胶原制造过程中，必须通过在酸或盐溶液中浸泡使皮“脱灰”。

将纤维素材料再生以保护自然资源和降低成本目前是理想的环

境课题。最好是用再生的纤维素材料来代替历史上一直使用新鲜纤维素材料的最终产物。遗憾的是，由再生纤维素制造的产品常常其物理特性与用新鲜纤维素材料制得的不同。这些重要特性之一是强度，它常常降低很多。

先前的试图提高纸张强度的努力包括 Young 的美国专利 3，532，593。Young 介绍了一种分离前在的胶凝化胶原纤维的机械方法，不是象本发明所述的增溶胶原的酶催方法。该专利叙述了从胶原中除去脂肪的方法。在酸溶液中用打浆的方法对胶原进行机械处理，但胶原仍保持不溶。然后将这种机械处理过的不溶性胶原与纤维素纸浆混合，制成纸张。

G. Sauret 等写的一篇法文文章“Le collagne ans la fabrication du papier”（Revue A. T. P. I.，33（8），1979，10，pp 374—365）介绍了一种用 Turmix—Waring 掺混机制备胶原的机械方法。这种经机械处理过的胶原是不溶性的。将它与纤维素纸浆混合制成纸张。

与上述不同，本发明使用一种将少量可溶性的胶原与纤维素材料相组合的方法，下面将进一步介绍此方法。

本发明的一个典型的实施方案是一种用以下步骤制造增溶的胶原水溶液的方法：(a)构成磨细的不溶性胶原的水基浆体，调节其 pH 以获得对后来加入的蛋白水解酶的活性；(b) 向调节过 pH 的浆体中加入蛋白水解酶；(c) 浆体与步骤 b 的酶以及/或步骤 e 的再循环的不溶性胶原和酶在温度 T 下反应一段时间 t，此时间内应能有效地形

成其中被增溶的胶原增多了的溶液；(d) 向步骤 (c) 的溶液中补加水和不溶性胶原并混合之；(e) 将至少一部分含有增溶胶原的步骤(d)的溶液与不溶性胶原分离，藉此将至少一部分不溶性胶原和蛋白水解酶再循环到步骤(c)，抽取分离出的含有被增溶的胶原的溶液作为产物。另一个典型的实施方案不采用再循环步骤，而是直接使用增溶的胶原，不除掉酶。通常步骤c可以重复二、三、四或者更多次。补加的酶可以加到步骤e出来的再循环的不溶性胶原中，它基本上代替了由于抽取产物而被除掉的酶，或者当再循环时的反应速度低于预定水平时加入。在一个典型的实施方案中，此方法以连续方式操作。

通常可以通过将pH调节到蛋白水解酶基本上失活和/或将温度降低到蛋白水解酶基本上无活性来使反应停止。在另一个典型的实施方案中，最好是，在步骤a中调节磨细的湿浆体的液体或固体含量，以便使固体浓度约为0.1%至1.0%重量；在步骤c中温度T以约5—30℃为宜，约15℃至约28℃则更好。在另一个优选的实施方案中，固体浓度为0.3—0.35%重量，步骤c的反应温度为约10—30℃，反应时间10—72小时；最好是反应温度在15℃至28℃之间。典型的蛋白水解酶选自猪粘膜胃蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胶原酶、无花果蛋白酶、木瓜酶、肽酶、蛋白酶A、蛋白酶K、胰蛋白酶、微生物蛋白酶和这些酶的组合物。这种蛋白水解酶最好是胃蛋白酶或一种微生物酸性蛋白酸。在选用猪

粘膜胃蛋白酶时，pH 宜为约 1.5—3.0，温度约为 15℃—28℃。通常，至少有 80%重量以上的不溶性胶原被转化成数均分子量 300，000 道尔顿或更高的可溶性胶原；更优选的是至少 90%重量的不溶性胶原被转化成数均分子量高于 1，000，000 道尔顿的可溶性胶原。

本发明的另一个典型的实施方案包括用以下步骤制备增溶胶原的水溶液的方法：(a) 构成磨细的不溶性胶原的水基浆体；(b) 调节磨细的湿浆体的水或固体含量，使不溶性胶原的浓度能大大增进最终产物中增溶胶原的最大浓度；(c) 调节步骤 b 中浆体的 pH，以获得对于步骤 d 中加入的蛋白水解酶的活性；(d) 加入蛋白水解酶并与调过 pH 的浆体混合；(e) 使步骤 d 的浆体和/或步骤 g 中再循环使用的不溶性胶原在温度 T 下反应一段时间 t，在该时间内能有效地形成溶液，其中含有从不溶性胶原颗粒衍生得到的增溶的胶原；(f) 向步骤 e 中的含有增溶胶原的溶液中补加水和不溶性胶原并混合之；(g) 将至少一部分步骤 f 的含增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离，将不溶性胶原返送到步骤 e，使至少一部分蛋白水解酶再循环，分离出的含增溶胶原的溶液则作为产物抽出。另一个典型的实施方案不采用再循环步骤，而是不除去酶，直接使用增溶的胶原。通常步骤 e 可以重复二、三、四或者更多次。可以向步骤 e 中再循环的不溶性胶原加入补充的酶，以代替由于抽出产物而被除掉的酶，或者当再循环时的反应速度低于预定水平时加入。在一个典型的实施方案中，此方法以连续方式操作。通常通过调节 pH 和/或降低温度使蛋白水解酶

基本上失活的方法来停止反应。在另一个典型的实施方案中，最好是调节步骤b中磨细的湿浆体的固体或液体含量，以便使固体浓度为约0.1%至约1.0%重量；在步骤e中温度T以约5℃至约30℃为佳，最好是约15℃至约28℃。在另一个优选的实施方案中，固体浓度在约0.3%至0.35%重量之间，步骤e的反应温度为约10至30℃，反应时间10至72小时；最好是反应温度为15—28℃。典型的蛋白水解酶选自猪粘膜胃蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胶原酶、无花果蛋白酶、木瓜酶、肽酶、蛋白酶A、蛋白酶K、胰蛋白酶、微生物蛋白酶、以及它们的组合。这种蛋白水解酶最好是胃蛋白酶或微生物酸性蛋白酶。在选用猪粘膜胃蛋白酶时，pH最好约为1.5—3.0，温度为约15℃至约28℃。

通常，至少80%重量的不溶性胶原被转化成可溶性胶原，其数均分子量高于300,000道尔顿；最好是至少90%重量的不溶性胶原被转化成可溶性胶原。

本发明的另一实施方案是一种制备增溶的胶原水溶液的方法，其中包括的步骤有：提供一种不溶的胶原的磨细的水浆体；调节磨细的湿浆体的水或固体的含量，借此使不溶性胶原的浓度大体上造成在最终产物中适合增强纸的最大增溶胶原浓度；调节步骤b的浆体的pH以获得对步骤d中加入的蛋白水解酶的活性；向调节过pH的浆体加入蛋白水解酶并在温度T下反应一段时间t，在该时间内能够有效地由不溶性的胶原颗粒形成增溶的胶原；通过测定增溶胶原

的浓度及分子量来控制反应条件，以得到高浓度的可溶性胶原，当数均分子量高于300，000道尔顿、浓度基本上达到最大值时，反应完成；抽出作为产物的增溶胶原的水溶液。

本发明方法的原料通常可以有许多来源，只要原料比较干净，而且含有粒度较小的含胶原物质，例如见下面讨论的Komanowsky等的方法。从动物组织制备不溶性胶原磨细湿浆的原料的一种典型方法包括以下步骤：(a) 提供含胶原的动物软组织；(b) 使含胶原组织洁净，除去毛、脂肪、碳水化合物及其它污染物；(c) 将含胶原的洁净组织切成小片；(d) 将这些小片与水混合形成浆体；(e) 将浆体的pH调节成大体上接近组织中胶原的等电点；(f) 将调节过pH的浆体湿磨，得到不溶性胶原的浆体。此方法的pH通常约为3—7。本发明还将用以上方法制得的独特的增溶胶原水溶液包括在内。

本发明的另一实施方案包括用以下步骤制造胶原增强的纤维素片材的方法：(a) 形成纤维素纸浆；(b) 将增溶的胶原加到纸浆中，混合一段时间，使纤维素纸浆与增溶的胶原能有效地相互作用；(c) 将相互作用的纤维素纸浆与增溶的胶原制成片材；和 (d) 将片材干燥。通常所形成的片材可以是诸如纸这样的片材。另一实施方案包括一种用增溶的胶原增强纸张的方法，其作法是将增溶的胶原与纤维素纸浆混合，将混合物模制并干燥。

又一个实施方案包括一种增强的纤维素纸浆组合物，该组合物由增溶的胶原与纤维素纸浆的混合物的反应产物干燥后构成。另一

个典型的实施方案是由增溶的胶原与纤维素纸浆的混合物制备的纸的增强纸产品。

本发明的另一实施方案包括用以下步骤制造胶原增强的纤维素片材的方法：(a) 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸盒或它们的混合物与含有水或水与苛性碱的溶液混合，用机械方法浆化，直到形成按干浆固体计的浓度约为 3—6%重量的纸浆；(b) 将纸浆稀释成浓度约为 1—3%重量（按干浆固体计），调节 pH 至约 3.5—7.0；(c) 向稀释的纸浆中加入约 0.1%至约 2%重量的可溶性胶原（按胶原和纤维素物质的干重计），在剪切速度下混合一段时间，使稀释的纸浆固体能有效地与可溶性胶原相互作用，藉此使至少一大部分可溶性胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆体；(d) 将胶原—纸浆浆体稀释到浓度为约 0.1%—1%干重；(e) 将胶原—纸浆浆体制成片材并干燥之。通常步骤 c 中的混合约为 15 分钟。pH 可以用选自盐酸、HCl、HNO_3、H_2SO_4 和乙酸的一种酸来调节。如果需要，此方法可以包括一个在干燥前用胶料涂敷步骤 e 的片材的附加步骤。一般来说，胶料可以是数均分子量不大于 100，000 道尔顿的胶原水解产物。干燥过的片材可以压光。步骤 a 的苛性碱通常可以是浓度约为 0.25—1.00%重量（按纤维素纸浆固体干重计）的 NaOH 溶液，pH 范围为 10—14。

增溶的胶原的数均分子量通常在 300，000 道尔顿以上，最好是约 1，000，000 以上。混合时的剪切速度和其它条件适合促进胶原

—纸浆的相互作用而不会使胶原的三股螺旋结构变性。在某些应用中这种胶原—纸浆浆体的浓度最好是约0.5%重量（干重）。如果需要，在步骤a中成浆后或在步骤b中稀释后或者在精磨后，加入明胶/松香添加剂。另外，在步骤e中形成了片材之后，可以在干燥之前将所形成的片材湿压到预先选定的厚度。

在一个典型的实施方案中，若是步骤a中只选用水，则附加的对步骤a中纸浆/水浆体进行精磨的步骤最好是使纤维素纤维纤丝化，以便在步骤e中形成片材时获得选定的游离度。若是主要选用回收的新闻纸，此游离度最好在约100 CSF和约150 CSF之间，当选用基本上是回收的硬纸箱时，游离度最好是在约300 CSF和约400 CSF之间。

另一实施方案包括制造胶原增强的纤维素片材的一种方法，其中包括以下步骤：(a) 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱或它们的混合物的一种纤维素材料与含有水或是水与NaOH的溶液相混合，用机械方法浆化，直到形成按纸浆干固体计浓度约为3%—6%重量的纸浆为止；(b) 将纸浆稀释到浓度约为1—3%（按纸浆干固体计）重量，调节pH到约3.5—7.0；(c) 向步骤a之后的纸浆中或向步骤b之后的稀释的纸浆中加入明矾/松香添加剂；(d) 将含有明矾松香的稀释过的纸浆制成片材；(e) 用数均分子量不大于100，000道尔顿的胶原水解产物涂布片材的一面或两面；将该片材干燥。

另一个典型的实施方案包括一种制造胶原增强的纤维素片材的方法，其步骤包括：(a) 将选自新鲜的纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱或它们的混合物中的一种纤维素材料与含有水或水与NaOH的溶液混合，用机械方法成浆，直到形成按纸浆干固体重量计浓度约为3—6%的纸浆；(b) 将纸浆稀释到浓度约为1—3%重量(按纸浆干固体计)，调节pH至约3.5至7.0；(c) 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；(d) 调节磨细的湿浆体的水含量或固体含量，藉此使不溶性胶原的浓度能大大增进增溶胶原在最终产物中的最大浓度和分子量；(e) 调节步骤d中浆体的pH以获得对步骤f中加入的蛋白水解酶的活性；(f) 向调节过pH的浆体中加入蛋白水解酶，在温度T下反应一段时间t，在该时间内能有效地由不溶性胶原颗粒形成高分子量的增溶胶原的溶液；(g)通过同时测量增溶胶原的浓度和分子量来控制反应，以得到高增溶度的胶原，而且使增溶的胶原的分子量处在能与纤维素纸浆结合的范围，当分子量和浓度基本上达到最大值时，反应完成；(h) 向含有步骤f中高分子量增溶胶原的溶液中加入不溶性胶原，加或不加补充的水，混合；(i) 将至少一部分含高分子量增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离，将不溶性胶原返送回步骤d，藉此将至少一部分蛋白水解酶再循环，抽出分离出的含高分子量可溶性胶原的溶液；(j) 将分离出的步骤i的含约0.1%—2%(干重)可溶性胶原(按纤维素物质干重计)的溶液加到稀释过的纸浆中并在剪切下混合一段时间，在该时间内能有效地使稀释的纸浆

固体与可溶性胶原相互作用，从而使至少很大一部分可溶性胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆体；(k) 将胶原—纸浆浆体稀释到干重浓度约为 0.1%—1%；(l) 将胶原—纸浆浆体制成片材，并将片材干燥。

另一个实施方案包括用以下步骤制造胶原增强的片材的方法：(a) 形成不溶性胶原的磨细的水浆体，调节浆体的 pH 以获得对步骤 b 中加入的蛋白水解酶的活性；(b) 向调节过 pH 的浆体中加入蛋白水解酶；(c) 使浆体与步骤 b 或步骤 e 中的酶在温度 T 下反应一段时间 t，在该时间内能有效地形成其中的高分子量增溶胶原增多的溶液；(d) 向步骤 c 的溶液中加入不溶性胶原，补加或不补加水，混合之；(e) 将至少一部分步骤 d 的含高分子量增溶胶原的溶液与不溶性胶原分开，将至少一部分蛋白质水解酶再循环到步骤 c，抽出作为产物的含高分子量增溶胶原的分离出的溶液；(f) 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱或它们的混合物的一种纤维素材料与含有水或水与苛性碱的溶液相混合，用机械方法浆化，直到形成按干浆固体计浓度为约 3—6%重量的纸浆为止；(g) 将该纸浆稀释到按干浆固体计浓度约为 1—3%重量，调节 pH 至约 3.5—7.0；(h) 将步骤 e 中的可溶性胶原加到稀释过的纸浆中，其数量为可溶性胶原的干重约占 0.1—2%（按纤维素物质的干重量计），在剪切速度下混合一段时间，在该时间内稀释的纸浆固体能与可溶性胶原相互作用，从而使至少一大部分可溶性胶原结合到纸浆上，形成胶原—

纸浆浆体；(i) 将胶原—纸浆浆体稀释到干物质浓度约为 0.1—1% 重量；以及 (j) 将胶原—纸浆浆体制成片材并干燥之。

另一个典型的实施方案包括一种用以下步骤制备高分子量的增溶胶原水溶液的方法：(a) 形成不溶性胶原的磨细的水浆体；(b) 调节磨细的湿浆体的水或固体含量，使得不溶性胶原的浓度能大大增进最终产物中增溶胶原的最大浓度及分子量；(c) 调节步骤 b 中浆体的 pH，以获得对于在步骤 d 中加入的蛋白水解酶的活性；(d) 加入蛋白水解酶并与调节过 pH 的浆体混合；(e) 使步骤 d 的浆体在温度 T 下反应一段时间 t，在该时间内能有效地形成其中含有由不溶性胶原颗粒衍生得到的高分子量增溶胶原的溶液；(f) 向步骤 e 中含有高分子量增溶胶原的溶液中补加水和不溶性胶原并混合之；(g) 将至少一部分步骤 f 的含高分子量增溶胶原的溶液与不溶性胶原分离，将不溶性胶原返送回步骤 e，藉此使至少一部分蛋白水解酶再循环，分离出的含高分子量增溶胶原的溶液则被抽出作为产物；(h) 将选自新鲜纸浆、损纸、回收的新闻纸、回收的硬纸箱或它们的混合物的一种纤维素材料与含有水或水与 NaOH 的溶液混合，用机械方法浆化，直到形成按干浆固体计浓度为约 3—6% 的纸浆浆体；(i) 将其稀释至浓度为约 1—3% 重量的纸浆，调节其 pH 至约 3.5—7.0；(j) 将步骤 e 的可溶性胶原加到稀释过的纸浆中，其数量按可溶性胶原的干重计为约 0.1—2%（以纤维素物质的干重为基础），在剪切速度下混合一段时间，以使稀释过的纸浆固体能有效地与可溶性胶原相互作

用，藉此将至少一大部分可溶性胶原结合到纸浆上，形成胶原—纸浆浆体；(k) 将胶原—纸浆浆体稀释到干物质浓度约为 0.1—1%重量；以及 (l) 将胶原—纸浆浆体制成片材并干燥之。

本发明的又一个实施方案包括用以下步骤制备胶原增强的纤维素片材的方法：(a) 形成纤维素纸浆浆体；(b) 向该纸浆中加入增溶的胶原，使纤维素纸浆和增溶的胶原的浓度高于约 2%重量，混合一段时间，使纤维素纸浆浆体与增溶的胶原能有效的相互作用，混合温度高于约 35℃，最好是高于 40℃；(d) 将相互作用的纤维素纸浆与增溶的胶原制成片材，以及 (e) 将该片材干燥。

附图的简要说明

图 1A 表示胶原溶液的非牛顿性质。本发明增溶胶原的稀溶液 (A) 和 BA—1 胶原溶液 (B) 在两种剪切速度 (20 和 100 转/分) 下的粘度。粘度以厘泊为单位，画在纵坐标；近似的固体浓度以 mg/ml 为单位，画在横坐标。

图 1B 表示在 20 转/分下测得的粘度与在 100 转/分下测得的粘度的比值，本文称作“粘度比”。此数据由图 1A 中本发明增溶胶原 (A) 或 BA—1 胶原溶液 (B) 的数据结果计算得出。粘度比画在纵坐标，近似的固体浓度 (mg/ml) 画在横坐标。

图 2 是实施例 1A 的数据图，表示在 20 和 100 转/分下的粘度。纵坐标为粘度 (厘泊)，横坐标为反应时间 (小时)。

图 3 是一次小批量胶原增溶反应的图，它表示了实施例 3A 中

胃蛋白酶的再循环。纵轴为粘度比，横轴为反应时间（小时）。

图 4 是表示实施例 5A（用 A 表示）和 6A（用 B 表示）中粘度比的变化图。纵坐标为粘度比，横坐标为反应时间（小时）。

业已发现，将增溶的胶原物质在造纸过程之前（即，与纤维素纸浆纤维在纸机浆池内混合之前）加到纤维素纸浆中，会使纸—胶原复合体的强度大大增加。此结果是出乎意料的，因为先有技术认为必须要有较大的不溶性胶原聚集体，例如通过机械粉碎牛皮得到的那些。在造纸中未考虑使用可溶性胶原的一个原因是预料可溶性胶原在造纸时使用的流体温度（高于约 40℃）下会受热变性。变性的胶原不会象天然的胶原聚集体那样有用。另一个出乎意料之处在于，原来料想能最好地将纤维素纸浆粘结在一起的是尺寸较大的颗粒（例如和纤维素纸浆本身同量级的颗粒）而不是能在水中溶解的胶原。正如在本文实施例中所显示的，经过在很高重力下离心后基本上除掉所有的不溶性物质后的增溶胶原，在增高纸的强度方面十分有效。另外，目前这类胶原溶液还没有经济划算的大规模使用或工业来源。在食品、化妆品和药物工业中小规模地使用可溶性胶原，产品的价格比本发明在纤维素纸浆和纸的应用方面经济上能够接受的要高很多。

以下定义在阅读本文的公开内容时将是有用的：

酸化的胶原—已用酸处理或用酸溶液萃取过的胶原。

打浆—在高剪切速度下混合纸浆，以便使纸浆纤维分开和尺寸

膨胀。

损纸—造纸过程中的碎纸。

压光—在纸中产生表面光洁度和硬度的工艺，通常是通过在（反向转动的）圆筒之间联机压制来进行。

纤维素纸浆—由纤维素物质经机械、化学或其它方法得到的干或湿的纤维。

胶原凝胶—以天然分子状态存在的胶原，为连续的、高度水化的纤丝网状结构。

胶原胶料—在纸页制成后作为涂料加上的胶原。

游离度—在标准试验装置中得到的表示制造期间水是否容易（游离地）从纸页中排走的一种量度；一种工业上公认的标准是加拿大标准游离度（CSF）。

机械浆化—用特别设计的高剪切混合机使纤维素纤维机械分离。

机械加工—将富含胶原的材料机械剪切，以减小颗粒尺寸并诱发凝胶形成。

混合胶原和纤维素（如纸浆）—在较低的剪切速度（与打浆相比）下进行混合，这有助于高分子量的胶原与纤维素纸浆的反应，以便实现增溶的胶原和纤维素纸浆的相互作用。

分子量—这里所用的这一名词，除非另外说明，均指数均分子量。

天然胶原—保留着正常的α—链三股螺旋组合体的胶原分子。

旧瓦楞纸箱—由回收的瓦楞纸箱或类似的牛皮纸成浆工艺得到的再生纤维素纤维。

旧新闻纸—由回收的报纸及类似来源得到的再生纤维

回收纸—回收得到的纸。

再生纸—回收的纸经过再加工，制成新的可用的纸。

精磨—纸浆的一种预处理，使纤维素纸浆纤维膨胀和分离。

增溶的胶原—胶原经过处理使胶原纤丝分离以具有可溶性，同时保持天然胶原的正常的三股螺旋组合体结构；胶原纤丝之间的共价键被打断，于是较小的胶原分子可以进入溶液；与之相比，机械加工和/或酸处理的胶原只使胶原块的形体较小，但是未打断纤丝之间的共价键；本文所用的增溶胶原用酶催方法增溶，它打断了胶原纤丝之间的共价键。

粘度比—一个溶液在两个不同剪切速度下的两个粘度测定值之比。这是一常用方法，用来跟踪由于从不溶性胶原的浆体中产生的增溶胶原的增多或减少而造成的粘度的增高和降低。另一种常用方法是只用粘度测量跟踪增溶胶原的增多或减少。

A. 第一种通用的实施方案

第一种通用的实施方案中的一个典型的实施方案利用再循环步骤将通常随着取走可溶性胶原而损失掉的酶重新捕集和使用，从而实现了低成本操作。第一种通用实施方案中的另一个典型的实施方

案的操作成本也低廉，但是不采用再循环步骤重新捕集酶。在后面这一实施方案中，将增溶的胶原直接用于其最终用途（例如造纸），而不除掉酶或将增溶胶原纯化。

本发明第一种通用实施方案的优点是：(1) 直接由磨细的皮料加工成最大数量的可溶性大分子，降低了制备可溶性胶原的成本；和(2) 与此同时，增大了转化成能与纤维素纸浆结合的可溶性胶原物质的转化率，并且控制可溶性胶原物质的分子量以增强对纸浆纤维的结合作用，从而提高了纸产品的最终抗拉强度和/或其它机械性能。与先有技术中的不溶性的较大聚集体相比，在制造纤维素产品(例如纸)时使用增溶的胶原的另一主要优点是纤维素纸浆中胶原的分布更均匀。

在这里提到的实施例中使用牛皮作用为胶原来源，因为由皮制造胶原的方法已有大量报道，而且所用的材料是生产牛肉与制造皮革这些大工业的体积庞大的副产品；但是预期得自其它来源（例如腱）的胶原也可用于本发明。

皮的胶原增溶是用未经任何其它纯化步骤的一种动物胃酶（例如胃蛋白酶）及几种其它的酶进行酶催水解工艺来实现的。这种方法使磨细的皮制剂在室温和酸性溶液中于 10—30 小时内几乎完全增溶。其它（未试验）的酶可能会使含胶原组织更快或更便宜地转化，而且此方法还未经最优化处理以便将酶用量和生产时间降至最小。目前，此方法的规模已达到生产约 500 加仑 0.3—0.4%的胶原

溶液，而且比较容易控制。

实施例

以下的实施例是对新组合物及制备它们的新方法的示例说明，并非是对本发明的限制。

材料

所用的胃蛋白酶是由 Sigma 化学公司（St. Louis，MO）购得的从猪胃粘膜中得到的粗粉（产品编号 P7125，相对地未纯化）。在实施例中使用的批号＃070 H0437 的这种产品含大约 15%的蛋白质（根据紫外）活性为 91 胃蛋白酶单位/mg 固体和 620 单位/mg 蛋白质。在制备过程中残留的固体象是沉淀盐、缓冲盐和/或碳水化合物的混合物。晶态的胃蛋白酶的最大比活性约为 3500 单位/mg 蛋白质。

用以下各种酶进行了补充试验：Sigma 化学公司的胃蛋白酶粗粉；AFP 2000，Solvay 酶制品公司，由黑曲霉菌株得到的酸性霉菌蛋白酶；Newlase A（由黑曲霉菌株得到）和 Newlase II（由雪白根霉菌株得到），美国 Amano 酶制品公司；Quest AP，Quest 国际公司，由黑曲霉菌株得到的酸性蛋白酶；EDC—APA（EDC 酸性蛋白酶 A）和 EDC—APB（EDC 酸性蛋白酶 B），Enzyme Development Corporation 产品。

本发明用于实施例 1A—6A 的胶原浆体是由磨细的牛皮浸灰剖层皮制得。胶原购自 Teepak 的 Sandy Run Plant，Columbia，SC. 实施

例6A中材料的典型分析为pH=6.4；固体含量=15.67%；明胶含量=2.62%；脂肪含量=2.1%。Komanowsky．M等在1974年美国农业部(USDA)报告“Production of Comminuted Collagen for Novel Applications”（J. American Leather Chem．Assoc.，6，410－422，1974）中介绍了将浸灰剖层皮预切、酸化及湿磨的方法，根据磨细的程度和所形成的粒度及织构分类，得到五种“磨细”的胶原产物。随后在1978年Turkot等在“Comminuted Collagen：Estimated Costs of Commercial Production”（Food Tech.，48－57，April，1978）一文中提出对这五种产品制造成本的经济分析。由这一装置得到的产品非常接近于作为这里的实施例中胶原来源的磨细的浸灰剖层皮材料。

对于实施例7A到11A，除非另外说明，酶催明胶增溶均按以下方式进行。胶原源（磨细的生皮或浸灰剖层皮）按实施例7A中所述用0.06英寸的切割头在水浆体中磨细，在4℃和10000转/分下在Beckman J2－21离心机(JA—20转子)中离心20分钟除去多余的液体。此离心机的转数/分与重力之比约为1：1，因此在10000转/分下的离心力约为10000倍重力。除掉上层清液，将离心出的固体(7.5g)加到装有750ml去离子水的1升的锥形烧瓶中。用一个2英寸长的磁搅拌子搅动此悬浮液，用浓盐酸调节pH。向锥形烧瓶中加入酶，瓶子则置于固定在所要温度的恒温箱中。从每种反应混合物中倒出约100ml在烧杯中并置于室温下测定粘度。测定粘度时用Brookfield Synchro—lectric粘度计（RVT型）。使用3号转子在20和

100 转/分下进行测定。每种速度下取 3 次读数平均，算出以厘泊为单位的粘度。在规定的时间取出测定粘度用的那份液体，然后再倒回原来的锥形烧瓶中。

在实施例中作为对照溶液使用的一种胶原溶液（“BA—1”）由 Kensey Nash Biomaterials 公司（Exton，PA）作为可溶性皮制品 Secolan BA—1 提供。此胶原溶液通常是奶白色；pH＝3. 1—3. 3；总固体量＝1%±0. 2%；活性胶原＞0. 67%（在实施例中标称 1%）。此产品有时在到货时发现略有胶凝。但是，根据电泳分析后观察到的图形，据信 BA—1 是用酸萃取法制得的，而不是利用本发明中采用的酶催反应。

已经发现，通过定期地测定溶液粘度，可以有效地监测含胶原固体的增溶。流体的粘度可以方便地用许多比较简单的方法测定，例如实施例中使用的 Brookfield RVT 型粘度计（3 号转子）。在这种 Brookfield 系统中，一个园盘以恒定的转速在流体中转动，利用流体施加在园盘上的力来估算流体粘度。在这里提到的胶原溶液中，流体的粘度强烈地依赖于已溶的胶原的浓度、可溶性胶原的分子量分布及流体温度，并且在较小的程度上还与流体的 pH 及离子强度有关。

当粘度与施加的力（剪切应力）无关时，流体被称作“牛顿体”。对于很多大分子溶液，包括这里讨论的棒状胶原分子，溶液的粘度与施加在液体上的力很有关系，这种液体被称作“非牛顿体”。

若是溶解的大分子十分细长，而且剪切速度（与转速成正比）足够高，则这些分子会随流体的流线定向，它们对流体速度的影响也以与剪切速度很有关系的方式减小。

胶原溶液的非牛顿行为示于总结在图 1A 的实验中，在该实验中于室温下测定在用蒸馏水逐渐稀释溶液时增溶胶原及 BA—1 制剂的粘度的变化。在此实验中当稀释样品时溶液的 pH 值可能会发生某些未校正的增加，但是，数据的变化趋势是真实的。

对于每种溶液，在两种转速（20 和 100 转/分）下测定粘度。园圈（—⊙—）和黑圈（—●—）分别代表本发明的增溶胶原在 20 和 100 转/分下的数据。空心方块（—□—）和实心方块（—■—）分别代表 BA—1 胶原对照样在 20 和 100 转/分下的数据。两种溶液都和预料的一样在低转速下较粘。实施例中制造的胶原的粘度与 BA—1 制剂的粘度有很大差别，制得的胶原溶液在较低的胶原浓度下就有较高的粘度，而且斜率更陡。这些效应看来主要是由于两种溶液中胶原分子的平均分子量不同，本发明的胶原溶液有较大的数均分子尺寸。这一对比表明，本发明的方法成功地制得了在较低浓度下有较高粘度的胶原材料，这也表明该胶原的数均分子量较高。

在 20 转/分下测得的粘度与在 100 转/分下测得的粘度之比在这里称为“粘度比”，它是这种非牛顿性分子量依赖效应的一种方便量度。这示意说明在图 1B 中，图中本发明胶原溶液的粘度比 BA—1 的高。在图 1B 中，园圈（—⊙—）表示由本发明增溶胶原得到的

数据，空心方块（—□—）表示由 BA—1 胶原溶液得到的数据。这里所用的粘度比是固体胶原物质转化成可溶性胶原分子的“转化度”的量度，也是分子量的一种量度，粘度比越高将表明溶解的胶原具有所希望的较高的数均分子量。在图 1B 中尤其要指出的是，由于物质是被稀释的，所以粘度比的增加反映了可溶性胶原浓度的增加，因为物质的分子量保持不变。在以下的实施例试验中，粘度和粘度比的变化反映了浓度的变化。如果需要，可以用色谱和电泳方法测定峰值可溶性胶原含量。

或者是，用十二烷基硫酸钠（SDS）聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）按常规进行增溶胶原的成分分析，在该方法中使用一个 3% 的积层凝胶、6% 的电泳胶，接着与 β—巯基乙醇一起沸腾发生变性。在变性过程中发生某些不可逆的沉淀。用考马斯蓝染料将凝胶染色，只在染色缓冲液中脱色。

这种方法的 PAGE 结果（未示出）显示，BA—1 溶液主要含原胶原单体（300，000 道尔顿）聚集体。用本发明方法制备的胶原溶液具有合格的与纸结合的性能，其数均分子量至少为 300，000 道尔顿，PAGE 结果表明，某些组分具有 α、β 和 γ 链的完整的三股螺旋结构，其它的制品可能有断裂的螺旋。

还用带有 pharmacia phastGel 体系的 SDS—PAGE 法对增溶的胶原成分作了例行分析，使用 phastGel Gradient 4—15% 的聚丙烯酰胺凝胶。凝胶中的缓冲体系是 0.112M 三羟甲基氨基甲烷（Tris）乙酸

盐，pH6. 4。使用 pH 为 8. 1、含有 0. 2M Tricine、0. 2M Tris 和 0. 55% SDS 的 Phast Gel SDS 缓冲剂解吸液流过凝胶。此分离方法引自 Phast 系统分离技术文件号 130，表 2。

向样品中加入浓的 SDS 贮备溶液（20%）和缓冲液（5 倍贮备液）来配制用于凝胶电泳的样品。最终浓度为 10mM Tris/HCl (pH8. 0)，1mM EDTA，2—2. 5%SDS 和 0. 01%溴酚蓝。然后将各样品在 100℃下加热 5 分钟，取大约 1μl 加到凝胶上。在某些早期实验中，在加热之前向样品中加入 2—巯基乙醇（一种还原剂）。2—巯基乙醇的加入对凝胶的图形没有影响。

在电泳结束后，用 pharmacia 银试剂盒将凝胶染色。使用的染色方法引自 PhastSystem 银试剂盒使用说明书，表 2。为改进在凝胶上的可见性，将显影时间和背景还原时间加倍。

凝胶中的洗涤剂 SDS 将所有非共价结合的胶原聚集体分散开，只留下共价结合的分子。这些分子在凝胶上的迁移程度与它们的分子量有关，根据分子量标准样在同一凝胶上的共电泳来指认胶原谱带的大致分子量。增溶胶原的 PAGE 分析结果显示出在 100，000 道尔顿（α—胶原）、200，000 道尔顿（β—胶原）、300，000 道尔顿（γ—胶原）的谱带和 300，000 道尔顿以上的谱带。谱带的强度与分子量的次序相反。

可溶性或不溶性胶原的分析通常是先测定样品内的羟基脯氨酸含量，然后将此浓度与胶原相关联。羟基脯氨酸是用 0. 1ml 样品测定

的，该样品先有聚丙烯试管中于125℃下干燥。将样品溶在0.05ml 4M氢氧化钠中，加盖，然后高压加热30分钟。在每只管子中加入柠檬酸（0.05ml的1.4M溶液）和氯胺T试剂（1ml溶液，该溶液中含1.41g氯胺T、10ml正丙醇、10ml去离子水和30ml pH6的柠檬酸/乙酸缓冲液），然后在室温下恒温20分钟。随后加入1ml PDAB溶液（溶液中含15g对二甲基氨基苯甲醛、62ml异丙醇和26ml 60%高氯酸）。将样品在65℃下恒温20分钟，随后每种样品取0.2ml转移到微滴定板读出器上，读取570μm的吸光度。一个含3.0mg/ml胶原的纯化过的胶原（Vitrogen 100™；Celtrix公司）经测定发现含0.33mg/ml羟基脯氨酸。以此胶原制品作为标准，用因子9.1乘以羟基脯氨酸浓度将得到胶原浓度。

用高压液相色谱(HPLC)分析可溶性胶原的完整的分子量分布。HPLC是用TOSOHAAS TSK—GEK G 6000PW柱(30cm×7.8mm)在Waters 650高级蛋白质纯化系统上进行。在0.25ml/分下（除非另外说明）监测220nm处的吸光度。流动相中含10mM的盐酸。使用带10μm烧结玻璃的柱子预滤器。

用PAGE电泳对含HPLC峰的各流出级分进行分析，以确定其组成胶原分子的大小。凝胶中的SDS打散了胶原聚集体，因此用此法只能确定共价结合的分子的分子量。第一个流出峰（峰1）含有数均分子量大于300,000道尔顿的分子以及数均分子量约为200,000和100,000道尔顿的分子。这些较小的分子看来象是被SDS打散的

较大聚集体的组成分子。第二个流出峰（峰2）含有数均分子量约为300，000、200，000和100，000道尔顿的分子。这些200，000和100,000道尔顿的分子象是被洗涤剂SDS打散的300,000道尔顿聚集体的一部分。第三个HPLC流出峰（峰3）含有数均分子量小于约100，000的胶原片段。

在以下实施例中，确定了在磨细的牛皮浸灰剖层皮于pH2.0—2.2的范围内进行胃蛋白酶水解时，它几乎可以完全被增溶。每批反应的时间在室温（22—26℃）下通常为10—30小时。在此方法中得到的可溶性胶原的最大浓度约为0.30—0.40%（3—4mg可溶的胶原/ml）。如下所述，此方法已在最高达2.0升的规模上以及采用基本上相同的配方在约500加仑的规模上得到证实。微生物蛋白酶给出如下所述的类似结果。

实施例1A

在室温下用磁搅拌子将约15g湿的Teepak胶原固体悬浮在750ml Columbus（俄亥俄州）自来水中。用浓盐酸（约65—70滴）将溶液的pH调节到2.1。然后在搅拌下将0.38g胃蛋白酶粗粉加到胶原悬浮液中以引发反应。将悬浮液搅拌过夜，在此期间将溶液热至26—27℃，有时由于搅拌器板的传导问题会更热。在反应的第二天定期地测定溶液的粘度（20和100转/分），直到粘度比达到最大值，此时将pH提高到3.0—3.5和/或将溶液放在冰箱中以使溶液稳

定。pH 升高到 4.0 以上会引起胶原溶液的不可逆的胶凝。

实施例1A 的结果画在图 2。图 2 代表了粘度(以厘泊为单位)随反应时间（小时）的变化。在 20 转/分（方块）和 100 转/分（园圈）下测定粘度。在完成了 pH2. 1 下的反应之后，取出三份样品，将 pH 调节到 2.1 (—■—)、2.8 (—●—) 和 3.5 (—⊗—)。几天后在 20 转/分下作的粘度试验证实，样品在 pH＝3. 5 时的确比 pH＝2. 1 时更稳定和保留了更多的原有粘度。

实施例 2A

在一系列大约 10 个实验中研究 Teepak 胶原在 30—35℃下的水解，以便确定减小增溶过程中胃蛋白酶用量的可能性。通常，酶催反应的速度每升温 5—10℃就加快一倍。在这些实验中，用加热带缠裹一个 4 升的不锈钢烧杯，然后用石棉带绝热。用一个与加热带连接的调压变压器将溶液的温度控制在约±1—2℃。将上述过程放大到 2 升反应体积，对较低的胃蛋白酶浓度及加热方式进行研究。在几乎所有情形中，Teepak 固体都在 10—15 小时内完全增溶，增溶的产物中未出现粘度明显增大。

代表性的十个实验如下：将 2 升水加到烧杯中，加入 40g Teepak 胶原，然后用浓盐酸将 pH 调节到 2.13，最后加入 1.0g 胃蛋白酶粗品。浴温最初为 30.0℃，大约 2.5 小时后温度为 33℃，100 转/分下的粘度为 19 厘泊，大约 5.5 小时后温度为 36.5℃，粘度为 8 厘泊。

此样品在33—36℃下于8小时内完全被增溶，没有发生表明形成了较高分子量物质的粘度上升。这些实验证实，预期在较高的反应温度下进行此方法时很难保存住胃蛋白酶，即便是在水解过程的初期。对于积细这种特别大分子量的胶原而言，最可行的温度似乎是约30℃。

实施例3A

减小本发明方法中胃蛋白酶用量的另一种方法由总结在图3中的实验说明。在此实验中，将以上配料（750ml俄亥俄州Columbus自来水、15.5g Teepak胶原、0.38g胃蛋白酶、pH=2.1）在第0天于2升烧瓶中和室温下混合，以诱发反应（罗马数字I）。在大约1天后，补充加入750ml水和16.1g Teepak胶原固体，但是不补加胃蛋白酶（罗马数字II）。将烧瓶搅拌约5分钟使内容物混合，用30滴浓盐酸重新调节pH，然后关掉搅拌器使固体沉出。在大约30分钟后，将750ml上层清液（第一天上层清液（D1））倒入另一烧瓶中，重新搅拌两个烧瓶。第一天上层清液中含有一些细的胶原颗粒，但它的悬浮固体含量比底部级分的少得多。在反应大约2天后，对第一个烧瓶重复同样的步骤：稀释（755ml水）、加入胶原固体（15.2g Teepak胶原）、用30滴浓盐酸调节pH（罗马数字III）并倒出“第二天”上层清液（D2）。

水解反应的进展情况由图3中的实线（—X—）说明。园圈（—

⊖—）表示第一天上层清液的水解反应进展图，而方块（（—□—））则表示第二天上清液的图。在此实施例中三次典型的 Teepak 胶原加料用一次加入的胃蛋白酶水解，虽然水解的速度看来随循环次数而减小。因为第一天和第二天的上层清液在从主反应器倒出来后其粘度比均有增加，所以显然有一些胃蛋白酶和不溶性胶原与上层清液一起转移。但是，胃蛋白酶对固体胶原颗粒的亲合性比对可溶性胶原的大，因此大部分酶在从体系中被取走之前可以循环几次，这样就减小了这一试剂的花费。最好是用离心法将上层清液与不溶性胶原分离，以使液体与固体更好地分开。

最好是在加工循环步骤中形成稳态。当再循环步骤中反应速度降至预定水平以下时，在移走反应产物的步骤之后补充加入酶，就可以作到这一点。最好是补加的酶刚好弥补抽走产物造成的损失。

实施例 4A

在上述实施例 3A 的标准配方中，用 750ml 白水（造纸工艺的再循环水）代替自来水进行实验。随后加入 15.5g Teepak 胶原，用 40 滴浓盐酸将 pH 调节到 2.14，加入 0.375g 胃蛋白酶。因为在此实验期间室温升高，所以反应在 29—31℃下进行，增溶进行得看来比在 25—26℃下的标准反应更快。在这个单独的反应中形成了良好的粘度，固体接近完全增溶，在此溶液中进行这一方法看来没有问题（见表 1A）。使用来自造纸工序的再循环白水将大大减小此步骤中需

要加入的水量。

表 1A　在造纸白水中制得的增溶胶原

时间（小时）	粘度		粘度比
	20 转/分	100 转/分	
0	—	—	—
18.5	415	177	2.34
22	440	186	2.37
26.7	365	166	2.20
42	280	136	2.06

实施例 5A

在此实施例中，将 500 加仑自来水（Savannah，GA）加到一个带有双桨搅拌器的 600 加仑不锈钢槽内，将 75# 的 Teepak 胶原（13.5#）18%固体含量）分散在水中。加入约 1.4 升浓盐酸使 pH 为

2.14。缓慢加入胃蛋白酶（1.01kg；Sigma 公司，批号# 70H0437），然后用聚乙烯薄膜盖住槽，将槽搅拌过夜。在大约 20 小时后，水解未完全（粘度比＝1. 32）。因为液体和室温较低（约 20℃），所以决定在槽外底上通入直接蒸汽以升高液体温度。使用蒸汽约 2.5 小时，此时间内液体温度为 23℃，粘度比为 2.15，然后停止蒸汽加热。

在大约 31 小时时，粘度比为 2.43，对于这一反应此值是相对较高的。决定加入约 450g 小片状 NaOH 将槽中的 pH 调节到约 3.0，以便稳定此溶液（减慢/停止胃蛋白酶反应）用于第二天的纸中。在调节 pH 之前，将大约 55 加仑 pH＝2. 1 的溶液保存在 5 加仑的容器中。因为 pH＝2. 1 的溶液的粘度比（图 4 中的园圈—◉—，用 A 表示）过夜后比 pH＝3. 0 溶液的（黑圈，—●—）略有下降，所以断定 pH 的调节有助于产品在室温下贮存时保持尽可能最高的分子量。

在反应约 24 小时后，在靠近混合器转杆的胶原溶液上表面观察到有漂浮的固体物质（因其密度低，设想是脂肪）。虽然该实验中未曾试图除掉这种残余物，但是如果发现残余的脂肪对胶原的性能有害，很容易将其由制品中撇除掉。

在使用本实施例和下述实施例 6A 中制得的胶原溶液之前，先将溶液通过一个开孔约为 1×3mm 的编织塑料筛过滤，以除掉少量的降解很慢的皮粒。特征上这些颗粒是要被胃蛋白酶溶解的最后物质，其粒度常为 3—5mm。从胶原溶液中滤出这些残余颗粒中的大样

品，测定其干重。在胶原溶液的整批料中考虑这些部分重量，估算出用此方法使初始固体的95%以上被增溶。

实施例6A

在此实施例中，将500加仑自来水（Savannah，GA）装入同样的槽中，一月份的水很冷，约11℃。将Teepak胶原（79.5#（磅），干重15.67%，12.5#（磅）固体）分散在上述水中，然后加入1.5升浓盐酸使pH至2.18。慢慢加入胃蛋白酶(1.01kg；Sigma公司，批号#70H0437)，然后用聚乙烯薄膜盖住槽。在槽的外底面通入直接蒸汽约4小时，使液体温度从11.5升至25℃。此时pH为2.40，再加入0.4升浓盐酸使pH降至2.29。将槽用聚乙烯膜包住使槽绝热过夜。在大约28小时后粘度比为2.51，温度约22℃，pH=2. 46。加入约600g片状NaOH使槽内的pH=2. 98，象以前一样将槽包好并搅拌过夜。最终的粘度比为2.61。结果示于图4中的B(—X—)。

因为实施例6A中的胶原溶液是在第一天的反应温度比实施例5A高大约2—3℃下制备，所以反应看来进行得更快，大约早4—5个小时反应完全。当把pH调节到约3.0时，最终的溶液似乎减慢了酶催反应，以致于过夜后观察到可溶性产物有轻微降解。

此方法意在用酶催水解反应使牛皮几乎完全转化成胶原溶液。此方法的目的是以最高的产率制造可溶性胶原产物，同时将转化成本及固定的资金消耗降至最低。此方法不打算制造食品级或医药级

的可溶性胶原，因此对于制备干净溶液的技术要求很少，而且预期不必将可溶性胶原纯化。没有试图去除在磨细的剖层皮原料中浓度低于胶原的其它生皮组分（脂肪、蛋白多糖，其它蛋白质及盐等）的残余物。

此方法需要一系列的切碎机和研磨机以便将原料浸灰剖层皮变成容易转化成可溶性胶原的碎料。如上所述，此方法的“前端”看起来象是制造磨细胶原的USDA方法。根据为防止微生物生长而对生皮进行的预处理方式，生皮可能需要脱灰或者酸化以便除掉残余的钙盐或其它生物杀伤剂。然后将磨细的固体与工艺水（或来自造纸厂的去掉了固体的白水）混合，将pH滴定到2.0—2.2，加入酶以开始增溶过程。在转化之后，可以将可溶性固体直接泵入造纸工序与精磨过的纸浆固体混合，或者将其稳定后贮存之。

在小规模试验中，胶原和纸浆固体之间的最大相互作用发生在溶液的pH约为4.0或更低、纸浆浓度为1.0%或更稀时。因此，将贮槽内的纸浆调节到约pH 4.0或更小似乎有利，但是通常仍在pH5—6下操作，因为此时纸更稳定。

实施例7A

用前述的Komanowsky等的方法制备“USDA”原料胶原如下。将两张浸灰剖层皮和一张脱毛和浸灰的生皮卷起来切成12英寸宽的小条。这些皮条经过一个切条机，然后再经过一个转刀切碎机。将

102.15g 苯甲酸溶在 1021.5g 丙酸中配成酸性溶液。在 55 加仑的不锈钢转筒内将 203 磅水和 521g 上述酸溶液加到得自浸灰剖层皮的材料中，全生皮材料中则加入 235 磅水和 603g 酸溶液，分别进行酸化处理。以每小时转 15 分钟的方式转动转筒 4 小时。最终的 pH 值分别为 5.1 和 5.2。最后，使两种材料的一部分通过 Urschel Comitrol 的 0.06 英寸的切碎头。剩余部分则通过 0.200 英寸的切碎头。将产物倒入小塑料袋中，放在—20℃的冰冻室内备用。

实施例 8A

将 USDA 切细的浸灰剖层皮在 4℃于 10000 转/分下离心 20 分钟。除掉上层清液，离心下来的浸灰剖层皮(15g)则加到装有 1500ml 去离子水的 2 升的锥形烧瓶中。用磁搅拌子 (2 英寸的搅棒) 搅拌悬浮液，用浓盐酸调节 pH 至 2.1。向烧瓶中加入胃蛋白酶(0.76g)，然后放在 18℃的恒温室内搅拌。在不同的时间取出反应液 (100ml) 测定粘度(表 2A)。将各份液体的 pH 调节到 3 至 3.5 之间，样品在 4℃下贮存。在取走最后一份液体之后 (50 小时)，分析试样 (0.7ml) 与 pH3.5 的乙酸(1.4ml)混合，在 4℃和 45000 转/分下超离心 1 小时。如表 2A 所示，分析上层清液和颗粒物(重新悬浮在原来体积的缓冲液中后) 内的羟基脯氨酸。

将不同级分的较大的样品 (50ml) 与 pH3.5 的乙酸 (100ml) 混合，在 20000 转/分下于 4℃离心 4 小时。样品在 4℃下贮存 9—10 天

后用来造纸。

表 2A

实施例 8A 的结果总结

取样时间（小时）	粘度（20rpm）（厘泊）	清液中的羟基脯氨酸（mg/ml）	颗粒物中的羟基脯氨酸（mg/ml）	△TS（比不加胶原的对照样增大%）
3	35	0.10	0.28	15
7	400	0.15	0.18	17
11	1055	0.23	0.12	21
15	1030	0.28	0.06	31
26	800	0.29	0.05	35
30	745	0.26	0.05	--
50	605	0.27	0.04	27

此数据表明，此反应中在最高达约15小时内胶原持续增溶。这由离心时清液中羟基脯氨酸的增加、颗粒物的粒度和羟基脯氨酸含量减小、以及粘度的初期增高得到证实。可溶性胶原的增多与加了胶原的纸的抗拉强度增加有关，表中的△TS表示抗拉强度比不加胶原的对照纸增大的%。

实施例9A

将Teepak浸灰剖层皮在4℃于10000转/分下离心20分钟。去掉清液，将离心出的去灰剖层皮(35g)加到一个内装3500ml去离子水的4升锥形烧瓶中。用磁搅拌器(2英寸搅棒)搅动此悬浮液，用浓盐酸将pH调节到2.1。向烧瓶中加入胃蛋白酶，随后在20.5℃的保温箱内搅拌，在不同的时间取出一部分反应液(200ml)，测定粘度(表3A)。每份溶液的pH均调节到3到3.5之间，样品在4℃下贮存，准备用于造纸。

在20.5℃下于27小时后取出保温的胶原样品的三分之一在室温下搅拌。然后将恒温箱的温度调节到30℃，其余的样品则在此温度下搅拌。在指定时间如上述取出200ml样品，调节pH，在4℃贮存。在取出最后一份溶液后，将分析试样(0.7ml)与pH3.5的乙酸(1.4ml)混合，在4℃下于45000转/分超离心1小时。分析上层清液和颗粒状物(重新悬浮在原来体积的缓冲液中)中的羟基脯氨酸含量。如表3A所示用筛分式高压液相色谱对上层清液作了分析。

表 3A.

实施例 9A 的结果总结

恒温时间（小时）	峰面积			粘度（20rpm，厘泊）	清液中羟基脯氨酸（mg/ml）	ΔTS[e]（%）	
	峰 1 31 分钟	峰 2 34 分钟	峰 3 45 分钟			ONP	OCC
5.5	9.0	14.9	5.7	25	0.09	14	27
21	17.5	21.0	9.5	375	0.17	27	42
23	16.4	24.7	10.1	425	0.17	--	--[f]
27	9.9	24.7	9.8	650	0.21	28	46
30[a]	12.6	20.9	8.7	840	0.23	32	42
45.5[b]	15.9	23.4	0.7	1095	0.28	37	--
30[c]	18.5	30.2	40.2	750	0.20	26	43
45.5[d]	18.4	24.5	54.4	45	0.30	36	46

a. 此样品在 20.5℃恒温 27 小时，室温下 3 小时

b. 此样品在 20.5℃恒温 27 小时，室温下 18.5 小时

c. 此样品在 20.5℃恒温 27 小时，30℃下 3 小时

d. 此样品在 20.5℃恒温 27 小时，30℃下 18.5 小时

e. ΔTS = 在由旧新闻纸或旧硬纸箱制得的纸浆中加入 1%可溶性胶原后制成的纸，与不加胶原的对照样相比，抗拉强度增加的%

f. (--) 表示未作分析

此数据说明，正如清液中的羟基脯氨酸含量及粘度增加所显示的，在整个反应期间可溶性胶原一直增加，可溶性胶原的增加与加入胶原的纸的抗拉强度加大有关。在反应 27 小时后于 30℃下保存的样品显示出高分子量的胶原逐渐转化成降解产物（HPLC 第 3 峰增大），但在这种情形胶原的较低的分子量不会使它所加入的纸的抗拉强度下降。这一作用表明，即使胶原物质中有一些已分解成较低的分子量，它对于纸仍有好的作用。凝胶电泳表明，即使在 30℃下反应 18.5 小时，仍有相当高浓度的约 200，000 和约 100，000 道尔顿的胶原存在。因此，在洗涤剂不存在时，可能有大量的 300，000 道尔顿或更高分子量的材料。大量高分子量胶原的存在由标有脚注 c 和 d 的样品的 HPLC 峰 1 及 2 的大面积得到证实。

实施例 10A

将两种增溶胶原制品合并如下，它们均由 Teepak 浸灰剖层皮制成。将浸灰剖层皮在 10000 转/分下于 4℃离心 20 分钟。除掉上层清液，离心过的浸灰剖层皮（35g）加到内装 3500ml 去离子水的 4 升锥形烧瓶中。用磁搅拌器（2 英寸搅棒）搅拌悬浮液，用浓盐酸调节 pH 至 2.1。向烧瓶中加入 1.75g 胃蛋白酶，然后在 19℃的恒温箱内搅拌。一种制剂恒温 31.5 小时（最终粘度在 20 转/分下为 1160 厘泊），另一制剂则恒温 21 小时（最终粘度在 20 转/分下为 1025 厘泊）。将两种制剂在 4℃下贮存 6 天，不调节 pH，然后各取 1.5 升在

一只4升的烧瓶中合并，搅拌混合，在水浴中快速加热到约30℃。随后在32℃的恒温箱内搅拌，在指定的时间取出200ml样品，调节pH为3.0—3.5，样品在4℃下贮存。这一反应的结果和由这些物质制成的纸张的抗拉试验结果示于下面的表4A中。

这些数据表明，虽然并非全部胶原都是从开始就可溶的（羟基脯氨酸测定值在整个反应期间增加），但在所指出的30℃下反应的整个过程中，例如粘度的减小和HPLC峰3面积的增大表明胶原数均分子量迅速减小。直到所有的HPLC峰1（数均分子量＞300，000道尔顿）和接近全部的HPLC峰2（数均分子量300，000道尔顿）都转化成更小的片段为止，分子量的这种减小并未影响抗拉强度的增加。凝胶电泳结果表明，即使在32℃下25.5小时之后，仍有少量分子量100，000道尔顿的胶原存在。大多数胶原此时已转化成数均分子量小于100，000道尔顿的片段。在洗涤剂不存在下对此样品进行的HPLC分析显示出没有峰1而且峰2很小。在凝胶上看到的剩下的数均分子量为100，000道尔顿的片断，在洗涤剂不存在时可能会聚集成象HPLC峰2所示的300，000道尔顿的三股螺旋结构。看来正是这种三股螺旋结构的胶原使纸的性能增强。

表 4A. 实施例 10A 结果的总结

	峰面积					
恒温时间（小时）	峰 1 31 分钟	峰 2 34 分钟	峰 3 45 分钟	粘度（厘泊）	清液中的羟基脯氨酸 (mg/ml)	△TS（与对照样相比的变化%）
0	2.1	29.1	--	1260	0.28	+48
2	25.8	25.6	12.5	705	0.27	--
3	26.8	24.9	19.3	520	0.29	--
4	20.4	31.1	37.2	215	0.32	+46
5	18.8	28.8	46.1	165	0.29	--
6	19.9	31.7	65.3	75	0.34	+37
7	13.3	28.8	72.2	35	0.35	+41
8	14.7	23.8	83.9	20	0.37	+41
9	10.6	22.1	93.9	15	0.37	+47
12.5	6.5	16.7	105.5	10	0.39	+41
25.5	0	5.0	127.6	5	0.38	+30

实施例 12A

表 5A 和 6A 中总结了微生物蛋白酶与上述得自浸灰剖层皮的胶原之间的反应：

微生物蛋白酶与两种来源的磨细的浸灰剖层皮在 17℃下反应。表 5A 总结了关于蛋白酶浓度和 pH 的最佳结果。

表 5A　微生物蛋白酶与磨细的浸灰剖层皮的反应

酶	pH	最大粘度（20 转/分）	达到最高粘度的时间（小时）
Newlase II（0. 08g）	2. 6	1840	18
Quest AP（0. 08g）	2. 6	1535	22
AFP 2000（0. 08g）	2. 6	1415	22
EDC—APA（0. 08g）	2. 5	1085	18

表 6A. 微生物蛋白酶与 Teepak 浸灰剖层皮的反应

酶	pH	最大粘度（20 转/分）	达到最高粘度的时间（小时）
Newlase II（0. 075g）	2. 6	1386	19
Quest AP（0. 08g）	2. 6	945	24
EDC—APA（0. 08g）	2. 5	745	20
Newlase A（0. 04g）	2. 6	665	23
AFP 2000（0. 08g）	2. 6	515	41
EDC—APB（0. 08g）	3. 0	435	39

所有的微生物蛋白酶都生成相当粘的胶原溶液，显示了它们从磨细的浸灰剖层皮中增溶胶原的用途。

用以上实施例制备的胶原溶液在室温下可稳定 12—24 小时，通过将溶液的 pH 提高到 3. 0—3. 5 和/或将溶液温度降低到 5—10℃，可以提高稳定性。

此方法显示出通过将牛皮胶原（磨细的浸灰剖层皮）基本上完全增溶而制造廉价的可溶性胶原产物的现实可行性。此过程可以在

接近室温的条件下进行，而且比较容易控制。特别有意义的是能够降低比较廉价的蛋白水解酶的成本的再循环方法。

B. 第二种通用的实施方案

第二种通用的实施方案通常使用在第一种通用实施方案中制造的增溶胶原，或者如果需要，增溶的胶原可以用其它方法得到。使用第一种通用实施方案中的增溶胶原的一个主要优点当然是这样制得的材料便宜。这种成本因素是造纸工艺中的一个主要优点。

本发明改进了再生纸、常用纸及其混合物的强度。本发明在制造再生纸方面特别有用，因为由再生的纤维素纤维制得的再生纸通常不如由新鲜的纤维素纤维制成的纸结实。本发明中使用的原料一般是：由非回收材料制成的新鲜纸浆；作为造纸厂废料的损纸；回收的新闻纸，即回收的报纸和类似的纸；回收的瓦楞箱纸，即回收的旧瓦楞箱纸和类似物质；类似的纤维素基纸；以及它们的混合物。

本发明公开了使用以酶增溶的胶原来提高由纤维素纤维制成的纸类产品的强度及其它性能。通常，制造胶原加强的纸的方法包括将原料与水或与水和苛性碱（例如NaOH）混合，用机械方法浆化，直到形成纸浆。纸浆的浓度按干浆固体计最好为约3—6%重量。然后将纸浆稀释至按干浆固体计浓度为约1—3%重量，将pH调节到约3.5—7.0。将浓度约为0.1—2%（干重）的增溶胶原加到稀释的纸浆中，在一定的剪切速度下将所形成的浆体混合一段时间，使稀

释的纸浆固体和可溶性胶原能有效地相互作用，从而使很大部分的增溶胶原与纸浆结合，形成胶原—纸浆浆体。然后将胶原—纸浆浆体稀释，最好是稀释到浓度为约0.1—1%（干重），最后将胶原—纸浆制成片材并干燥之。

实施例1B

胶原溶液作为涂料。

将旧新闻纸（ONP）或旧瓦楞箱纸（OCC）切碎，在1%的氢氧化钠溶液中浸泡过夜。

将切碎的材料在Tappi粉碎机中浆化15分钟。将纸浆与补加的水混合，在一台Noble和Wood网前箱中用Duotex 162—DD—226成型网制成片材。将片材在Noble和Wood网前箱上湿压，然后压光以增大密度（每边使用吸墨纸，压光辊之间的间隙设定为0.76密耳）。将此片材在温度约100℃的热板表面上干燥1分钟。用10号或20号线绕棒将Secol公司（Exton，PA）供应的胶原水解产物（分子量＜2000道尔顿）或Gattefosse公司（Elmsford，NY）的可溶性天然胶原（分子量＞300，000）涂敷到这种再生纸片材上。将涂布过的片材在鼓风烘箱中于100°F下干燥10分钟，或者在环境条件下干燥过夜。测定涂布片材的定量、耐破强度和抗拉强度，列在表1B中。此表还详细列出了所用纸浆的数量及涂料重量。

在试验的所有样品中均观察到抗拉强度比不加胶原的合适的对

照样提高约125—300%。虽然ONP和OCC对照样的强度仅及牛皮纸标准的25%左右，但是几种涂布过的样品象牛皮纸标准一样强或者更强。

表1B. 作为涂料涂敷的胶原

样品编号	纸页成分			棒	干燥方法	物理特性			强度性质		
	纤维克数	纤维	胶原溶液%			定量 kg/279 m²	Mullen 耐破强度，兆帕	厚度 mm	抗拉强度／定量	抗拉强度（兆帕）	与对照样相比的变化%
CC-1	5.5	牛皮纸	无	--	--	13.1	.159	.11	1.30	17.01	--
CC-2	5.5	ONP	无	--	--	12.5	.034	.18	0.33	4.08	--
CC-4	5.5	ONP	水解产物	20	烘箱	17.6	.108	.13	1.27	22.34	+289
CC-5	5.5	ONP	水解产物	20	空气	17.1	.109	.13	1.06	18.20	+151
CC-6	5.5	ONP	水解产物	10	空气	15.3	.092	.12	1.32	20.24	+304
CC-7	5.5	ONP	水解产物	10	烘箱	16.8	.108	.13	1.15	19.38	+253
CC-8	5.5	ONP	天然胶原	10	空气	13.3	.102	.11	1.11	14.71	+238
CC-9	5.5	ONP	天然胶原	10	烘箱	14.0	.109	.12	1.02	14.22	+211
CC-10	5.5	ONP	天然胶原	20	空气	14.4	.112	.12	1.09	15.76	+235
CC-11	5.5	ONP	天然胶原	20	烘箱	13.8	.098	.12	1.10	15.22	+238
CC-12	4.5	OCC	无	--	--	14.4	.055	.19	0.38	5.50	--
CC-14	4.5	OCC	水解产物	20	烘箱	18.2	.178	.14	1.47	26.68	+283
CC-15	4.5	OCC	水解产物	20	空气	18.8	.137	.15	1.09	20.45	+185
CC-16	4.5	OCC	水解产物	10	空气	17.7	.161	.14	1.47	25.98	+284

表 18. 作为涂料涂敷的胶原（续）

样品编号	纸页成分			棒	干燥方法	物理特性			强度性质		
	纤维克数	纤维	胶原溶液 %			定量 kg/279 m²	Mullen 耐破强度，兆帕	厚度 mm	抗拉强度/定量	抗拉强度（兆帕）	与对照样相比的变化 %
CC-17	4.5	OCC	水解产物	10	烘箱	17.2	.161	.13	1.54	26.41	+302
CC-18	4.5	OCC	天然胶原	10	空气	13.8	.124	.12	1.02	14.01	+166
CC-19	4.5	OCC	天然胶原	10	烘箱	13.8	.13	.12	1.12	15.5	+194
CC-20	4.5	OCC	天然胶原	20	空气	14.0	.12	.13	0.86	12.1	+126
CC-21	4.5	OCC	天然胶原	20	烘箱	14.0	.13	.13	0.93	13.0	+146

实施例 2B

加到网前箱中纸浆内的天然胶原

将 ONP 或 OCC 切碎，在 1%NaOH 溶液中浸泡过夜。将此材料在一台 Tappi 粉碎机中浆化 15 分钟。将纸浆放入 Nobel 和 Wood 的网前箱中，加入不同温度（14—17℃或 36—38℃）的水。此浆体的 pH 是 7。加入各种数量的天然胶原溶液（0.3%固体）。令浆体沉降并放置 4—10 分钟。在 Duotex 162—DD—226 成型网上制成片材。将片材在 Noble 和 Wood 上湿压，然后压光以增大密度。（每边用吸墨纸，压光辊的间隙设定为 0.762mm）。将此片材在热板上干燥 1 分钟。测定所形成的片材的定量、耐破强度和抗拉性质，结果列在表 2B。此表还详列了所用纸浆和胶原添加剂的数量。试验的所有样品均观察到抗拉强度比不加增溶胶原的对照样增大约 140—350%。虽然 ONP 和 OCC 对照样的强度仅为牛皮纸（Kraft）标准的 25%，但几个试样都比牛皮纸更强。在加入的胶原量与抗拉强度提高之间未发现相关关系。

表 2B. 纸浆中加入的胶原

样品编号[a]	纸页成分			网前箱时间	浆体温度℃	物理特性			抗拉性能		
	Gms. 纤维	纤维	加入的天然胶原%			定量 kg/279 m²	Mullen 耐破强度（兆帕）	纸厚，mm	抗拉强度/定量	抗拉强度（兆帕）	与对照样相比的变化%
CP-1	5.5	牛皮纸	--	--	--	13.1	.159	.11	1.30	16.97	--
CP-2	5.5	ONP	--	--	--	12.5	.034	.18	0.33	4.07	--
CP-5	5.5	ONP	1	4	17.1	14.3	.092	.13	1.11	15.82	+240
CP-6	5.5	ONP	1	4	35.9	13.1	.071	.12	1.01	13.19	+210
CP-7	5.5	ONP	2	4	15.4	13.3	.103	.11	1.48	19.70	+353
CP-8	5.5	ONP	2	4	15.4	13.9	.081	.12	0.98	13.62	+201
CP-9	5.5	ONP	1	10	37.6	13.2	.089	.12	1.08	14.20	+231
CP-10	5.5	ONP	10	10	35.7	16.2	.110	.14	1.07	17.33	+227
CP-11	4.5	OCC	--	--	--	14.4	.055	.19	0.38	5.48	--
CP-14	4.5	OCC	1	4	14.5	13.0	.132	.11	1.48	19.24	+289
CP-15	4.5	OCC	1	4	38.3	13.5	.111	.12	0.90	12.18	+138
CP-16	4.5	OCC	2	4	14.9	13.2	.146	.11	1.79	23.68	+371
CP-17	4.5	OCC	2	4	37.1	12.4	.089	.11	1.06	13.13	+179
CP-18	4.5	OCC	1	10	35.3	12.7	.096	.11	1.10	13.91	+189

a. 除 CP—1 外，所有样品均在 NaOH 中浸泡。

实施例 3B

以下实施例说明：（1）由旧的瓦楞箱纸（OCC）和旧新闻纸（ONP）制成的纤维浆料；（2）在形成纸张之前或之后向这些浆料中加入 1%的增溶胶原。这些原料用来制备定量为 13.6kg/279m^2 的轻质纸。一些浆料在环境水温下用氢氧化钠处理。在制纸之前按照干浆固体的 1%的比例向贮浆池中加入增溶的胶原，在 39℃以下的温度混合至少 15 分钟。制纸的细节如下：

A. 材料

1. 如实施例 5A 中制备的增溶的胶原

2. 用过的旧新闻纸（ONP）

3. 旧瓦楞纸箱（OCC）的挂面纸板（卷），不包括波纹介质，Stone Container 公司（Savannah，GA）。但是浆化的材料象是使用了瓦楞材料。

4. 浓盐酸（31%）

B. 设备：

1. Black Clawson 2. 4m HCVY 水力碎浆机 61cm 底，Vokes 转子和驱动组合件，7570 升容量。

2. Sprout—Waldron 30 cm 双流式磨浆机，1770 转/分，装有多个板 D5B053 马达端和 D5B054 控制端。

3. Sandy Hill 公司 1967 年制造的长网造纸机，网宽 97cm。网案

的成型长度 44.3m。堰板宽度 84cm，该机器用卷边转盘操作。机器的压机部分由两个压机构成，第一个是双毛布正压机，第二个是下毛布反压机。各压机压区限制在 2.06 兆帕。底压辊有橡皮沟纹包层。第二压机中的顶辊有一个人造花岗石包层，机器的干燥器部分由两排直径 91cm 的干燥桶组成，第一区 7 个桶、第二区 5 个桶。两个干燥区之间是一个可以水平或垂直操作的施胶装置。通过适当地安装转辊，此装置也可以作为半干压光机使用。在第二个干燥区之后是一个八辊、七压区的压光机。可以将最高达 102cm 的纸卷缠绕在卷轴上。

C. 纸浆：

100%OCC/530 kg（烘箱干燥过）

将旧的瓦楞箱纸用 1 号碎浆机分散在室温的水中。将分散的旧瓦楞箱纸浆料泵送到 26500 升的磨浆机中，在 145 分钟内从 644 加拿大标准自由度（CSF）精磨到 325 CSF。

100% ONP/552kg（烘箱干燥过）

将旧新闻纸用 1 号碎浆机分散在 66℃水中，将分散的旧新闻纸浆料泵送到 26500 升的磨浆机中，在 30 分钟内从 135 CSF 精磨成 107 CSF。

100% OCC/854 kg（烘箱干燥过）

1. 用 1 号碎浆机将旧瓦楞箱纸分散在室温下的水中。

2. 将分散好的浆料泵送到 26500 升的磨浆机中。

3. 将纸料在 200 分钟内从 638 CSF 精磨成 353 CSF。

100% ONP/871 kg（烘箱干燥过）

1. 用 1 号碎浆机将 ONP 分散在 66℃的水中

2. 将分散好的浆料泵送到 7000 加仑的磨浆机中。

3. 将纸料在 42 分钟内从 119 CSF 精磨成 99 CSF。

D. 造纸机操作：

将造纸机的浆料经过一台 Fischer—Porter 流动控制器泵送到一台冲浆泵的抽吸端。然后用白水将稠厚的浆料稀释以便开动浆料流动系统。根据流入冲浆泵的稠厚纸料的数量来控制机械上的生产速度。然后将浆料经过一个爆炸室歧管泵入主网前箱中。此网前箱在真空下用一个多孔的顶辊操作。机速约为 175 英尺/分，纸产量约为 300 磅/小时。

网的固定

91cm 长网造纸机上的成形网是一种 463 Monoflex JDL 145×120 目双层结构，带有：成型板，三个直径 7.6cm 的案辊，五个案板箱（每只四个案板），四个可调真空度的吸水箱。

纸的性能（例如抗拉强度、撕裂强度、耐破强度）由于加入 1% 的增溶胶原而得到改进（表 4B）。对于混合的纤维浆料，纵向抗拉强度的提高为 25—30%，而 100%旧瓦楞箱纸和旧新闻纸浆料的提高为 15—20%。

向混合纤维中加入增溶胶原使生物需氧量(BOD)比纯的纤维纸

本身有实质性的改进，说明在加入增溶胶原时纸固体的留着率增加。

试验期间制造的所有的纸的表面 pH 均为酸性，虽然造纸设施中的水在一月份时的平均 pH 为 7（供水的典型值）。含增溶胶原的纸的 pH 比其它的纸稍低（更酸性）。对于某些最终用途，可能希望在纸已经形成后将含增溶胶原的纸的 pH 改变成较为中性的水平。

表 3B. 实施例 3B(1)的对照纸的性质

样品编号	纸的鉴定	pH	BW	抗拉强度		MD TS/BW	Tear		厚度	Mullen 耐破强度	生物需氧量
				MD	CD		MD	CD			
对照纸											
16A	100% OCC	--	14.2	--	--	1.68	71.3	76.1	.10	.189	380
19A	75/25 OCC/ONP	--	--	--	--	1.49*	--	--	--	.151	--
17CA	50/50 OCC/ONP	--	14.1	--	--	1.23	53.7	58.8	.12	.113	170
18A	25/75 OCC/ONP	--	--	--	--	1.08*	--	--	--	.105*	--
15A	100% ONP	--	14.3	--	--	.93	37.1	41.1	.14	.096	190

(1) 缩写和单位如下：BW＝定量，Kg/279m²(磅/3000 英尺²)

Ts＝抗拉强度，兆帕；MD＝纵向；CD＝横向；

Tear＝撕裂强度，克；厚度，mm；Mullen 耐破强度，兆帕；BOD，生物需氧量，mg/l

* 估计值，用来比较表 4B 中的添加剂

表 4B. 实施例 3B(1)的实验纸的性质

样品编号	纸的鉴定	pH	BW	抗拉强度		MD		Tear(2)		厚度	Mullen耐破强度	BOD(2)
				MD	CD	TS/BW	▲TS/BW	MD	CD			
加 1%增溶胶原的实验纸												
16	100% OCC	(3.9)	13.3	25.79	11.9	1.94	15%	54.0 (24%)	71.4 (6%)	.10	.170 (10%)	260 32%
19	75/25 OCC/ONP	(3.9)	13.3	25.87	10.73	1.91	29%	58.8	68.6	.11	.145 (4%)	--
17C	50/50 OCC/ONP	(3.9)	13.9	22.52	11.02	1.62	32%	56.4 5%	60.0 2%	.12	.133 18%	160 6%
18	25/75 OCC/ONP	(3.9)	14.1	19.01	9.14	1.35	25%	47.6	51.2	.13	.122 17%	--
15	100% ONP	(3.9)	14.2	15.49	8.08	1.09	18%	37.6 1%	40.8 (1%)	.13	.111 16%	150 21%

(1) 缩写和单位如下：BW＝纸的定量，kg/279m²(磅/3000 英尺²)；Ts＝抗拉强度，兆帕；
MD＝纵向；CD＝横向；Tear＝撕裂强度，克；厚度，mm；Mullen耐破强度，兆帕；
BOD＝生物需氧量，mg/l，纸的定量是以 Kg/279m²(磅/3000 英尺²) 为单位的纸的重量

(2) 这些栏目中的百分数表示实验纸的数据与相当的日用对照纸的数据比较时的增加/减少

实施例 4B

可溶性胶原与纸浆纤维在网前箱之前混合

将按实施例 8A 所述制备并在 16 或 20 小时后收集的 7 份增溶胶原样品汇集一起，得到浓度约为 3.5mg 胶原固体/ml、20 转/分下的粘度为 1150 厘泊的胶原溶液。用蒸馏水将几份这种溶液稀释 8、4 或 2 倍，或者不稀释，得到浓度范围约为 0.44、1.75 和 3.5mg 胶原固体/ml 的溶液。

纸浆浆体由 3%浓度的 ONP 和 OCC 纸料制成，将纸料切碎，浸泡在 1% NaOH 溶液中过夜，在自来水中冲洗浸泡过的固体，将冲洗过的固体在 Tappi 粉碎机中浆化 15 分钟。

在手动搅拌下将纸浆在加热板上热至约 120—125°F。取一份加热过的纸浆（183g）与一份稀释过的胶原溶液（63g）合并，用叶片型混合器将合并的胶原—纸浆浆体搅拌 15 分钟。浆体中纸浆的最终浓度约为 2.2%。这些实验中胶原固体与纸浆固体之比因此是大约 0.5%、1%、2%和 4%。纸浆—胶原浆体的初始温度约为 106°F±3°F（41℃±2℃），在搅拌结束时此温度降至约 95°F。

在混合阶段结束时，将胶原—纸浆浆体倒入 Nobel and Wood 手抄纸系统的网前箱中，经过一个 Duotex 162—DD—226 成形网排液收集。将成形的纸页湿压，然后用设定为 30 密耳的压光辊在吸墨纸之间压光。接着将纸页在张力下于加热板上干燥 1 分钟。将手抄纸在受控的环境室（72°F/相对湿度 50%）中平衡过夜。然后测定纸定

量（BW）和抗拉强度（TS）。制备了三张纸并对每种样品条件作了试验。结果总结在表 5B。

表 5B. 实施例 4B 的试验的手抄纸性质总结

纸浆	加入的胶原 %	平均BW* 磅/3000 英尺^2	平均 TS*	平均 TS/BW*	ΔTS (%)
OCC	0**	31.0	1330	42.9	--
OCC	0.5	36.3	1430	39.4	-8.1
OCC	1	35.2	1790	50.9	+19
OCC	2	34.9	1840	52.7	+23
OCC	4	35.7	1930	54.1	+26
ONP	0**	28.0	1370	48.9	--
ONP	0.5	32.7	1740	53.2	+8.8
ONP	1	33.2	1930	58.1	+19
ONP	2	31.8	2020	63.5	+30
ONP	4	34.1	2400	70.4	+44

* 三张手抄纸平均　　** 对照的手抄纸

BW = 纸的定量，磅/3000 英尺^2

TS = 抗拉强度

此实施例表明，当加到恒定数量再生纸浆纤维中的溶解的胶原浓度增加时，一般会使由该组合物形成的纸页的抗拉强度增加。表5B中唯一的例外是加了0.5%胶原的OCC纸页，它的经校正的平均抗拉强度（TS/BW）略低于OCC对照样的抗拉强度（—8.1%）。这一明显不一致的数值据信是由于含胶原的纸的普遍较高的定量（对于OCC纸页，比对照样约高15%）造成的，而这又是这些样品中阻留了较多的纸浆细料（小纸浆纤维）的结果。细料制成的纸较弱，细料较多会降低所形成的纸的强度，就象上述的0.5%/OCC的数据那样。此数据清楚地说明了该胶原添加剂作为纸张形成中的阻留助剂的一般性能。

无论在那一种纸浆中增大胶原加入量都会使强度增加，但是强度的增大不与所加的胶原数量成线性比；强度的增加会随胶原/纸浆比的增大而减小。这一现象与可溶性胶原分子和纸浆纤维之间的相互作用过程相一致，作用的结果是纤维表面被吸附的胶原分子饱和。在这一结合过程中观察到的强度提高据信是可溶性胶原分子形成纤维间桥联的结果；纤维表面被结合的胶原饱和会限制这种纤维之间桥联的程度，从而限制了这一过程造成的最大的强度提高。

在所述的实施例中，所观察到的表观饱和过程被解释成证实了可溶性胶原与纸浆纤维表面之间的相互作用是强度提高的主要机制，这与同样比例的两种彼此无相互作用的不溶性纤维混合时的直接加合的强度提高的情况不同。在表5B中总结的实施例中，OCC纤

维看来比ONP纤维在更低的胶原/纸浆固体比下饱和。

此实施例还说明，由于可溶性胶原和纸浆纤维之间的相互作用造成的强度提高可以在40℃以上的温度下发生，高于此温度预期胶原分子会发生热变性。先前曾经提到，必须在低于此变性温度时向纸中加入胶原（G. Sauret 等，Le Collagne ans la fabrication du papier，Revue A. T. P. I.，33 (8)，374—365，1979)。在一系列预备性试验中（数据未列出）观察到，如果在纸浆浓度低时（例如0.5%纸浆固体将纸浆和胶原溶液在约40℃或更高温度下混合，则胶原会在与纸浆纤维结合之前从溶液中沉淀出来，结果形成不理想的（带斑点的）纸表面，抗拉强度无明显提高。另一方面，如果在纸浆浓度高(例如表5B中的2.2%纸浆固体)时将纸浆与胶原溶液混合，则胶原不会沉淀，而是与纸浆纤维充分结合。

以下实例提供了关于温度超过30℃时对胶原制品影响的又一例证。将USDA磨细的浸灰剖层皮（0.06英寸的切割头）在4℃和10000g下离心20分钟，去掉上层清液。将离心出的浸灰剖层皮按7.5g一份加到两个各装750ml去离子水的1升锥形烧瓶中。用磁搅拌器（2英寸搅拌）搅拌此悬浮液。用浓盐酸将pH调节到2.1，向每只烧瓶中加入0.19g胃蛋白酶。一只烧瓶在19℃下搅拌，另一只在32℃下搅动。60小时后，将烧瓶内的pH调节到3.5左右，在20转/分下测定粘度。19℃下反应的粘度为620厘泊，32℃下反应的粘度为10厘泊。

将两种胶原制剂加到纸浆中（胶原约为纸浆的1%），测定这些制剂改进纸的性质的能力。在19℃下制得的制剂不提高抗拉强度/定量。

这说明，完全水解的可溶性胶原看来对抗拉强度的增高没有贡献。低于20厘泊的粘度测定值不足以用来预料这些溶液增强纸强度的程度。

虽然上面的各个实施例看重于造纸，但是本发明也可以用来制造各种产品，例如可以用增溶胶原粘结纤维素纸浆制成模塑制品或纸板。

使用过各种类型的水，例如俄亥俄州Columbus自来水；Savannah，GA的自来水；造纸工序的白水；以及减少了固体含量的白水。因此，看来本发明中水的类型对于制造胶原过程或造纸过程均不重要，水源可以有很大的自由度。

虽然这里公开的本发明的各种形式构成了目前的最佳实施方案，但是可以有很多其它的实施方案。这里不想叙述本发明的所有可能的相当形式或衍生形式。应该明白，这里使用的术语只是描叙性而非限制性的，在不背离本发明的精神和范围的情况下可以作出各种变动。

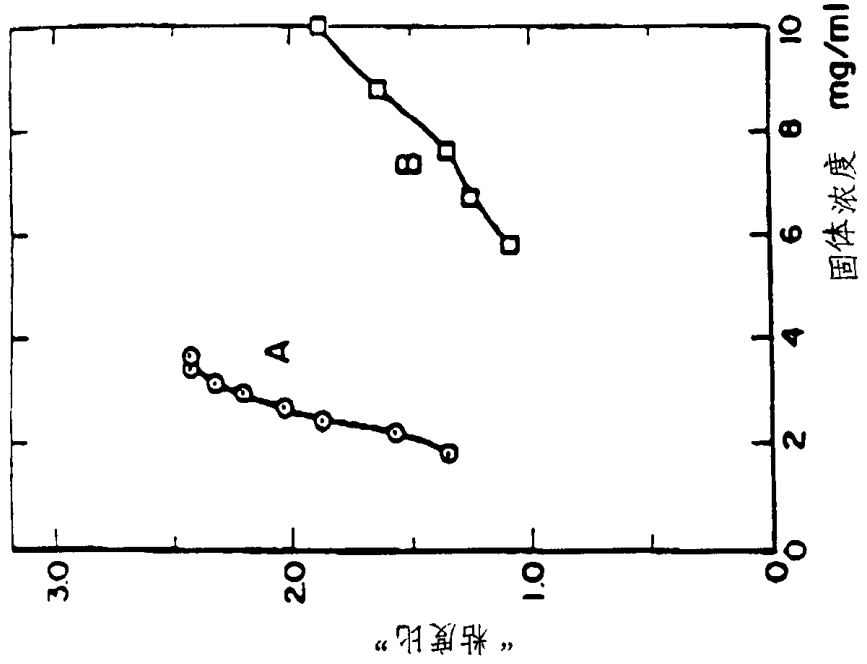

"粘度比"
3.0
2.0
1.0
0
0
2
4
6
8
10
固体浓度 mg/ml
A
B

图1B

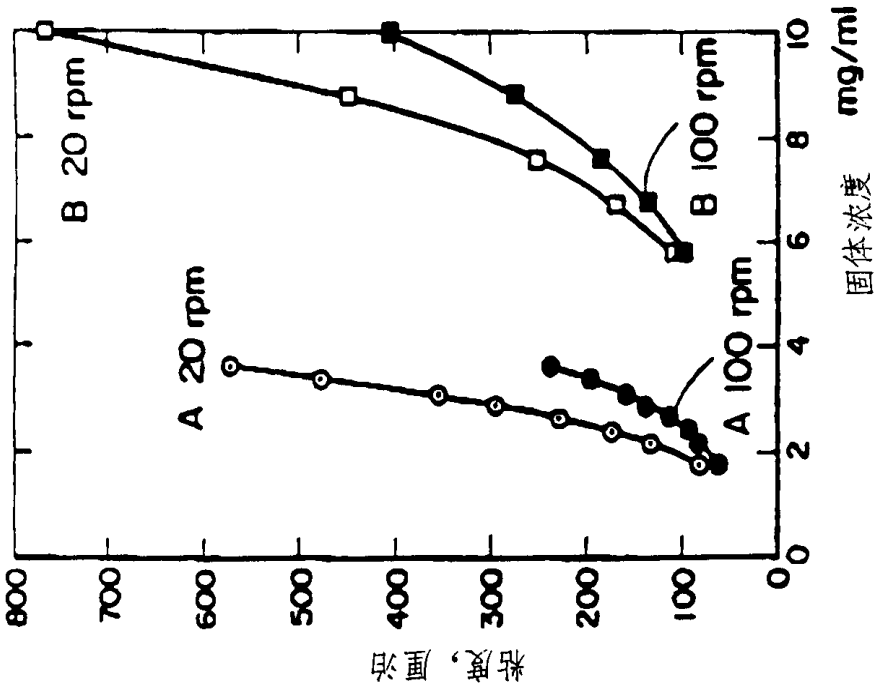

粘度，厘泊
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
2
4
6
8
10
固体浓度 mg/ml
B 20 rpm
A 20 rpm
B 100 rpm
A 100 rpm

图1A

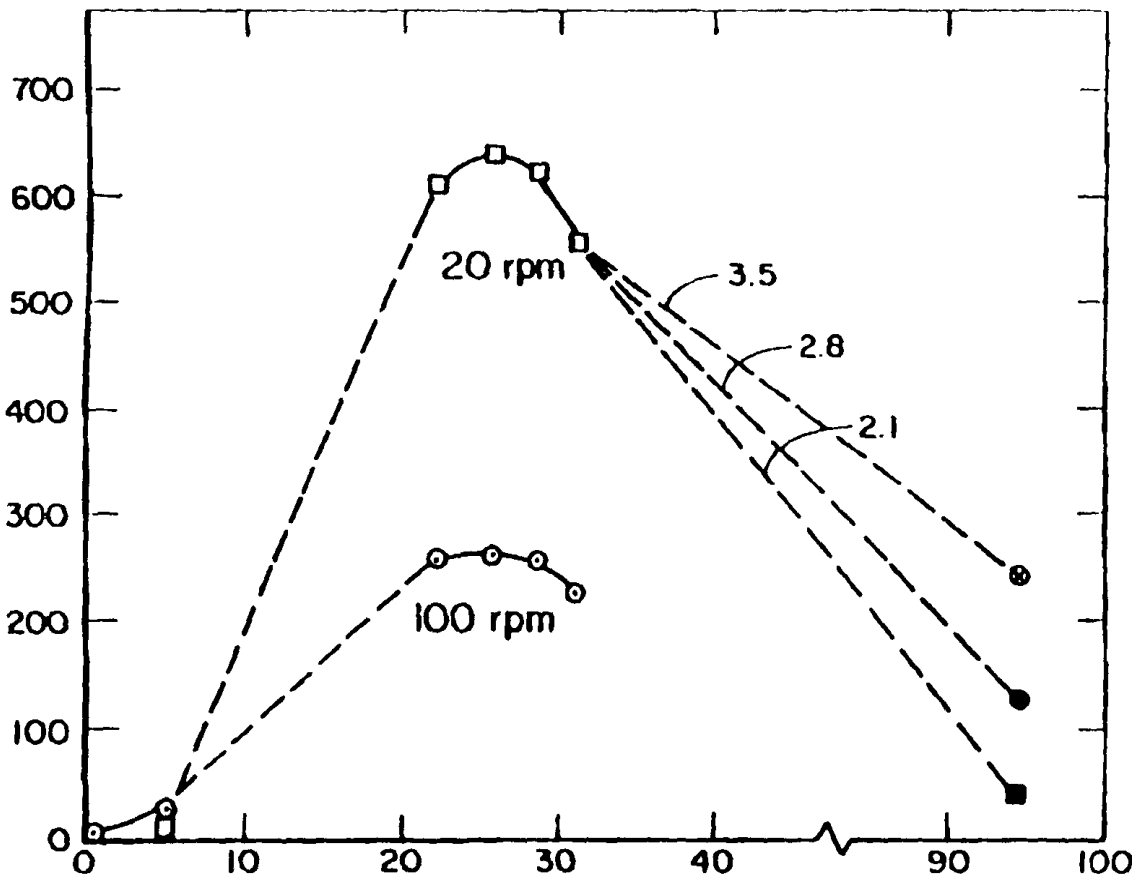

700
600
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
40
90
100
20 rpm
100 rpm
3.5
2.8
2.1

图2

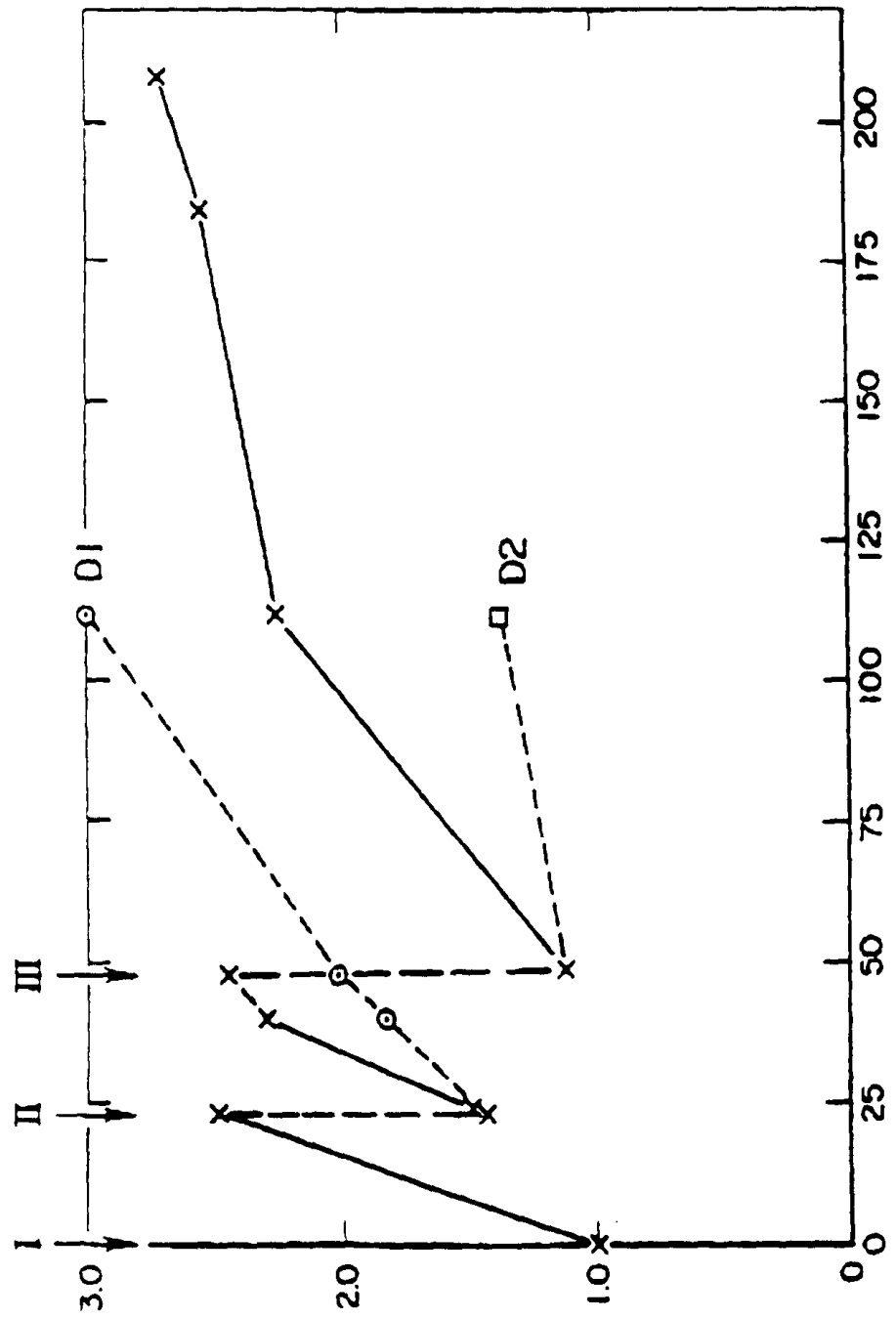


图3

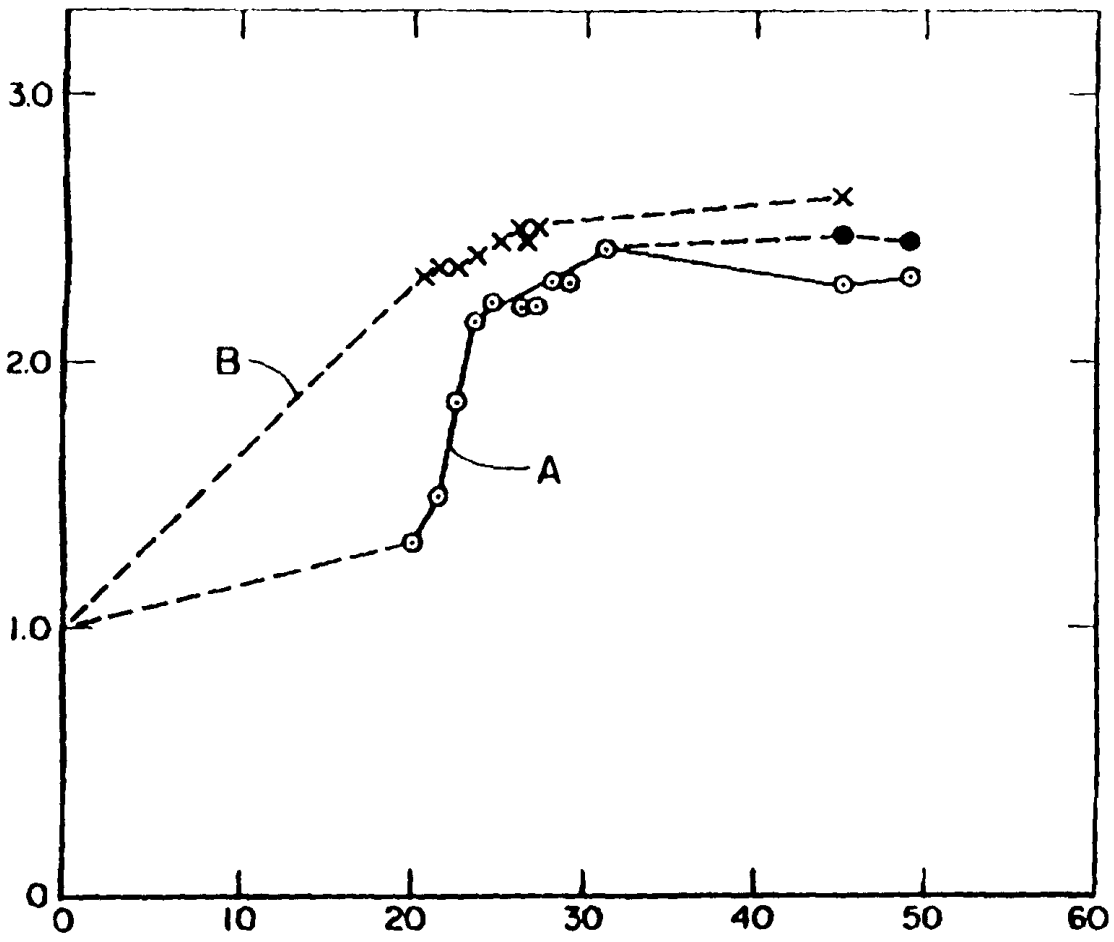


图 4