



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114774501 A

(43) 申请公布日 2022.07.22

(21) 申请号 202210506147.2

C07K 1/34 (2006.01)

(22) 申请日 2022.05.10

(71) 申请人 泸州品创科技有限公司

地址 646000 四川省泸州市江阳区下平远路13号院

申请人 南京工业大学

(72) 发明人 应汉杰 刘淼 陈勇 沈才洪

周精卫 温福丽 温庆仕 童钰琴
牛曼思

(74) 专利代理机构 成都虹桥专利事务所(普通

合伙) 51124

专利代理师 许泽伟

(51) Int. Cl.

G12P 21/06 (2006.01)

C07K 14/78 (2006.01)

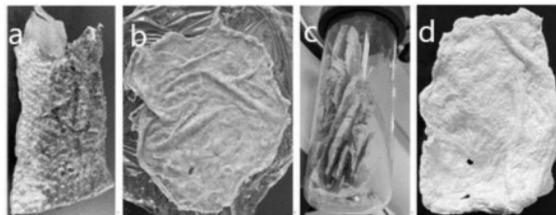
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

鱼皮胶原蛋白海绵材料及其制备方法

(57) 摘要

本发明属于医学生物材料技术领域,具体涉及鱼皮胶原蛋白海绵材料及其制备方法。该方法包括以下步骤:(1)依次用稀碱和有机溶剂先后去除鱼皮中的杂质;(2)将步骤(1)中去除杂质后的鱼皮粉碎后与稀酸和胃蛋白酶混合均匀,连续搅拌进行胶原蛋白提取,获得胶原蛋白提取液;(3)将步骤(2)中的胶原蛋白提取液过滤,收集提取清液,调节pH后加入氯化钠,搅拌溶解后冷冻静置,抽滤得到膜状的胶原蛋白,然后对其冲洗、冷冻干燥后,即可。该方法制备的胶原蛋白致密,性能一致性好,具有完整的3螺旋结构,在医用生物材料领域具有潜在的应用前景。



1. 鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 依次用稀碱和有机溶剂先后去除鱼皮中的杂质;

(2) 将步骤(1)中去除杂质后的鱼皮粉碎后与稀酸和胃蛋白酶混合均匀,连续搅拌进行胶原蛋白提取,获得胶原蛋白提取液;

(3) 将步骤(2)中的胶原蛋白提取液过滤,收集提取清液,调节pH后加入氯化钠,搅拌溶解后冷冻静置,抽滤得到膜状的胶原蛋白,然后对其冲洗、冷冻干燥后,即可。

2. 根据权利要求1所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(1)中,所述鱼皮的来源为黑鱼、鲤鱼、鲫鱼、草鱼、鲢鱼或青鱼。

3. 根据权利要求1或2所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(1)中,将鱼皮洗净后,先用稀碱进行浸泡3次;每次浸泡的时间为2~8小时,每次浸泡后,用纯净水洗干净,然后继续用稀碱进行浸泡;优选地,所述稀碱为氢氧化钠、氢氧化钾、氨水中至少一种;优选地,所述稀碱浓度小于0.1mol/L;进一步优选地,稀碱浓度为0.05~0.1mol/L。

4. 根据权利要求1~3任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(1)中,将稀碱处理后的鱼皮用有机溶剂进行浸泡3次;每次浸泡的时间为4~8小时,每次浸泡后,用纯净水洗干净;优选地,所述有机溶剂为甲醇、乙醇、丁醇、丙酮中至少一种;优选地,有机溶剂体积浓度为20~90%;进一步优选地,有机溶剂体积浓度为20~60%。

5. 根据权利要求1~4任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(2)中,鱼皮粉碎尺寸为0.3*0.3cm及以下的碎片。

6. 根据权利要求1~5任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(2)中,满足以下至少一项:

所述稀酸为醋酸、柠檬酸、磷酸中至少一种;

所述稀酸的浓度为0.1~1.0mol/L;优选地,所述稀酸的浓度为0.1~0.8mol/L;

所述胃蛋白酶的用量为鱼皮质量的0.1~5%;

鱼皮质量与稀酸的体积比例为1:20~1:70;

提取时间为24~72小时。

7. 根据权利要求1~6任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(3)中,调节pH为6.0~7.0。

8. 根据权利要求1~7任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(3)中,满足以下至少一项:

搅拌溶解后的最终溶液中的氯化钠浓度为0.1~0.9mol/L;

冷冻静置温度为4℃,冷冻时间为10小时以上;

冷冻干燥前先在-80℃冷冻,待完全结冻后再冷冻2~3小时。

9. 根据权利要求1~8任一项所述的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,其特征在于:步骤(3)中,采用0~4℃的纯水进行冲洗。

10. 权利要求1~9任一项得到的鱼皮胶原蛋白海绵材料。

鱼皮胶原蛋白海绵材料及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学生物材料技术领域,具体涉及鱼皮胶原蛋白海绵材料及其制备方法。

背景技术

[0002] 胶原是构成皮肤和粘膜的重要组成部分,鱼胶原蛋白富含甘氨酸、脯氨酸及羟脯氨酸等氨基酸,具有改善皮肤细胞外基质环境,加速伤口愈合及促进组织修复作用。目前已发现的胶原蛋白有29种,其中含量最多和分布最广泛的是I、II、III及IV型胶原蛋白,皮肤与骨骼中主要是I型胶原蛋白。在已经发现的所有胶原中,I型胶原含量最多,占全部胶原的90%,是动物体中最常见的胶原类型。

[0003] I型胶原分子由三条不一样的 α 链构成,每条 α 链的相对分子质量约为100kDa,且均是左手螺旋,螺距是0.87nm,每圈约有3.3个氨基酸残基,这三条 α 链相互缠绕形成了绳索状的右手超螺旋结构。胶原蛋白这种特征性的三螺旋结构赋予它诸多重要的生物学特性,如生物降解性能、弱抗原活性、低刺激性及良好的生物相容性,被广泛应用于生物医学材料、医学组织工程和医学美容等领域。因此,在提取过程中保持胶原蛋白的完整结构至关重要,因为该结构的破坏将会严重影响其生物功能。

[0004] 目前有多种方法尝试提取制备I型胶原蛋白。专利CN102242172B提供了一种从鳕鱼皮中提取胶原蛋白的方法,但其分子量仅为2000~3000道尔顿,因此为胶原蛋白肽,胶原蛋白的三螺旋结构已被破坏。专利CN1041515198提供了一种从鱼鳞中提取酶溶性胶原蛋白的方法,该方法采用超滤膜对胶原蛋白进行纯化。但若是保持了完整三螺旋结构的提取液非常粘稠,难以采用膜设备进行处理。且在膜分离的过程中,胶原蛋白结构容易受到设备中泵的剪切力而破坏。此外,采用这种方法得到的胶原蛋白纯度为90%,离陕西省地方标准《I型胶原蛋白通用技术要求》要求胶原蛋白的纯度>95%仍有一定的差距。专利CN105481978B采用萃取的方法从动物结缔组织中提取胶原蛋白,然后采用盐析和透析、干燥的方式得到胶原蛋白。专利CN101628937B采用酸溶的方法从胶原蛋白粗品中提取胶原蛋白,然后进行透析,最后进行冷冻干燥得到胶原蛋白成品。

[0005] 综上所述,大部分胶原蛋白的生产工艺中需要进行盐析和脱盐(透析)。通常,盐析后需要低温冷冻离心法得到胶原蛋白沉淀,能耗较高。离心得到的沉淀用稀酸溶解后,再利用纯水进行透析,操作工艺复杂,流程长,废水排放量大,成本高。可见,采用盐析,离心和透析的方式纯化胶原蛋白,此过程难以实现工业化方法生产。

发明内容

[0006] 针对现有技术的不足,本发明提供一种工艺流程短、操作方便、成本低的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,该方法制备的胶原蛋白海绵材料具有较高的密度,具有优良的性能一致性和体内稳定性。

[0007] 本发明提供的鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,包括以下步骤:

- [0008] (1) 依次用稀碱和有机溶剂先后去除鱼皮中的杂质；
- [0009] (2) 将步骤(1)中去除杂质后的鱼皮粉碎后与稀酸和胃蛋白酶混合均匀,连续搅拌进行胶原蛋白提取,获得胶原蛋白提取液；
- [0010] (3) 将步骤(2)中的胶原蛋白提取液过滤,收集提取清液,调节pH后加入氯化钠,搅拌溶解后冷冻静置,抽滤得到膜状的胶原蛋白,然后对其冲洗、冷冻干燥后,即可。
- [0011] 其中,步骤(1)中,所述鱼皮的来源为黑鱼、鲤鱼、鲫鱼、草鱼、鲢鱼或青鱼。
- [0012] 其中,步骤(1)中,将鱼皮洗净后,先用稀碱进行浸泡3次;每次浸泡的时间为2~8小时,每次浸泡后,用纯水洗干净,然后继续用稀碱进行浸泡。
- [0013] 其中,步骤(1)中,所述稀碱为氢氧化钠、氢氧化钾、氨水中至少一种。
- [0014] 其中,步骤(1)中,所述稀碱浓度小于0.1mol/L。优选地,稀碱浓度为0.05~0.1mol/L。
- [0015] 其中,步骤(1)中,将稀碱处理后的鱼皮用有机溶剂进行浸泡3次;每次浸泡的时间为4~8小时,每次浸泡后,用纯水洗干净。
- [0016] 其中,步骤(1)中,所述有机溶剂为甲醇、乙醇、丁醇、丙酮中至少一种。
- [0017] 其中,步骤(1)中,有机溶剂体积浓度为20~90%。优选地,有机溶剂体积浓度为20~60%。
- [0018] 其中,步骤(2)中,鱼皮粉碎尺寸为0.3*0.3cm及以下的碎片。
- [0019] 其中,步骤(2)中,所述稀酸为醋酸、柠檬酸、磷酸中至少一种。
- [0020] 其中,步骤(2)中,所述稀酸的浓度为0.1~1.0mol/L。优选地,所述稀酸的浓度为0.1~0.8mol/L。
- [0021] 其中,步骤(2)中,所述胃蛋白酶的用量为鱼皮质量的0.1~5%。
- [0022] 其中,步骤(2)中,鱼皮质量与稀酸的体积比例为1:20~1:70。
- [0023] 其中,步骤(2)中,提取时间为24~72小时。
- [0024] 其中,步骤(3)中,调节pH为6.0~7.0。
- [0025] 其中,步骤(3)中,搅拌溶解后的最终溶液中的氯化钠浓度为0.1~0.9mol/L。
- [0026] 其中,步骤(3)中,冷冻静置温度为4℃,冷冻时间为10小时以上。
- [0027] 其中,步骤(3)中,采用0~4℃的纯水进行冲洗。
- [0028] 其中,步骤(3)中,冷冻干燥前先在-80℃冷冻,待完全结冻后再冷冻2~3小时。
- [0029] 其中,整个鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备过程的温度均小于28℃。
- [0030] 本发明还提供上述方法制备的鱼皮胶原蛋白海绵材料。
- [0031] 有益效果:
- [0032] 本发明通过对胶原蛋白的提取液pH值进行调节,然后加入氯化钠,使得提取液中胶原蛋白析出并自组装成胶原蛋白纤维;然后对析出的胶原蛋白纤维进行抽滤,使之能形成膜状;最后,用冷水对膜状胶原蛋白进行冲洗,降低其中的灰分及部分水溶性杂质。本发明利用胶原蛋白自组装的特性,使其在适宜的体外条件下,经过有规则的分子重排,形成具有与生物体内结构类似的胶原纤维。纤维重组后,胶原或胶原材料的生物稳定性可以显著提高。因此可抽滤直接得到膜状的胶原蛋白。该膜状胶原蛋白致密,性能一致性好,具有完整的3螺旋结构,在医用生物材料领域具有潜在的应用前景。
- [0033] 本发明避免了盐析后,需要冷冻离心得到胶原蛋白沉淀,然后用稀酸溶解后,采用

透析的方式脱盐的过程。因此具有工艺简单,制备过程短、能耗低、废水排放量低等优点。

[0034] 本发明采用的鱼皮是水产品加工下脚料,具有价廉易得的优点,同时能提高水产品的经济价值,并降低对环境的污染和资源的浪费。

附图说明

[0035] 图1为本发明利用鱼皮制备得到胶原蛋白的过程,其中a为草鱼鱼皮;b为提取得到的膜状胶原蛋白;c为冻干过程中的胶原蛋白;d为冻干后得到的胶原蛋白海绵材料;

[0036] 图2为实施例1胶原蛋白的圆二色谱图。

具体实施方式

[0037] 本发明利用胶原蛋白自组装的特性,使其在适宜的体外条件下,经过有规则的分子重排,形成具有与生物体内结构类似的胶原纤维。纤维重组后,胶原或胶原材料的生物稳定性可以显著提高。因此可抽滤直接得到膜状的胶原蛋白。该膜状胶原蛋白致密,性能一致性好,具有完整的3螺旋结构,在医用生物材料领域具有潜在的应用前景。

[0038] 本发明主要的创新点在于:先将胶原蛋白的提取液pH值调节至6.0~7.0,然后加入氯化钠,使得提取液中胶原蛋白析出并自组装成胶原蛋白纤维;然后对析出的胶原蛋白纤维进行抽滤,使之能形成膜状;最后用冷水对膜状胶原蛋白进行冲洗,降低其中的灰分及部分水溶性杂质。此方法可以替代传统的盐析和透析脱盐这两步,因为透析的方式难以实现放大和工业化应用,具有工业化生产应用的潜力。

[0039] 本发明具体技术方案如下:

[0040] 本发明鱼皮胶原蛋白海绵材料的制备方法,包括以下步骤:

[0041] (1) 新鲜鱼皮用纯净水洗干净后,加入浓度低于0.1mol/L的氢氧化钠、氢氧化钾或氨水稀碱溶液,浸泡2~8小时,然后用纯净水冲洗干净,此过程重复3次,得到脱脂,且去除碱性杂蛋白的鱼皮。为了彻底去除鱼皮中的脂肪,继续用20~90%的甲醇、乙醇、丁醇或丙酮等有机溶剂浸泡鱼皮,每次浸泡4~8小时,共3次,最后用纯净水将鱼皮上的有机溶剂冲洗干净。其中,采用0.05~0.1mol/L的氢氧化钠溶液,20~60%的乙醇溶液能够更好的去除鱼皮中的脂肪、色素、杂蛋白等杂质。

[0042] (2) 将预处理后的鱼皮切成0.3*0.3cm以下的碎片,然后以鱼皮质量:稀酸体积1:20~1:70的比例,加入0.1~1.0mol/L的醋酸、柠檬酸或磷酸,接着按鱼皮质量的0.1~5%加入胃蛋白酶,不断搅拌24~72小时,促进鱼皮中胶原蛋白充分溶出。其中,加入0.1~0.8mol/L的醋酸更有利于胶原蛋白的充分溶出。

[0043] (3) 将步骤(2)中的提取液用筛网过滤,滤网的大小为40~300目,材质为不锈钢、塑料或木质,过滤可在抽真空或者加压下进行,压力<0.1MPa,分别得到未溶解的鱼皮和澄清的提取液。其中未完全溶解的鱼皮继续加酸、加胃蛋白酶进行提取或混入下一批提取过程。提取液用氢氧化钠调节其pH至6.0~7.0,然后加入氯化钠,搅拌使之完全溶解,最终提取液中氯化钠的浓度控制在0.1~0.9mol/L的范围内。最后将提取液放入4℃冰箱中静置10小时以上,使得提取液中的胶原蛋白析出,并形成胶原纤维。对得到的胶原纤维进行抽滤,得到膜状的胶原蛋白,采用0~4℃的纯水对其进行冲洗,去除其中残留的无机盐。然后将膜状胶原蛋白放入-80℃的冰箱,待其完全结冻后2~3小时,放入冷冻干燥器进行干燥,得到

海绵状的胶原蛋白材料。

[0044] 本发明调节提取液pH至6.0~7.0目的在于胶原蛋白在酸性条件下有一定的溶解性,调节至中性(pH=6.0~7.0)可以降低胶原蛋白在水中的溶解程度,提高收率。

[0045] 本发明并未用到离心的方法,是采用抽滤的方法得到胶原蛋白膜,而抽滤可以让溶液中的胶原蛋白纤维结合在一起,形成胶原蛋白膜。形成该膜后,才能用水对其进行冲洗,降低其灰分和水溶性杂质的含量。因此制备的胶原蛋白海绵比离心,然后再冷冻干燥得到的胶原蛋白海绵韧性更强,体内稳定性更好。

[0046] 本发明在抽滤之前,溶液中胶原蛋白已经重组并析出成胶原蛋白纤维,抽滤的过程是让胶原蛋白纤维继续通过范德华力聚集在一起形成均匀的膜状胶原蛋白。

[0047] 下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解,下面的实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0048] 实施例1胶原蛋白海绵材料的制备-黑鱼鱼皮为原料

[0049] 将黑鱼鱼皮去鳞后,用水洗净,取100g鱼皮,加入约6倍体积0.1mol/L的氢氧化钠溶液,使之完全浸没,8小时后将氢氧化钠溶液撇去,并用纯水将鱼皮洗干净。此过程重复3次。接着采用5倍体积50%的乙醇浸没鱼皮,8小时后将乙醇溶液撇去,并用纯水将鱼皮洗干净。此过程重复3遍,以便彻底去除鱼皮中残留的脂肪和色素。将预处理好的鱼皮切成0.2*0.2cm以下的碎片。切碎的鱼皮,加入3L浓度为0.5mol/L的醋酸溶液,然后加入1g胃蛋白酶(鱼皮质量的1%)。开启搅拌器,不断搅拌,促进鱼皮的溶解。48小时后,停止搅拌,采用200目的筛网对提取液进行过滤,过滤得到3.05L提取液以及少量未完全溶解的碎鱼皮。用氢氧化钠调节提取液的pH值为6.0~7.0,接着向过滤后的提取液中加入180g氯化钠,充分搅拌,使得加入的氯化钠完全溶解,此时溶液中会析出少量的胶原纤维。将此提取液放冰箱静置,12小时后取出,对析出的胶原蛋白纤维进行抽滤,得到膜状的胶原蛋白,用4℃的纯水对胶原蛋白进行冲洗。冲洗后的胶原蛋白放入-80℃的冰箱进行冷冻3小时。然后取出放入冷冻干燥器进行冻干,最后得到约18.8g胶原蛋白,水分含量为6%,胶原蛋白含量为96%(干基),灰分为0.3%,特征氨基酸羟脯氨酸含量为7.2%。鱼皮的组成如表1所示,其中粗蛋白采用凯氏定氮法,粗脂肪采用索氏抽提法,水分采用105℃烘干至恒重的方法,灰分采用550℃灼烧8小时测得。

[0050] 表1黑鱼鱼皮的组分分析

基本成分(wt%)	水分	灰分	粗蛋白	粗脂肪
黑鱼鱼皮	66.1	0.86	31.01	2.72

[0052] 而冻干得到的胶原蛋白组成如表2所示,其圆二色谱图如附图2所示。

[0053] 表2制备得到的胶原蛋白海绵材料各项参数

基本成分(wt%)	水分	灰分	羟脯氨酸	蛋白质(干基)
脱盐后胶原蛋白	6.0	0.3	7.2	96.0

[0055] 实施例2胶原蛋白海绵材料的制备-草鱼鱼皮为原料

[0056] 草鱼鱼皮的组分分析如表3所示,取100g冲洗干净鱼皮,按实施例1的步骤对鱼皮进行预处理。然后将预处理好(脱脂、脱色后)的鱼皮切碎成0.3*0.3cm以下的碎片,然后

加入4L浓度为0.6mol/L的柠檬酸,并加入2%的胃蛋白酶,接着不断搅拌72小时,得到胶原蛋白的提取液。然后采用100目的筛网对提取液进行过滤,得到4.05L的提取液以及少量未完全溶解的鱼皮。用氢氧化钠调节提取液的pH值为6.0~7.0,接着向提取液中加入80g氯化钠,并在搅拌下使之完全溶解后,将提取液放入4℃冰箱静置10小时后,对提取液中的胶原蛋白纤维进行抽滤,得到膜状的胶原蛋白。用2℃的纯水对膜状的胶原蛋白进行冲洗。把膜状的胶原蛋白放入-80℃冰箱冷冻3小时,接着放入冷冻干燥器进行冻干。最后得到16.5g胶原蛋白材料,对其水分、灰分、蛋白质、羟脯氨酸含量进行测定,结果如表4所示。

[0057] 表3草鱼鱼皮的组分分析

[0058]	基本成分 (wt%)	水分	灰分	粗蛋白	粗脂肪
	草鱼鱼皮	67.0	1.2	28.5	3.3

[0059] 表4草鱼鱼皮制备得到的胶原蛋白海绵材料

[0060]	基本成分 (wt%)	水分	灰分	羟脯氨酸	蛋白质 (干基)
	脱盐后胶原蛋白	6.6	0.5	6.7	95.8

[0061] 实施例3胶原蛋白海绵材料的制备-鲫鱼鱼皮为原料

[0062] 将鲫鱼鱼皮去鳞,用纯水将鱼皮表面的杂质冲洗干净,其组分分析如表5所示。取60g鱼皮加入约4倍体积0.1mol/L的氢氧化钾溶液,浸泡8小时后,将氢氧化钾撇去,然后用纯水将鱼皮冲洗干净。此过程重复3次。然后用5倍体积30%的丁醇浸泡鱼皮,6小时后将丁醇溶液撇去,用纯水将鱼皮冲洗干净。此过程也重复3次。将预处理好(脱脂、脱色后)的鲫鱼鱼皮切碎成0.2*0.2cm以下的碎片,然后加入1.8L浓度为0.7mol/L的醋酸,并加入0.3g胃蛋白酶(鱼皮质量的0.5%),室温(25℃)下在不断搅拌60小时,得到胶原蛋白的提取液。然后采用200目的筛网对提取液进行过滤,得到1.84L的提取液以及少量未完全溶解的鱼皮。用氢氧化钠调节提取液的pH值为6.0~7.0,接着向提取液中加入56g氯化钠,并在搅拌下使之完全溶解后,将提取液放入4℃冰箱静置10小时,使提取液中的胶原蛋白以胶原纤维的形式析出。接着对析出的胶原蛋白纤维进行抽滤,得到膜状的胶原蛋白。用4℃的纯水对膜状的胶原蛋白进行冲洗。然后把膜状的胶原蛋白放入-80℃冰箱冷冻2小时,接着放入冷冻干燥器进行冻干。最后得到12.1g胶原蛋白材料,对其水分、灰分、蛋白质、羟脯氨酸含量进行测定,结果如表6所示。

[0063] 表5鲫鱼鱼皮的组分分析

[0064]	基本成分 (wt%)	水分	灰分	粗蛋白	粗脂肪
	草鱼鱼皮	63.0	1.7	30.7	4.6

[0065] 表6草鱼鱼皮制备得到的胶原蛋白海绵材料

[0066]	基本成分 (wt%)	水分	灰分	羟脯氨酸	蛋白质 (干基)
	脱盐后胶原蛋白	5.9	0.4	6.3	96.1

[0067] 对比例1采用透析的方法制备胶原蛋白

[0068] 草鱼鱼皮的组分分析如表3所示,取冲洗干净的草鱼鱼皮20g,然后加入160ml氢氧化钠溶液(0.1mol/L)浸泡8小时,然后用纯水将鱼皮上的氢氧化钠冲洗干净,此过程重复3次。然后用30%的乙醇浸泡鱼皮8小时,然后用纯水冲洗干净,此过程也重复3次。接着将脱脂、脱色后的鱼皮切成0.2*0.2cm以下的碎片,加入0.6L浓度为0.5mol/L的醋酸,并加入

0.2g胃蛋白酶,不断搅拌72小时后,得到胶原蛋白的提取液。然后用200目的筛网对提取液进行过滤,得到0.61L提取液以及少量未完全溶解的碎鱼皮。向提取液中加入30g氯化钠,搅拌使之溶解,然后放入4℃冰箱。10小时后取出进行高速冷冻离心,离心的温度为5℃,转速为10000转/分钟,离心15分钟。离心得到的沉淀用0.5mol/L的醋酸复溶(沉淀和醋酸溶液的比例为1:10,接着用分子截留量为8000-10000的透析袋进行透析,透析溶液采用纯水,透析24小时后,更换透析纯水,直到透析溶液的电导率<50us/cm停止透析,共需透析5天。透析后的胶原蛋白溶液先放入-80℃的冰箱进行预冻10小时,然后取出放入冷冻干燥器进行冻干,得到3g胶原蛋白,水分含量为7.2%,灰分为0.8%,蛋白质含量为95.6%(干基)。

[0069] 从上述实施例和对比例可知,本发明通过先调节溶液的pH至6.0~7.0,然后加盐使溶液中胶原蛋白自组装形成胶原蛋白纤维,然后再利用抽滤的方法使纤维聚集成胶原蛋白膜,接着用冷水将胶原蛋白膜中无机盐和水溶性杂质去除,获得的胶原蛋白海绵材料水分、灰分、蛋白质、羟脯氨酸含量均是较佳的。而对比例需要在盐析后进行离心得到胶原蛋白沉淀,然后用醋酸使胶原蛋白复溶,接着再使用透析进行脱盐,最后再进行冻干,得到胶原蛋白,操作工艺复杂,流程长,废水排放量大,成本高,且获得的胶原蛋白水分、灰分、蛋白质、羟脯氨酸含量相比于本发明均较差。

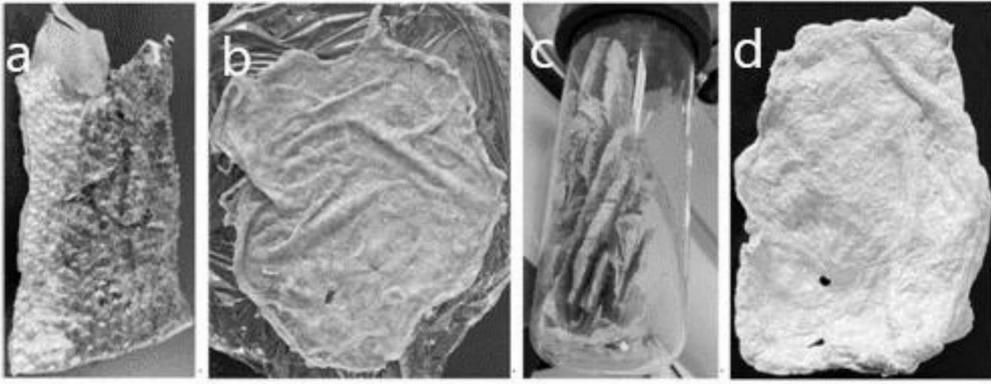


图1

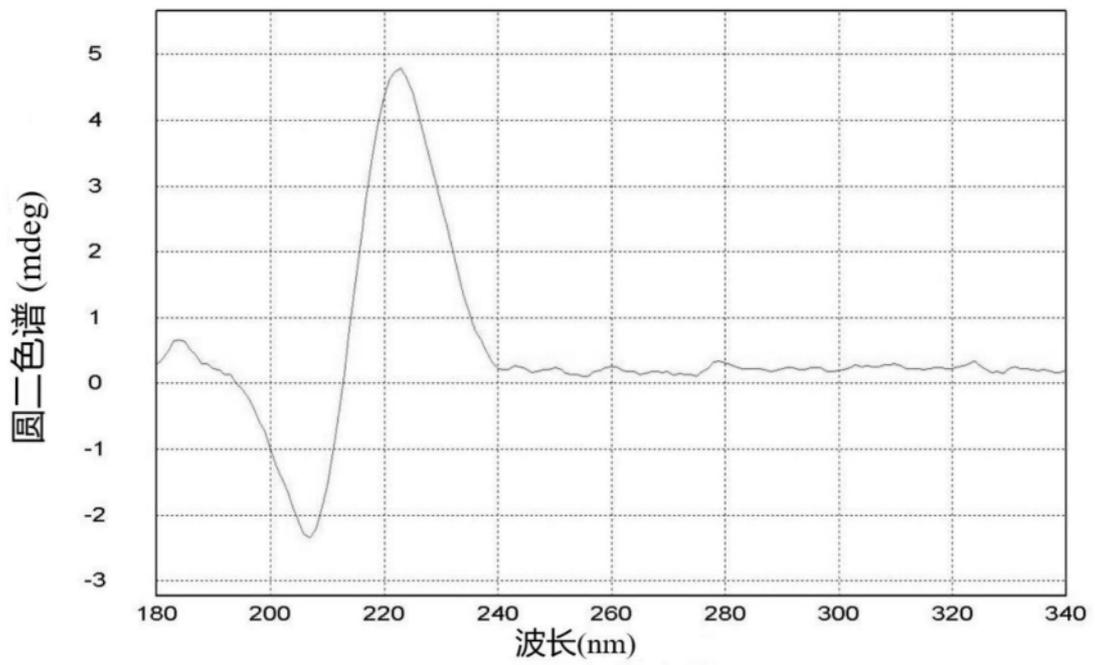


图2