

# 鱼鳞胶原-壳聚糖止血海绵的制备工艺

王 茵<sup>1</sup> 黄 煜<sup>2</sup> 许永安<sup>1</sup> 吴成业<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>福建省水产研究所, 厦门 361012)

(<sup>2</sup>福建农林大学食品科学学院, 福州 350002)

**摘 要** 以罗非鱼 *Tilapia mossambica* 鱼鳞为原料, 经低温酶解提取鱼鳞 I 型胶原, 将鱼鳞 I 型胶原与壳聚糖进行混合交联, 冻干后制成胶原-壳聚糖止血海绵。以止血海绵的密度、吸水倍数、保水率、透气率和止血时间为指标, 通过单因素实验和正交试验优化获得最佳的制备工艺: 胶原与壳聚糖配比 7 : 3、制备液总浓度 1.4 %、交联剂添加量 0.015 %。在该最佳工艺下制备的止血海绵密度为 22.95 mg/cm<sup>3</sup>、吸水倍数为 45.34、保水率为 55.83%、透气率为 46.36%、止血时间为 68.0 s, 呈蜂窝状多孔结构, 具有优良的持水性和透气性。

**关键词** 鱼鳞胶原 壳聚糖 止血海绵 交联

**中图分类号** S986.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)01-0129-07

## Research on preparation technique of fish scale collagen-chitosan hemostatic sponge

WANG Yin<sup>1</sup> HUANG Yu<sup>2</sup> XU Yong-an<sup>1</sup> WU Cheng-ye<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012)

(<sup>2</sup>College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 360002)

**ABSTRACT** Fish scale type I collagen was extracted through low temperature enzymolysis from *Tilapia mossambica*, and after being crosslinked with chitosan, hemostatic sponge was generated *via* freeze-drying. Through single factor comparative tests and orthogonal tests, the optimum preparation technique was obtained as follows: mixing of collagen with chitosan according to a given volume ratio 7 : 3, maintaining total concentration of preparation mixture at 1.4%, and keeping dosage of cross-linking agent at 0.015%. Under this condition, the generated hemostatic sponge possessed excellent properties, such as density (22.95 mg/cm<sup>3</sup>), water absorption (45.34), water retention (55.83%), breathability (46.36%), and hemostatic time (68.0 s). A faveolate vesicular structure, which contributed to preferable properties, was clearly observed with SEM.

**KEY WORDS** Fish scale collagen Chitosan Hemostatic sponge Crosslinking

随着我国水产品加工工业的不断发展,鱼类加工过程中副产物的产量也逐年上升。据统计,我国每年产生的鱼皮、鱼鳞、鱼骨等副产物总量达 200 万 t 以上,其中鱼鳞约占 15%,即 30 万 t 左右(罗红宇 2003)。因此,合理地开发利用鱼鳞对海洋资源的循环利用和海洋经济的可持续发展具有重要的意义。

鱼鳞主要由蛋白质和羟基磷灰石组成,其中蛋白质以 I 型胶原含量居多,通过低温酶解可获得鱼鳞 I 型胶原(Atsushi *et al.* 2003;Ikoma *et al.* 2003)。特殊的化学组成和结构特征使胶原具有良好的生物相容性、可降解性、低抗原性等特性,能参与细胞的迁移、分化和增殖,在美容、烧伤治疗、创面止血、硬组织修复等医疗领域有广阔的应用前景(蒋挺大 2006;Coln *et al.* 1983)。壳聚糖则具有良好的成膜性、抗菌性和调节凝血等功效(Seyfarth *et al.* 2008;Ueno *et al.* 2001),与胶原进行共混交联制成海绵状固体,不仅具有显著的止血作用,还能构建稳定的海绵立体三维结构从而强化机械性能(Taravel *et al.* 1996)。本研究初步探讨了胶原-壳聚糖止血海绵的制备工艺,为新型医用止血海绵的研制提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

罗非鱼鱼鳞:厦门同安源水水产有限公司;壳聚糖(脱乙酰度  $DD \geq 92\%$ ):厦门泰京生物技术有限公司;胃蛋白酶(酶活力  $\geq 1200$  U/g):国药集团化学试剂有限公司;牛腱 I 型胶原:美国 Sigma 公司,其他试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪器设备

DY CZ-24DN 型电泳槽、DYY-6C 型电泳仪:北京市六一仪器厂;LGJ-2 型冷冻干燥机:郑州南北仪器设备有限公司;XL30ESEM-TM 扫描电子显微镜:荷兰 Philips-FEI 公司;SCD005 离子溅射仪:瑞士 BAL-TEC 公司;Centrifuge 5804R 冷冻离心机:德国 Eppendorf 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 鱼鳞胶原的制备

罗非鱼鱼鳞洗净晾干,粉碎后于 3% 盐酸溶液中浸泡 2 h,充分脱钙。将脱钙后的鱼鳞用蒸馏水洗净,以 1:20 的质量比加入 0.2 mol/L 的柠檬酸溶液调 pH 至 2.0,添加 3% 胃蛋白酶,在 10℃ 下酶解 48 h;酶解液于 10℃,8 000 r/min 离心 10 min(旋转半径  $r=11.5$  cm),收集上清液,残渣继续酶解;重复上述酶解步骤 3 次,合并上清液。在上清液中缓慢加入 NaCl 粉末,使 NaCl 终浓度达到 0.8 mol/L,混匀后于 10℃ 静置过夜,使鱼鳞胶原充分沉淀析出。在 10℃ 下 8 000 r/min 离心 10 min(旋转半径  $r=11.5$  cm),收集沉淀,装于透析袋内,用蒸馏水透析 3 d,每天更换蒸馏水,直至  $Cl^-$  不再析出。经冷冻干燥后获得鱼鳞胶原固体,置于干燥器中保存。

#### 1.3.2 SDS-PAGE 电泳分析

SDS-聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳采用 7.5% 的分离胶和 5% 的浓缩胶(杨建雄 2002)。取罗非鱼鱼鳞胶原和牛腱 I 型胶原蛋白各 1 mg,分别溶解于 1 ml 样品处理液中,沸水加热 3 min,制成样品溶解液。用微量进样器上样 20  $\mu$ l,浓缩胶电泳电压为 80 V,分离胶电泳电压为 100 V,电泳时间 3~4 h。用考马斯亮蓝 R<sub>250</sub> 染色,凝胶成像系统处理凝胶图谱。

#### 1.3.3 胶原-壳聚糖止血海绵的制备

将 1.3.1 制得的鱼鳞胶原与壳聚糖分别溶解于 0.2% 的醋酸溶液中,以一定比例混匀,再加入一定量的戊二醛溶液,倒入硅胶模具中(4.8 cm×2.5 cm×1.2 cm),于 4℃ 环境下静置交联 24 h。再放置于 -70℃ 低温下冻结 24 h,冻结后于真空冷冻干燥机中冷冻干燥 48 h,制成多孔隙海绵状固体,即胶原-壳聚糖止血海绵。以胶原密度、吸水倍数、保水率、透气率和止血时间为指标,对胶原与壳聚糖配比、制备液总浓度及交联剂用量 3 个因素,进行单因素实验和  $L_9(3^4)$  正交试验(表 1)。

表 1 胶原-壳聚糖止血海绵正交试验的因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of collagen-chitosan hemostatic sponge

因素	Factor	编码 Code	水平 Level 1	水平 Level 2	水平 Level 3
胶原:壳聚糖	Collagen:Chitosan	A	6:4	7:3	8:2
总浓度(%)	Total concentration	B	1.2	1.4	1.6
交联剂浓度(%)	Dosage of glutaraldehyde	C	0.010	0.015	0.020

### 1.3.4 吸湿性测定

从模型中取出的止血海绵具有一定的大小规格,先在分析天平上称重记为  $G_0$ ,再放入蒸馏水中,使其充分吸水,2 min 后用铁网勺捞出,自然沥水 30 s 后称重,记为  $G_1$ ,吸水倍数 =  $(G_1 - G_0) / G_0$ 。

### 1.3.5 保湿性测定

在 1.3.4 实验步骤的基础上,将称重后的海绵,放入蒸馏水中充分吸水 2 min 后,沥干表面水分,置于自制的离心管中,500 r/min 离心 3 min,甩出水分后取出称重,记为  $G_2$ ,保湿率 =  $(G_2 - G_0) / (G_1 - G_0) \times 100\%$ 。

### 1.3.6 透气性测定

根据何兰珍等(2006)的方法略作修改,在高型称量瓶中加入一定量的蒸馏水,将止血海绵剪成与称量瓶瓶口大小一致的圆形封于瓶口处,对照组不封口,室温下静置 24 h,使水分自然蒸发,准确称量试验组和对照组实验前后蒸馏水的质量,计算失水量,透气率 = 实验组失水量 / 对照组失水量  $\times 100\%$ 。

### 1.3.7 止血时间测定

在昆明小鼠的后肢进行脱毛处理,小心剪开后肢,皮层长约 1 cm,露出小鼠股动静脉,用手术刀片横切股动静脉制造出血创面,用胶原-壳聚糖止血海绵敷压止血,记录止血时间,每个样品平行 3 组实验,取其平均止血时间。

### 1.3.8 电镜扫描结构观察

将胶原-壳聚糖止血海绵样品充分干燥后,在 SCD005 离子溅射仪上进行喷金处理,再于扫描电镜上观察样品的表面和截面结构,扫描电压为 20 kV,取放大 200 倍的镜头图像进行观察比较。

## 2 结果与分析

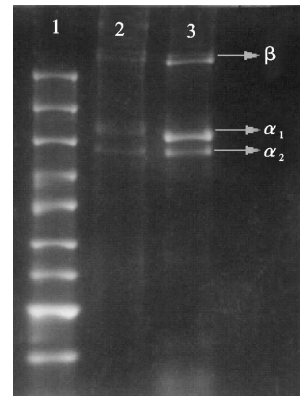
### 2.1 SDS-PAGE 分析鱼鳞胶原

用胃蛋白酶在低温下提取罗非鱼鱼鳞中的酶促溶性胶原,冻干后得到的鱼鳞胶原呈白色海绵状固体,经检测其羟脯氨酸含量为 14.9%。SDS-PAGE 电泳分析图谱中存在 3 条清晰的条带(图 1),从上到下依次为  $\beta$  链、 $\alpha_1$  链和  $\alpha_2$  链,分子量分别为 210.9、121.0、110.8 kDa,推测该蛋白由 3 个亚基组成,总分子量约为 442.7 kDa。图谱中无其他明显的杂带,可见所提取的鱼鳞胶原纯度较高。此外,通过与牛腱 I 型胶原的电泳带型比较,鱼鳞胶原与牛腱 I 型胶原具有相同的电泳谱图,可以初步确认该鱼鳞蛋白为典型的 I 型胶原。

### 2.2 胶原-壳聚糖止血海绵的制备条件优化

#### 2.2.1 胶原与壳聚糖的不同配比对止血海绵特性的影响

在制备液总浓度为 1.4%、戊二醛添加量为 0.02% 的固定条件下,分析了制备液中胶原与壳聚糖的共混比例对止血海绵特性的影响,结果如表 2 所示。制备液中胶原与壳聚糖的共混比例对



1. 高分子量标准蛋白;  
2. 牛腱 I 型胶原蛋白标准品;3. 罗非鱼鱼鳞胶原  
1. High molecular weight standard protein;  
2. Beef tendon type I collagen standard;  
3. Fish scale collagen of *Tilapia mossambica*

图 1 鱼鳞胶原 SDS-PAGE 电泳图谱  
Fig. 1 SDS-PAGE pattern of the extracted fish scale collagen

吸水倍数的影响最为显著。当胶原与壳聚糖等量混合时,止血海绵的吸水倍数为 34.45,随着胶原比例的提高,吸水倍数不断上升。当胶原与壳聚糖比例为 7:3 时,吸水倍数达到最大,为 46.77,再继续增加胶原的比例则会导致吸水倍数下降。保水率的变化趋势与吸水倍数相同,均随着胶原含量的增加先上升再下降,在胶原与壳聚糖比例为 6:4 时达到最大,为 36.44%。胶原与壳聚糖的共混比例对止血海绵的密度和透气率影响不大。

表 2 胶原与壳聚糖比例对止血海绵特性的影响

Table 2 The influences of different mixing ratios of collagen and chitosan on properties of hemostatic sponge

胶原:壳聚糖 Collagen:Chitosan	密度 Density (mg/cm <sup>3</sup> )	吸水倍数 Water absorption	保水率 Water retention (%)	透气率 Breathability (%)
5:5	21.85±0.65 <sup>a</sup>	34.45±1.45 <sup>c</sup>	25.40±0.81 <sup>b</sup>	42.69±1.58 <sup>a</sup>
6:4	20.66±0.11 <sup>a</sup>	40.64±0.95 <sup>b</sup>	36.44±2.17 <sup>a</sup>	49.37±0.95 <sup>a</sup>
7:3	21.31±0.59 <sup>a</sup>	46.77±1.66 <sup>a</sup>	25.98±1.37 <sup>b</sup>	48.27±1.93 <sup>a</sup>
8:2	20.33±1.61 <sup>a</sup>	38.87±0.84 <sup>b</sup>	25.66±1.31 <sup>b</sup>	48.25±0.80 <sup>a</sup>
9:1	19.62±0.96 <sup>a</sup>	30.95±1.89 <sup>d</sup>	20.26±1.10 <sup>c</sup>	47.34±1.60 <sup>b</sup>

注:同一列中上标字母不同代表有显著性差异( $P<0.05$ ),相同则无显著性差异( $P>0.05$ )

Note: Different letters in each line mean significant differences ( $P<0.05$ ), and same letters mean no significant difference ( $P>0.05$ )

### 2.2.2 制备液总浓度对止血海绵特性的影响

在胶原与壳聚糖配比为 7:3、戊二醛添加量为 0.02% 的固定条件下,探讨制备液总浓度对止血海绵特性的影响。结果如表 3 所示,随着总浓度的增加,止血海绵的密度和保水率均逐渐增大,密度从 1.0% 时的 14.98 mg/cm<sup>3</sup> 增大到 1.8% 时的 24.52 mg/cm<sup>3</sup>,保水率从 1.0% 时的 25.05% 增大到 1.8% 时的 43.53%。而吸水倍数随着总浓度的增加呈先增加后减少的趋势,在总浓度为 1.2% 时吸水倍数最大达 41.05。

表 3 总浓度对止血海绵特性的影响

Table 3 The influences of different total concentrations of preparation mixture on properties of hemostatic sponge

总浓度 Total concentration of preparation mixture (%)	密度 Density (mg/cm <sup>3</sup> )	吸水倍数 Water absorption	保水率 Water retention (%)	透气率 Breathability (%)
1.0	14.98±0.26 <sup>d</sup>	34.08±1.13 <sup>b</sup>	25.05±1.25 <sup>c</sup>	45.70±1.58 <sup>a</sup>
1.2	18.13±0.26 <sup>c</sup>	41.05±1.27 <sup>a</sup>	28.24±0.72 <sup>bc</sup>	45.72±1.47 <sup>a</sup>
1.4	20.48±0.33 <sup>b</sup>	41.02±1.64 <sup>a</sup>	30.29±2.48 <sup>b</sup>	43.44±1.56 <sup>a</sup>
1.6	24.05±0.33 <sup>a</sup>	34.14±0.87 <sup>b</sup>	31.74±1.85 <sup>b</sup>	44.36±0.98 <sup>a</sup>
1.8	24.52±0.78 <sup>a</sup>	29.73±1.43 <sup>c</sup>	43.53±2.60 <sup>a</sup>	43.77±2.01 <sup>a</sup>

注:同一列中上标字母不同代表有显著性差异( $P<0.05$ ),相同则无显著性差异( $P>0.05$ )

Note: Different letters in each line mean significant differences ( $P<0.05$ ), and same letters mean no significant difference ( $P>0.05$ )

### 2.2.3 交联剂用量对止血海绵特性的影响

实验中选择戊二醛为交联剂,在胶原与壳聚糖配比为 7:3、制备液总浓度为 1.4% 的固定条件下,分析了交联剂的不同用量对止血海绵特性的影响,结果如表 4 所示。随着戊二醛浓度的增加,吸水倍数和保水率呈先增加后下降的趋势,在戊二醛浓度为 0.015% 时吸水倍数最大,达 43.20%;保水率则随着戊二醛浓度的增加有上升的趋势,在戊二醛浓度为 0.025% 时保水率达最大,为 36.02%。戊二醛浓度对透气率的影响并不显著。

表 4 戊二醛添加量对止血海绵特性的影响

Table 4 The influences of different dosages of glutaraldehyde on properties of hemostatic sponge

戊二醛浓度(%) Dosage of glutaraldehyde	密度 Density (mg/cm <sup>3</sup> )	吸水倍数 Water absorption	保水率 Water retention (%)	透气率 Breathability (%)
0.010	20.31±0.22 <sup>b</sup>	40.49±0.21 <sup>c</sup>	27.18±1.91 <sup>bc</sup>	45.42±2.35 <sup>a</sup>
0.015	20.04±0.04 <sup>b</sup>	43.20±1.09 <sup>a</sup>	25.77±1.42 <sup>c</sup>	45.83±2.49 <sup>a</sup>
0.020	19.95±0.11 <sup>b</sup>	41.86±0.72 <sup>b</sup>	29.00±1.16 <sup>b</sup>	43.35±0.77 <sup>a</sup>
0.025	20.76±0.23 <sup>a</sup>	34.44±0.80 <sup>d</sup>	36.02±1.16 <sup>a</sup>	46.97±1.64 <sup>a</sup>
0.030	20.95±0.36 <sup>a</sup>	33.18±0.35 <sup>d</sup>	34.23±1.26 <sup>a</sup>	44.46±1.38 <sup>a</sup>

注:同一列中上标字母不同代表有显著性差异( $P < 0.05$ ),相同则无显著性差异( $P > 0.05$ )

Note: Different letters in each line mean significant differences ( $P < 0.05$ ), and same letters mean no significant difference ( $P > 0.05$ )

2.2.4 制备止血海绵正交试验

对上述影响止血海绵特性的 3 个因素进行正交试验分析,以吸水倍数和止血时间为指标,进行止血海绵制备工艺的优化,如表 5 所示。从极差分析的结果可以看出,影响吸水倍数的因素主次排列为:总浓度>胶原与壳聚糖配比>交联剂浓度,最优的水平组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>。影响止血海绵止血时间的因素主次排列为:总浓度>交联剂浓度>胶原与壳聚糖配比,最优的水平组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>。两个指标的最优水平组合仅相差交联剂添加量这一因素,由于戊二醛对生物体具有一定的毒性,应尽量减低使用量,因此选择 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 为最优水平组合,即:胶原与壳聚糖配比 7:3、制备液总浓度 1.4%、交联剂添加量 0.015%。在该条件下制备出的胶原-壳聚糖止血海绵密度为 22.95 mg/cm<sup>3</sup>、吸水倍数为 45.34、保水率为 55.83%、透气率为 46.36%、止血时间为 68.0 s,各项指标均显示该止血海绵特性优良。

表 5 优化胶原-壳聚糖止血海绵制备工艺的正交试验结果

Table 5 Orthogonal tests for optimizing the preparation technique of collagen-chitosan hemostatic sponge

列号 NO.	因素 Factor					吸水倍数 Water absorption	止血时间 Hemostatic time(s)
	A 胶原:壳聚糖 Collagen : Chitosan	B 总浓度 Total concentration(%)	C 交联剂浓度 Dosage of glutaraldehyde(%)	D 空列 Null			
1	1	1	1	1	38.56	98.7	
2	1	2	2	2	41.32	88.3	
3	1	3	3	3	32.47	78.7	
4	2	1	2	3	43.65	95.0	
5	2	2	3	1	41.28	66.0	
6	2	3	1	2	34.64	68.3	
7	3	1	3	2	36.36	91.7	
8	3	2	1	3	36.23	78.3	
9	3	3	2	1	30.12	97.0	
吸水 倍数 Water absorption	$\bar{K}_1$	37.45	39.52	36.48	36.65	因素主次: B>A>C 最优方案: A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	
	$\bar{K}_2$	39.86	39.61	38.36	37.44		
	$\bar{K}_3$	34.24	32.41	36.70	37.45		
	R	5.62	7.20	1.89	0.80		
止血 时间 Hemostatic time	$\bar{K}_1$	88.57	95.13	81.77	87.23	因素主次: B>C>A 最优方案: A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	
	$\bar{K}_2$	76.43	77.53	93.43	82.77		
	$\bar{K}_3$	89.00	81.33	78.80	84.00		
	R	12.57	17.60	14.63	4.47		

### 2.3 电镜的空隙结构分析

罗非鱼鱼鳞胶原经冷冻干燥成海绵状固体后在电镜下观察,如图2所示。从其正面电镜图谱看出,鱼鳞胶原的表面呈现出复杂的网状结构,侧面的截面图显示鱼鳞胶原侧面是较为紧密的片层结构。鱼鳞胶原经过与壳聚糖的共混交联,制成止血海绵后的电镜图谱如图3所示。从正面图中可以看出,止血海绵的表面为不规则的多孔结构,孔直径大约在 $100\sim 200\ \mu\text{m}$ 左右,而截面图可以清楚看出,止血海绵的蜂窝状多孔三维立体结构,说明与壳聚糖交联后,胶原的纤维结构发生了改变,使胶原-壳聚糖止血海绵具有优良的空隙结构和透气性。

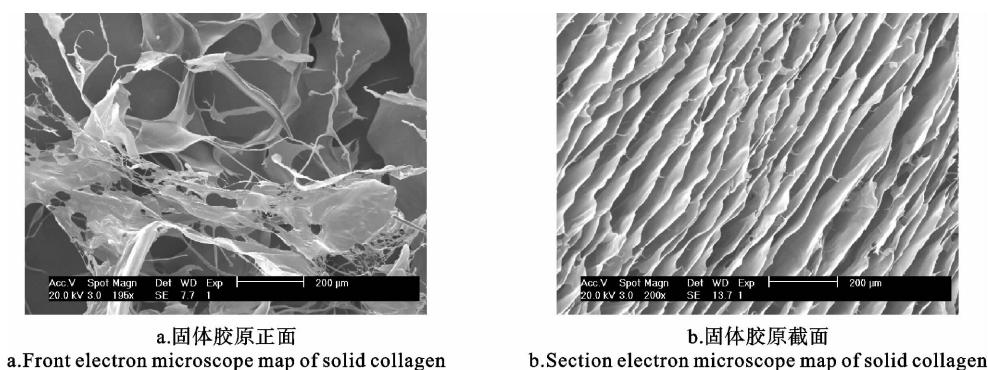


图2 电镜下罗非鱼鱼鳞胶原

Fig. 2 Electron microscope map of fish scale collagen of *T. mossambica*

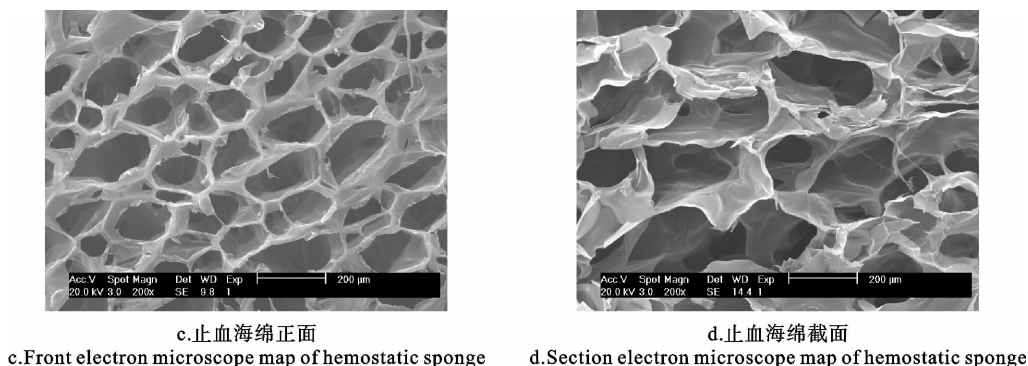


图3 电镜下胶原-壳聚糖止血海绵

Fig. 3 Electron microscope map of collagen-chitosan hemostatic sponge

## 3 讨论

胶原是哺乳动物体内含量丰富的一种特殊蛋白质,被广泛地运用于各领域。但因口蹄疫、疯牛病等疾病的暴发,以禽畜等陆生动物皮为材料制得的胶原产品安全性受到质疑,因此研究学者将目光转向了海洋水产胶原的研究。本实验中提取获得的鱼鳞胶原羟脯氨酸(Hydroxyproline, Hyp)含量高达 $14.9\%$ ,与草鱼鱼鳞胶原的Hyp含量 $11.8\%$ (钟朝辉等 2007)、鲤鱼鱼鳞胶原的Hyp含量 $7.2\%$ (张俊杰等 2005)、鲟鱼鱼皮胶原的Hyp含量 $10.5\%$ (鲍士宝等 2008)及热水提取的罗非鱼鱼鳞胶原的Hyp含量 $10.4\%$ (刘石生等 2006)相比,可见在低温条件下经胃蛋白酶提取的罗非鱼鱼鳞胶原得率较高。同时,通过SDS-PAGE电泳图谱可看出鱼鳞胶原由3条不同的肽链组成,说明该胶原由3个蛋白亚基构成,这与国内外报道的草鱼鱼鳞(钟朝辉等 2007)、鲟鱼鱼皮(鲍士宝等 2008)、鲛鱼鱼皮(Sivakumar *et al.* 2000)胶原的电泳图谱一致。可见,在低温酶解的制备过程中胶原分子结构未被破坏,获得的鱼鳞胶原仍保持着3股螺旋结构,由于鱼鳞胶原的变性温度在 $25\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围(钱曼 2008),实验中 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的操作温度没有引起胶原分子结构的改变,适合鱼鳞I型胶原

的制备。

胶原分子含有特殊的氨基酸序列,在与出血创面接触时,能刺激血小板释放出亚细胞颗粒和凝血因子,激活血小板凝结等一系列细胞内反应,促进凝血过程;同时在创面形成稳定的凝胶,可保护新生创面组织顺利生长,达到修复创面的目的(Low *et al.* 1993;武继民等 2002)。但是,胶原的机械强度不足,力学性能差,急促的出血会冲破胶原本身,且其溶解速度太快,遇水膨胀易变形,影响止血效果和使用的安全性。而壳聚糖则具有良好的成膜性、亲水性及力学强度,又是一种生物相容性良好、易降解的体内植入生物材料(叶春婷等 2004;Senel *et al.* 2004)。将壳聚糖与胶原进行混合交联,通过氢键作用、静电作用和戊二醛的交联作用,使胺基、羟基、羧基等之间发生相互交联,经过冷冻干燥形成网状纤维,使胶原-壳聚糖复合材料具有蜂窝状多孔的三维立体结构,该结构提高了止血海绵的力学强度,有利于吸附血液中的血小板,促进止血过程,且有利于细胞的迁移、增殖和生长,有利于养料的传输和血管化的进行(王康建等 2009;Taravel *et al.* 1996)。

医用止血海绵的吸水倍数和保水率越大,吸收和保持体液的作用就越强,越有利于创面伤口的恢复或手术过程中出血量的控制,合适的密度、透气率和膨胀率可对损伤处进行恰到好处的填塞,使止血效果更为显著。而影响胶原-壳聚糖止血海绵这些性能的主要因素有胶原与壳聚糖的配比、制备液总浓度及交联剂戊二醛的用量等,经过制备工艺的优化,获得的最优工艺是:胶原与壳聚糖配比 7 : 3、制备液总浓度 1.4 %、交联剂添加量 0.015 %,在该条件下制成的止血海绵具有优良的止血性能和结构特性。

## 参 考 文 献

- 王康建,曾 睿,叶易春,但年华,但卫华. 2009. 胶原-壳聚糖-硫酸软骨素三元膜材料的制备与性能研究. 皮革科学与工程,19(2):26~30
- 刘石生,易美华,黄文艳. 2006. 热水提取罗非鱼鱼鳞胶原蛋白的研究. 现代食品科技,22(4):139~141
- 叶春婷,邹海燕,彭燕豪,刘向荣,陈志光. 2004. 壳聚糖-胶原海绵的研制及其应用研究. 生物医学工程学杂志,21(2):259~260
- 杨建雄. 2002. 生物化学与分子生物学实验技术教程. 北京:科学出版社,133~154
- 何兰珍,刘 毅,杨 丹. 2006. 壳聚糖-明胶海绵状伤口敷料的制备及性能研究. 药物生物技术,13(1):45~48
- 张俊杰,段 蕊,杜修桥. 2005. 鱼鳞胶原蛋白的提取及其性质研究. 中国水产,(10):68~69
- 罗红宇. 2003. 海鱼鱼鳞营养成分分析. 食品研究与开发,24(3):63~66
- 武继民,苗明山,关 静,张西正,李瑞欣,叶 萍. 2002. 胶原海绵医治体表出血创面的动物实验观察. 生物医学工程与临床,6(1):11~13
- 钟朝辉,李春美,顾海峰,窦宏亮. 2007. 草鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白的提取及基本特性. 水产科学,26(2):91~94
- 蒋挺大. 2006. 胶原与胶原蛋白. 北京:化学工业出版社,2~3
- 鲍士宝,王 彰,许时婴. 2008. 鲮鱼鱼皮胶原的提取及性质研究. 食品与发酵工业,34(9):84~88
- 钱 曼. 2006. 鱼鳞胶原蛋白的提取及胶原海绵的制备研究. 武汉:华中农业大学,9~10
- Atsushi, T., Akira, O., and Yoshikazu, A. 2003. Separation of collagen from fish scales by treatment of dilute hydrochloric acid aqueous solution. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 50(2):67~71
- Coln, D., Horton, J., Ogden, M. E., and Buja, L. M. 1983. Evaluation of hemostatic agents in experimental splenic lacerations. The American Journal of Surgery, 145(2):256~259
- Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D., and Mann, S. 2003. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*. International Journal of Biological Macromolecules, 32:199~204
- Low, R. K., Moran, M. E., and Goodnight, J. E. 1993. Microfibrillar collagen hemostat during laparoscopically directed liver biopsy. Journal of Laparoendoscopic Surgery, 3(4):415~420
- Seyfarth, F., Schliemann, S., Elsner, P., and Hipler, U. C. 2008. Antifungal effect of high- and low-molecular-weight chitosan hydrochloride, carboxymethyl chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D-glucosamine against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Candida glabrata*. International Journal of Pharmaceutics, 353(1-2):139~148
- Sivakumar, P., Arichandran, R., Suguna, L., Mariappan, M., and Chandrakasan, G. 2000. The composition and characteristics of skin and muscle collagens from a freshwater catfish grown in biologically treated tannery effluent water. Journal of Fish Biology, 56(4):999~1 012
- Senel S., and McClure, S. J. 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. Advanced Drug Delivery Reviews, 56(10):1 467~1 480
- Taravel, M. N., and Domard, A. 1996. Collagen and its interactions with chitosan: III. Some biological and mechanical properties. Biomaterials, 17(4):451~455
- Ueno, H., Mori, T., and Fujinaga, T. 2001. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. Advanced Drug Delivery Reviews, 52(2):105~115

# 《渔业科学进展》期刊投稿(征订)指南

经国家新闻出版署2008年11月13日(新出报刊[2008]1324号文)和山东省新闻出版局2008年12月11日(鲁新出批字[2008]325号文)批准,从2009年1月起,《海洋水产研究》期刊更名为《渔业科学进展》(英文名:Progress in Fishery Sciences),ISSN 1000-7075,国内统一刊号:CN 37-1466/S,国内邮发代号:24-153,国外发行代号:4578Q。刊期仍为双月刊。

多年来,在论文作者、编委和编辑部同仁的不懈努力下,《海洋水产研究》先后被评为全国优秀农业期刊、中国水产核心期刊、中国科技核心期刊、中文核心期刊等。希望本刊改版后,能继续得到大家的支持,学术水平不断提高。

## 1 栏目

本刊设研究论文、研究简报、研究综述等栏目,内容涵盖各类水域渔业科学研究最新成果,涉及与渔业科技有关的各学科研究进展。本刊主要报道渔业生物学、渔业海洋学、水产增养殖学、水产种质资源与遗传育种、水生野生生物保护、渔业生物病害及其防治、渔业生态环境保护、渔业设施与捕捞技术、渔业装备制造技术、水产品综合利用与质量安全等领域的新发现、新技术和新成果。

### 1.1 研究论文

介绍某一课题高水平研究成果。来稿要求内容完整,数据翔实,逻辑严谨,结论正确,语言通顺,文字精炼。可以发表系列论文,篇幅一般不超过6500字。

### 1.2 研究简报

简要、快速报道某一研究工作的创新性、高水平的阶段性成果和主要结论。要求方法从简,数据完整,结论明确,篇幅不超过3000字。

### 1.3 综述

综述某一重要研究领域的代表性成果,评论研究现状,提出尚待解决的问题,并指明今后研究方向。一般约请知名科学家撰写,作者亦可向编辑部自荐,篇幅不超过6000字。

## 2 投稿要求和注意事项

### 2.1 正文书写顺序

标题(一般不超过20个汉字)、作者姓名、作者单位、所在城市及邮政编码、中文摘要、关键词(3~6条)、与中文相对应的英文标题、作者姓名(汉语拼音,姓前名后,姓全大写,名首字母大写)、作者单位译名、英文摘要、英文关键词、正文、参考文献。

在文稿首页地脚处注明资金资助项目名称及项目号,并注明第一作者的姓名、性别、出生年、学位、职称、目前主要从事的研究方向、E-mail和联系电话。通讯作者,小花(\*)右上角提示,并提供E-mail和联系电话。

### 2.2 摘要

研究论文和综述必须要有中、英文摘要;摘要应说明研究目的、研究方法、实验结果及结论等。中文摘要需250个汉字以上,英文摘要需600个英文单词左右,其内容要求“拥有与论文同等量的主要信息”。

### 2.3 量、单位及符号的要求

文中物理量、计量单位及符号的使用必须符合国际标准和国家标准(GB3100 93-GB3102-93)。正确书写生物种名的英文和拉丁文学名、专有名词和数学公式,注意大小写、正斜体、黑白体及上下角标。

### 2.4 图、照片、表的要求

文中图要直观、简明、清晰。图中的文字、符号、纵横坐标必须标注,并与正文保持一致。

图版、照片必须图像清晰,层次分明,请提供矢量图或线条图,不接收扫描图;可根据作者需要印刷彩页。

表格采用三线表,必要时可加辅助线;所用文字、符号、单位要与正文一致。

研究论文要求必须有中、英文图表题,以及中、英文对照的图标、图版说明和表格栏目、注解等;英文图表的标题和说明需与中文图表的信息量一致。

### 2.5 参考文献的要求

凡投给本刊的稿件,参考文献的数量应在5篇以上,并建议引用《海洋水产研究》或《渔业科学进展》期刊已经发表的相关研究论文。参考文献排列为先中文后英文,中文文献按笔划顺序排;英文文献按字母顺序排。参考文献的著录格式为:

作者(或编者、译者)应全部写出。中文作者,末位作者后加“点”表示。外文作者或编者录入时,姓在前,名在后,名用缩写。外文末位作者前用“and”。

期刊:作者,年份.文章题名.刊名,卷号(期号):起止页码

专著:作者,年份.书名.版本(第1版不著录).出版地:出版者,起止页码

论文集包括:作者,年份.文章题名.见(In):编者.论文集名(多卷集需写出卷号).出版地:出版者,起止页码

正文中参考文献引用应按著作年份制表述,如xxx等,2005;Brown *et al.* 2004.

### 2.6 中图分类号的要求

中图分类号请查阅“中国图书馆分类法”。<http://www.ztflh.com>

## 3 投稿约定

**3.1** 来稿请投:<http://221.3.9.62:8080/qikan>,书写格式按上述要求处理,稿件一经受理,即缴纳审稿费(100元/篇)。对拟刊用的稿件必须提供电子文档。同时收取版面费(220元/页)。来稿一经发表,即致稿酬(50元/页),并赠送当期期刊2册。

**3.2** 稿件实现严格的同行专家评审制度,须经两位以上专家审阅、编委会审定决定取舍。在这期间作者不得将该稿投往他处,编辑部负责在3个月内通报审稿意见并要求作者及时吸收这些意见修改稿件、提高水平。

**3.3** 稿件文责自负。凡编辑部对稿件所做的实质内容的修改必须经作者同意。若发现作者一篇多投或有剽窃、抄袭等行为,本编辑部将追补对本刊造成的损失,通报作者单位,并从此不再接收该作者的投稿。

**3.4** 作者务必严格遵守国家有关保密规定,不得泄露国家秘密。

本期刊每期30元,全年180元(含邮费)。征订者请通过邮局汇款至山东省青岛市南京路106号《渔业科学进展》编辑部收。

邮政编码:266071;电话:(0532)85833580;FAX:0532-85833580

E-mail:chenyan@ysfri.ac.cn;liusl@ysfri.ac.cn