

胶原蛋白膜的制备方法

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2023 年 4 月 19 日递交的申请号为 2023104239699 的中国专利申请的优先权，上述中国专利申请的全部内容通过引用并入本申请中。

技术领域

本发明关于一种胶原蛋白的加工技术领域，特别关于一种胶原蛋白膜的制备方法，尤指一种适用于牙周再生、硬脑膜修护的胶原蛋白薄膜及其制备方法。

背景技术

胶原蛋白是一种天然的纤维蛋白，主要存在于动物的皮、肌腱、骨头中，也是哺乳动物体内含量最多的功能性蛋白，占蛋白质总量的 25~30%。胶原蛋白现今被广泛应用食品工业、化妆品、医学材料等领域。

体内的结缔组织主要由胶原蛋白组成，因此胶原蛋白经常被作为膜，用于取代皮肤、血管、韧带及其他结缔组织，于医学材料领域中有相当广泛的应用。

目前制备胶原蛋白膜的方式，通常是使用烘箱干燥法，其方法为：将胶原蛋白液倒入经过消毒的不锈钢托盘中，将托盘放进烘箱中进行干燥，然而经此法烘干处理的胶原蛋白膜，常有厚度不均、表面不平整、抗拉强度不足等情形，影响了产品的质量。

因此，改善胶原蛋白膜厚度不均、表面不平整的问题；增强抗拉强度，能使胶原蛋白膜的应用性更高。

发明内容

鉴于现有技术的上述问题，本发明的目的之一为提供一种胶原蛋白膜的制备方法，可改善胶原蛋白膜厚度不均、表面不平整的问题，且可增强胶原蛋白膜的抗拉强度。

经本申请发明人研究之后，发现若透过点胶机进行双层双向涂布，将提升胶原蛋白膜垂直、水平的抗拉强度；又藉由含吸水材料的层盘及压框，将改善其膜厚度不均、表面不平整的问题，解决了传统胶原蛋白膜制备上的缺陷。本发明制备的胶原蛋白膜，保有胶原蛋白参股螺旋完整性、抗拉强度高、厚度均匀、表面平整，能够用来区隔软组织与硬组织，加速组织愈合。

本发明提供一种胶原蛋白膜的制备方法，该方法包括以下步骤：

S4，将脱泡胶原蛋白原料以点胶机涂布至层盘中；和

S5，将压框放置在步骤S4后的所述脱泡胶原蛋白原料上。

在一些实施方式中，通过将胶原蛋白原料进行稀释和脱泡，获得所述脱泡胶原原料。

在一些实施方式中，所述胶原蛋白原料为选自于由提取自动物组织的胶原蛋白、及重组胶原蛋白构成所述的群组中所述的至少一种。

在一些实施方式中，所述胶原蛋白原料的形态可为固态、液态、或固态及液态所述的组合。

在一些实施方式中，所述方法还包括S6：将所述脱泡胶原蛋白原料进行热泵干燥，获得胶原蛋白干燥膜。

在一些实施方式中，所述方法还包括S7：使所述胶原蛋白干燥膜进行热交联，获得胶原蛋白半成品膜。

在一些实施方式中，所述方法还包括S8：将所述胶原蛋白半成品膜浸泡于水中，获得胶原蛋白平整膜。

在一些实施方式中，所述方法还包括S9：将所述胶原蛋白平整膜进行冷冻干燥，获得胶原蛋白膜。

在一些实施方式中，上述胶原蛋白原料为选自于由提取自动物组织的胶原蛋白、及重组胶原蛋白构成的群组中的至少一种较为理想。

在一些实施方式中，上述胶原蛋白原料的形态可为固态、液态、或固态及液态的组合。

在一些实施方式中，就用于稀释上述胶原蛋白原料的溶剂而言，为选自于有机溶剂、及无机溶剂构成的群组中的至少一种较为理想。

又，就有机溶剂而言，为醇类较理想，例如为C1-C5醇类溶剂。醇类中，又以异丙醇更为理想；就无机溶剂而言，为水较理想。

在一些实施方式中，上述稀释胶原蛋白原料的浓度为10~50mg/g较为理想。

在一些实施方式中，上述涂布步骤，使用点胶机进行双层双向涂布较为理想。又，本案发明者们推测其较为理想的理由如下所述。

若仅将胶原蛋白原料倾倒至层盘中并干燥，胶原的纤维方向是无规则排列，故形成的胶原蛋白膜的机械强度较差。若如本发明般使用点胶机进行双层双向涂布的话，可使胶原的纤维呈特定方向排列，藉由以上方式，可提高胶原蛋白膜的机械强度。

在一些实施方式中，所谓双层双向涂布，是指以点胶机进行第一层涂布，其方向为左右方向，再以点胶机进行第二层涂布，其方向为上下方向，即与第一层涂布方向垂直。

在一些实施方式中，其层盘的底部含有吸水材料较为理想。又，所述吸水材料为多孔性无机材料、有机高分子材料更为理想。又，本案发明者们推测其理由如下所述。

若于胶原蛋白原料的干燥过程中，层盘底部无吸水材料，则水分会于干燥过程中流动，故形成的胶原蛋白膜，厚度较不均匀。

若于胶原蛋白原料的干燥过程中，层盘底部置有吸水材料，可使部分水分移动至吸水材料中，能有效减少流动的水分，故以此方式形成的胶原蛋白膜，其厚度较均匀。

在部分实施例中，压框与胶原蛋白原料的接触面，张有网子较为理想。又，所述网子为尼龙材料更为理想。本案发明者们推测其较为理想的理由是如下所述。

胶原蛋白原料于干燥过程中，压框及网子会施予胶原蛋白原料一重量，能有效减少胶原蛋白及水分的过度移动，且尼龙网透气，不会影响干燥过程的水气蒸散，故形成的胶原蛋白膜，其厚度较均匀。

在一些实施方式中，热泵干燥的温度控制在40~75°C较为理想。

在一些实施方式中，热泵干燥的干燥时间为5~30小时较为理想。

在一些实施方式中，热交联的温度控制在60~90°C较为理想。

在一些实施方式中，热交联的交联时间为8~20小时较为理想。

附图说明

图1是显示本发明实施例所述的方法的流程图。

图2显示本发明实施例1制备出所述的胶原蛋白膜的外观。

图3显示本发明比较例2制备出所述的胶原蛋白膜的外观。

具体实施方式

以下针对本发明的实施方式进行说明。

请参照第一图，其是根据本发明实施例的胶原蛋白膜的制备方法的流程图。如图1所示，本发明的胶原蛋白膜的制备方法包含以下步骤：提供胶原蛋白原料(S1)；稀释胶原蛋白(S2)；胶原蛋白原料脱泡(S3)；将胶原蛋白原料以点胶机涂布至层盘(S4)；将压框放置于胶原蛋白原料上(S5)；胶原蛋白原料热泵干燥(S6)；胶原蛋白膜热交联(S7)；浸泡胶原蛋白膜(S8)；以及胶原蛋白膜干燥(S9)。

于步骤(S1)中，所提供的胶原蛋白原料可使用提取自动物组织的胶原蛋白，或使用重组胶原蛋白。例如为提取自牛皮、牛筋的胶原蛋白，或利用酵母菌作为基因工程载体而生产出的重组胶原蛋白。

在一实施例中，胶原蛋白原料的型态为液态，但亦可为固态、或固液混合的状态。例如可为溶解于溶剂中的胶原蛋白液(液态)，亦可为冻干海绵状(固态)，亦可为纤维状的胶原蛋白浆(固液混合)。

于步骤(S2)中，用于稀释上述胶原蛋白原料的溶剂包含但不限于有机溶剂、无机溶剂及其组合。例如异丙醇、水等。

使用水的话,可使胶原蛋白原料均匀分散,故较为理想。若使用异丙醇的话,亦可使胶原蛋白原料均匀分散,且异丙醇具有抑菌功能,更为理想。

稀释后的胶原蛋白原料的浓度,亦即胶原蛋白原料相对于每1g的溶剂而言为10~50mg/g较为理想。为15~45mg/g更为理想,为20~40mg/g更甚理想,为25~30mg/g特别理想。由于胶原蛋白于溶剂中具有黏稠度,若浓度为50mg/g以上的话,黏稠度过高,会使得操作性不佳。而浓度为10mg/g以下的话,则因胶原蛋白浓度过低,会使膜的机械强度不足。

于步骤(S3)中,可使用习知的方法来脱泡,其包含但不限于离心、抽真空、或其组合。其中,以离心真空脱泡机进行脱泡更为理想,得到的原料均匀且无气泡。

于步骤(S4)中,若使用习知的方式,将原料倾倒入层盘来进行涂布,无法达到多层结构,胶原蛋白膜的抗拉强度较差。反观,若以点胶机方式涂布,可达到多层次、多方向的涂布,胶原蛋白膜的抗拉强度较高。

又,本发明是使用旭自动化设备有限公司的点胶机。将胶原蛋白原料倒入料缸、定位胶枪于原点、于控制器中输入涂布路径后开始运作程序。

其中,若使用双层双向涂布,因为胶原蛋白的纤维呈垂直排列且具双层结构,其抗拉强度更为理想。

于步骤(S4)中,是使用含有吸水材料的层盘来进行涂布,其中吸水材料为硅藻土板较为理想。硅藻土板具有大量细小的孔洞,可达到快速吸水。

于步骤(S5)中,涂布后于胶原蛋白原料上方放置一压框,其中压框上张有尼龙网较为理想。尼龙网可以固定胶原蛋白原料于干燥时的形状,减少干燥后的形变,改善膜厚度不均、表面不平整的问题。

又,本发明的压框,是使用不锈钢材质的压框,其尺寸与层盘相同,于胶原蛋白原料完成涂布后放置于上方。

于步骤(S6)中,热泵干燥的温度控制为40~75℃较为理想。为45~70℃更为理想,为50~65℃更甚理想,为55~60℃特别理想。若温度过低,则干燥效率差;另一方面,若温度过高,则有胶原蛋白变性的疑虑。干燥时间为5~30小时较为理想。为7~27小时更为理想,为10~25小时更甚理想,为15~20℃特别理想。若时间过短,胶原蛋白原料无法完全干燥;另一方面,若时间过长,亦仅徒增时间成本上的负担。

于步骤(S7)中,热交联的温度控制在60~90℃较为理想。为63~87℃更为理想,为66~84℃更甚理想,为73~77℃特别理想。若温度过低,则热交联效果不彰;另一方面,若温度过高,会有原蛋白变性的疑虑。交联时间为8~20小时较为理想。为10~18小时更为理想,为13~15小时更甚理想。若交联时间过短,会无法充法交联,无法获得本发明的优良效果;惟若交联时间过长,亦仅徒增时间成本上的负担。

又，本发明的热交联，是将胶原蛋白原料置入热泵干燥箱中，将热泵干燥箱调整至目标温度及目标时间后静置。

于步骤(S8)中，是使用注射用水作为本覆水步骤的溶剂，所谓本发明的步骤(S8)的覆水步骤，是指将胶原蛋白膜浸泡于水中。此步骤可以减少胶原蛋白膜表面的皱褶，增加胶原蛋白膜的平整性。

于步骤(S9)中，干燥的方法可为热泵干燥、真空干燥或冷冻干燥。其中，在干燥时，冷冻干燥可在干燥的同时保留胶原蛋白膜的形状，且过程于相对低温下进行，因此较为理想。

于以下藉由实施例以具体说明本发明，但这些实施例仅为示例，并不表示本发明仅限于这些实施例的态样。

[实施例 1]

一种胶原蛋白干燥成膜方法，其具体步骤如下：

- 1) 将水与纤维性胶原蛋白均匀混合，其浓度为 24 mg/g。
- 2) 以离心脱泡机进行脱泡，于转速 2000rpm 及真空度-90kPa 下进行 5 分钟的脱泡。
- 3) 以点胶机将脱泡胶原蛋白原料涂布至层盘中，层盘底部有硅藻泥板作为吸水材料，涂布共 2 层，方向互相垂直。
- 4) 将压框放置于脱泡胶原蛋白原料上，压框与脱泡胶原蛋白原料的接触面，张有一尼龙网。
- 5) 对其进行热泵干燥，并将温度控制在 45°C，时间则为 20 小时，此步骤完成后，胶原蛋白原料已大抵成为膜状。
- 6) 再使胶原蛋白干燥膜以如上所述的方式进行热交联，其中是将温度控制在 70°C，时间则为 16 小时，获得胶原蛋白半成品膜。
- 7) 将胶原蛋白半成品膜浸泡于注射用水中，进行覆水，使其膜表面平整化。
- 8) 将覆水后的胶原蛋白平整膜置于冷冻干燥机中进行冷冻干燥，获得胶原蛋白膜。

[实施例 2]

一种胶原蛋白干燥成膜方法，其具体步骤如下：

- 1) 将水与纤维性胶原蛋白均匀混合，其浓度为 35 mg/g。
- 2) 以离心脱泡机进行脱泡，于转速 2000 rpm 及真空度-90kPa 下进行 5 分钟的脱泡。
- 3) 以点胶机将脱泡胶原蛋白原料涂布至层盘中，层盘底部有石膏板作为吸水材料，涂布共 2 层，方向互相垂直。
- 4) 将压框放置于胶原蛋白原料上，压框与脱泡胶原蛋白原料的接触面，张有一尼龙网。
- 5) 对其进行热泵干燥，并将温度控制在 60°C，时间则为 12 小时，此步骤完成后，胶原蛋白原料已大抵成为膜状。
- 6) 再使胶原蛋白干燥膜以如上所述的方式进行热交联，其中是将温度控制在 80°C，时间则

为 12 小时，获得胶原蛋白半成品膜。

7) 将胶原蛋白膜浸泡于注射用水中，进行覆水，使其膜表面平整化。

8) 将覆水后的胶原蛋白平整膜置于冷冻干燥机中进行冷冻干燥，获得胶原蛋白膜。

[比较例 1]

除了涂布并非使用点胶机，而是将胶原蛋白原料直接倾倒入层盘中以外，以与实施例1同样的方法，制备胶原蛋白膜。

[比较例 2]

层盘不使用吸水材料作为底盘，且无放置压框于胶原蛋白原料上方，除此以外，以与实施例1同样的方法，制备胶原蛋白膜。

[比较例 3]

除了热泵干燥时的温度为80℃，以与实施例1同样的方法，制备胶原蛋白膜。

[比较例 4]

除了点胶机以单层单向涂布，以与实施例1同样的方法，制备胶原蛋白膜。

以如下所述的方法评价实施例 1、实施例 2 及比较例 1 至 4 所得的胶原蛋白膜的平均厚度、厚度标准差、参股螺旋结构、以及抗拉强度，并将其结果示于下表 1。

<平均厚度>

平均厚度的测定，是以测厚仪对胶原蛋白膜进行20个点位的厚度量测后计算其平均值。

<厚度标准差>

厚度标准差的测定，是以测厚仪对胶原蛋白膜进行20个点位的厚度量测后计算其标准差。

<参股螺旋结构>

参股螺旋结构，是使用电泳法进行蛋白质分离，并以α1及α2条带来判定参股螺旋结构是否完整。

<抗拉强度>

抗拉强度，是以上海协强仪器制造有限公司的微机控制电子万能材料试验机进行，将胶原蛋白膜裁切成5*15mm的尺寸，将长边固定于拉伸夹具上，以1mm/min的夹具移动速率进行测试，将最大荷重除上样品截面积即可求得抗拉强度。

表 1

	实施例 1	实施例 2	比较例 1	比较例 2	比较例 3	比较例 4
平均厚度	0.278 mm	0.285 mm	0.288 mm	0.275 mm	0.301 mm	0.283 mm
厚度标准	0.019 mm	0.018 mm	0.021 mm	0.046 mm	0.024 mm	0.020 mm

差						
参股螺旋	完整	完整	完整	完整	不完整	完整
抗拉强度	36.01 MPa	34.42 MPa	22.68 MPa	27.35 MPa	13.20 MPa	29.45 MPa

又，为了更清楚了解实施例1、比较例2的膜的平整度差异，亦将它们的外观结果显示于图2、图3。

<与市售品所述的比较>

针对实施例1及市售品，以如上所述的方式来分别测定其抗拉强度，并将结果显示于表2中。

其中，市售品1为Matricel公司制的商品名Remaix，市售品2为Geistlich Biomaterials公司制造的商品名Bio-Gide，市售品3为Datum Dental Biotech公司制造的商品名Ossix Plus。

表 2

	实施例 1	市售品 1 Remaix	市售品 2 Bio-Gide	市售品 3 Ossix Plus
抗拉强度 (MPa)	36.01	10.4	4.6	5.13

从表 1 的结果可发现，满足本发明制程条件而制备出的胶原蛋白膜与不满足本发明制程条件的比较例 2 相比，有较低的厚度标准差，即拥有较好的膜平整性。

从表 1 的结果亦可发现，满足本发明制程条件而制备出的胶原蛋白膜与不满足本发明制程条件的比较例 3 相比，具有完整的胶原蛋白参股螺旋结构。从表 1 及表 2 结果可以发现，满足本发明制程条件而制备出的胶原蛋白膜不论是与不满足本发明制程条件的比较例 1 相比，或是与习知的市售品相比，皆具有更充分的物理强度。

综上，根据本发明而制备出的胶原蛋白膜，具有以下优点：

- (1)胶原蛋白是一种热敏性物质，若干燥过程中的温度过高，会导致其参股螺旋结构被破坏，而失去原有的功效。本发明中的干燥温度控制在特定地范围内，能避免胶原蛋白中的参股螺旋结构遭受破坏，保留了胶原蛋白完整性。
- (2)根据本发明所制备出的胶原蛋白膜，因为压框和吸水材料的作用下，干燥后的胶原蛋白膜，厚度较为均匀、表面凹凸不平及皱褶现象减少。

(3)根据本发明所制备出的胶原蛋白膜,因藉由点胶机作用而使胶原蛋白膜的抗拉强度有效地提升。

【符号说明】

S1~S9: 步骤

权利要求书

1、一种胶原蛋白膜的制备方法，包含以下步骤：

S4，将脱泡胶原蛋白原料以点胶机涂布至层盘中；

S5，将压框放置在步骤S4后的所述脱泡胶原蛋白原料上。

2 根据权利要求1所述的制备方法，其中，通过将胶原蛋白原料进行稀释和脱泡，获得所述脱泡胶原原料；

可选地，所述胶原蛋白原料为选自于由提取自动物组织的胶原蛋白、及重组胶原蛋白构成所述的群组中所述的至少一种；

可选地，所述胶原蛋白原料的形态可为固态、液态、或固态及液态所述的组合。

3 根据权利要求1或2所述的制备方法，其中，还包括S6：将所述脱泡胶原蛋白原料进行热泵干燥，获得胶原蛋白干燥膜；

可选地，还包括S7：使所述胶原蛋白干燥膜进行热交联，获得胶原蛋白半成品膜；

可选地，还包括S8：将所述胶原蛋白半成品膜浸泡于水中，获得胶原蛋白平整膜；及

可选地，还包括S9：将所述胶原蛋白平整膜进行冷冻干燥，获得胶原蛋白膜。

4、根据权利要求2所述的制备方法，其中，用于所述稀释步骤的溶剂为选自有机溶剂、及无机溶剂构成的群组中的至少一种；和/或所述稀释胶原蛋白原料的浓度为10~50mg/g。

5、根据权利要求4所述的制备方法，其中，所述有机溶剂为C1-C5醇类溶剂；所述无机溶剂为水。

6、根据权利要求4所述的制备方法，其中，所述有机溶剂为异丙醇。

7、根据权利要求1或2所述的制备方法，其中，所述涂布步骤是使用点胶机进行双层双向涂布来实施；和/或

所述层盘的底部含有吸水材料；和/或

所述压框与所述脱泡胶原蛋白原料的接触面张有网子。

8、根据权利要求7所述的制备方法，其中，所述吸水材料为多孔性无机材料、有机高分子材料构成的群组中的至少一种。

9、根据权利要求7所述的制备方法，其中，所述网子为尼龙材料。

10、根据权利要求3-9中任一项所述的制备方法，其中，所述热泵干燥的温度为40~75℃，和/或所述干燥时间为5~30小时；和/或

所述热交联的温度为60~90℃，和/或所述交联时间为8~20小时。