

# PROZESSBEGLEITENDE CHARAKTERISIERUNG VON KOLLAGENMATERIALIEN

BMWi INNO-KOM-Ost VF 110002 | Laufzeit: 06.2011 - 11.2013 | Hauke Wulf, FILK Freiberg

Kategorien: Kollagen Leder

## **PROJEKTZIEL**

Ziel des Projektes "Prozessbegleitende Charakterisierung von Kollagenmaterialien" war, grundlegende Erkenntnisse über das Verhalten und die Eigenschaftsveränderungen von Kollagen, in Abhängigkeit verschiedener Aufbereitungs- und Modifikationsverfahren, zu gewinnen.

## LÖSUNGSWEG

Für die Herstellung von löslichem Kollagen oder Kollagensuspension wurden Rohhäute verschiedener Tierarten verwendet. Im Projekt wurden Testroutinen etabliert, um die Eignung eines Rohmaterials für einen bestimmten Prozess einschätzen, die Qualität eines Materials an verschiedenen Stellen eines Herstellungsprozesses beurteilen und insbesondere die Biokompatibilität eines Materials bewerten zu können. Zu den verwendeten Methoden gehören neben bereits etablierten Verfahren wie Bestimmung der Summenparameter, Denaturierungstemperatur, Fibrillierungskinetik und Analyse des fibrillierten Kollagens mittels Rasterkraftmikroskopie auch neu etablierte Methoden. Dazu gehörten beispielsweise chromatographisch-massenspektrometrische Verfahren, die Bewertung der Zytotoxizität und die Bestimmung der Endotoxinbelastung.

Um säurelösliches Kollagen (SLK) zu gewinnen, wurden Rohhäute von Schwein, Rind, Pferd und Lachs mit verschiedenen Säuren extrahiert und die Ausbeuten bestimmt. Die höchsten Ausbeuten an löslichem Kollagen konnten mit Lachshaut erzielt werden. Eine zweifache essigsaure Extraktion von Kalbshaut führte im Mittel zu einer Ausbeute von 4,3 % bezogen auf die Trockensubstanz. Rinder-SLK zeigte in neutralem Phosphatpuffer bei der Fibrillierung eine deutliche Abhängigkeit von der NaCl-Konzentration. Die Fibrillierung verlief schneller mit steigendem NaCl-Gehalt bis ein Maximum zwischen 50 und 60 mM erreicht wurde.

Bei der Gewinnung von nicht-löslichem Kollagen (NKL) waren die Ausbeuten wesentlich höher als bei SLK, da die gesamte Haut einer Reinigungsprozedur (Äscher) unterworfen und weiter verarbeitet wurde. Dieser Reinigungsprozess konnte mittels Massenspektrometrie abgebildet werden. Die in der Haut von Rind und

Schwein nachweisbaren Proteine bestanden aus Proteinen der extrazellulären Matrix, denen maßgeblich die Kollagentypen I, III und VI zugeordnet wurden, Proteinen des Blutes und Proteinen des Zytoskelettes. Im Äscherprozess wurden alle Proteine gleichermaßen abgereichert, wodurch letztendlich nur noch die Hauptbestandteile Kollagen Typ I mit einem kleineren Anteil an Kollagen Typ III nachweisbar waren.

## **ERGEBNIS | NUTZEN**

Die Bewertung der Biokompatibilität der Kollagenmaterialien ergab bei Rohhäuten für die Herstellung von NLK und SLK eine hohe Endotoxinbelastung. Anhand dieses Materials konnte festgestellt werden, das eine starke Säurebehandlung gefolgt von einer stark basischen Behandlung geeignet war, um Endotoxine auf ein für Medizinprodukte zugelassenes Maß zu reduzieren. Nach der Etablierung der Verfahren zur Ermittlung der Zytotoxizität zeigte sich, dass SLK für die Verwendung mit Zellen gut geeignet ist, und somit die während der Projektlaufzeit herausgearbeiteten Prozessschritte die Gewinnung zellverträglichen Kollagens ermöglichen.

#### Bericht anfragen

#### **DANKSAGUNG**

Das Forschungsvorhaben "Prozessbegleitende Charakterisierung von Kollagenmaterialien", Reg.-Nr.: VF 110002 wurde anteilig vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages innerhalb des Förderpro-





gramms "FuE-Förderung gemeinnütziger externer Industrieforschungseinrichtungen in Ostdeutschland – Modul Vorlaufforschung (VF)" über den Projektträger EuroNorm GmbH gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.