

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022 年 12 月 15 日 (15.12.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/257252 A1**

(51) 国际专利分类号:  
*B32B 27/08* (2006.01)     *B32B 7/12* (2006.01)  
*B32B 27/32* (2006.01)     *B29C 48/21* (2019.01)  
*B32B 27/30* (2006.01)     *C12M 3/00* (2006.01)  
*B32B 27/34* (2006.01)     *C12M 1/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/108644

(22) 国际申请日: 2021 年 7 月 27 日 (27.07.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202110644600.1     2021年6月9日 (09.06.2021)     CN  
202110644601.6     2021年6月9日 (09.06.2021)     CN  
202110815733.0     2021年7月19日 (19.07.2021)     CN

(71) 申请人: 浙江金仪盛世生物工程有限公司(ZHEJIANG JYSS BIOENGINEERING CO., LTD.)

[CN/CN]; 中国浙江省杭州市滨江区浦沿街道闻涛路6899号一层10007室, Zhejiang 310000 (CN)。

(72) 发明人: 杨宇明 (YANG, Yuming); 中国浙江省杭州市滨江区浦沿街道闻涛路 6899 号一层 10007 室, Zhejiang 310000 (CN)。 徐江宁 (XU, Jiangning); 中国浙江省杭州市滨江区浦沿街道闻涛路 6899 号一层 10007 室, Zhejiang 310000 (CN)。 宋金沛 (SONG, Jinpei); 中国浙江省杭州市滨江区浦沿街道闻涛路 6899 号一层 10007 室, Zhejiang 310000 (CN)。

(74) 代理人: 杭州天昊专利代理事务所 (特殊普通合伙) (HANGZHOU TIANHAO PATENT AGENCY CO. LTD); 中国浙江省杭州市上城区红普路 788 号绿谷杭州东部创新中心 1 幢 1103-1104, Zhejiang 310019 (CN)。

(54) Title: FILM FOR SINGLE-USE BIOPROCESS BAG AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 一种一次性生物工艺袋用膜材及其制备方法

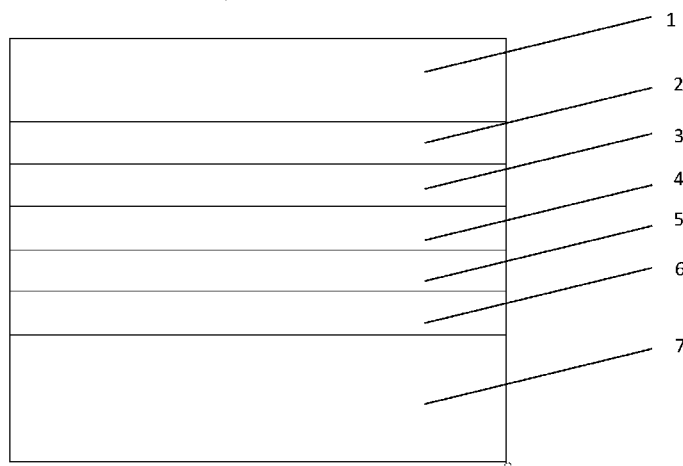


图 1

(57) Abstract: A film for a single-use bioprocess bag and a preparation method therefor. A three-layer composite structure of nylon/ethylene-vinyl alcohol copolymer/nylon is used to prepare gas barrier layers (3, 4, 5), ULDPE or EVA is used as a liquid contact layer (7), and an optimal protective layer (1), adhesive layers (2, 6), and a suitable thickness are selected. The prepared single-use bioprocess bag has good gas barrier performance, water resistance, strength, bending resistance, and puncture resistance, as well as excellent heat sealing performance and transparency. In addition, the bag has good biocompatibility, high cell culture density, a good cell culture effect, a simple preparation process, is simple and convenient to operate, high efficiency, and excellent culture functions for specific cells.



WO 2022/257252 A1

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

(57) 摘要: 一种一次性生物工艺袋用膜材及其制备方法, 采用尼龙 / 乙烯-乙醇共聚物 / 尼龙的三层复合结构制备气体阻隔层 (3, 4, 5), 以ULDPE或EVA为液体接触层 (7), 并选用了最佳的防护层 (1)、粘合层 (2, 6), 以及合适的厚度, 制得的一次性生物工艺袋同时具备良好的气体阻隔性能、耐水性、强度、抗弯折性能、抗穿刺性能, 以及优异的热封性能和透明度, 并且具备良好的生物相容性, 细胞培养密度高, 具有更好的细胞培养效果, 制备工艺简单、操作简便、效率高, 对特定细胞培养功能极佳。

## 一种一次性生物工艺袋用膜材及其制备方法

本申请主张中国在先申请,申请号:202110644600.1, 申请日2021年6月9日的优先权; 主张中国在先申请, 申请号:202110644601.6, 申请日2021年6月9日的优先权; 主张中国在先申请, 申请号:2021108157330, 申请日2021年7月19日的优先权; 其所有的内容作为本发明的一部分其所有的内容作为本发明的一部分。

### 技术领域

本发明属于生物反应器用膜材领域, 具体而言, 涉及一种一次性生物工艺袋用膜材及其制备方法。

### 背景技术

一次性生物反应器采用高效传氧机制进行传氧, 传氧效率高, 易于实现高密度高活性细胞培养。该反应器无需附加工程化管道支持, 无需在位清洗、灭菌消毒设备, 占地面积小, 可用于多种类型细胞悬浮培养, 重组蛋白及其它生物工程制品的研发和生产, 适用于生产企业、科研院所等进行细胞大规模培养和样品制备。

一次性生物工艺袋可以制成储液袋、搅拌袋、生物反应器袋、称量袋以及投料袋等, 在多种类型的细胞悬浮培养、重组蛋白及其它生物工程制品的研发和生产中具有广泛的应用, 其无需清洗、即用即弃、高阻隔性以及生物相容性不仅极大地提高了工作效率, 同时也避免了一些工艺流程之间的交叉污染。

与一次性生物反应器配套使用的一次性生物工艺袋即用即弃, 无需清洗、消毒、验证, 极大地提高了工作效率, 也避免了工艺流程之间交叉感染等不确定因素的发生。

一次性生物工艺袋用膜材是一种聚合物多层复合膜, 基本组成结构为“液体接触层/粘合层/气体阻隔层/粘合层/防护层。其中, 液体接触层需要满足细胞的正常生长和代谢, 为细胞生长营造适宜的环境, 较低的可提取物/浸出物, 无动物源性材料, 有较好的生物相容性, 适于细胞培养。同时, 和防护层一样, 液体接触层也需要具有一定的热封性, 能为工艺袋的加工提供热合焊接功能, 并提供足够的热封强度, 避免在细胞培养一个周期内液体渗漏。此外, 还要具有一定的耐穿刺、耐弯折能力, 确保在使用过程中的可靠性。

膜材应具有广泛适应性, 或者满足细胞生长的使用需求, 同时在使用过程中不能有小分子析出和吸附, 影响细胞的正常生长和代谢; 气体阻隔层提供氧气、水蒸气、二氧化碳等气体隔绝功能; 可作为焊接层的防护层及液体接触层需要提供膜材自身搭接、对接等拼接方式的热合功能, 满足高频焊接和直热式焊接, 并提供足够的热封强度, 避免在细胞培养一个周期内液体渗漏; 粘合层提供上述功能层间良好的层间粘结。

一次性生物反应器的容积决定了生产效率, 大型反应器需要配备大容积工艺袋。这要求膜材需要具备足够的强度, 焊接结构需要足够的可靠性, 需要经受住较大的使用压力以及工艺袋在制作、折叠包装、运输、展开安装和正常使用过程中可能产生的各种弯折和可能的损伤。气体阻隔层提供氧气、二氧化碳等气体隔绝功能, 是工艺袋膜材的重要组成部分, 氧气渗透率必须小于  $1.0\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$ 。工艺袋中气体阻隔层可以是单一的一层, 如采用乙烯-乙烯醇共聚物 (EVOH)。EVOH 具有较好的气体阻隔性能,

但 EVOH 的耐水性和耐弯折性能较差。当前，国内外的一次性生物工艺袋中的阻隔层大多选用单层或两层结构的乙烯-乙烯醇共聚物（EVOH），水蒸气的阻隔性能相对较差，尤其是当应用于储液袋时，长时间及跨区域的运输和储存极有可能会因为阻隔性的欠缺导致抗体失活失效等。如表 1 所示，国外的一些工艺袋膜材的组成结构都采用 EVOH 为阻隔层。国内也有专利涉及这类多层复合膜材，如表 2 所示。其中，PALL、GE 和 CN201821441762.5 的膜材使用尼龙（PA）为其耐磨层（外层），然而 PA 并不适合搭接热合焊接工艺，从而使得生物工艺袋的加工成本有所提高，生产效率下降，PA 不适合用来作为最外层的防护层。此外，还有一些专利涉及细胞培养复合膜材料，但这些膜材中都没有高气体阻隔性材料层。因此，现有的生物工艺袋还难以获得良好的气体阻隔性能，而且耐水性、抗弯折性能、抗穿刺性能都难以满足需要，同时还影响了细胞培养效果和培养液储存效果。

表 1 国外的一些工艺袋膜材的组成结构

膜材	组成结构
Renolit 9101	ULDPE/粘合层/EVOH/粘合层/LDPE
Satorius—Flexsafe® film s80	LLDPE/粘合层/EVOH/粘合层/LLDPE
Satorius—Flexboy® film s71	EVA/粘合层/EVOH/粘合层/EVA
MILLIPORE—PureFlex	ULDPE/粘合层/EVA/粘合层/EVOH/粘合层/ULDPE
MILLIPORE— PureFlex plus	ULDPE/粘合层/EVA/粘合层/EVOH/粘合层/LLDPE
PALL—Allegro TK8	ULDPE/粘合层/EVOH/粘合层/PA
GE—Fortem	ULDPE/PE 混合物/粘合层/EVOH/粘合层/EVOH/粘合层/PE 混合物/粘合层/PA

表 2 国内的一些复合膜材的组成结构

专利	组成结构
CN201811633602.5	ULDPE/粘合层/EVOH/粘合层/LDPE
申请号：201910303806.0	聚乳酸/粘合□/EVOH/粘合□/聚□□□
CN201821441762.5	PA/PE/EVOH/PE/EVA

因此，设计综合性的多层结构膜材，使其气体阻隔层具备更好的耐水性、抗弯折性能、抗穿刺性能，并且具备良好的生物相容性，使其液体接触层具有更好的抗穿刺性能和热封性能，同时具备良好的生物相容性，从而对于获得高强度、抗穿刺、耐水、抗弯折、高阻隔，并具有更好的细胞培养效果的一次性生物袋用膜材具有重要意义。

**发明内容**

为解决上述问题，本发明提供了一种一次性生物工艺袋用膜材，采用尼龙/乙烯-乙烯醇共聚物/尼龙的三层复合结构制备气体阻隔层，以 ULDPE 或 EVA 为液体接触层，并选用了最佳的防护层、粘合层，以及合适的厚度，制得的一次性生物工艺袋同时具备良好的气体阻隔性能、耐水性、强度、抗弯折性能、抗穿刺性能，以及优异的热封性能，并且具备良好的生物相容性，细胞培养密度高，具有更好的细胞培养效果，适于大部分种类细胞的培养，制备工艺简单、操作简便、效率高，可用于制备一次性生物反应

器袋、储液袋、搅拌袋、称量袋以及投料袋等。

一方面，本发明提供了一种气体阻隔层用于制备一次性生物工艺袋用膜材的用途，所述气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。

本发明提供的一次性生物工艺袋专用于细胞培养。细胞培养过程对膜材要求非常严格，对氧气、水蒸气、二氧化碳等气体的渗透都极为敏感，且膜材必须有很好的生物相容性，无小分子物质的吸附与析出，才能获得好的培养效果。

乙烯-乙醇共聚物（EVOH）是气体阻隔性能最好的聚合物材料，但 EVOH 的耐水性和耐弯折性能较差。

尼龙（PA）也是气体阻隔性较好的聚合物材料，其对氧气、二氧化碳的阻隔性能比 EVOH 低一个数量级，但 PA 具有抗穿刺、柔韧性好、强度高特性。

本发明创造性地采用 PA/EVOH/PA 三层复合膜作为一次性生物工艺袋膜材的气体阻隔层，大幅提高了膜材的综合性能，其中的 PA 与 EVOH 间具有良好的相容性，PA 与 EVOH 层间不需要粘合层。

PA/EVOH/PA 三层复合阻隔膜能够在拉伸强度、气体阻隔性、抗穿刺、柔韧性、抗弯折等特性方面获得优异的综合性能。

进一步地，所述尼龙为优选芳香族 PA。研究证明，相比于脂肪族 PA 和脂肪-芳香族 PA，对于部分改性后的芳香族尼龙（PA）而言，几乎不受水汽的影响，因此兼具有优异的水蒸气、氧气、二氧化碳阻隔性。因此芳香族 PA 更适合用于制备一次性生物工艺袋膜材，使制得的一次性生物工艺袋具备更高强度和阻隔性，具备更好的耐水性、抗弯折性能、抗穿刺性能，对特定细胞的培养功能极佳。

另一方面，本发明提供了一种一次性生物工艺袋用膜材，包括防护层/粘合层/气体阻隔层/粘合层/液体接触层，所述的气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。

进一步地，所述 PA 为芳香族 PA。

在一些方式中，EVOH 优选为日本可乐丽、合成化学和台湾长春公司的相关牌号，PA 推荐使用美国杜邦、德国 BASF、日本三菱、上海盈固和山东祥龙的相关牌号树脂。

进一步地，所述 PA/EVOH/PA 厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ，所述 PA 厚度为 10~30 $\mu\text{m}$ ，所述 EVOH 厚度为 10~20 $\mu\text{m}$ 。

由于生物工艺袋需要低氧气透过量和低水蒸气透过量，阻隔层太薄则不能满足；太厚之后对于阻隔性能的意义并不大，反而会影响整体的加工性能，因此，优选为 30~80 $\mu\text{m}$ 。并进一步经试验确定 PA 和 EVOH 分别的厚度。

进一步地，所述液体接触层接触的液体中包括用于培养的细胞。

液体接触层是与细胞培养液直接接触的一层，需具有良好的生物相容性，同时在使用过程中不能有小分子析出，影响细胞的正常生长和代谢。

进一步地，所述液体接触层为 ULDPE，所述 ULDPE 厚度为 30~200 $\mu\text{m}$ 。

超低密度聚乙烯（ULDPE）是目前发现的最适宜的液体接触层材料，对很多细胞的培养都有较好的相容性。

在一些方式中，所述液体接触层的超低密度聚乙烯（ULDPE）优选为陶氏 Engage 8480K Health+、Dow Health+ 系列和沙特基础 Sabic PCG 系列。

进一步地，所述液体接触层为 EVA，所述 EVA 厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ 。

液体接触层的首要功能是保护和促进细胞生长，同时在使用过程中不能有小分子析出，影响细胞的正常生长和代谢，在实际生产过程中已经发现，乙烯-醋酸乙烯共聚物（EVA）对一些细胞生长比超低密度聚乙烯（ULDPE）更适合，比如对于人体淋巴细胞 PBMC，ULDPE 的培养效果比较差；而选用 EVA 作为液体接触层时，细胞浓度增长效果非常好。

EVA 可供选择的牌号有 Celanese 公司以及扬子石化的相关牌号等树脂。

在一些方式中，所述液体接触层为线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物。

进一步地，所述线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物中，线性低密度聚乙烯占比为 10~100%；所述液体接触层的厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ 。

液体接触层在使用过程中不能有小分子析出，影响细胞的正常生长和代谢，实践证明 LLDPE 和 ULDPE 均具有良好的细胞相容性。

LLDPE 具有更高的强度，ULDPE 具有更佳的抗穿刺、耐弯折性能，将 LLDPE 与 ULDPE 混合物作为液体接触层，能更好地兼顾焊接强度、抗穿刺与抗弯折性能。

在一些方式中，对于强度要求不严格的应用场景，ULDPE 的量可以适当增多，因此优选的，LLDPE 的含量为 10~100%。

在一些方式中，液体接触层的厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ 。若液体接触层太薄，在对接热合时，可能会出现焊接强度不够而导致生物袋发生漏液现象，从而无法使用；若液体接触层太厚，则会影响生物袋的柔韧性。

进一步地，所述防护层为 EVA、TPU、LDPE、LLDPE、或 LDPE 与 LLDPE 的混合物中的任意一种。

一些方式中，所述的防护层为厚度在 50 $\mu\text{m}$ ~100 $\mu\text{m}$  之间的 EVA、聚氨酯弹性体（TPU）、低密度聚乙烯（LDPE）或线性低密度聚乙烯（LLDPE），或低密度聚乙烯（LDPE）与线性低密度聚乙烯两者的混合物。

在一些方式中，优选的 LDPE 及 LLDPE 有美国陶氏 Dow、沙特基础 Sabic、北欧化工 Bormed、上海石化、茂名石化、兰州石化等公司的相关牌号。

在一些方式中，优选的 EVA 有 Celanese 公司、扬子石化的相关牌号树脂。

在一些方式中，优选的 TPU 有 Lubrizol、Bayer、Huntsman、BASF 等公司的相关牌号树脂。

进一步地，所述防护层为 LDPE 与 LLDPE 的混合物，所述 LDPE 与 LLDPE 的混合物中，按质量份数计，LDPE 成分为 20%~30%。

若选用 LDPE 与 LLDPE 的混合物，LDPE 应占混合物的 20~30%，可以实现更美观的焊接效果及优异的焊接强度。采用 LDPE 与 LLDPE 的混合物还可以提高膜材的透明度，便于用户在使用过程中观察

细胞生长。防护层材料 LDPE 与 LLDPE 可以选用但不限于如下牌号的树脂，美国陶氏 Dow、沙特基础 Sabic、北欧化工 Bormed、上海石化、茂名石化、兰州石化等公司的相关牌号树脂。

进一步地，所述防护层的厚度为 50~150 $\mu\text{m}$ 。

进一步地，所述粘合层为 EAA、EVA 或 EMA 中的一种或几种组成的混合物，所述粘合层厚度为 5~20 $\mu\text{m}$ 。

粘合层的首要功能是粘合作用，可选用乙烯-丙烯酸共聚物 (EAA) 或乙烯-甲基丙烯酸酯共聚物 (EMA) 中的一种或几种。在一些方式中，乙烯-丙烯酸共聚物 (EAA) 或乙烯-甲基丙烯酸酯共聚物 (EMA) 可选用的树脂有杜邦 Bynel 系列、陶氏化学 Primacor 系列、三井石化 ADMER 系列、三菱油化 MODIC 系列。

在一些方式中，EVA 与聚乙烯之间具有良好的相容性，EVA 与 PA 间也有部分相容性，因此，EVA 也可以作为粘合层应用于中小型一次性生物工艺袋；优选的 EVA 有 Celanese 公司、扬子石化的相关牌号树脂。

一次性生物工艺袋膜的总厚度、每一层的厚度的考量主要是物性的稳定性、焊接的强度，以确保袋子的完整性测试项合规。其中，作为与细胞接触的液体接触层和最外层的防护层相对较厚，以保证在对接或搭接的焊接层的厚度从而保证热合强度，确保袋子的完整性；阻隔层厚度达到相应的气体透过率要求即可，厚度适中，粘合层只需要提供各层之间的良好粘合，因此该层较薄。

另一方面，本发明提供了一种简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，包括防护层/气体阻隔层/液体接触层，所述气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。

在一些小型的一次性生物工艺袋用膜材中，由于强度要求不高，EVA 与 PA 间有较好的粘合，可以用 EVA 代替粘合层，从而得到简化结构的膜材，不需要再添加粘合层。

进一步地，所述 PA 为芳香族 PA。

进一步地，所述 PA/EVOH/PA 厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ，所述 PA 厚度为 10~30 $\mu\text{m}$ ，所述 EVOH 厚度为 10~20 $\mu\text{m}$ 。

进一步地，所述液体接触层和防护层都为 EVA。

进一步地，其中液体接触层厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ ，防护层的厚度为 50~100 $\mu\text{m}$ 。

简化结构膜材的组成结构为 EVA/PA/EVOH/PA/EVA，这种膜材可以采用吹塑或流延方式制备，所需设备有 3 个螺杆即可制备这种对称结构形式的膜材，制备简便、生产效率高。

再一方面，本发明提供了一种简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，包括防护层/粘合层/气体阻隔层/粘合层/液体接触层，所述的气体阻隔层由尼龙层/乙烯-乙烯醇共聚物层两层复合膜组成；所述液体接触层为线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物。

进一步地，所述线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物中，线性低密度聚乙烯占比为 10~100%；所述气体阻隔层厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ；其中尼龙层的厚度为 20~70 $\mu\text{m}$ ，乙烯-乙烯醇共聚物层的厚度为 10~60 $\mu\text{m}$ 。

在一些方式中，本发明也可采用 PA/EVOH 两层复合膜作为一次性生物工艺袋膜材的气体阻隔层，

这是因为本发明提供的液体接触层为 LLDPE 与 ULDPE 的混合物，具备一定的抗穿刺能力，可以弥补一部分气体阻隔层的功效，可用于制备一些体积较小的生物工艺袋。

再一方面，本发明提供了一种如上所述的膜材的制备方法，其特征在于，采用共挤出流延方法制备，具体步骤为：1) 各层原料分别加入至对应的挤出机中；2) 在机头温度 120~220℃条件下，经熔融、共挤出吹塑或流延制得。

本发明提供的制备方法，主要采用共挤出流延方法，具体步骤为：1) 各层原料分别加入至对应的挤出机中；2) 在机头温度 160~220℃条件下，经熔融、共挤出流延等过程，通过调整螺杆转速得到特定厚度的一次性生物工艺袋用膜材料。

在聚合物功能膜材料的工业化生产中，吹塑、流延等薄膜挤出工艺是最常用的工艺技术。多层共挤出吹塑是多层聚合物复合膜材料的一种成型方法，它可以将两种以上的聚合物，使用两台以上的挤出机，分别熔融后经过各自独立的流道，进入多层口模共同挤出具有多层结构的“膜管”，并成型为多层结构的聚合物复合膜材料。通过流延方法制备的聚合物薄膜，是先经过挤出机把原料塑化熔融，通过 T 型结构成型模具挤出，聚合物熔体呈片状流延至平稳旋转的冷却辊筒表面上，膜片在冷却辊筒上经冷却降温定型，再经牵引、切边后收卷。

进一步地，当膜材厚度小于 300 μm 时，采用共挤出吹塑或流延制得；当膜材厚度大于 300 μm 时，采用共挤出流延制得。

多层共挤出吹塑工艺简便，适合整体厚度小于 300 μm 的膜材。当厚度超过 300 μm 时，吹塑方式变得有些困难，同时膜材的透明度会有所下降，此时，流延法更适合获得厚度均匀、透明度好的膜材。

共挤出流延薄膜与共挤出吹塑薄膜相比，薄膜透明度好，厚度均匀性好，更适合生产厚度较大的一次性生物工艺袋用膜材。

一次性生物反应器工艺袋用膜材的厚度远大于普通包装膜，一般超过 300 μm，采用共挤出吹塑方式很困难，需要采用共挤出流延方式生产。

本发明提供的一次性生物工艺袋用膜材优选采用共挤出流延方法制备，共挤出流延机组应具有合适数量的螺杆和分配器插块，通过将各层原料分别加入至对应的挤出机中，在机头温度 120~220℃条件下，分别熔融挤出液体接触层、粘合层树脂、阻隔层 PA/EVOH/PA、粘合层树脂、防护层 LDPE 与 LLDPE 共混物，通过 T 型结构成型模具挤出成型，得到结构为防护层/粘合层/PA/EVOH/PA/粘合层/液体接触层的膜材。

再一方面，本发明提供了尼龙用于制备一次性生物工艺袋用膜材的气体阻隔层的用途。

进一步地，所述气体阻隔层为尼龙/乙烯-乙醇共聚物/尼龙共聚物的三层复合结构；所述尼龙为芳香族尼龙；所述膜材用于制备生物反应器中培养细胞的一次性生物工艺袋。

本发明提供的一次性生物工艺袋用膜材的拉伸强度可达到 20MPa，氧气渗透率小于 0.1 mL/m<sup>2</sup>·d·atm，水蒸气透过率小于 0.5 mL/m<sup>2</sup>·d·atm，膜材整体透明度高，柔韧性好，抗穿刺能力好，结实耐用，适用于直热式或高频焊接实现膜材的搭接或对接焊接。

基于自身的技术条件和优势，这种高分子多层复合膜制造者可以提供不同组成结构设计的膜材。由



于生物医用膜材特殊功能性要求和膜材制造环境要求等级高等因素,对膜材的各组成功能层有较严格的限制。特别的,该种膜材用于细胞培养,特别是超大容量的细胞培养,对其膜材的要求特别严格,对于某些细胞的培养,当膜材经过长时间培养和运输过程中,需要严格控制膜材内与外界的气体交换,如果存在不符合规定的气体交换,则会严重影响膜材内的细胞培养的质量和产量。另外,当细胞培养中,也要严格控制这些多层膜材中的有机物质被培养细胞的培养基所溶解,这些有机物大多数对细胞具有毒性的物质。再者,工艺袋在使用前需要经历 $\gamma$ 射线辐照、电子束辐照或环氧乙烷等方式进行灭菌处理,在这一过程中,膜材不能出现物理和化学的性能变化,如果发生化学变化,或者有化学物质的渗出,则会对培养中的培养基造成污染,从而影响细胞培养的质量;在细胞培养一个周期内(比如5天、7天、10天,或者30天内等等),膜材不能有任何影响细胞培养效果的低分子物析出或溶出。此外,对膜材的细胞培养功能性、拉伸强度、气体阻隔性能、热封性能需要进行整体考虑,使膜材更具有实用性。

本发明提供的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材具有以下有益效果:

- (1) 具备良好的气体阻隔性能、耐水性、强度、抗弯折性能、抗穿刺性能,拉伸强度可达到20MPa,氧气渗透率小于 $0.1\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$ ,水蒸气透过率小于 $0.5\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$ ;
- (2) 优异的热封性能,通过焊接强度测试发现,热封强度可达40N/15mm以上;
- (3) 透明度高,达到96%以上;抗穿刺能力强,穿刺力值可达4.5N以上;
- (4) 具备良好的生物相容性,细胞培养密度高,达到约 $233\times 10^5/\text{ml}$ ,具有更好的细胞培养效果,适于多种细胞培养;
- (5) 灭菌处理及细胞培养过程中,析出物或溶出物含量极低;
- (6) 制备工艺简单、操作简便、效率高,可用于制备一次性生物反应器袋、储液袋、搅拌袋、称量袋以及投料袋等。

## 附图说明

图1、实施例1、3、4中的一次性生物工艺袋用膜材各层结构示意图

图2、实施例2中的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材各层结构示意图

图3、实施例15中的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材各层结构示意图

图4、实施例16中的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材各层结构示意图

## 具体实施方式

下面结合附图和实施例对本发明作进一步详细描述,需要指出的是,以下所述实施例旨在便于对本发明的理解,而对其不起任何限定作用。

### 实施例1 含EVA的一次性生物工艺袋用膜材

本实施例采用共挤出流延法制备厚度为 $325\mu\text{m}$ 的含EVA的一次性生物工艺袋用膜材,该膜材的组成结构包括如图1所示,包括防护层1、粘合层2、气体阻隔层3/4/5、粘合层6和液体接触层7。

其中防护层1采用陶氏的Dow系列的LDPE和LLDPE混合物,LDPE占比为30%,LLDPE占比

为 70%。该层的厚度为 50 $\mu\text{m}$ 。

其中粘合层 2 和 6 采用陶氏化学的 Primacor 树脂，厚度为 10 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 3 和 5 为芳香族 PA，采用美国杜邦相关牌号，该层的厚度为 20 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 4 为 EVOH 采用可乐丽 EVAL 树脂，该层的厚度为 15 $\mu\text{m}$ 。

液体接触层 7 采用 Celanese 公司的 EVA，该层的厚度为 200 $\mu\text{m}$ 。

含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的制备方法如下：

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中，防护层对应的螺杆温度设置在 180~210 $^{\circ}\text{C}$ ；粘合层对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ；阻隔层尼龙对应的螺杆温度设置在 200~240 $^{\circ}\text{C}$ ；阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220 $^{\circ}\text{C}$ ；EVA 对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ；机头温度设置为 220 $^{\circ}\text{C}$ 。

2) 膜材的厚度由在线测厚装置精确控制，各层厚度由螺杆转速调节控制。

考察制得的含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

其中，含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的氧气和水蒸气渗透率采用压差法进行测试，将样品裁至直径不小于 100mm 的圆片，依据 GB/T-1038 标准于室温下进行测试，测试膜材的氧气和水蒸气渗透率。每组试样为 3 个，求取平均值。

含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的拉伸强度及焊接强度采用 Instron 万能试验机进行测试，将样品分别裁成哑铃状样条和制备成相应的焊接样条，以 200mm/min 的速率进行测试，每个样品至少测试 5 个样条，并求取平均值。

含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的透明度采用雾度计法，依据 GB/T-2410-2008 进行测试，每组测试 3 个样品，并求取平均值。

含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的生物相容性通过统计细胞密度进行表征，将制备好的膜材通过直热式搭接形式进行焊接后，制备成 50L 规格的一次性生物培养袋，并经过  $\gamma$  射线辐照灭菌。培养细胞使用人体淋巴细胞 PBMC，初始浓度为  $1 \times 10^5/\text{ml}$ 。一次性生物培养袋装在生物反应器内，人体淋巴细胞 PBMC 在一次性生物工艺袋中培养 5 天，培养条件为 37 $^{\circ}\text{C}$ ，搅拌速度为 200rpm，培养结束后检测细胞密度。

制得的含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及细胞密度结果如表 3 所示。

表 3、含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及人体淋巴细胞 PBMC 密度结果

测试项目	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{g}/\text{m}^2 \cdot 24\text{h}$	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
数值	325	25.8	42.5	0.04	0.3	97	223

### 实施例2 简化结构的含EVA的一次性生物工艺袋用膜材

本实施例提供的简化结构的含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的组成结构如图 2 所示，包括防护层 8、气体阻隔层 9/10/11、液体接触层 12。

本实施例采用共挤出流延法制备厚度为 220 $\mu\text{m}$  的一次性生物工艺袋用膜材；

防护层 8 和液体接触层 12 采用 Celanese 公司的 EVA，厚度都为 90 $\mu\text{m}$ ；

中间气体阻隔层 10 为可乐丽 EVAL 系列的 EVOH，厚度为 10 $\mu\text{m}$ ；

两侧气体阻隔层 9 个 11 为芳香族 PA，采用美国杜邦相关牌号，该层的厚度为 15 $\mu\text{m}$ 。

其中制备方法如下：

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中，气体阻隔层 PA 对应的螺杆温度设置在 200~240 $^{\circ}\text{C}$ ；气体阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220 $^{\circ}\text{C}$ ；EVA 对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ；机头温度设置为 220 $^{\circ}\text{C}$ 。

2) 膜材的厚度由在线测厚装置精确控制，各层厚度由螺杆转速调节控制。

膜材的厚度由在线测厚装置精确控制，各层厚度由螺杆转速调节控制。

考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示，培养细胞使用检测结果如表 4 所示。

表 4、简化结构的含 EVA 的一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及人体淋巴细胞 PBMC 密度结果

测试项目	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{g}/\text{m}^2 \cdot 24\text{h}$	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
数值	220	20.1	40.2	0.08	0.4	97	130

### 实施例 3 采用共挤出吹塑法制备的含 ULDPE 的一次性生物工艺袋用膜材

本实施例采用共挤出吹塑法制备厚度为 250 $\mu\text{m}$  的一次性生物工艺袋用膜材，该膜材的组成结构包括如图 1 所示，包括热封层 1、粘合层 2、气体阻隔层 3/4/5、粘合层 6 和液体接触层 7。

其中热封层 LDPE 采用陶氏的 Dow 系列，该层的厚度为 50 $\mu\text{m}$ 。

其中粘合层 2 和 6 采用陶氏化学的 Primacor 树脂，厚度为 5 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 3 和 5 为芳香族 PA，采用美国杜邦相关牌号，该层的厚度为 15 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 4 为 EVOH 采用可乐丽 EVAL 树脂，该层的厚度为 10 $\mu\text{m}$ 。

液体接触层 7 的 ULDPE 采用美国陶氏公司的 Engage 8480K，该层的厚度为 150  $\mu\text{m}$ 。

含 ULDPE 的多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的制备方法如下：

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中，热封层对应的螺杆温度设置在 180~210 $^{\circ}\text{C}$ ；粘合层对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ；气体阻隔层 PA 对应的螺杆温度设置在 200~240 $^{\circ}\text{C}$ ；气体阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220 $^{\circ}\text{C}$ ；ULDPE 对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ；模头温度设置为 220 $^{\circ}\text{C}$ 。

2) 待各层原料熔融后，在氮气氛围下进行吹膜成型，冷却后收卷。

考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

其中，一种多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气和水蒸气渗透率采用压差法进行测试，将样品裁至直径不小于 100mm 的圆片，依据 GB/T-1038 标准于室温下进行测试，测试膜材的氧气和水蒸气渗透率。每组试样为 3 个，求取平均值。

一种多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的拉伸强度采用 Instron 万能试验机进行测试，将样品裁成哑铃状样条，以 200mm/min 的速率进行测试，每个样品至少测试 5 个样条，并求取平均值。

一种多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的透明度采用雾度计法，依据 GB/T-2410-2008 进行测试，每组测试 3 个样品，并求取平均值。

一种多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的生物相容性通过统计细胞密度进行表征，将制备好的膜材通过直热式搭接形式进行焊接后，制备成 5L 规格的一次性生物培养袋，并经过  $\gamma$  射线辐照灭菌。培养细胞使用 293 人胚胎肾细胞，初始浓度为 10 万细胞/ml。一次性生物培养袋装在生物反应器内，293 人胚胎肾细胞在一次性生物工艺袋中培养 5 天，培养条件为温度 37℃，搅拌速度为 200rpm，培养结束后检测细胞密度。

制得的多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及细胞密度结果如表 5 所示。

表 5、共挤出吹塑法制备的膜材的物理性能及 293 人胚胎肾细胞密度结果

测试项目	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{g}/\text{m}^2\cdot 24\text{h}$	透明度 %	细胞密度 万/ml
数值	250	20.3	40.5	0.05	0.3	96	196

#### 实施例4 采用共挤出流延法制备的含ULDPE的一次性生物工艺袋用膜材

本实施例提供的含 ULDPE 的一次性生物工艺袋用膜材的组成结构如图 1 所示，包括热封层 1、粘合层 2、气体阻隔层 3/4/5、粘合层 6 和液体接触层 7。

本实施例采用共挤出流延法制备厚度为 400 $\mu\text{m}$  的一次性生物工艺袋用膜材；

热封层 1 采用 Celanese 公司的 EVA，该层的厚度为 100 $\mu\text{m}$ ；

粘合层 2 和 6 选用扬子石化的 EVA，厚度为 10 $\mu\text{m}$ ；

两侧气体阻隔层 3 和 5 为可乐丽 EVAL 系列的 EVOH，厚度为 30 $\mu\text{m}$ ；

中间气体阻隔层 4 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA，该层的厚度为 20 $\mu\text{m}$ ；

液体接触层 7 为陶氏化学的 Engage 8480K 系列的 ULDPE，厚度为 200 $\mu\text{m}$ 。

其中制备方法如下：

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中，气体阻隔层芳香族 PA 对应的螺杆温度设置在 200~240℃；气体阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220℃；EVA 和 ULDPE 对应的螺杆温度设置在 160~200℃；机头温度设置为 220℃。

2) 熔融后的各层原料，通过 T 型结构成型模具挤出，熔体呈片状流延至平稳旋转的冷却辊筒表面上，膜片在冷却辊筒上经冷却降温定型，再经牵引、切边后收卷，一次性生物工艺袋用膜材。

膜材的厚度由在线测厚装置精确控制，各层厚度由螺杆转速调节控制。

考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培

养效果（生物相容性）。其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示，其中的培养细胞使用 293 人胚胎肾细胞，检测结果如表 6 所示。

表 6、共挤出流延法制备得到的膜材的物理性能及 293 人胚胎肾细胞细胞密度数据

测试项目	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{g}/\text{m}^2 \cdot 24\text{h}$	透明度 %	细胞密 度万/ml
数值	400	21.3	41.8	0.02	0.5	93	221

### 实施例5 采用不同气体阻隔层对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 1 提供的方法制备 EVA 为液体接触层的总厚度为  $325\mu\text{m}$  的一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 5 所示的不同的气体阻隔层，其中的厚度为气体阻隔层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVOH 采用可乐丽 EVAL 系列，PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA、脂肪族 PA、脂肪-芳香族 PA，PE 采用美国陶氏公司相关牌号的产品。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示，培养的细胞为人体淋巴细胞 PBMC，考察结果如表 7 所示。

表 7、不同气体阻隔层对含 EVA 的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	EVOH	80	15.2	39.2	0.11	0.97	96	50
2	脂肪族 PA	80	17.4	38.5	0.98	0.41	96	62
3	脂肪-芳香族 PA	80	19.8	42.7	0.75	0.33	96	71
4	芳香族 PA	80	22.4	46.9	0.21	0.28	96	90
5	芳香族 PA/EVOH	40/40	22.1	39.4	0.09	0.64	96	82
6	芳香族 PA/EVOH/PA	30/20/30	25.8	42.5	0.04	0.41	97	223
7	EVOH/芳香族 PA/EVOH	30/20/30	21.3	35.6	0.12	0.92	96	103
8	PE/EVOH/PE	30/20/30	14.7	25.8	0.23	0.26	96	107

由表 7 可见，当防护层、粘合层、液体接触层及厚度都一样时，采用不同的气体阻隔层对一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都存在较大的区别。相比不同种类的 PA，芳香族 PA 的强度和气体阻隔性能明显更优，生物相容性也较好，因此优先选用芳香族 PA 制备一次性生物工艺袋；相比单独采用 EVOH 或单独采用芳香族 PA 作为气体阻隔层时，PA 和 EVOH 组合可以明显提升强度、气体阻隔性能和细胞培养功能；而采用 PA/EVOH/PA，则可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的性能；采用 EVOH/PA/EVOH 时，由于 EVOH 的耐水性比较差，因此将

其作为外层阻隔层时，如遇水，阻隔性会发生急剧下降，导致一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都出现下降；同样为三层复合膜气体阻隔层形式的 PE/EVOH/PE，其强度、气体阻隔性能和细胞培养功能则远不如 PA/EVOH/PA 的组合；最优选为 PA/EVOH/PA 的三层复合膜气体阻隔层，可使拉伸强度、气体阻隔性能和细胞培养功能都达到最佳。

#### 实施例6 气体阻隔层的不同厚度对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 5 的序号为 6 的气体阻隔层制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，按照实施例 1 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 8 所示的不同厚度的气体阻隔层，其中的厚度为气体阻隔层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVOH 采用可乐丽 EVAL 系列，PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示，培养的细胞为人体淋巴细胞 PBMC，考察结果如表 8 所示。

表 8、不同气体阻隔层厚度对含 EVA 的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	PA/EVOH/PA	5/5/5	15.4	39.2	0.31	1.06	99	120
2		10/10/10	20.8	38.5	0.11	0.83	98	135
3		20/15/20	24.7	42.7	0.07	0.65	97	169
4		30/20/30	25.8	46.9	0.04	0.41	97	223
5		40/30/40	26.4	39.4	0.02	0.09	96	201
6		7/15/7	19.7	42.5	0.27	0.98	98	146
7		15/7/15	18.2	35.6	0.29	0.69	98	173

由表8可见，气体阻隔层的不同厚度，对制备的一次性生物工艺袋膜材的性能存在较大影响，选用合适的厚度，可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能，研究证明，采用气体阻隔层的厚度为30~80  $\mu\text{m}$ ，其中中间的气体阻隔层厚度为10~20  $\mu\text{m}$ ，两侧的气体阻隔层厚度为10~30  $\mu\text{m}$ 时，制备的一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能明显提高，气体阻隔层PA/EVOH/PA的最佳厚度选择为30/20/30  $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例7 采用不同防护层对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 5 的序号为 6 的气体阻隔层制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，按照实施例 1 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 9 所示的不同防护层，其中的厚度为防护层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE 和 LLDPE 采用美国陶氏 DOW；EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；TPU 采用 Lubrizol 的 TPU；PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示，热封焊

接强度通过将其制备成标准样条，进行剥离强度测试得到，培养的细胞为人体淋巴细胞 PBMC，考察结果如表 9 所示。

表 9、不同防护层对含 EVA 的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	防护层	厚度 μm	焊接强度 N/15mm	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	水蒸气透过量 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	透明度 %	细胞密度 10 <sup>5</sup> /ml
1	LDPE	50	46.4	25.1	0.04	0.42	96	221
2	LLDPE	50	45.9	25.3	0.04	0.41	96	219
3	EVA	50	40.1	20.1	0.06	0.53	96	223
4	TPU	50	47.8	26.8	0.05	0.42	96	215
5	PA	50	--	27.1	0.02	0.40	95	168
6	LDPE : LLDPE (2:8)	50	45.4	25.2	0.04	0.41	97	222
7	LDPE : LLDPE (3:7)	50	46.9	25.8	0.04	0.42	97	223
8	LDPE : LLDPE (1:9)	50	43.8	26.1	0.04	0.41	97	217
9	LDPE : LLDPE (4:6)	50	45.7	26.3	0.04	0.42	97	216
10	LDPE : LLDPE (2:8)	30	39.8	23.2	0.05	0.46	98	215
11	LDPE : LLDPE (2:8)	100	56.4	27.8	0.04	0.39	97	209
12	LDPE : LLDPE (2:8)	70	50.2	20.4	0.04	0.40	97	172
13	LDPE : LLDPE (2:8)	150	60.9	28.0	0.03	0.31	96	201

由表 9 可见，采用不同的防护层及不同厚度的防护层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对透明度和热封焊接性能，并且由于焊接性能不佳也影响了细胞培养效果。

对比表9中的序号1-5可以看出，采用LDPE、LLDPE、EVA、TPU作为防护层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都较合适，但采用PA作为防护层时，其熔点较高，焊接困难，使得加工成本明显提高，生产效率下降，同时还影响了细胞培养效果。而采用EVA时，针对人体淋巴细胞PBMC的培养效果更好，细胞培养密度更高。

对比表9中的序号1、2、6可以看出，采用LDPE、LLDPE、或是LDPE和LLDPE的混合物作为防护层时，LDPE和LLDPE的混合物可明显提高一次性生物工艺袋膜材的透明度，同时热封焊接性能也非常好，强度、氧气、水蒸气渗透率和细胞培养效果都能符合一次性生物工艺袋膜材的制备需求。

对比表9中的序号6-9可见，LDPE和LLDPE的混合物的不同比例关系会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的透明度，优选LDPE和LLDPE的混合物的比例关系为2~3:7~8。

对比表9中的序号6、10、11、12、13可见，防护层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的热封焊接性能，从而也会对细胞培养效果产生影响，防护层的优选厚度为30~150 $\mu\text{m}$ ；采用LDPE: LLDPE为2:8的混合物制备防护层时，防护层的厚度为50 $\mu\text{m}$ 时，细胞培养效果更好。

#### 实施例8 采用不同液体接触层对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例7的序号为6制备的一次性生物工艺袋膜材，即以PA/EVOH/PA作为气体阻隔层，LDPE: LLDPE为2:8的混合物制备防护层，按照实施例1提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表10所示的不同液体接触层，其中的厚度为液体接触层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的小分子物质溶出、氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE采用美国陶氏DOW的LDPE; EVA采用Celanese公司的EVA; ULDPE采用陶氏化学的Engage 8480K系列的ULDPE。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例1所示，培养的细胞为人体淋巴细胞PBMC和人胚肾细胞293两种；小分子物质溶出通过气相色谱/液相色谱-质谱联用的方法检测；考察结果如表10所示。

表10、不同液体接触层对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	液体接触层	厚度 $\mu\text{m}$	小分子物质溶出	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	透明度 %	PBMC细胞密度 $10^5/\text{ml}$	293细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	ULDPE	200	远小于定量限	27.1	0.04	0.39	97	201	233
2	LDPE	200	小于定量限	24.8	0.04	0.40	97	135	196
3	EVA	200	小于定量限	26.9	0.04	0.41	97	229	195
4	EVA	100	小于定量限	25.6	0.04	0.40	98	221	185
5	EVA	50	小于定量限	23.4	0.04	0.42	98	203	171
6	EVA	30	小于定量限	27.1	0.04	0.40	99	198	155
7	ULDPE	30	小于定量限	25.8	0.05	0.40	98	135	151
8	ULDPE	100	小于定量限	26.8	0.04	0.41	98	162	213
9	ULDPE	10	小于定量限	25.1	0.06	0.42	99	120	159



10	ULDPE	250	小于定 量限	27.1	0.04	0.39	96	171	230
----	-------	-----	-----------	------	------	------	----	-----	-----

由表 10 可见，采用不同的液体接触层及不同厚度的液体接触层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对细胞培养效果影响明显。

对比表10中的序号1-3可以看出，采用LDPE、ULDPE、EVA作为液体接触层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度都较合适，但对于人胚肾细胞293，采用ULDPE作为液体接触层时，细胞培养密度较高，EVA的培养效果较差；而对于人体淋巴细胞PBMC，ULDPE的培养效果比较差，EVA作为液体接触层，培养效果更好。

对比表11中的序号1、4、5、6、7可见，液体接触层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的细胞培养效果，液体接触层的优选厚度为30~200 $\mu\text{m}$ ；采用ULDPE和EVA作为液体接触层时，液体接触层的优选厚度为200 $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例9 采用不同粘合层对含EVA的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 8 的序号 3 制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，LDPE: LLDPE 为 2:8 的混合物制备防护层，EVA 制备液体接触层，按照实施例 1 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 11 所示的不同粘合层，其中的厚度为粘合层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；EAA 和 EMA 分别采用美国杜邦公司和陶氏化学的相关牌号产品。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 1 所示；考察结果如表 11 所示，因粘合层包含 2 和 6 两层，因此采用粘合层 2/阻隔层/粘合层 6 来表示，厚度为两层分别的厚度。

表 11、不同粘合层对含 EVA 的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	粘合层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	透明度 %	PBMC 细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	EVA/阻隔层/EVA	10	27.1	0.04	0.42	97	226
2	EAA/阻隔层/EAA	10	26.8	0.04	0.41	98	224
3	EMA/阻隔层/EMA	10	26.9	0.04	0.40	97	229
4	EVA/阻隔层/EAA	10	26.8	0.04	0.41	98	221
5	EVA/阻隔层/EMA	10	26.8	0.04	0.42	98	226
6	EAA/阻隔层/EAA	20	27.2	0.04	0.41	97	227
7	EAA/阻隔层/EAA	5	26.0	0.04	0.42	99	221
8	EAA/阻隔层/EAA	25	27.3	0.04	0.41	97	223
9	EAA/阻隔层/EAA	2	25.9	0.04	0.42	99	207

由表 11 可见，采用不同的粘合层及不同厚度的粘合层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸

气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响。

对比表11中的序号1-5可以看出，采用EVA、EMA、EAA作为粘合层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、细胞培养效果都较合适。

对比表11中的序号1、6、7、8、9可见，粘合层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的细胞培养效果，过厚或过薄都会使细胞培养密度降低，粘合层的优选厚度为5~20 $\mu\text{m}$ ；采用EVA制备粘合层时，液体接触层的优选厚度为10 $\mu\text{m}$ 。

### 实施例10 采用不同气体阻隔层对含ULDPE的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例4提供的方法制备总厚度为400 $\mu\text{m}$ 的一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表12所示的不同的气体阻隔层，其中的厚度为气体阻隔层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVOH采用可乐丽EVAL系列，PA采用美国杜邦相关牌号的芳香族PA、脂肪族PA、脂肪-芳香族PA，PE采用美国陶氏公司相关牌号的产品。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例4所示，培养细胞使用293人胚胎肾细胞，考察结果如表12所示。

表12、不同气体阻隔层对含ULDPE的一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	透明度 %	细胞密度 万/ml
1	EVOH	80	15.8	0.17	0.84	93	135
2	脂肪族 PA	80	22.4	0.28	0.41	93	122
3	脂肪-芳香族 PA	80	25.7	0.26	0.38	93	126
4	芳香族 PA	80	28.4	0.21	0.35	93	129
5	芳香族 PA/EVOH	40/40	22.1	0.08	0.38	93	177
6	芳香族 PA/EVOH/PA	30/20/30	26.2	0.01	0.15	93	223
7	EVOH/芳香族 PA/EVOH	30/20/30	21.9	0.10	0.5	93	221
8	PE/EVOH/PE	30/20/30	15.1	0.09	0.92	93	127

由表12可见，当热封层、粘合层、液体接触层及厚度都一样时，采用不同的气体阻隔层对一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都存在较大的区别。相比不同种类的PA，芳香族PA的强度和气体阻隔性能明显更优，生物相容性也较好，因此优先选用芳香族PA制备一次性生物工艺袋；相比单独采用EVOH或单独采用芳香族PA作为气体阻隔层时，PA和EVOH组合可以明显提升强度、气体阻隔性能和细胞培养功能；而采用PA/EVOH/PA或EVOH/PA/EVOH的三层复合膜气体阻隔层形式，则可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的性能；而PA/EVOH/PA与EVOH/PA/EVOH相比，采用EVOH/PA/EVOH时，由于EVOH的耐水性比较差，因此将其作为外层阻隔层时，如遇水，阻隔性能会发生下降，导致一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都出现下降；同样为三层复合膜气体阻隔层形式的PE/EVOH/PE，其强度、气体阻隔性能和细胞培养功能则远不如PA/EVOH/PA或EVOH/PA/EVOH的组

合；最优选为 PA/EVOH/PA 的三层复合膜气体阻隔层，可使拉伸强度、气体阻隔性能和细胞培养功能都达到最佳。

#### 实施例11 气体阻隔层的不同厚度对含ULDPE一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 10 的序号为 6 的气体阻隔层制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，按照实施例 4 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 13 所示的不同厚度的气体阻隔层，其中的厚度为气体阻隔层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVOH 采用可乐丽 EVAL 系列，PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 4 所示，培养细胞使用 293 人胚胎肾细胞，考察结果如表 13 所示。

表 13、不同气体阻隔层厚度对含 ULDPE 一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	透明度 %	细胞密度 万/ml
1	PA/EVOH/PA	5/5/5	15.4	0.31	0.38	93	205
2		10/10/10	20.8	0.03	0.19	93	222
3		20/15/20	24.7	0.02	0.16	93	226
4		30/20/30	25.8	0.01	0.15	93	225
5		40/30/40	26.4	0.01	0.07	93	221
6		7/15/7	19.7	0.27	0.55	93	193
7		15/7/15	18.2	0.29	0.42	93	183

由表13可见，气体阻隔层的不同厚度，对制备的一次性生物工艺袋膜材的性能存在较大影响，选用合适的厚度，可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能，研究证明，采用气体阻隔层的厚度为30~80  $\mu\text{m}$ ，其中中间的气体阻隔层厚度为10~20  $\mu\text{m}$ ，两侧的气体阻隔层厚度为10~30  $\mu\text{m}$ 时，制备的一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能明显提高；综合考虑，气体阻隔层PA/EVOH/PA的最佳厚度选择为30/20/30  $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例12 采用不同热封层对含ULDPE一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 10 的序号为 6 的气体阻隔层制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，按照实施例 4 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 14 所示的不同热封层，其中的厚度为热封层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE 和 LLDPE 采用美国陶氏 DOW；EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；TPU 采用 Lubrizol 的 TPU；PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 4 所示，培养细胞使用 293 人胚胎肾细胞，热封焊接强度通过将其制备成标准样条，进行剥离强度测试得到，考察结果如表 14 所示。

表 14、不同热封层对含 ULDPE 一次性生物工艺袋性能的影响

序	热封层	厚度	焊接强	拉伸强度	氧气渗透率	水蒸气透过量	透明	细胞密度
---	-----	----	-----	------	-------	--------	----	------

号		$\mu\text{m}$	度 N/15mm	MPa	$\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	$\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	度 %	万/ml
1	LDPE	100	46.4	25.1	0.01	0.15	96	221
2	LLDPE	100	45.9	25.3	0.01	0.15	96	219
3	EVA	100	40.1	25.8	0.01	0.15	93	223
4	TPU	100	47.8	24.4	0.01	0.15	96	215
5	PA	100	--	27.1	0.01	0.11	93	179
6	LDPE : LLDPE (2:8)	100	45.4	26.9	0.01	0.15	99	230
7	LDPE : LLDPE (3:7)	100	46.9	26.5	0.01	0.15	99	228
8	LDPE : LLDPE (1:9)	100	43.8	26.1	0.01	0.15	97	214
9	LDPE : LLDPE (4:6)	100	45.7	26.3	0.01	0.15	97	216
10	LDPE : LLDPE (2:8)	30	39.8	23.2	0.02	0.15	98	215
11	LDPE : LLDPE (2:8)	150	56.4	27.8	0.01	0.15	98	220
12	LDPE : LLDPE (2:8)	20	50.2	20.4	0.02	0.16	98	182
13	LDPE : LLDPE (2:8)	180	60.9	28.0	0.01	0.15	98	211

由表 14 可见，采用不同的热封层及不同厚度的热封层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对透明度和热封焊接性能，并且由于焊接性能不佳也影响了细胞培养效果。

对比表14中的序号1-5可以看出，采用LDPE、LLDPE、EVA、TPU作为热封层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都较合适，但采用PA作为热封层时，因其熔点较高，焊接困难，而且使加工成本明显提高，生产效率下降，同时还影响了细胞培养效果。

对比表14中的序号1、2、6可以看出，采用LDPE、LLDPE、或是LDPE和LLDPE的混合物作为热封层时，LDPE和LLDPE的混合物可明显提高一次性生物工艺袋膜材的透明度，同时热封焊接性能也非常好，强度、氧气、水蒸气渗透率和细胞培养效果都能符合一次性生物工艺袋膜材的制备需求。

对比表14中的序号6-9可见，LDPE和LLDPE的混合物的不同比例关系会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的透明度，优选LDPE和LLDPE的混合物的比例关系为2~3:7~8。

对比表14中的序号6、10、11、12、13可见，热封层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的热封焊接性能，从而也会对细胞培养效果产生影响，热封层的优选厚度为30~150 $\mu\text{m}$ ；采用LDPE: LLDPE为2:8的混合物制备热封层时，热封层的优选厚度为100 $\mu\text{m}$ 。

### 实施例13 采用不同液体接触层对含ULDPE一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例12的序号为6制备的一次性生物工艺袋膜材，即以PA/EVOH/PA作为气体阻隔层，LDPE: LLDPE为2:8的混合物制备热封层，按照实施例4提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表8所示的不同液体接触层，其中的厚度为液体接触层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的小分子物质溶出、氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE采用美国陶氏DOW的LDPE；EVA采用Celanese公司的EVA；ULDPE采用陶氏化学的Engage 8480K系列的ULDPE。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例4所示；培养细胞使用293人胚胎肾细胞，通过气相色谱/液相色谱-质谱联用的方法检测；考察结果如表15所示。

表15、不同液体接触层对含ULDPE一次性生物工艺袋性能的影响

序号	液体接触层	厚度 $\mu\text{m}$	小分子物质溶出	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	透明度 %	细胞密度 万/ml
1	ULDPE	200	远小于定量限	27.1	0.01	0.14	98	233
2	LDPE	200	小于定量限	24.8	0.01	0.15	98	196
3	EVA	200	小于定量限	26.9	0.01	0.15	98	195
4	ULDPE	30	小于定量限	25.8	0.01	0.15	98	153
5	ULDPE	100	小于定量限	26.8	0.01	0.15	98	213
6	ULDPE	10	小于定量限	25.1	0.02	0.18	98	159
7	ULDPE	250	小于定量限	27.1	0.01	0.15	98	230

由表15可见，采用不同的液体接触层及不同厚度的液体接触层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对细胞培养效果影响明显。

对比表15中的序号1-3可以看出，采用LDPE、ULDPE、EVA作为液体接触层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度都较合适，但采用ULDPE作为液体接触层时，细胞培养密度出现大幅提升，达到了233万/ml，其原因可能是ULDPE具有更好的生物相容性，且无小分子溶出，因此优选采用ULDPE作为液体接触层。

对比表15中的序号1、4、5、6、7可见，液体接触层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的细胞培养效果，液体接触层的优选厚度为30~200 $\mu\text{m}$ ；采用ULDPE制备液体接触层时，液体接触层的优选厚度为200 $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例14 采用不同粘合层对含ULDPE一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 13 的序号 1 制备的一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，LDPE: LLDPE 为 2:8 的混合物制备热封层，ULDPE 制备液体接触层，按照实施例 4 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 15 所示的不同粘合层，其中的厚度为粘合层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；EAA 和 EMA 分别采用美国杜邦公司和陶氏化学的相关牌号产品。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 4 所示；培养细胞使用 293 人胚胎肾细胞，考察结果如表 16 所示，因粘合层包含 2 和 6 两层，因此采用粘合层 2/阻隔层/粘合层 6 来表示，厚度为两层分别的厚度。

表 16、不同粘合层对含 ULDPE 一次性生物工艺袋性能的影响

序号	粘合层	厚度 μm	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	水蒸气透过量 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	透明度 %	细胞密度 万/ml
1	EVA/阻隔层/EVA	10	27.1	0.01	0.14	98	233
2	EAA/阻隔层/EAA	10	26.8	0.01	0.15	98	231
3	EMA/阻隔层/EMA	10	26.9	0.01	0.15	98	231
4	EVA/阻隔层/EAA	10	26.8	0.01	0.15	98	232
5	EVA/阻隔层/EMA	10	26.8	0.01	0.15	98	231
6	EAA/阻隔层/EAA	20	27.2	0.01	0.15	98	237
7	EAA/阻隔层/EAA	5	26.0	0.02	0.16	98	221
8	EAA/阻隔层/EAA	25	27.3	0.01	0.15	98	223
9	EAA/阻隔层/EAA	2	25.9	0.01	0.15	98	207

由表 16 可见，采用不同的粘合层及不同厚度的粘合层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对拉伸强度和细胞培养效果影响明显。

对比表16中的序号1-5可以看出，采用EVA、EMA、EAA作为粘合层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、细胞培养效果都较合适，但采用EVA作为液体接触层时，细胞培养密度更高，其原因可能是EVA和液体接触层ULDPE之间具有更好的相容性，因此优选采用EVA作为粘合层。

对比表16中的序号1、6、7、8、9可见，粘合层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的细胞培养效果，过厚或过薄都会使细胞培养密度降低，粘合层的优选厚度为5~20μm；采用EVA制备粘合层时，液体接触层的优选厚度为10μm。

#### 实施例 15 含 LLDPE 与 ULDPE 的多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材

本实施例采用共挤出流延法制备厚度为 325μm 的一次性生物工艺袋用膜材，该膜材的组成结构包括如图 3 所示，包括防护层 1、粘合层 2、气体阻隔层 3/4/5、粘合层 6 和液体接触层 7。

其中防护层采用 LDPE 和 LLDPE 混合物，LDPE 占比为 30%，LLDPE 占比为 70%。LDPE 采用陶

氏的 DOW 系列, LLDPE 采用美国陶氏 DOW, 该层的厚度为 50 $\mu\text{m}$ 。

其中粘合层 2 和 6 采用 EVA, EVA 采用 Celanese 公司的 EVA, 该层的厚度为 10 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 3 和 5 为芳香族 PA, 采用美国杜邦相关牌号, 该层的厚度为 20 $\mu\text{m}$ 。

气体阻隔层 4 为 EVOH 采用可乐丽 EVAL 树脂, 该层的厚度为 15 $\mu\text{m}$ 。

液体接触层 7 采用 LLDPE 与 ULDPPE 的混合物, LLDPE 占比 10%, ULDPPE 占比 90%, LLDPE 采用美国陶氏 DOW, ULDPPE 采用美国陶氏公司的 Engage 8480K, 该层的厚度为 200 $\mu\text{m}$ 。

多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的制备方法如下:

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中, 防护层对应的螺杆温度设置在 180~210 $^{\circ}\text{C}$ ; 粘合层对应的螺杆温度设置在 160~200 $^{\circ}\text{C}$ ; 气体阻隔层尼龙对应的螺杆温度设置在 200~240 $^{\circ}\text{C}$ ; 气体阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220 $^{\circ}\text{C}$ ; 液体接触层对应的螺杆温度设置在 180~200 $^{\circ}\text{C}$ ; 模头温度设置为 220 $^{\circ}\text{C}$ 。

2) 熔融后的各层原料, 通过 T 型结构成型模具挤出, 熔体呈片状流延至平稳旋转的冷却辊筒表面上, 膜片在冷却辊筒上经冷却降温定型, 再经牵引、切边后收卷, 得到一次性生物工艺袋用膜材。

膜材的厚度由在线测厚装置精确控制, 各层厚度由螺杆转速调节控制。

考察制得的多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、耐穿刺、透明度和细胞培养效果 (生物相容性)。

其中, 一种多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的氧气和水蒸气渗透率采用压差法进行测试, 将样品裁至直径不小于 100mm 的圆片, 依据 GB/T-1038 标准于室温下进行测试, 测试膜材的氧气和水蒸气渗透率。每组试样为 3 个, 求取平均值。

一种多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的拉伸强度及焊接强度采用 Instron 万能试验机进行测试, 将样品分别裁成哑铃状样条和制备成相应的焊接样条, 以 200mm/min 的速率进行测试, 每个样品至少测试 5 个样条, 并求取平均值。

一种多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的透明度采用雾度计法, 依据 GB/T-2410-2008 进行测试, 每组测试 3 个样品, 并求取平均值。

依据 YBB 00322004-2015 对制得的一次性生物工艺袋用膜材进行耐穿刺性能测试, 在 200mm/min $\pm$ 20mm/min 的速度进行穿刺。记录穿刺样品所施加的最大力值, 每次测试 10 个样品, 并求取平均值。

多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的生物相容性通过统计细胞密度进行表征, 将制备好的膜材通过直热式搭接形式进行焊接后, 制备成一定规格的一次性生物培养袋, 并经过  $\gamma$  射线辐照灭菌。培养细胞分别使用人胚肾细胞 293 (以下简称 293 细胞) 和 SF9 昆虫细胞, 初始浓度为  $1 \times 10^5/\text{ml}$ 。一次性生物培养袋装在生物反应器内, 293 细胞和 SF9 昆虫细胞在一次性生物工艺袋中培养 5 天, 培养条件为 37 $^{\circ}\text{C}$ , 搅拌速度为 200rpm, 培养结束后检测细胞密度。

制得的多层共挤出一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及细胞密度结果如表 17 所示。

表 17、共挤出流延法制备的膜材的物理性能及细胞培养密度结果

测试项目	厚度 μm	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	水蒸气透 过量 g/m <sup>2</sup> ·24h	穿刺 最大 力/N	透明 度 %	293 细胞密 度 10 <sup>5</sup> /ml	SF9 细胞密 度 10 <sup>5</sup> /ml
数值	325	23.5	42.6	0.03	0.20	5.0	96	213	180

### 实施例 16 含 LLDPE 与 ULDPE 的多层共挤出一一次性生物工艺袋用膜材

本实施例采用共挤出流延法制备厚度为 305μm 的一次性生物工艺袋用膜材，该膜材的组成结构包括如图 4 所示，包括防护层 13、粘合层 14、气体阻隔层 15/16、粘合层 17 和液体接触层 18。

其中防护层 13 采用 LDPE 和 LLDPE 混合物，LDPE 占比为 30%，LLDPE 占比为 70%。LDPE 采用陶氏的 Dow 系列，LLDPE 采用美国陶氏 DOW，该层的厚度为 50μm。

其中粘合层 14 和 17 采用 EVA，EVA 采用 Celanese 公司的 EVA，该层的厚度为 10μm。

气体阻隔层 15 为芳香族 PA，采用美国杜邦相关牌号，该层的厚度为 20μm。

气体阻隔层 16 为 EVOH 采用可乐丽 EVAL 树脂，该层的厚度为 15μm。

液体接触层 18 采用 LLDPE 与 ULDPE 的混合物，LLDPE 占比 10%，ULDPE 占比 90%，LLDPE 采用美国陶氏 DOW，ULDPE 采用美国陶氏公司的 Engage 8480K，该层的厚度为 200μm。

多层共挤出一一次性生物工艺袋用膜材的制备方法如下：

1) 将所述各层原料分别加入至对应的挤出机中，防护层对应的螺杆温度设置在 180~210°C；粘合层对应的螺杆温度设置在 160~200°C；气体阻隔层尼龙对应的螺杆温度设置在 200~240°C；气体阻隔层 EVOH 对应的螺杆温度设置在 190~220°C；液体接触层对应的螺杆温度设置在 180~200°C；模头温度设置为 220°C。

2) 熔融后的各层原料，通过 T 型结构成型模具挤出，熔体呈片状流延至平稳旋转的冷却辊筒表面上，膜片在冷却辊筒上经冷却降温定型，再经牵引、切边后收卷，一次性生物工艺袋用膜材。

膜材的厚度由在线测厚装置精确控制，各层厚度由螺杆转速调节控制。

考察制得的多层共挤出一一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、耐穿刺、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。检测方法如实施例 1 所示。培养细胞分别使用 293 细胞和 SF9 昆虫细胞，初始浓度为 1×10<sup>5</sup>/ml。一次性生物培养袋装在生物反应器内，293 细胞和 SF9 昆虫细胞在一次性生物工艺袋中培养 5 天，培养条件为 37°C，搅拌速度为 200rpm，培养结束后检测细胞密度。

制得的多层共挤出一一次性生物工艺袋用膜材的物理性能及细胞密度结果如表 18 所示。

表 18、共挤出流延法制备的膜材的物理性能及细胞培养密度结果

测试项目	厚度 μm	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 mL/m <sup>2</sup> ·d·atm	水蒸气透 过量 g/m <sup>2</sup> ·24h	穿刺 最大 力/N	透明 度 %	293 细胞密 度 10 <sup>5</sup> /ml	SF9 细胞密 度 10 <sup>5</sup> /ml
数值	305	22.1	41.4	0.04	0.21	4.8	96	210	181

### 实施例 17 不同液体接触层对一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例按照实施例 15 的方法制备一次性生物工艺袋膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，LDPE: LLDPE 为 3:7 的混合物制备防护层，按照实施例 15 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并



分别采用如表19所示的液体接触层，其中的厚度为液体接触层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的小分子物质溶出、氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、抗穿刺性能、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE 和 LLDPE 均采用美国陶氏 DOW；ULDPE 采用陶氏化学的 Engage 8480K 系列的 ULDPE。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 15 所示，培养细胞分别使用 SF9 昆虫细胞和人胚肾细胞 293（以下简称 293 细胞），初始浓度为  $1 \times 10^5/\text{ml}$ ；小分子物质溶出通过气相色谱/液相色谱-质谱联用的方法检测；考察结果如表 19 所示。

表 19、不同液体接触层对一次性生物工艺袋性能的影响

序号	液体接触层	厚度 $\mu\text{m}$	小分子物质溶出	焊接强度 $\text{N}/15\text{m}$ $\text{m}$	拉伸强度 $\text{MPa}$	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{at}$ $\text{m}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{at}$ $\text{m}$	穿刺最大力 $\text{N}$	透明度 $\%$	SF9 细胞 $10^5/\text{ml}$	293 细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	ULDPE	200	小于定量限	31.2	18.6	0.04	0.31	5.3	96	175	225
2	LDPE	200	小于定量限	28.6	16.5	0.04	0.40	4.0	98	150	182
3	LLDPE	200	小于定量限	46.9	25.9	0.03	0.23	4.6	95	145	210
4	ULDPE : LLDPE (9:1)	200	小于定量限	42.6	23.5	0.03	0.20	5.0	96	181	213
5	ULDPE : LLDPE (8:2)	200	小于定量限	43.1	23.9	0.03	0.21	4.9	96	182	212
6	ULDPE : LLDPE (7:3)	200	小于定量限	43.5	24.1	0.03	0.22	4.8	96	185	215
7	ULDPE : LLDPE (5:5)	200	小于定量限	44.2	24.6	0.03	0.20	4.7	96	189	213
8	ULDPE : LLDPE (2:8)	200	小于定量限	45.0	25.6	0.03	0.21	4.6	95	195	211
9	ULDPE : LLDPE (2:8)	100	小于定量限	42.1	25.1	0.03	0.22	4.6	96	191	210
10	ULDPE : LLDPE (2:8)	50	小于定量限	40.3	24.9	0.04	0.23	4.5	97	178	209
11	ULDPE : LLDPE (2:8)	30	小于定量限	32.7	19.6	0.05	0.31	4.2	98	150	170
12	ULDPE : LLDPE (2:8)	250	小于定量限	45.1	25.7	0.03	0.21	4.6	95	185	210

13	ULDPE : LLDPE (2:8)	300	小于定 量限	45.3	25.8	0.03	0.21	4.6	95	157	200
----	---------------------------	-----	-----------	------	------	------	------	-----	----	-----	-----

由表 19 可见, 采用不同类型的聚乙烯作为液体接触层及不同厚度的液体接触层, 对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响。

对比表19中的序号1-4可以看出, 相比于单独采用LDPE、或LLDPE作为液体接触层时, 采用ULDPE与LLDPE的混合物作为液体接触层制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度都较合适, 而且对SF9昆虫细胞的培养效果明显更好, 证明采用ULDPE与LLDPE的混合物作为液体接触层能明显提升细胞相容性; 细胞培养效果与单独使用ULDPE作为液体接触层时的效果差别虽不明显, 但抗穿刺能力更优于ULDPE。

对比表19中的序号4-8可见, 采用ULDPE和LLDPE混合物作为液体接触层时, ULDPE和LLDPE的不同配比, 对抗穿刺能力和细胞培养效果都有一定的影响。优选的ULDPE与LLDPE的配比为2:8, 此时抗穿刺能力和细胞培养效果都较好。

对比表19中的序号8-13可见, 采用ULDPE和LLDPE混合物作为液体接触层时, 不同的液体接触层厚度对焊接强度会有明显的影响, 当液体接触层厚度小于50 $\mu\text{m}$ 时, 焊接强度明显下降, 也会影响细胞培养效果, 厚度大于250 $\mu\text{m}$ 时, 培养效果明显下降, 因此液体接触层优选的厚度为50~250 $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例18 不同阻隔层结构的含LLDPE与ULDPE的一次性生物工艺袋用膜材

本实施例采用实施例 15 提供的方法制备总厚度为 325 $\mu\text{m}$  的一次性生物工艺袋用膜材, 结构为防护层/粘合层/阻隔层 1/阻隔层 2/阻隔层 3/粘合层/液体接触层, 并分别采用如表 20 所示的不同的气体阻隔层, 其中 PA 指芳香族 PA, 厚度为气体阻隔层的厚度。

EVOH 采用可乐丽 EVAL 系列, PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

制得的膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 15 所示, 培养细胞使用 SF9 昆虫细胞, 考察结果如表 20 所示。

表 20、不同阻隔层结构对一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	穿刺最大力 N	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	EVOH	80	16.8	39.8	0.01	0.97	4.2	96	50
2	脂肪族 PA	80	17.4	38.5	0.98	0.41	4.8	96	61
3	脂肪-芳香族 PA	80	19.8	42.7	0.75	0.33	4.6	96	70
4	芳香族 PA	80	23.4	42.7	0.21	0.14	5.1	96	91
5	芳香族 PA/EVOH	60/20	22.1	41.1	0.08	0.36	4.9	96	159
6	EVOH/芳香	20/60	22.0	41.0	0.06	0.41	4.8	96	153

	族 PA								
7	EVOH/芳香族 PA/EVOH	30/20/30	20.6	40.2	0.01	0.81	4.6	96	103
8	芳香族 PA/EVOH/PA	30/20/30	23.5	42.6	0.03	0.2	5.0	96	191

由表 20 可见，当防护层、粘合层、液体接触层及厚度都一样时，采用不同的气体阻隔结构对一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都存在较大的区别。相比不同种类的 PA，芳香族 PA 的强度和气体阻隔性能明显更优，生物相容性也较好，因此优先选用芳香族 PA 制备一次性生物工艺袋；相比单独采用 EVOH 或单独采用芳香族 PA 作为气体阻隔层时，PA 和 EVOH 组合可以明显提升强度、气体阻隔性能和细胞培养功能，PA/EVOH 或 EVOH/PA 结构获得的生物袋膜的各性能差别不大；采用 PA/EVOH/PA，则可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的性能；同样为三层复合膜气体阻隔层形式的 EVOH/PA/EVOH，其强度、气体阻隔性能和细胞培养功能则远不如 PA/EVOH/PA 的组合，这主要是因为 EVOH 的耐水性差导致，因此将其作为外层阻隔层时，如遇水，阻隔性能会发生急剧下降，导致一次性生物工艺袋膜材的拉伸强度、氧气渗透率、水蒸气透过量、透明度和细胞培养密度都出现下降；最优选为 PA/EVOH/PA 的三层复合膜气体阻隔层，可使拉伸强度、气体阻隔性能和细胞培养功能都达到最佳。

#### 实施例 19 气体阻隔层的不同厚度对含 LLDPE 与 ULDPE 的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例采用实施例 18 的序号为 8 的气体阻隔层制备的一次性生物工艺袋用膜材，即以 PA/EVOH/PA 作为气体阻隔层，按照实施例 15 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 21 所示的不同厚度的气体阻隔层，其中的厚度为气体阻隔层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、抗穿刺性能、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

LDPE 和 LLDPE 采用美国陶氏 DOW；EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；PA 采用美国杜邦相关牌号的芳香族 PA。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、抗穿刺性能、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 15 所示，培养细胞使用 SF9 昆虫细胞，考察结果如表 21 所示。

表 21、不同气体阻隔层厚度对一次性生物工艺袋性能的影响

序号	气体阻隔层	厚度 $\mu\text{m}$	拉伸强度 MPa	焊接强度 N/15mm	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{atm}$	穿刺最大力 N	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	PA/EVOH/PA	5/5/5	16.9	37.8	0.31	1.06	4.0	99	100
2		10/10/10	18.6	40.1	0.11	0.83	4.2	98	115
3		20/15/20	19.8	41.2	0.07	0.65	4.5	97	149
4		30/20/30	23.5	42.6	0.03	0.2	5.0	96	193
5		40/30/40	23.5	43.0	0.02	0.09	4.9	95	181
6		7/15/7	17.8	38.6	0.27	0.98	4.1	98	126
7		15/7/15	19.1	39.4	0.29	0.69	4.4	98	153

由表21可见, 气体阻隔层的不同厚度, 对制备的一次性生物工艺袋膜材的性能存在较大影响, 选用合适的厚度, 可进一步提升一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能, 研究证明, 采用气体阻隔层的厚度为30~80 $\mu\text{m}$ , 其中中间的气体阻隔层厚度为10~20 $\mu\text{m}$ , 两侧的气体阻隔层厚度为10~30 $\mu\text{m}$ 时, 制备的一次性生物工艺袋膜材的强度、气体阻隔性能和细胞培养功能明显提高, 气体阻隔层PA/EVOH/PA的最佳厚度选择为30/20/30 $\mu\text{m}$ 。

### 实施例20 不同防护层对含LLDPE与ULDPE的一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例按照实施例15提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材, 并分别采用如表22所示的不同防护层, 其中的厚度为防护层的厚度, 考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、抗穿刺性能、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果(生物相容性)。

LDPE 和 LLDPE 采用美国陶氏 DOW。

其中, 氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、抗穿刺性能、焊接强度、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 15 所示, 培养细胞分别使用 SF9 昆虫细胞和人胚肾细胞 293 (以下简称 293 细胞), 初始浓度为  $1 \times 10^5/\text{ml}$ ; 小分子物质溶出通过气相色谱/液相色谱-质谱联用的方法检测; 考察结果如表 22 所示。

表 22、不同防护层对一次性生物工艺袋性能的影响

序号	防护层	厚度 $\mu\text{m}$	焊接强度 N/15mm	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	穿刺最大力 N	透明度 %	SF9 细胞	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	LDPE	50	28.5	16.9	0.05	0.25	3.2	99	190	189
2	LLDPE	50	42.3	22.8	0.04	0.20	4.6	94	160	210
3	LDPE : LLDPE (2:8)	50	41.0	21.0	0.04	0.21	4.2	97	170	212
4	LDPE : LLDPE (3:7)	50	40.1	20.4	0.04	0.19	4.1	97	191	213
5	LDPE : LLDPE (1:9)	50	41.9	22.1	0.04	0.23	4.4	95	192	216
6	LDPE : LLDPE (4:6)	50	36.4	18.7	0.05	0.22	3.9	98	193	192
7	LDPE : LLDPE (0.5:9.5)	30	42.0	22.5	0.05	0.19	4.5	95	194	212
8	LDPE : LLDPE (2:8)	100	43.8	24.3	0.04	0.20	4.6	96	195	209
9	LDPE : LLDPE (2:8)	150	45.2	25.1	0.04	0.21	4.9	95	193	210
10	LDPE : LLDPE (3:7)	100	42.6	23.5	0.03	0.20	5.0	96	192	213

由表 22 可见，采用不同的防护层及不同厚度的防护层，对一次性生物工艺袋用膜材的拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响，尤其是对透明度和热封焊接性能，并且由于焊接性能不佳也影响了细胞培养效果。

对比表22中的序号1和2可以看出，采用LDPE作为防护层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的透明度最高，但是拉伸强度和热封焊接性能比较差；采用LLDPE作为防护层时，虽然透明度不及LDPE作为防护层的生物工艺袋，但是拉伸强度、焊接强度和细胞培养效果均远高于以LDPE为防护层的生物工艺袋膜。由此可见，LLDPE比LDPE更适合作为生物工艺袋膜材的外层防护层。

对比表22中的序号3-7可以看出，采用LDPE、LLDPE、或是LDPE和LLDPE的混合物作为防护层时，LDPE和LLDPE的混合物可明显提高一次性生物工艺袋膜材的透明度，同时热封焊接性能也非常好，强度、氧气、水蒸气渗透率和细胞培养效果都能符合一次性生物工艺袋膜材的制备需求。其中，LDPE和LLDPE的混合物的不同比例关系会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的透明度，优选LDPE和LLDPE的混合物的比例关系为1: 9~3:7。

对比表22中的序号4和10以及3、8、9可见，防护层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋膜材的热封焊接性能，从而也会对细胞培养效果产生影响，防护层的优选厚度为50~150 $\mu\text{m}$ 。

#### 实施例21 采用不同粘合层对一次性生物工艺袋性能的影响

本实施例按照实施例 15 提供的方法制备一次性生物工艺袋用膜材，并分别采用如表 23 所示的不同粘合层，其中的厚度为粘合层的厚度，考察制得的多层共挤一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、抗穿刺性能、透明度和细胞培养效果（生物相容性）。

EVA 采用 Celanese 公司的 EVA；EAA 和 EMA 分别采用美国杜邦公司和陶氏化学的相关牌号产品。

其中，氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、焊接强度、抗穿刺性能、透明度和细胞培养效果检测方法如实施例 15 所示；培养细胞使用 SF9 昆虫细胞，考察结果如表 23 所示，因粘合层包含 2 和 6 两层，因此采用粘合层 2/阻隔层/粘合层 6 来表示，厚度为两层分别的厚度。

表 23、不同粘合层对一次性生物工艺袋性能的影响

序号	粘合层	厚度 $\mu\text{m}$	焊接强度 N/15m m	拉伸强度 MPa	氧气渗透率 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	水蒸气透过量 $\text{mL}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{atm}$	穿刺最大力 N	透明度 %	细胞密度 $10^5/\text{ml}$
1	EVA/阻隔层 /EVA	10	42.6	23.5	0.03	0.20	5.0	96	193
2	EAA/阻隔层 /EAA	10	41.9	26.8	0.03	0.21	4.9	96	194
3	EMA/阻隔层 /EMA	10	42.2	26.9	0.04	0.20	4.8	96	192
4	EVA/阻隔层 /EAA	10	41.8	26.8	0.03	0.21	5.1	95	191
5	EVA/阻隔层 /EMA	10	41.7	26.8	0.04	0.22	4.9	96	196
6	EAA/阻隔层 /EAA	20	42.4	27.2	0.03	0.21	4.8	95	191
7	EAA/阻隔层	5	40.1	26.0	0.04	0.22	5.1	96	191

	/EAA								
8	EAA/阻隔层 /EAA	25	42.5	27.3	0.03	0.21	5.0	95	193
9	EAA/阻隔层 /EAA	2	32.5	25.9	0.04	0.22	4.7	95	197

由表 23 可见，采用不同的粘合层及不同厚度的粘合层，对一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、热封焊接性能和细胞培养效果都存在一定的影响。

对比表23中的序号1-5可以看出，采用EVA、EMA、EAA作为粘合层时，制备的一次性生物工艺袋用膜材的氧气、水蒸气渗透率、拉伸强度、透明度、穿刺最大力，细胞培养效果都较合适。

对比表23中的序号1、6、7、8、9可见，粘合层的不同厚度，会明显影响制备的一次性生物工艺袋用膜材的细胞培养效果，过厚或过薄都会使细胞培养密度降低，粘合层的优选厚度为5~20 $\mu\text{m}$ ；采用EVA制备粘合层时，粘合层的优选厚度为10 $\mu\text{m}$ 。

虽然本发明披露如上，但本发明并非限定于此。任何本领域技术人员，在不脱离本发明的精神和范围内，均可作各种更动与修改，因此本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。

## 权利要求书

- 1、一种气体阻隔层用于制备一次性生物工艺袋用膜材的用途，其特征在于，所述气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。
- 2、一种一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，包括防护层/粘合层/气体阻隔层/粘合层/液体接触层，所述的气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。
- 3、如权利要求 2 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述 PA 为芳香族 PA。
- 4、如权利要求 3 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述 PA/EVOH/PA 厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ，所述 PA 厚度为 10~30 $\mu\text{m}$ ，所述 EVOH 厚度为 10~20 $\mu\text{m}$ 。
- 5、如权利要求 4 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述液体接触层接触的液体中包括用于培养的细胞。
- 6、如权利要求 5 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述液体接触层为 ULDPE，所述 ULDPE 厚度为 30~200 $\mu\text{m}$ 。
- 7、如权利要求 5 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述液体接触层为 EVA，所述 EVA 厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ 。
- 8、如权利要求 5 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述液体接触层为线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物。
- 9、如权利要求 8 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物中，线性低密度聚乙烯占比为 10~100%；所述液体接触层的厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ 。
- 10、如权利要求 1-9 任一项所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述防护层为 EVA、TPU、LDPE、LLDPE、或 LDPE 与 LLDPE 的混合物中的任意一种。
- 11、如权利要求 10 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述防护层为 LDPE 与 LLDPE 的混合物，所述 LDPE 与 LLDPE 的混合物中，按质量份数计，LDPE 成分为 20%~30%。
- 12、如权利要求 11 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述防护层的厚度为 50~150 $\mu\text{m}$ 。
- 13、如权利要求 12 所述的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述粘合层为 EAA、EVA 或 EMA 中的一种或几种组成的混合物，所述粘合层厚度为 5~20 $\mu\text{m}$ 。
- 14、一种简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，包括防护层/气体阻隔层/液体接触层，所述气体阻隔层由 PA/EVOH/PA 三层复合膜组成。
- 15、如权利要求 14 所述的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述 PA 为芳香族 PA。
- 16、如权利要求 15 所述的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述 PA/EVOH/PA 厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ，所述 PA 厚度为 10~30 $\mu\text{m}$ ，所述 EVOH 厚度为 10~20 $\mu\text{m}$ 。
- 17、如权利要求 16 所述的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述液体接触层和防护层都为 EVA。
- 18、如权利要求 17 所述的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，其中液体接触层厚度为 50~250 $\mu\text{m}$ ，防护层的厚度为 50~100 $\mu\text{m}$ 。
- 19、一种简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，包括防护层/粘合层/气体阻隔层/粘合层/

液体接触层，所述的气体阻隔层由尼龙层/乙烯-乙烯醇共聚物层两层复合膜组成；所述液体接触层为线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物。

- 20、如权利要求 19 所述的简化结构的一次性生物工艺袋用膜材，其特征在于，所述线性低密度聚乙烯和超低密度聚乙烯的混合物中，线性低密度聚乙烯占比为 10~100%；所述气体阻隔层厚度为 30~80 $\mu\text{m}$ ；其中尼龙层的厚度为 20~70 $\mu\text{m}$ ，乙烯-乙烯醇共聚物层的厚度为 10~60 $\mu\text{m}$ 。
- 21、一种如权利要求 2~20 任一项所述的膜材的制备方法，其特征在于，采用共挤出流延方法制备，具体步骤为：1) 各层原料分别加入至对应的挤出机中；2) 在机头温度 120~220 $^{\circ}\text{C}$  条件下，经熔融、共挤出吹塑或流延制得。
- 22、如权利要求 21 所述的方法，其特征在于，当膜材厚度小于 300  $\mu\text{m}$  时，采用共挤出吹塑或流延制得；当膜材厚度大于 300  $\mu\text{m}$  时，采用共挤出流延制得。
- 23、尼龙用于制备一次性生物工艺袋用膜材的气体阻隔层的用途。
- 24、如权利要求 23 所述的用途，其特征在于，所述气体阻隔层为尼龙/乙烯-乙烯醇共聚物/尼龙共聚物的三层复合结构；所述尼龙为芳香族尼龙；所述膜材用于制备生物反应器中培养细胞的一次性生物工艺袋。



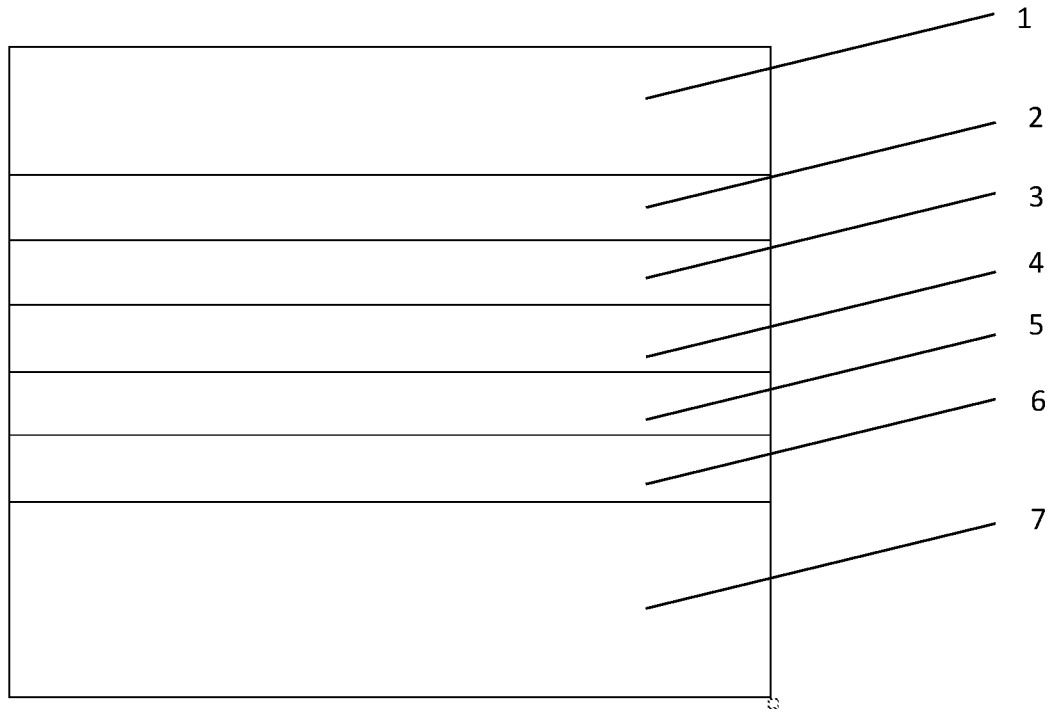


图 1

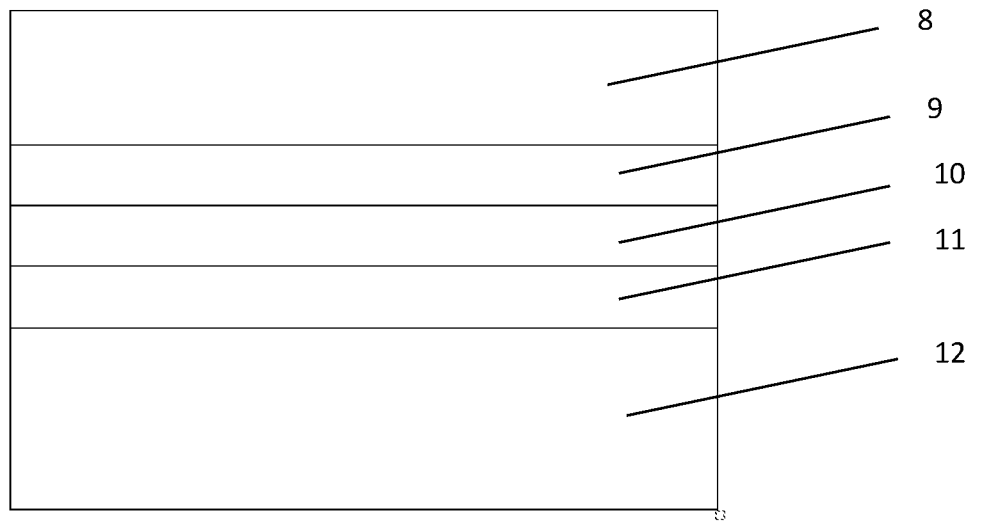


图 2

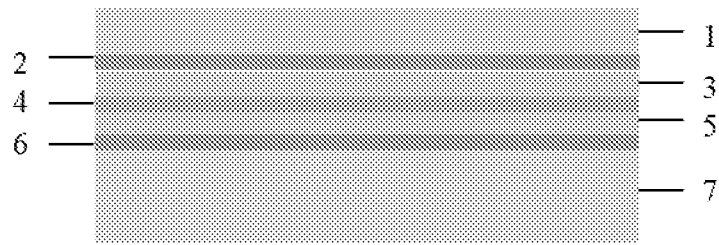


图 3

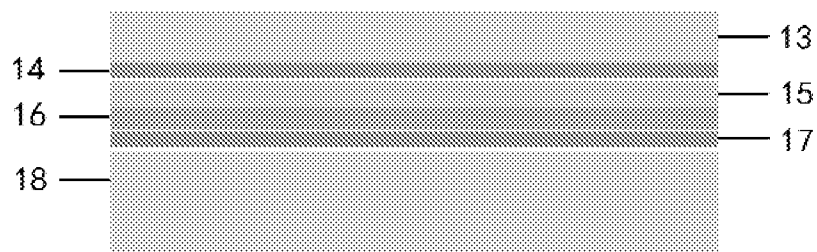


图 4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/108644

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
B32B 27/08(2006.01)i; B32B 27/32(2006.01)i; B32B 27/30(2006.01)i; B32B 27/34(2006.01)i; B32B 7/12(2006.01)i; B29C 48/21(2019.01)i; C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B32B,B29C,C12M		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNTXT, SIPOABS, DWPI, USTXT, EPTXT, WOTXT, JPTXT, patents, 中国期刊网全文数据库, Chinese Journal Full-text Database, ISI Web of Science, Elsevier Science Direct: 浙江金仪盛世, 杨宇明, 徐江宁, 宋金沛, 生物工艺, 储液, 搅拌, 生物反应器, 称量, 投料, 细胞培养, 袋, 容器, 囊, 药, 稀释剂, 尿, 血, 阻隔, 阻挡, 阻气, 尼龙, 聚酰胺, 乙烯-丙烯醇, 液体接触层, 内层, 乙烯-醋酸乙烯, 乙烯-乙酸乙烯, 防护层, 聚氨酯弹性体, 低密度聚乙烯, ZHEJIANG JINYI SHENGSHI, yang y+, xu j+, song j+, bioprocess, storage, mix+, bioreact+, pump+, medicament?, pharmaceuticals?, duluent?, sera, blood, cell culture, bag, container, resevoir, bladder, pouch, film, membrane?, barrier, PA, EVOH, ethylene w vinyl alcohol, liquid contact, ultra w low density polyethylene, ULDPE, EVA, ethylene w vinyl acetate, TPU, LDPE, LLDPE, heat w sealing layer, low w density polyethylene, linear low w density polyethylene, ethylene w vinyl acetate copolymer, polyurethane elastomer		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2017175066 A1 (E. I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY) 22 June 2017 (2017-06-22) description, paragraphs 68-69, 72, 84, 100, 132, 137, 140, 156 and 162	1-24
Y	CN 109677071 A (SHIJIAZHUANG YUCAI MEDICINAL PACKAGING MATERIAL CO., LTD. et al.) 26 April 2019 (2019-04-26) description, paragraphs 4-20, and figures 1-2	1-24
Y	WO 2013005890 A1 (BARFLEX CORPORATION et al.) 10 January 2013 (2013-01-10) description, p. 2, last paragraph to p. 4, paragraph 4	1-24
Y	CN 107745561 A (HUANGSHAN NOVEL CO., LTD.) 02 March 2018 (2018-03-02) description, paragraphs 5-10, 13 and 16-19	1-24
Y	US 4755419 A (W. R. GRACE & CO., CRYOVAC DIV.) 05 July 1988 (1988-07-05) description, column 3, lines 22-39, and column 4, line 60 to column 6, line 68	1-24
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>12 January 2022</b>		Date of mailing of the international search report <b>26 January 2022</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2021/108644**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 109263164 A (SUNRISE PACKAGING MATERIAL (JIANGYIN) CO., LTD.) 25 January 2019 (2019-01-25) description, paragraphs 7, 11 and 15-22	1-24
Y	CN 108248164 A (CHAOYANG FREEDOM SCIENCE & TECH CO., LTD.) 06 July 2018 (2018-07-06) description, paragraphs 6-7 and 24-26	1-24
Y	CN 1216499 A (CRYOVAC, INC.) 12 May 1999 (1999-05-12) description, p. 5m line 10 to p. 9, line 27	1-24
A	CN 201863453 U (SUZHOU HAISHUN PACKAGE MATERIAL CO., LTD.) 15 June 2011 (2011-06-15) entire document	1-24

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2021/108644**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2017175066	A1	22 June 2017	None			
CN	109677071	A	26 April 2019	None			
WO	2013005890	A1	10 January 2013	KR	20130005634	A	16 January 2013
CN	107745561	A	02 March 2018	None			
US	4755419	A	05 July 1988	JP	S62234929	A	15 October 1987
				JP	H049672	B2	20 February 1992
CN	109263164	A	25 January 2019	None			
CN	108248164	A	06 July 2018	None			
CN	1216499	A	12 May 1999	JP	2000505371	A	09 May 2000
				JP	3754085	B2	08 March 2006
				KR	19990087171	A	15 December 1999
				KR	100439654	B1	16 May 2005
				CN	1096355	C	18 December 2002
				WO	9730847	A1	28 August 1997
				US	6221470	B1	24 April 2001
				EP	0881966	A1	09 December 1998
				EP	0881966	B1	02 October 2002
CN	201863453	U	15 June 2011	None			

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>B32B 27/08(2006.01)i; B32B 27/32(2006.01)i; B32B 27/30(2006.01)i; B32B 27/34(2006.01)i; B32B 7/12(2006.01)i; B29C 48/21(2019.01)i; C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>B32B, B29C, C12M</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNXT, SIPOABS, DWPI, USTXT, EPTXT, WOTXT, JPTXT, patentics, 中国期刊网全文数据库, ISI Web of Science, Elsevier Science Direct:浙江金仪盛世, 杨宇明, 徐江宁, 宋金沛, 生物工艺, 储液, 搅拌, 生物反应器, 称量, 投料, 细胞培养, 袋, 容器, 囊, 药, 稀释剂, 尿, 血, 阻隔, 阻挡, 阻气, 尼龙, 聚酰胺, 乙烯-乙醇醇, 液体接触层, 内层, 乙烯-醋酸乙烯, 乙烯-乙酸乙烯, 防护层, 聚氨酯弹性体, 低密度聚乙烯, ZHEJIANG JINYI SHENGSHI, yang y +, xu j+, song j+, bioprocess, storage, mix+, bioreact+, pump+, medicament?, pharmaceuticals?, duluent?, sera, blood, cell culture, bag, container, resevoir, bladder, pouch, film, membrane?, barrier, PA, EVOH, ethylene w vinyl alcohol, liquid contact, ultra w low density polyethylene, ULDPE, EVA, ethylene w vinyl acetate, TPU, LDPE, LLDPE, heat w sealing layer, low w density polyethylene, linear low w density polyethylene, ethylene w vinyl acetate copolymer, polyurethane elastomer</p>																				
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>US 2017175066 A1 (DU PONT) 2017年6月22日 (2017 - 06 - 22) 说明书第68-69、72、84、100、132、137、140、156、162段</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 109677071 A (石家庄育才药用包装材料股份有限公司等) 2019年4月26日 (2019 - 04 - 26) 说明书第4-20段、附图1-2</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2013005890 A1 (BARFLEX CORP.等) 2013年1月10日 (2013 - 01 - 10) 说明书第2页最后1段-第4页第4段</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 107745561 A (黄山永新股份有限公司) 2018年3月2日 (2018 - 03 - 02) 说明书第5-10、13、16-19段</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 4755419 A (W. R. GRACE &amp; CO., CRYOVAC DIV.) 1988年7月5日 (1988 - 07 - 05) 说明书第3栏第22-39行, 第4栏第60行-第6栏第68行</td> <td>1-24</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	US 2017175066 A1 (DU PONT) 2017年6月22日 (2017 - 06 - 22) 说明书第68-69、72、84、100、132、137、140、156、162段	1-24	Y	CN 109677071 A (石家庄育才药用包装材料股份有限公司等) 2019年4月26日 (2019 - 04 - 26) 说明书第4-20段、附图1-2	1-24	Y	WO 2013005890 A1 (BARFLEX CORP.等) 2013年1月10日 (2013 - 01 - 10) 说明书第2页最后1段-第4页第4段	1-24	Y	CN 107745561 A (黄山永新股份有限公司) 2018年3月2日 (2018 - 03 - 02) 说明书第5-10、13、16-19段	1-24	Y	US 4755419 A (W. R. GRACE & CO., CRYOVAC DIV.) 1988年7月5日 (1988 - 07 - 05) 说明书第3栏第22-39行, 第4栏第60行-第6栏第68行	1-24
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	US 2017175066 A1 (DU PONT) 2017年6月22日 (2017 - 06 - 22) 说明书第68-69、72、84、100、132、137、140、156、162段	1-24																		
Y	CN 109677071 A (石家庄育才药用包装材料股份有限公司等) 2019年4月26日 (2019 - 04 - 26) 说明书第4-20段、附图1-2	1-24																		
Y	WO 2013005890 A1 (BARFLEX CORP.等) 2013年1月10日 (2013 - 01 - 10) 说明书第2页最后1段-第4页第4段	1-24																		
Y	CN 107745561 A (黄山永新股份有限公司) 2018年3月2日 (2018 - 03 - 02) 说明书第5-10、13、16-19段	1-24																		
Y	US 4755419 A (W. R. GRACE & CO., CRYOVAC DIV.) 1988年7月5日 (1988 - 07 - 05) 说明书第3栏第22-39行, 第4栏第60行-第6栏第68行	1-24																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型:                  “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件                  “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利                  “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)                  “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件                  “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件                  “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件                  “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性                  “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性                  “&amp;” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年1月12日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年1月26日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>张凌</p> <p>电话号码 86-(10) 53962675</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 109263164 A (江阴升辉包装材料有限公司) 2019年1月25日 (2019 - 01 - 25) 说明书第7、11、15-22段	1-24
Y	CN 108248164 A (朝阳佛瑞达科技有限公司) 2018年7月6日 (2018 - 07 - 06) 说明书第6-7、24-26段	1-24
Y	CN 1216499 A (克里奥瓦克公司) 1999年5月12日 (1999 - 05 - 12) 说明书第5页第10行-第9页第27行	1-24
A	CN 201863453 U (苏州海顺包装材料有限公司) 2011年6月15日 (2011 - 06 - 15) 全文	1-24

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/108644

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2017175066	A1	2017年6月22日	无			
CN	109677071	A	2019年4月26日	无			
WO	2013005890	A1	2013年1月10日	KR	20130005634	A	2013年1月16日
CN	107745561	A	2018年3月2日	无			
US	4755419	A	1988年7月5日	JP	S62234929	A	1987年10月15日
				JP	H049672	B2	1992年2月20日
CN	109263164	A	2019年1月25日	无			
CN	108248164	A	2018年7月6日	无			
CN	1216499	A	1999年5月12日	JP	2000505371	A	2000年5月9日
				JP	3754085	B2	2006年3月8日
				KR	19990087171	A	1999年12月15日
				KR	100439654	B1	2005年5月16日
				CN	1096355	C	2002年12月18日
				WO	9730847	A1	1997年8月28日
				US	6221470	B1	2001年4月24日
				EP	0881966	A1	1998年12月9日
				EP	0881966	B1	2002年10月2日
CN	201863453	U	2011年6月15日	无			