

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	再生コラーゲン繊維に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	谷岡明彦
Author(English)	AKIHIKO TANIOKA
出典(和文)	学位:工学博士, 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第734号, 授与年月日:1975年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:
Citation(English)	Degree:Doctor of Engineering, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第734号, Conferred date:1975/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

# 再生カラーガン繊維に関する研究



東京工業大学 大学院 理工学研究科 繊維工学専攻 2035

谷岡明彦

東京工業大学	357331
--------	--------

## 目 次

第 1 章	緒 論	
1-1	コラーゲンについて	1
1-2	材料としての応用用途	7
1-3	従来の研究の方向及び成果	8
1-4	本研究における目的及び構成	9
第 2 章	等温吸着	
2-1	緒 言	11
2-2	実験方法	12
2-3	結果と考察	15
2-4	結 言	20
第 3 章	応力緩和 水分率-時間換算則の検討	
3-1	緒 言	21
3-2	実験方法	22
3-3	結果と考察	23
3-4	結 言	35
第 4 章	ゼラチンの伸張によるコラーゲンの再生	
4-1	緒 言	36
4-2	実験方法	37
4-3	結果と考察	
4-3-1	転移後の構造と物性	40

4-3-2	転移量の伸張率依存性	43
4-3-3	熱処理による効果	48
4-4	結言	51
第5章	ゼラチンより再生したコラーゲン皮膚の物性	
5-1	緒言	52
5-2	実験方法	53
5-3	結果と考察	
5-3-1	再生コラーゲン皮膚の物性に及ぼす水の効果	54
5-3-2	紫外線照射の効果	60
5-4	再生コラーゲンの応用について	66
5-5	結言	67
第6章	結論	69
文献		72

# 第 1 章 緒 論

## 1-1 コラーゲンについて

コラーゲン繊維は結合組織の一成分として生物の体内で器官を互に結合・支持し、傷害や病気の部分を補修する重要な役割を担っている。植物のセルロース、昆虫のキチンに相当し、原虫類を除く全動物界に広く分布する。哺乳動物では体内の全タンパク質の20~30%に達しており、半分は皮膚にあるが腱や骨、胃腸や血管の壁、腹膜、<sup>(1)(2)</sup> 助膜等にも多く分布する。

ところでコラーゲンの研究は古くから進められてきたにもかかわらず複雑な構造のゆえに長くその本質を明らかにすることは困難であった。しかし近年生化学等の進歩によりその全貌が次第に明らかにされるに至った。最近の研究成果をもとにコラーゲンの構造と物性について少し説明する。

まずコラーゲンのアミノ酸組成をFig.1に示す。<sup>(1)</sup> この図から明らかでなくグリシンが全体の1/3をしめ、プロリンやヒドロキシプロリンというイミノ酸の含量が次に多い。また最近のアミノ酸分析から、我々は(Gly-X-Y) (X, Yはグリシン以外のアミノ酸) というくり返し単位を得

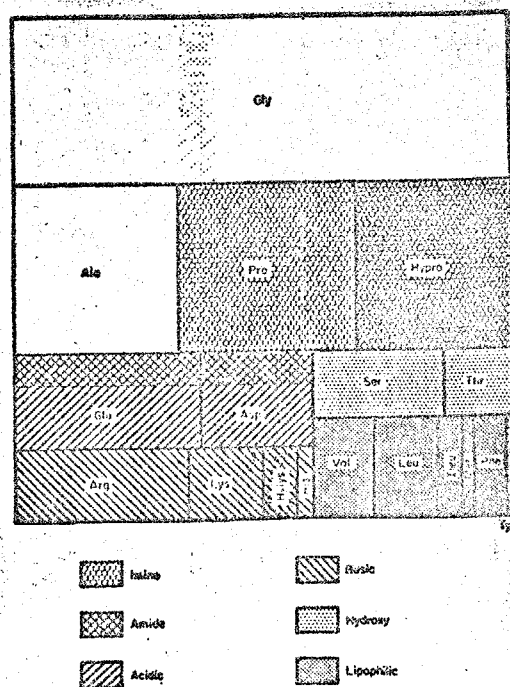


Fig.1 Amino acid residues in collagen<sup>(1)</sup>.

(1) ことができる。 Rich and Crick (3) や Ramachandran (1) のX線構造解析の研究によってXまたはYオキシノ酸であるとき右まきのヘリックスが三本集まり互にからまりあってFig. 2 に示すごとく最も安定した一本の分子になることが報告された。またこれらの鎖はFig. 3に示すごとく三つの残基あたり二つの水素結合(うち一個は水が介在)によって互に安定化しているということがRamachandranによって明らかにされた。(4)(5)

このとき残基一個の unit height は2.91 Å であるとされている。この三本の鎖がからみ合ったものが tropocollagen と呼ばれ、コラーゲン分子を意味する。長さは約 2800 Å 直径は約14 Å の棒状の高分子で分子

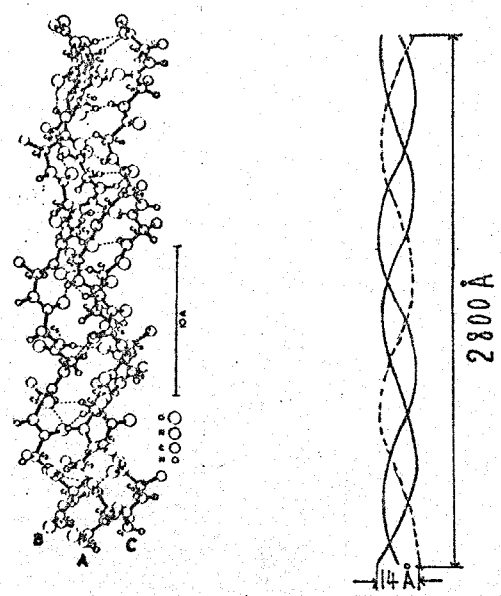


Fig.2 Diagrammatic representation of the collagen molecule (1).

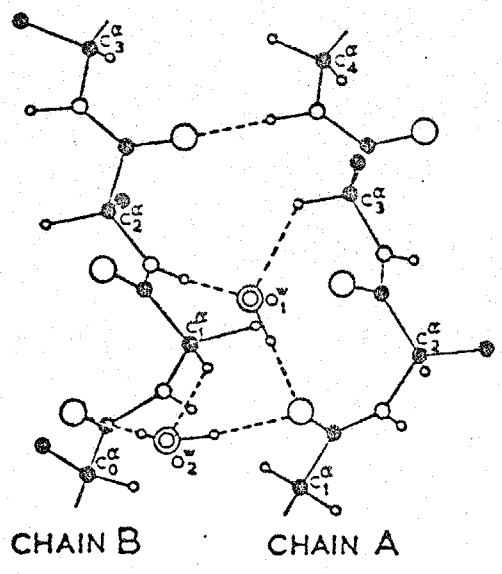


Fig.3 Side view of the two chains of the triple helical structure showing the systematic hydrogen bonds between the chains (4)

量は30万～36万である。末端には telopeptide と呼ばれるチロシンやフェニルアラニンに豊みグリシンやプロリン含量の少ない構造の乱れた部分がある。これは分子内や分子間の架橋に重要なやくわりをはたしている。さてこの tropocollagen の集合によってコラーゲン繊維を形成するわけであるがその概略を Bear<sup>(6)</sup> の模式図 (Fig.4) に従って説明する。それによると最小構造単位は Protofibril と

呼ばれ、今日の tropocollagen に相当する。Tropocollagen が  $\frac{1}{4}$  づつずれて集まり太さ約  $1000 \text{ \AA}$ 、約  $640 \text{ \AA}$  の繊維周期のある電子顕微鏡の次元の大きさの fibril となる。さらにそれが集合して太さ数  $\mu$  程度の collagen primitive fiber となる。それがさらに集合して光学顕微鏡で観察される直径  $10 \mu$  以上の collagen fiber を構成する。ところでこの  $(\text{Gly-X-Y})_n$  によって triple helix を作る部分はコラーゲンの結晶と考えられ、無極性のアミノ酸から成立しており、Fig.4 で interband と呼ばれる領域である。また他の部分は band region と呼ばれ主として極性アミノ酸から成立して

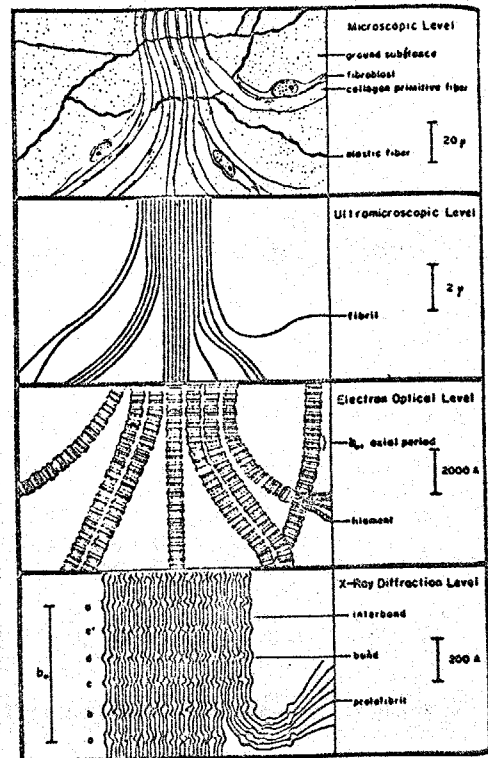


Fig.4 Structural elements of the collagen fiber, in steps of increasing magnification<sup>(6)</sup>

あり, triple helix がみだれいわゆる非晶領域を形成していると考えられる。<sup>(1)</sup>

生体からコラーゲンを抽出する方法としては, まず動物の皮や骨を熱水処理する方法が古くから行なわれてきた。比較的簡単にコラーゲンを得ることができるが, 変性・分解しており一般にこれをセラチンと呼んでいる。もし tropocollagen として抽出することを期待するならば次の三種の方向によらねばならない。まず酢酸水溶液等の酸性水溶液による抽出, 次に塩化ナトリウム等の中性塩による抽出で, それぞれ酸可溶性コラーゲン, 中性塩可溶性コラーゲンと呼ばれる。しかしいずれの方法によっても抽出量がきわめて少ない。<sup>(1)</sup>ところが最近ペプシン等の酵素で処理すると telopeptide が消化され多量の tropocollagen の抽出が可能になった。<sup>(7)</sup>一般にこれは酵素可溶性コラーゲンと呼ばれる, 純度も 100% 近い。

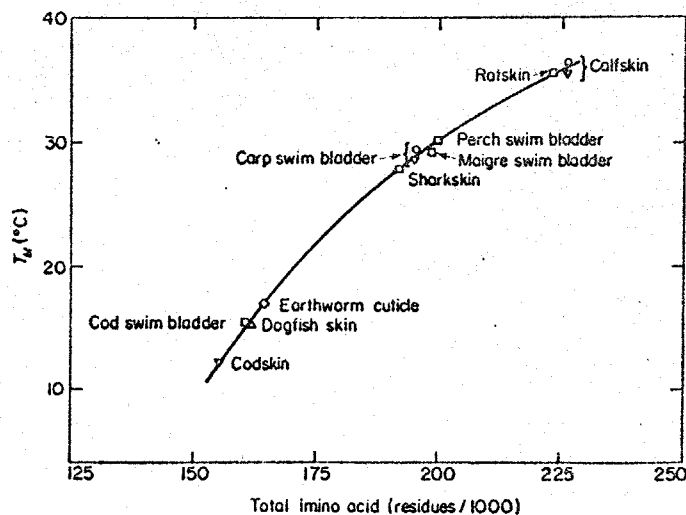


Fig.5 Relation between total imino acid content and  $T_m$  for a number of collagens <sup>(1)</sup>.

以上のように抽出された tropocollagen は溶液中でも triple helix

を保っているが、このコラーゲン溶液の温度を徐々に上げると、ランダムコイル状の分子に転移しゼラチンと呼ばれるようになる。転移温度はイミノ酸含有量によって異なり Fig. 5 に示すごとくイミノ酸の量が増加すると転移温度も上昇し、牛のコラーゲンでは約  $35^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$  なる値を示す。<sup>(1)</sup>しかし全く希釈剤をふくまない dry collagen は融点が高く  $200^{\circ}\sim 230^{\circ}\text{C}$  となる。ところで逆に温度を下げるとゼラチンからコラーゲンに回復する。しかしコラーゲンの場合一般の高分子とは異なり三本の  $(\text{Gly}-\text{X}-\text{Y})_n$  がうまくマッチしなければ再生は不可能である。Fig. 6 にゼラチンからコラーゲンへの再生に関する模式図を示す。<sup>(8)</sup> tropo collagen として triple helix を有する一本の分

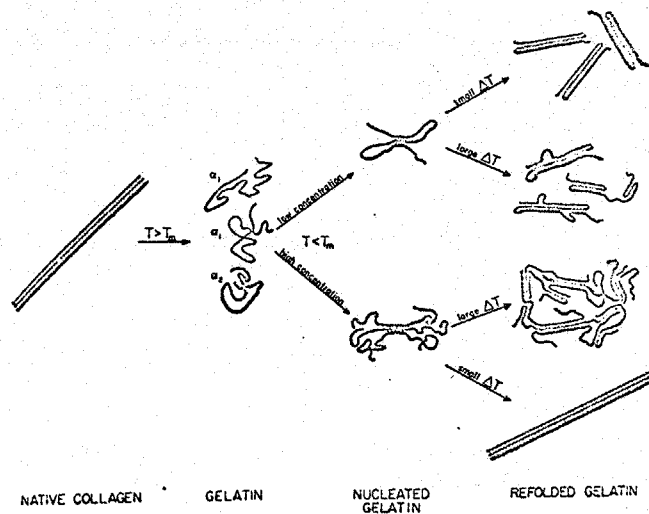


Fig. 6 Schematic representation of the renaturation of gelatin to collagen <sup>(8)</sup>.

子が再生するかどうかは温度や濃度に依存する上、完全に再生されるには三本の鎖が末端まで完全にそろわなければならない。したがって telopeptide によって鎖の末端が固定されているような時にのみ可

能で、一般的にゼラチンのように鎖がバラバラな場合には完全な再生は望めない。ところで tropocollagen の酸性溶液を生理的な条件に保ったり 1% 食塩水に透析したりするともとのコラーゲン繊維と同じ 640 Å の周期構造のある繊維を再生する。<sup>(9)</sup> さらに Fig. 7 に示したように条件によって各種の分子配列した繊維が得られる。しかし生体内に存在する繊維は 640 Å の周期のものだけである。このような分子配列をとる情報はバンド領域にあると考えられるがまだ明らかでない。上記のごとく条件をきびしく限定すればゼラチンから天然と同じ状態のコラーゲン繊維を作り出すことは可能である。しかし量的にはきわめて少なく応用価値は低いと言わねばならない。

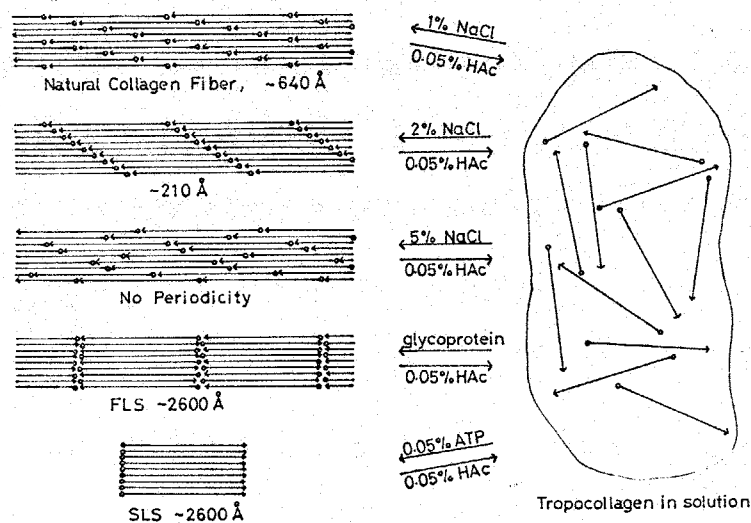


Fig. 7 Schematic representation of the packing arrangement of tropocollagen macromolecules in the several types of fibrils <sup>(9)</sup>.

以上コラーゲンの構造の概略とそれらの間の相互関係についてのべた。本論文ではコラーゲンの固体がとりあつかわれる。現在固体物性が研究されているものは、tropocollagen の規則正しく配列した tendon, tropocollagen がランダムに分散した酵素可溶化コラー

ゲンより作製した固体，コラーゲンが変性し鎖がランダムな構造をとるゼラチンについてである。本研究においては後の二者についてとりあつかう。

## 1-2 材料としての応用用途

従来コラーゲンは変性した形でゼラチンとして食品や写真用材料に使用される以外は，皮革を構成する一成分としての研究の対象にすぎず，tropocollagen を材料として応用されることはなかった。それは従来の方法では数%しか組織から抽出できなかったからである。しかし近年，たんぱく質加水分解酵素で皮革を適当に処理することによってゼラチンとしてではなく本質的にコラーゲンの分子形態を保ったまま抽出が可能になり，純度の高いものが多量に入手できるようになった。<sup>(7)</sup>この結果新しい材料としてコラーゲンの用途が急速に広がった。特にコラーゲンは動物の結合組織の一部であり，傷害の補修等に重要な役割を担っていることから，医用材料としての用途が最も有望だと<sup>(9)-(14)</sup>されている。たとえば手術用糸，人工皮膚，人工血管，人工腱，人工透析膜，人工角膜等が考えられる。これらのものにコラーゲンを使用した場合他の材料よりすぐれている点は，コラーゲンが人体を構成しているたんぱく質であるため抗原反応がきわめて少ないこと（特に酵素可溶化コラーゲンは telopeptide による架橋が切断されているため抗原反応は少ない），さらに人体の器官の代用として使用されるだけでなく，欠陥部分の回復を早めたり，より本来の姿に近い状態に回復させると考えられるからである。またソーセイジのケーシング用等の可食性の包装材としての使用も可能である。現在人工透析膜や人工角

膜，ソーセージケーシングはフィルムとして比較的簡単に作製され一部  
 実用化されている。しかし天然のコラーゲンは繊維として存在し，上  
 記のコラーゲンは繊維として再生され使用された方がよいと考えるこ  
 とが自然な発想であり，コラーゲン繊維の再生化という学問的意味か  
 らも興味<sup>(14)</sup>がもたれる。

### 1-3 従来の研究の方向及び成果

酸可溶性コラーゲンは適当な生理的条件下でもとの繊維を再生した  
 しかし量的にはわずかであり工業的には注目されなかった。しかし酵  
 素可溶化コラーゲンが多量に得られるようになったことから従来の繊  
 維を結糸する方法でコラーゲン繊維の再生が始められた。<sup>(15)(16)</sup>ところでコ  
 ラーゲンの水溶液は非常に高い粘性をもつこと，更糸性が少ないこと  
 30°C以上の高温にすると変性すること等の理由によってコラーゲン  
 繊維の再生は困難であった。しかし最近P.H. 3~4のコラーゲン水溶  
 液をP.H. 3~4の硫酸ソーダ等の凝固浴中に紡出することにより結糸  
 が可能になり，クロム錯塩処理物で天然のコラーゲン繊維の強度とほ  
 ぼ同程度のものが作製されるようになった。<sup>(13)(14)</sup>現在のところ外科手術用  
 縫合糸，人工皮膚，人工血管として動物実験が行なわれ可成り良い結  
 果を得ている。たとえば手術用糸は絹糸のように扱糸の必要がなく，  
 腸線のように強度は弱くない。また人工皮膚は不織布として製造さ  
 れ，人体実験に付されたところ異物としての有害な拒否反応や炎症反  
 応もなく創面がきわめて良好に治癒されることが報告されている。以  
 上の結果再生コラーゲン繊維の利用価値は高く早急に実用化が望まれ  
 るところである。

#### 1-4 本研究における目的および構成

コラーゲンはきわめて親水性に豊む高分子であり、羊毛、絹、綿等の他の天然の高分子と比較してもその吸着量の多いことが知られてい(17)る。したがってコラーゲン固体が手術用の糸など種々の用途に利用されるにあたり常に水が大きな影響を及ぼすことは言うまでもない。しかしコラーゲン固体の物性と水についての体系的な研究は少ない。本研究においてはコラーゲン固体の力学的性質に及ぼす水の効果を求めるため研究方法の確立を試みた。さらに皮革に酵素処理を行ないコラーゲンを抽出しさらにそれを紡糸することはコラーゲンの高次構造の破壊を防ぐため非常に複雑な工程をへなければなら(13)(14)ない。したがってもしこのゼラチンからコラーゲン繊維が再生できれば経済的にもプロセス的にもきわめて有利であると言わねばならない。さらにこれはコイルからヘリックスへの転移という学問的にもきわめて興味のある問題である。したがってゼラチンよりコラーゲン繊維を作り実用化するための基礎的なデータを求める必要がある。

本論文は緒論および結論を含めて6章から構成されるがその概略を述べれば次のようになる。

第一章は緒論である。

第二章は、まず吸着等温曲線を求め水分量を明らかにする。さらに無定形、無配向であるゼラチンと比較検討する。また剛性率と水分率との関係を求め、水の効果について検討する。

第三章は、応力緩和の水分率依存性を求め、時間-水分率換算則の成立の可否を検討し、水が与える影響について論じる。さらにコラーゲンとゼラチンとの相違点や類似点を求める。またこの換算則が他の

物質に適用できるかどうかについても検討を加える。

第四章では、水分率を適当に調節するとゼラチンが8倍近くにも伸張されることを示し、この伸張によってゼラチンからコラーゲンに再生することを明らかにする。さらにこの物質のコラーゲンへの再生化の分率も定量化した。また熱処理を加え構造や物性に与える影響を求めた。

第五章では、この再生コラーゲンの物性におよぼす水の効果を明らかにし、コラーゲンやゼラチンと比較検討した。またこの物質に紫外線照射を行ない同様に水の効果を検討し、他の物質との比較を行なった。最後に新しい材料としての応用について著者の見解をのべる。

第六章は結論である。

## 第2章 等温吸着

### 2-1 緒言

コラーゲンは親水性に豊む高分子であり、その構造や物性は水によって大きな影響を受ける。たとえば広角や小角のX線回折においてピーク的位置が水分率の変化によって増減することが知られている。<sup>(18)</sup> また結合水を除去するとコラーゲン構造がこわれることも報告されている。<sup>(19)</sup> さらに相対湿度が0%附近では数%しか伸張されないが、水分率が増加すると数10%以上にも伸張される。<sup>(20)</sup> したがってこの材料をとりあつかうにあたり水によって及ぼされる影響について検討せねばならない。まずコラーゲン固体中の水の量を明らかにするため吸着等温曲線を求める。さらにコラーゲンに収着した水は結合水や自由水として種々の役割をはたしていると考えられるが、これらの水の役割を明確にするため求めた吸着等温曲線をラングミュア型の吸着の機構による水(C<sub>1</sub>)と溶解の機構による水(C<sub>2</sub>)とに分離する。さらに剛性率と水分率との関係を求めそれぞれの機構の水が如何なる役割をはたしているかを検討する。またコラーゲンは複雑な高次構造を有した物質であるがまったく構造をもたないゼラチンと比較検討し両者間に生じる違いについて論じる。

## 2-2 実験方法

### 試料の製法

#### a) コラーゲン

牛の皮を十分に洗滌し細分化した後25°Cでペプシン等の加水分解酵素で処理する。得られた可溶性コラーゲンを中性で繊維再生をくり返すことによって精製し、最後にPHを3~4に調整し溶液とする。この溶液をPMMA plate上で室温にて風乾しさらに中性なRunning water中で洗滌し乾燥し作製<sup>(21)</sup>する。本実験にて使用したフィルムは日本皮革研究所より提供されたものである。このフィルム中でコラーゲン分子はランダムに面内配向している。そのX線写真をFig. 8に示す(a)はフィルム面に垂直にX線を入射させたもの、(b)はフィルム面に平行にX線を入射させたものである。尚試料の厚みは約0.14 mm、密度は1.34 g/cm<sup>3</sup>であった。

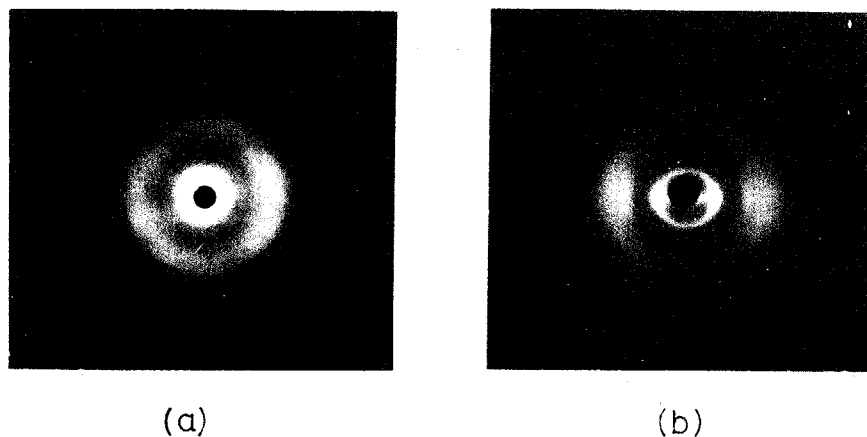
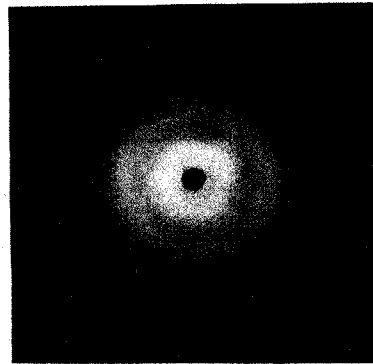


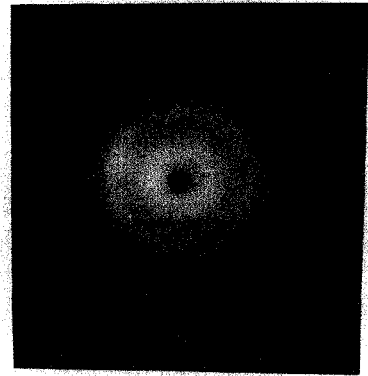
Fig. 8 X-Ray diffraction photographs of collagen film with the incident beam (a) perpendicular and (b) parallel to the plane of film. The equator in (b) corresponds to the thickness direction.

## (b) セラチン

市販のセラチン Lot. No. 6769-1y の5%水溶液をPMMA plate上にCastし約15時間55°Cで乾燥させた。一般にこのフィルムは hot dried <sup>(22)(23)</sup>gelatin と呼ばれ Fig. 9 に示されるように無定形、無配向である。また試料の厚さは約0.24 mm、密度は1.35 g/cm<sup>3</sup>であった。



(a)



(b)

Fig. 9 X-Ray diffraction photographs of gelatin film taken with the incident beam (a) perpendicular and (b) parallel to the plane of film.

## 実験方法

## (a) 吸着等温曲線

石英バネバランスに約0.30gの試料をのせた石英皿をつけ、水の吸着によって変化するバランスの伸びをカセットメーターで読んだ。温度を30°Cに調節するためwater bath中の透明な箱にバネバランスをセットした。まず乾燥状態として、48時間シリカゲルと五酸化リン中を通過させた空気を送り試料を乾燥させこれを相対湿度0%とした。<sup>(24)</sup>次に相対蒸気圧のコントロールをするため塩の飽和水溶液を導入

し、吸着平衡にたつするまで4~5日間放置した。

(b) 剛性率

次に動的剛性率の測定には自由減衰振動法を使用した。Fig. 10に実験装置を示す。実験方法はまずクランプBにとりつけられた試料CにロッドAを通じて適当なねじりが与えられる。一方試料の下端のクランプにはtorsion disk Fがとりつけられstop Gによって止められている。本実験に使用したdiskの慣性モーメントは $826 \text{ g-cm}^2$ である。実験を始めるにあたり、stop Gを下方に下げdiskに自由回転を与える。振幅と周期は下端のクランプにとりつけた鏡に映る物差し目盛の左右の回帰点をカセットメーターで読み求められる。この場合も試料はシリカゲル-五酸化リンを通した乾燥空気中で乾燥され、パン

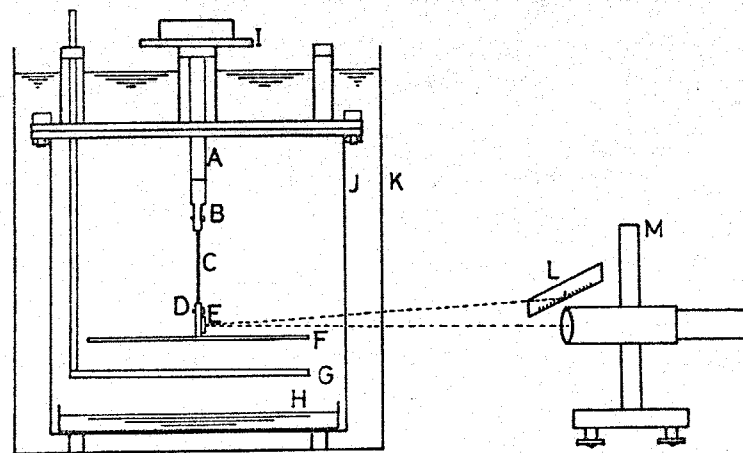


Fig.10 Schematic diagram of the torsion pendulum apparatus for measuring dynamic shear modulus: (A) rod, (B) upper clamp, (C) specimen, (D) lower clamp, (E) mirror, (F) aluminum disk, (G) stop, (H) pan, (I) protractor, (J) transparent sorption box, (K) water bath, (L) scale, (M) cathetometer.

Hに入れられた飽和塩で湿度が調節された。測定は吸着平衡に達してから行なわれ測定は $30^{\circ}\text{C}$ で行なわれた。この実験中試料は伸張されずまた試料には $5^{\circ}$ 以下のねじりが与えられた。試料の長さは5cm幅1mmであった。

## 2-3 結果と考察

Fig. 11にコラーゲンおよびゼラチンの吸着等温曲線を示す。この曲線はたんぱく質や高分子と同じくシグモイド型を示す。したがって収

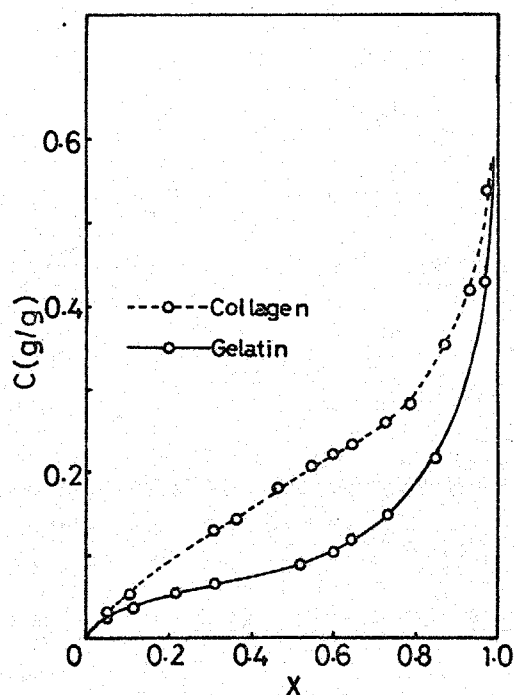


Fig. 11 Sorption isotherm of collagen and gelatin.

着された水は二つのことなつた機構に従うと考えられ次式が仮定できる。

$$C = C_1 + C_2 \quad (1)$$

ここでCは収着された水の総量,  $C_1$ はラングミュア型の吸着の機構に容与する水の量,  $C_2$ は溶解の機構に容与する水の量である。また $C_1$ は低相対蒸気圧側で評価され,  $C_2$ はCから $C_1$ を減じることによって得られる。Fig. 12 (a) (b) にそれぞれコラーゲンとゼラチンについて

(25)(26)

Takizawa によって使用された方法に従い分離したこれらの組成を示してある。ところで  $C_2$  は次に示される Flory - Huggins<sup>(27)</sup> の理論にも

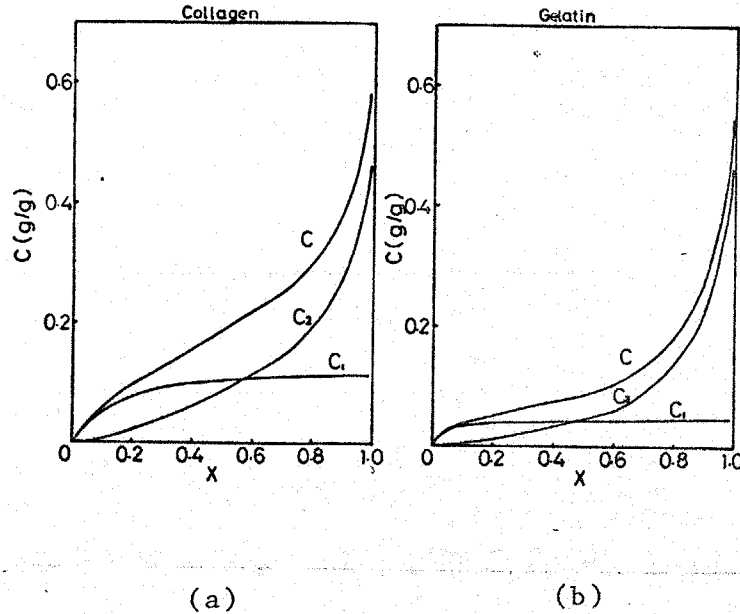


Fig.12 Separation of sorption isotherm of (a) collagen and (b) gelatin into adsorption part  $C_1$  and dissolution part  $C_2$ .

とずいて整理される。

$$\ln X = \ln v_1 + (1 - v_1) + \chi_1 (1 - v_1)^2 \quad (2)$$

ここで  $v_1$  は水の体積分率,  $X$  は相対蒸気圧,  $\chi_1$  は高分子 - 希釈剤系の相互作用係数であり, Eq. (2) を使用して Fig. 12 の  $C_2$  カーブから  $\chi_1$  の値が計算され Fig. 13 に相対蒸気圧に対してプロットされている。ところで収着された水の  $C_2$  成分が理想的にコラーゲンやゼラチンと混合するなら,  $\chi_1$  は相対蒸気圧に依存しない。しかしこの場合  $\chi_1$  は  $X$  に依存し変化する。 $\chi_1$  の相対蒸気圧依存性は Takizawa<sup>(25)(26)</sup> によって論じられた機構に依っていると考えられる。

次にコラーゲンとゼラチンを比較しながら検討を加える。まず収着された水の量はゼラチンよりコラーゲンの方が多い, しかし一般に相

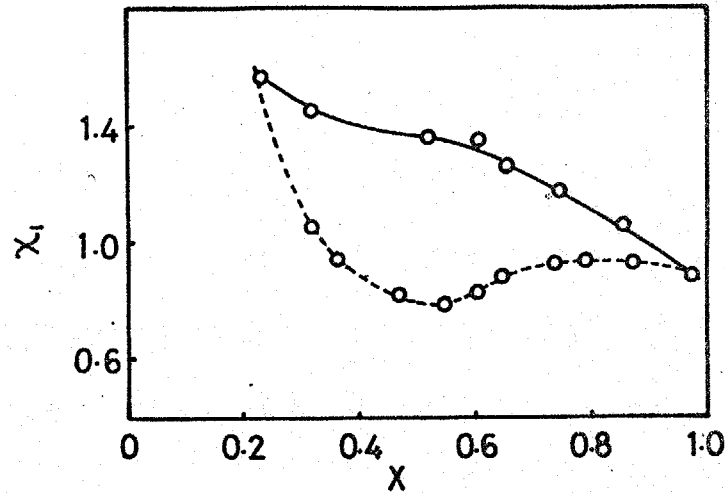


Fig.13 Interaction parameter  $\chi_1$  of collagen (dotted line) and gelatin (solid line).

対湿度 100% 近くではゼラチンの方が多いとされているが本実験では相対湿度をコントロールする適当な塩がなく測定できなかった。また C<sub>1</sub> 成分もコラーゲンの方が多。これらの結果は水の吸着に寄与する Site の数がゼラチンよりコラーゲンの方が多いことを意味している<sup>(28)</sup>。すなわちコラーゲンにおいては、back bone chains が triple helix をとることによって -C=O や -N-H に水と結合しやすい配列をとるからであると考えられる<sup>(29)-(32)</sup>。しかしゼラチンは比較的高い温度 (55°C) で作製されているから、triple helical structure はなく親水性グループが水と結合しやすい配列をとらないため水の収着量が少ないといえる。さらに収着量のちがいは一部 packing density の違いにも起因すると考えられる。packing density のちがいはコラーゲンとゼラチンの比重がそれぞれ 1.34 と 1.35 であることから明らかである<sup>(33)</sup>。これらの構造の違いは Fig. 13 の相互作用パラメーターにも現われている。まずコラーゲンの  $\chi_1$  はゼラチンよりも小さく、 $X = 0.5$  で

最小値 0.8 をとり相対蒸気圧の増加で再び  $\nu_1$  が増加する。これは水の収着がコラーゲンフィルム中で形成されたネットワーク構造によってさまたげられるからであろう。またゼラチンは相対蒸気圧の増加とともに減少する。これはゼラチンに結晶構造がなく膨潤の効果があらわれないためと考えられる。低相対蒸気圧側ではゼラチンの方が高い値を示すが  $X=0.95$  付近では両者ともほぼ同一の値をとる。またこれらの値は Flory が膨潤の実験から求めた  $80^\circ\text{C}$  における値  $\nu_1=0.62$  より大きい<sup>(34)</sup>。

次に剛性率について考察する。動的剛性率  $G'$ , 損失剛性率  $G''$ , loss tangent  $\tan\delta$  を相対蒸気圧の関数として決定した。これらの値は実験から求めた対数減衰率  $\ln\Delta$ , 振動周期  $T$  から eqs.(3) - (5)<sup>(35)</sup> を使用して計算される。

$$G' = I_2 (2\pi/T)^2 \left[ 1 + (\ln\Delta/\pi)^2 \right] \quad (3)$$

$$G'' = 2I_2 (2\pi/T)^2 \ln\Delta/\pi \quad (4)$$

$$\tan\delta = G''/G' \approx 2 \ln\Delta/\pi \quad (5)$$

ここで  $I$  は慣性モーメント,  $\rho$  は形状因子 ( $5.5 \times 10^7$ )<sup>(36)</sup>

Fig. 14 にコラーゲンおよびゼラチンの  $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan\delta$  が総水分量  $C$  の関数として示されている。まずコラーゲンにおいて動的剛性率  $G'$  は  $C=0.05$  から  $0.1$  の間で急に減少し,  $0.25$  まではほぼ直線的に減少し最終的には傾きはゆるやかになる。最初の  $G'$  が急激に減少する領域は Fig. 12 で見られる溶解の機構の水  $C_2$  が検出できる領域と対応している。したがって収着された水のうち  $C_2$  成分のみが自由体積の

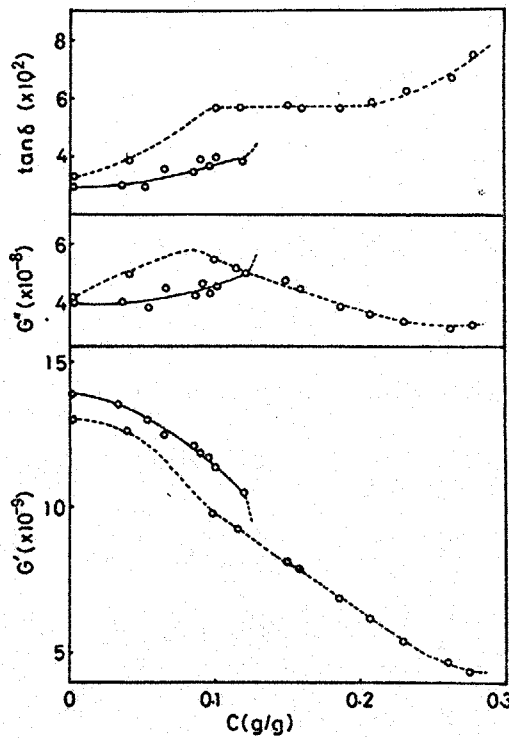


Fig.14 Dynamic shear modulus  $G'$ , loss modulus  $G''$  and  $\tan \delta$  of collagen (dotted line) and gelatin (solid line) as a function of water content.

増加に寄与し高分子を可塑化しているのではないかと推察される。これについては次の応力緩和の章でくわしく論じたい。 $G''$ と $\tan \delta$ に関しては水分率が0.05と0.1の間で分散が見られ、さらに $\tan \delta$ において $C=0.2$ 以上の部分に他の分散が見られる。またゼラチンにおいて $G'$ はコラーゲンと同様の曲線を示し $C=0.035$ 附近に溶解の機構の水 $C_2$ の寄与があると考えられる。 $G''$ はコラーゲンで見られるような $C=0.1$ 附近の分散はなく単調に増加する。 $\tan \delta$ もコラーゲンとことなり $G''$ と同じ傾向を示す。さらにこれらの値は $C=0$ でほとんど同一であった。ところでコラーゲンは $C=0.30$ ですら伸張されなかったがゼラチンは $C=0.14$ で torsion disk の重さ ( $10^7 \text{ dyn/cm}^2$ ) で100%以上にも伸張された。

## 2-4 結 言

以上の結果次のような結論が導かれる。まず水の収着量はコラーゲンの方がゼラチンより多い。これはゼラチンの packing density がコラーゲンより密であること、コラーゲンは triple helical 構造をとるため  $-C=O$  ,  $-N-H$  が比較的水を収着しやすい配置をとっていることが考えられる。これは  $C_1$  においてコラーゲンの方が多いためからも同意できる。また剛性率は、溶解の機構に寄与する水  $C_2$  が影響を及ぼしはじめると急激に減少する。またゼラチンにおいても同様の傾向が見られる。ところでコラーゲンは  $C=0.30$  でも伸張されなかったが、ゼラチンは  $C=0.14$  で  $10^7$  dym/cm<sup>2</sup> 程度の力で 100% 以上にも伸張された。

## 第3章 応力緩和

### 水分率-時間換算則の検討

#### 3-1 緒言

前章において、収着等温曲線がラングミュア型の収着と溶解という二つのことになった機構から成立していることを確認した。さらにこれら二種類の水のうち溶解の機構に寄与する水 $C_2$ が剛性率の変化に影響を与えることを明らかにした。さらに水と力学的性質の間の関係をくわしく論じるために本章においてコラーゲン-水系の力学緩和機構に時間-水分率換算則が適用できるかどうかを試みる。もし可能であれば水を収着したコラーゲンの緩和現象や力学的性質の説明が便利になる。またゼラチンや羊毛に対して同様の試みを行ない上記の換算則に一般性があるかどうかを明らかにし、最後にコラーゲンとゼラチンとの違いについて論じる。

### 3-2 実験方法

本実験に使用された装置を Fig. 15 に示す。試料の上方のクランプはピアノ線をとうして strain gauge に連結されている。下方のクランプは Sorption box に固定されている。これらの容器は 30°C 中の水槽中に入れられる。また相対湿度のコントロールは前章と同一の方法に従った。試料に与えられたひずみは micro gauge によって測定される。また実験にあたり応力-ひずみ間の linear な関係を求めたところ、コラーゲン・ゼラチン共約 2% のひずみまで保たれることがたしかめられた。尚実験に使用した試料の幅は 1mm, 長さ 6cm で約 1.8% のひずみを加えられた。

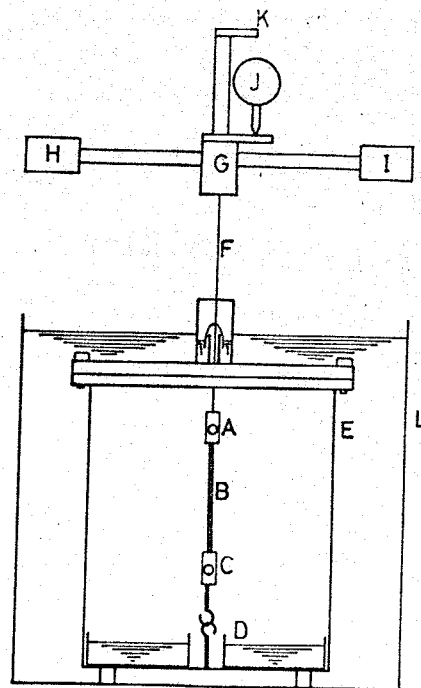


Fig.15 Schematic diagram of the apparatus for measuring relaxation of tensile stress: (A) upper clamp, (B) specimen (C) lower clamp, (D) pan, (E) sorption box, (F) piano wire, (G) strain gauge, (H) battery (6V), (I) recorder, (J) dial gauge, (K) driving screw to raise strain gauge, (L) water bath.

### 3-3 結果と考察

Fig. 16 にコラーゲンの  $30^{\circ}\text{C}$  における異なった相対湿度に対する応力緩和曲線を示す。この曲線は比較的シンプルで単調である。この曲線から対数時間軸にそってシフトすると合成曲線の書けることが明らかになった。相対湿度  $80\%$  以下で得られた曲線においてこの試みは満足せられ、 $36.4\%$  に換算した合成曲線を Fig. 17 に示す。以上の結果、水分率-時間換算則がコラーゲンフィルムの応力緩和に適用されることが明らかになった。

高分子-希釈剤系の緩和挙動について時間-希釈剤濃度の換算則の可能性は最初 Ferry<sup>(37)</sup> によって指摘された。Fujita, Kishimoto<sup>(38)</sup> らは

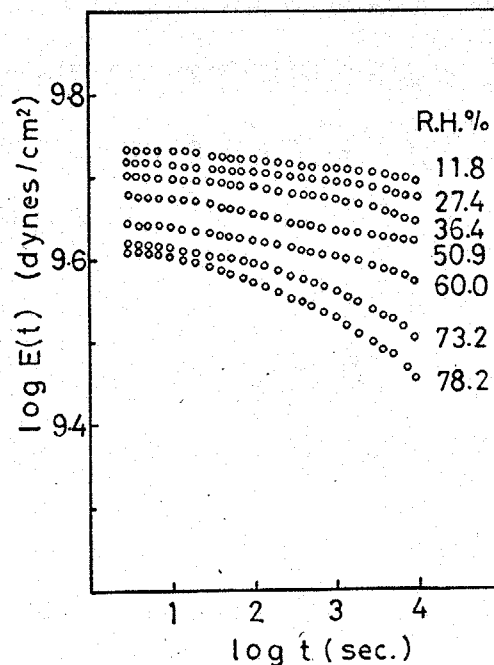


Fig.16 Stress-relaxation curves of collagen at various relative humidities at  $30^{\circ}\text{C}$ .

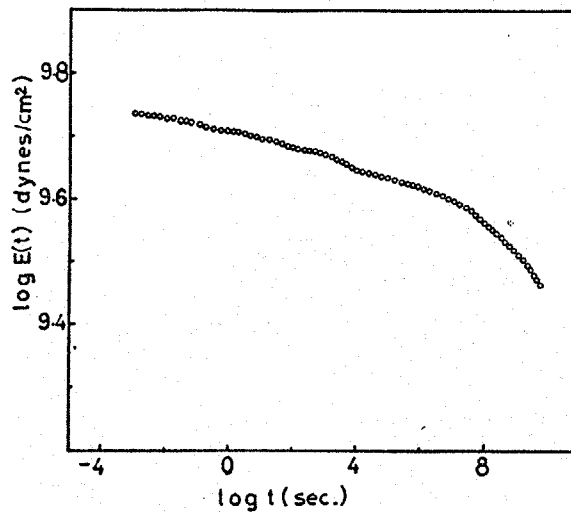


Fig.17 Stress-relaxation master curve of collagen.

この換算則は無定形高分子-希釈剤系に関して可能であるとし、さらに<sup>(39)</sup>に親水性の結晶高分子-水系に関して換算則の成立することがOmogi<sup>(40)</sup> Nagamatsuらによって明らかにされた。合成高分子は結晶、非晶から成立していると考えると、収着は非晶部分のみでおこると考えられる。しかしながらコラーゲンは合成高分子とことなり分子レベルや高次構造において複雑な構造をとっている<sup>(1)</sup>。したがって水は種々の領域に収着されprotofibrilのパッキングや配向を変える<sup>(18)</sup>。力学的性質はいろいろな段階の複雑な構造からの寄与によっていると考えねばならない。それにもかかわらずこのような換算則が成立することは興味を持たれる。

さらにこの換算則が他の天然のポリペプチドに対して成立するかどうかを試みた。Meredith<sup>(41)</sup>は典型的なケラチン繊維である羊毛繊維の応力緩和の効果を求めその結果をFig. 18 b に示す。一見すると少なくとも緩和の初期の段階では合成曲線を形成することは不可能であ

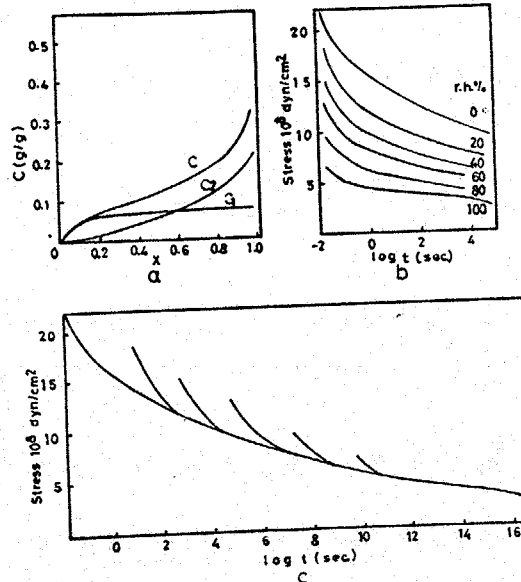


Fig.18 Plots of (a) sorption isotherm of water in wool and separation into adsorption ( $C_1$ ) and dissolution ( $C_2$ ) contributions by Urquhart; (b) stress relaxation curves of wool at various relative humidities by Meredith; (c) stress relaxation master curve of wool from (b).

ると考えられる。しかしながら Meredithによるとこの曲線は“fast と slow”なる二種の異なる緩和機構から構成されている。したがって緩和の早い部分（1秒以下）を除去し、1秒を越える緩和の遅い部分のみを考えると、これらのカーブは Fig. 18 C に示されるごとく対数時間軸にそってシフトすると合成曲線が書ける。このように緩和の機構を“fast と slow”という二つに分離することが正当かどうか明らかでない。しかし合成曲線が書けることは羊毛繊維の応力緩和を説明する上で便利であり効果的であると言わねばならない。

緩和時間は糸の粘性に linear に依存するので、応力緩和挙動の水の効果は、水の収着による自由体積の増加と関係づけることができる。

これらの考えから Fujita and Kishimoto<sup>(38)</sup> は応力緩和挙動への水の効果は、水の収着にもとづく自由体積の増加に関係すると考え、高分子希釈剤系の自由体積の分率は eq. (6) で与えられるという仮定のもとにシフトファクターと希釈剤の濃度との関係を導いた。

$$f(T, C) = f(T, 0) + \beta C \quad (6)$$

$C$  は収着された希釈剤の濃度、 $\beta$  は自由体積の増加に対する希釈剤の寄与を表わすパラメーター、 $f(T, C)$ 、 $f(T, 0)$  はそれぞれ濃度が  $C$ 、 $C=0$  であるとき温度  $T$  における自由体積分率である。従って濃度とシフトファクターの関係を示す Fujita - Kishimoto の最終的な式は eq. (7) になる。

$$-\beta C = \frac{2.303 f(T, 0)^2 \log a_c}{1 + 2.303 f(T, 0) \log a_c} \quad (7)$$

これらの考えにもとずいて彼らはいくつかの無定形高分子の応力緩和について希釈剤の効果を論じ、この関係が適用できることを発見した。Fig. 19 に Fig. 17 の合成曲線を得るときに求められたシフトファクターを水分率に対してプロットした。このデータの解析に eq. (7) を適用するにあたりまず  $f(T, 0)$  の値を決めねばならない。これは高分子の性質や水の濃度に無関係に一定である。ガラス転移温度  $T_g$  に関する等自由体積理論によると、 $T_g$  以下では  $f(T, 0) = 0.025$  であることが知られている。Flory and Garrett<sup>(42)</sup> によると乾燥コラーゲンに関して glasslike transition は  $95^\circ$  附近であることを

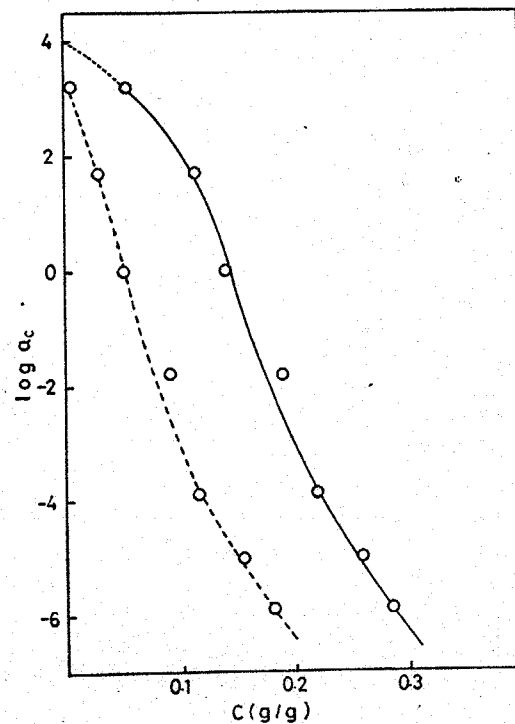


Fig.19 Concentration shift factor  $a_c$  of collagen as a function of total content  $C$  (solid line)<sup>c</sup> and dissolved water  $C_2$  (dotted line).

報告している。本実験はそれ以下の温度で行なわれており、もし  $T_g$  についての等自由体積理論がコラーゲンに対しても正当であり、glass-like transition が実際のがラス転移であるとするなら  $f(T, 0) = 0.025$  とおいてもさしつかえないであろう。Fig. 20 はコラーゲンについて計算された eq.(7) の右式の値を総水分量  $C$  に対してプロットしたものである。この図において  $C = 0.1 \sim 0.3$  の間で eq.(7) が満足されるが  $C = 0.1$  以下では適用されない。ところで Fig. 12 に示されるごとく  $C$  は二種類の組成から成立している。一方自由体積の増加は水による高分子の表面への吸着より、高分子との混合にもとずくと考

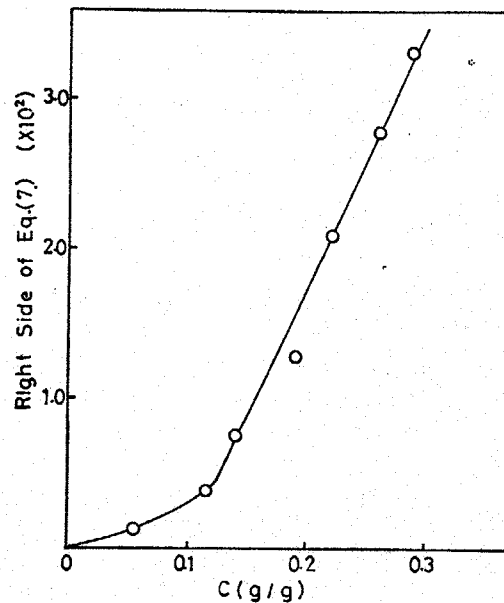


Fig.20 Test of eq.(7) in terms of total water in collagen.

えられる。したがって eq.(7) の  $C$  を溶解の機構に寄与する水  $C_2$  におきかえた方が合理的である。なぜなら多くの天然および合成高分子<sup>(43)(44)</sup>において水の収着量の少ない領域ではむしろ比容は減少しており、さらに前章によると動的剛性率は  $C_2$  の寄与が始まると急激に減少するという実験事実による。よって eq.(7) を  $C_2$  に対して Fig. 21 に再びプロットする。全領域にわたって直線になり、 $C=0.1$  以下に見られた曲線部分は消失する。さらにこの図からパラメータ  $\beta$  が求まり、 $0.16$  なる値をとる。したがって eq.(7) の適用にあたり  $C_2$  を使用した方が妥当であり、また換算則は高分子と混合される水のみについて考えるならば自由体積論によって比較的簡単に説明される。さらにこれ<sup>(45)</sup>が羊毛について適用できるかどうか試みた。Fig. 22 に Trauhart

Fig.21 Test of eq.(7)  
in terms of dissolved water  
( $C_2$ ) in collagen.

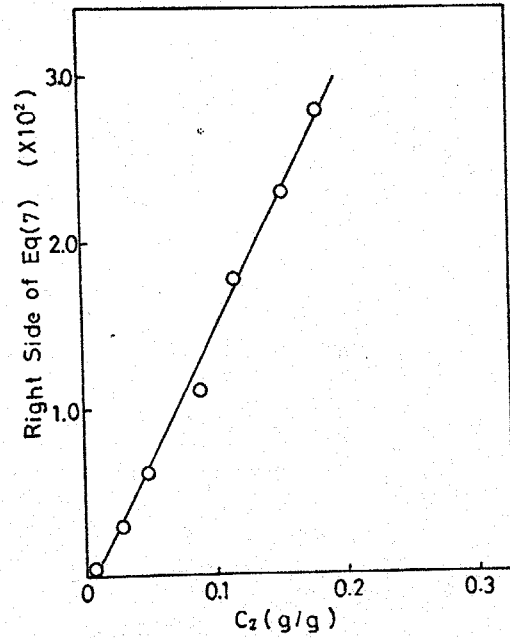
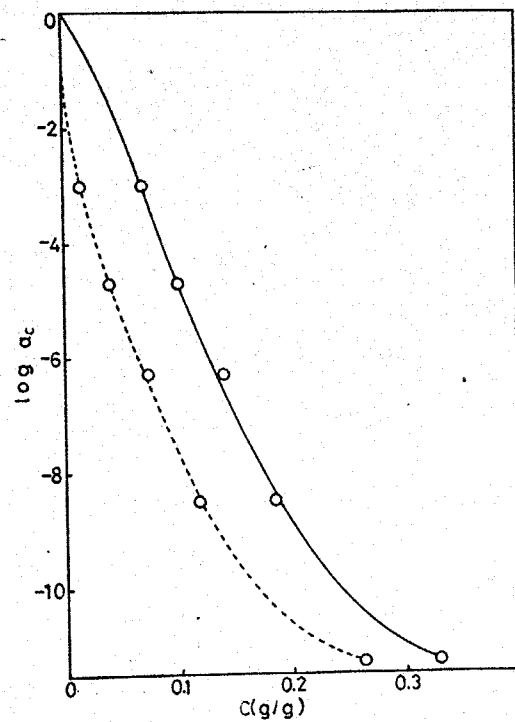


Fig.22 Concentration  
shift factor  $a_c$  of wool  
as a function of water  
content  $C$  (solid line) and  
dissolved water content  $C_2$   
(dotted line).



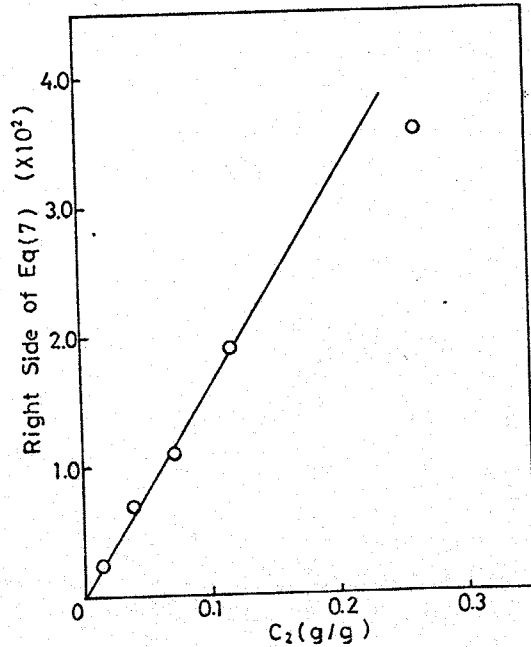


Fig. 23 Test of eq. (7) for dissolved water  $C_2$  in wool.

の sorption data (Fig 18a) にもとづいてシフトファクターを水分率に対してプロットする。さらに Fig. 18c を eq. (7) に適用し  $C_2$  に対して Fig. 23 にプロットした。高濃度側をのぞいてほぼ全域にわたって期待されたとうり直線関係が得られた。このとき  $\beta$  は 0.16 でありコラーゲンと同等の値を有することは興味をもたれる。

以上のごとく天然の高分子-水系の応力緩和に関して上記の考え方に対して可成り一般性のあることが明らかになった。これらの考え方をもとにコラーゲンを変性した物質であるゼラチンに対しても同様の試みを行ない上記の考え方が適用できるかどうか論じコラーゲンとゼラチンのちがいについて考察した。まず Fig. 24 にゼラチンの応力緩和

Fig.24 Stress relaxation curves of gelatin at various relative humidities at 30°C.

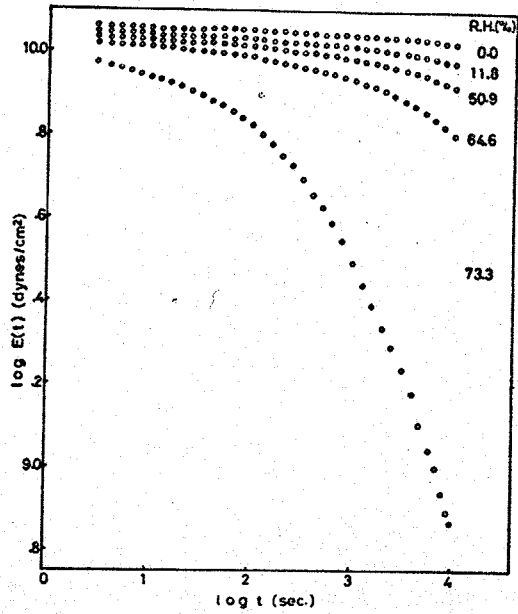
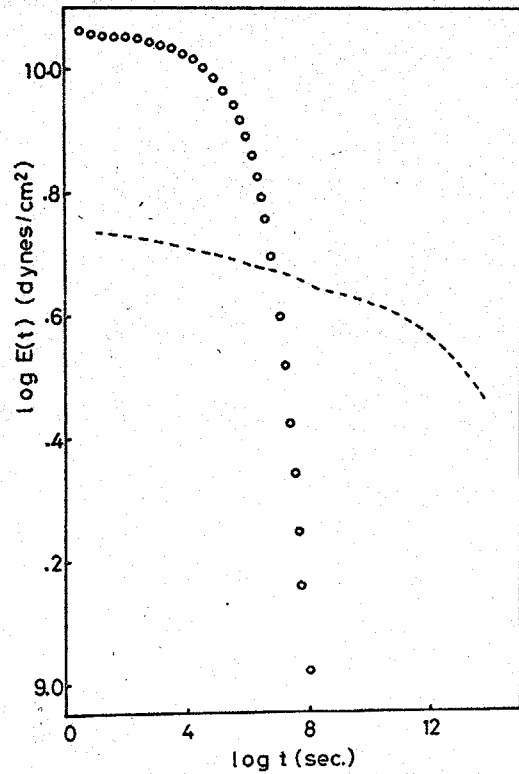


Fig.25 Stress relaxation master curves of gelatin (circle) and collagen (dotted line).



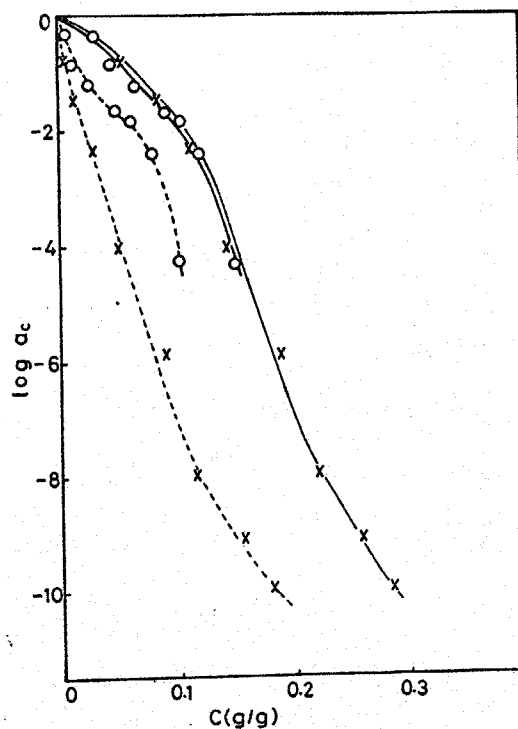


Fig. 26 Concentration shift factors  $a_c$  of gelatin (circle) and collagen (cross) as function of total water content  $C$  (solid line) and dissolved water content  $C_2$  (dotted line).

曲線を示す。この曲線もコラーゲンと同様対数時間軸にそってシフトすると合成曲線が書け、換算則の成立が明らかになった。合成曲線をコラーゲンと比較してFig. 25に示す。さらにFig. 26にシフトファクターと水分率との関係を示す。実線は総水分量 $C$ に対して、点線は溶解の機構に寄与する水 $C_2$ に対してプロットしてある。これにEq. (7)を適用して総水量に対してプロットしたものがFig. 27である。コラーゲンの場合と同様の形であるが三つの領域にわけることができる。この曲線を $C_2$ に対してFig. 28に再びプロットする。コラーゲンと同様に最初の曲線部分は消失し $C_2$ の寄与によって緩和が生じる

Fig.27 Test of eq.(7) on the system of gelatin (solid line) - and collagen (dotted line) - total water C, respectively.

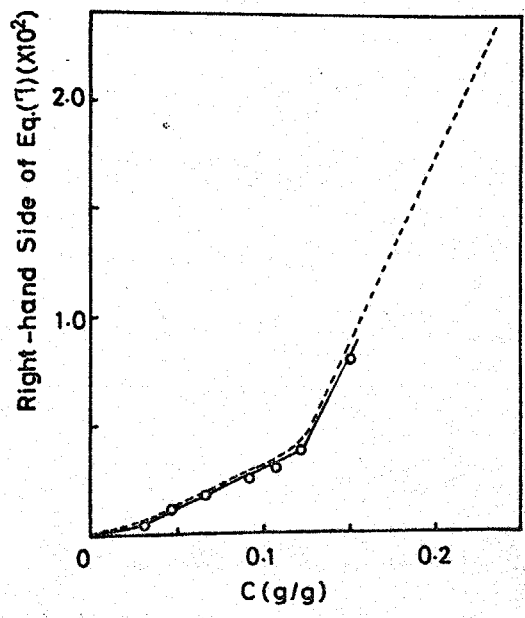
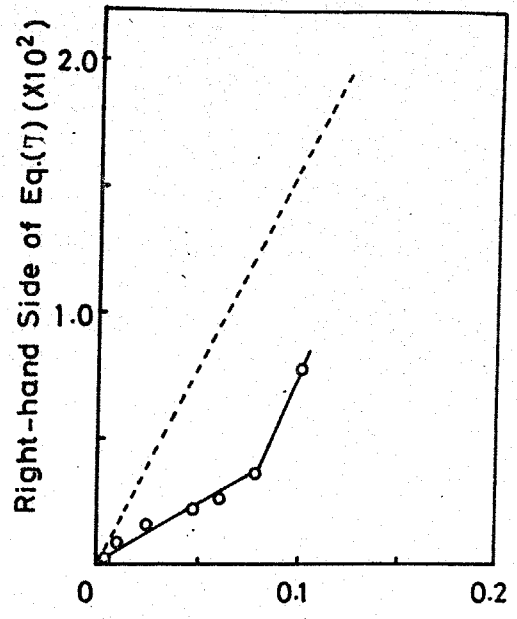


Fig.28 Test of eq.(7) on the system of gelatin (solid line) - and collagen (dotted line) - dissolved water C<sub>2</sub>, respectively.



ことを示す。しかしながら  $C_2=0.1$  に対応する点はいちじるしくはずれている。このことはゼラチンフィルムの微細構造がこの水分率(相対湿度がおよそ 70%) のところで不連続的に影響を受けると言える。相対湿度 65% と 70% の間で物理化学的な性質が変わるという種々の報告がある。まず Jopling<sup>(46)</sup> はゼラチンフィルムを高湿度に保っておくと膨潤の Capacity が低下するとし、Bradbury and Martin<sup>(47)(48)</sup> は 65% R.H. における伸張率よりも 75% における方が 10 倍にも増加することを述べている。Blak and Meerkamper<sup>(49)</sup> は partially coiled intramolecular hydrogenbonded  $\alpha$ -like structure が extended  $\beta$  structure に変換するとしている。彼らは 75% R.H. 以上の湿度で結晶化や水を介在したゼラチン分子間の架橋が生じると考えており、このことは Blout and Lenormant<sup>(50)</sup> や Elliott<sup>(51)</sup> による poly-L-lysine hydrochloride は湿度の変化で  $\alpha$ - $\beta$  転移を起すという見解によっても支持される。また前章の剛性率の測定時にもこの水分率以上では試料の伸張により測定は不可能であった。

これらの現象について我々は Eq. (7) をもとに説明できる。すなわち  $C_2=0.10$  における  $\beta$  の不連続な増加によって示されるごとく自由体積分率が急に増大し鎖の mobility を増すためである。しかしコラーゲンではこのような変化はその network 構造のために観測されなかった。Fig. 28 から求められる  $\beta$  の値は 0.05 でありコラーゲンの 0.16 より小さい。すなわちゼラチンの緩和における水の効果は低湿度側ではコラーゲンより小さいといえる。これは吸着等温曲線のところで論じたゼラチンフィルムとコラーゲンフィルムとの構造の違いに依存している。しかし  $C_2=0.08$  と 0.1 の間では  $\beta=0.16$  でありコラーゲン

やウールとほぼ同様の値を示した。

### 3-4 結 言

以上の結果から次のような結論が導かれる。

時間-水分率換算則がコラーゲンのような複雑な物質の応力緩和にも適用できる。さらにシフトファクターと水分率との間に自由体積の理論より導かれた Fujita-Kishimoto の式が適用でき、さらに水分率を収着した全水分量  $C$  より溶解の機構に寄与する水  $C_2$  にとつた方がより合理的にこの式が成立することにより、緩和の機構には  $C_2$  が寄与していると考えられる。また同様のとりあつかいがウールやゼラチンに対してなされこの理論の一般性が明らかにされた。またゼラチンは相対湿度70%附近でその物理化学的性質が急激に変化することが報告されているがこれも上記のとりあつかいの中で  $\beta$  が  $C_2=0.10$  のところで0.05から0.16に変化することによりゼラチンフィルムに対する水の自由体積の寄与が急に増大するためであると考えられる。

## 第4章 ゼラチンの伸張による コラーゲンの再生

### 4-1 緒言

ゼラチンフィルムは乾燥状態で弾性率 ( $10^{10}$  dyn/cm<sup>2</sup>) は高く、伸張により数パーセントしか変形しないが、相対湿度75%附近で弾性率は急激に低下し ( $10^7$  dyn/cm<sup>2</sup>)、特に hot gelatin では数百パーセントにも伸張<sup>(47)(48)</sup>される。前章において応力緩和の測定から相対蒸気圧75% (水分率  $C = 0.12$  g/g) 附近で Fujita-Kishimoto の式における  $\beta$  の値が急激に増加しゼラチンの自由体積に対して水の自由体積の寄与が急激に増大することを明らかにした。この結果ゼラチンは伸張により非晶-結晶転移をおこしコラーゲン化<sup>(52)</sup>すると考えられる。このことはゼラチンから直接コラーゲンの糸を作れることを意味しており、もし可能ならば酵素可溶化コラーゲンより紡糸した繊維より経済的にもプロセス的にも有利であると言わねばならない。したがってこの伸張した物質の構造や物性を知ることは興味がある。本章において再生フィルムのコラーゲン化の割合や構造について DSC による熱測定や広角や小角の X 線の回折によって評価する。

## 4-2 実験方法

### 試料

ゼラチンフィルムは前章と同じく hot dried gelatin を使用した。

### フィルムの伸張

相対蒸気圧が70%以上で試料は伸張されるが、試料を一定の相対蒸気圧下に保つためには装置の構造やとりあつかいを複雑にし、試料が収着平衡に達するために多くの時間を必要とする。本実験ではとりあつかいをできるだけ簡単にするために、水-エタノール混合溶液中で膨潤させ伸張した。30°Cにおいて水-エタノールの重量混合比2:3(水の活動度0.8)の時最も能率よく試料の伸張ができる。Fig. 29に上記の伸張に使用した装置を示す。さらにFig. 30にこの条件下で伸張した時の応力-ひずみ曲線を示す。尚ここで伸張倍率は乾燥ゼラチンを基準にとった。また伸張後試料は伸張を保ったまま30°Cで風乾した。6倍以上の伸張を受けた試料は風乾中切断し得ることはできなかった。さらに風乾試料とは別にアニーリングの効果を検討するために上記の混合溶液中で伸張したまま96時間放置した。処理後同様に30°Cにおいて風乾した。この処理によって伸張直後の風乾で得られる約7.5倍まで伸張した試料が得られた。

### 熱処理

上記のアニーリングを行なった試料について大気中、乾燥器において熱処理を行なった。処理温度は110°C, 130°C, 155°C, 170°Cで、それぞれの時間効果についても検討した。

Fig.29 Schematic diagram of the apparatus for stretching of gelatin: (A) motor, (B) gear box, (C) battery(6V), (D) strain gauge, (E) recorder, (F) air bath, (G) sorption box (H) driving screw to raise strain gauge, (I) piano wire, (J) upper clamp, (K) lower clamp, (L) specimen.

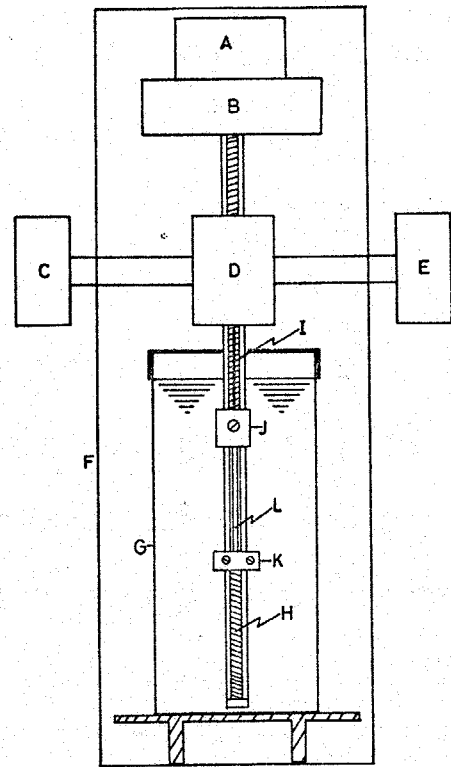
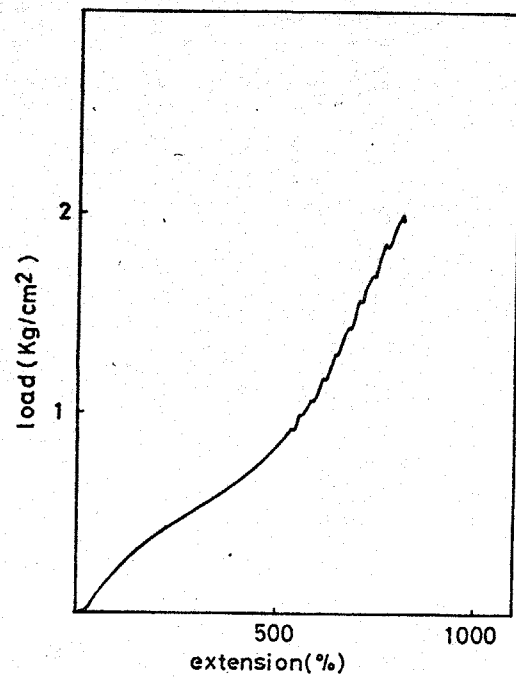


Fig.30 Stress-strain curves for films of gelatin diluted with water.



### 広角X線回折

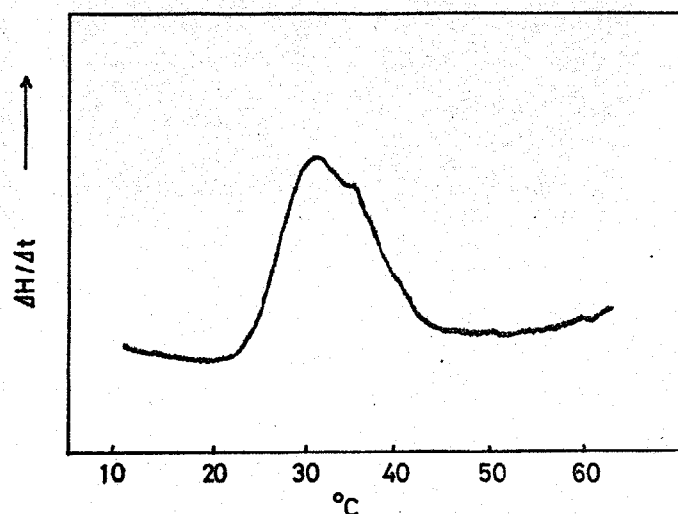
理学電機製の広角X線回折装置を使用した。実験方法は透過法により赤道上 $2\theta = 7.5^\circ$ 附近に出現するピークの回折強度をディフラクトメータを使用して測定し、空気散乱および試料の重量の補正を行なった後結晶による散乱部分を取り出した。さらにこの領域のピークの回折強度を繊維試料台を使用して方位角方向に、赤道を中心に $\pm 90^\circ$ にわたって求め、試料の重量の補正を行なった後無定形ゼラチンとの回折強度の差から結晶による散乱部分を取り出した。また $2\theta = 7.5^\circ$ および $2\theta = 31.5^\circ$ 附近のピーク位置はディフラクトメータを使用して測定した。

### DSC

理学電機製のDSCを使用した。実験は約30 $\mu$ lのアルミニウムのパンに試料を封入し水の外部への流出を防ぐため固くシールする。本実験では約7mgのゼラチンを10mgの水でゲル化し測定した。昇温は約 $0^\circ\text{C}$ 附近から開始され昇温速度は $5^\circ\text{C}/\text{min}$ であった。Fig.31

にゼラチンの融解ピークを示す。

Fig.31  
DSC thermogram for renatured collagen.



### 4-3 結果と考察

#### 4-3-1 転移後の構造と物性

Fig.32に伸張倍率 $\lambda=1, 3, 7.5$ におけるアニーリング試料の広角X線写真を示す。これを2章におけるコラーゲンフィルム面に平行にX線を入射させ求めた写真と比較すると、明らかに赤道 $2\theta=7.5^\circ$ 附近および、子午線上 $2\theta=31.5^\circ$ 附近のピーク7の出現は無定形ゼラチンの一部が伸張によりコラーゲン構造をとることは明らかである。さらに $2\theta=7.5^\circ$ 附近のピーク位置と伸張率との関係を示しコラーゲンと比較した図をFig.33に示す。これから伸張率の増大とともに散乱角は増大し、これから逆に分子間距離は $12.18\text{\AA}$ から $11.47\text{\AA}$ まで減少し分子鎖間のパッキングが伸張率依存性をもち、伸張率が大きいほどパッキングが向上していることを示す。伸張率7.5ではコラーゲンフィルムに非常に近くなる。またFig.34に $2\theta=31.5^\circ$ 附近の散乱角の

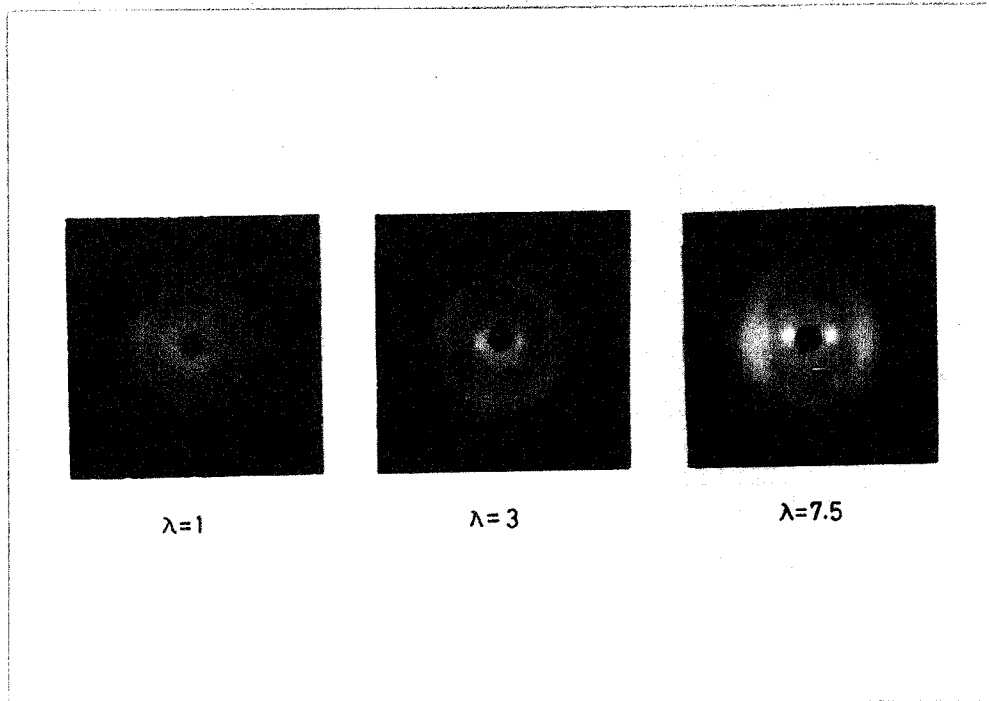


Fig.32 X-Ray diffraction photographs of renatured collagen which are unstretched (left), stretched by 3 fold (middle) and stretched by 7.5 fold (right); stretching direction is vertical.

伸張率依存性を示す。この回折は triple helix の残基の unit height とされているが伸張率の増加とともに減少し 7.5 倍の試料ではコラーゲンフィルムとほぼ一致する。7.5 倍で  $2\theta = 31.5^\circ$  附近のピーク位置がコラーゲンと一致し、 $2\theta = 7.5^\circ$  附近のピーク位置が一致しないのはゼラチン中の糖たんぱくやカルシウムイオン等の不純物がパッキングの向上をさまたげるためと考えられる。さらに赤道方向  $2\theta = 7.5^\circ$  附近のピークがするどいスポットを示しこのフィルムが伸張方向にかなり配向しているといえる。ところで天然のコラーゲン繊維の小角 X 線写真は子午線上に多くの回折ピークを示すことはすでに知られているが、<sup>(18)</sup>しかしこの伸張により再生したコラーゲンの小角 X 線写真にはそれが認められなかった。

次に熱的性質であるが、まず乾燥状態では約  $230^\circ\text{C}$  附近に融点がある。<sup>(53)</sup>これはコラーゲンと比較してほぼ同様である。また水溶液中でもコラーゲンと同様  $35^\circ\text{C}$  附近に融点が観測される。しかし融解熱はコラーゲンが約  $13\text{ cal/g}$  <sup>(54)</sup>であるにもかかわらず再生コラーゲンは 7.5 倍伸張のものですらその  $1/4$  程度の  $3\sim 4\text{ cal/g}$  である。またこの値は Cold dried gelatin (5% 水溶液を室温で風乾したもの) における値  $\Delta H = 5\sim 6\text{ cal/g}$  より低い。このように伸張ゼラチンの  $\Delta H$  が低いのは糖たんぱく等の不純物が混入していること、金賞がのびきっているため結晶核の形成が困難であり triple helix を作りにくく、コラーゲンへの再生が阻害されることによると考えられる。

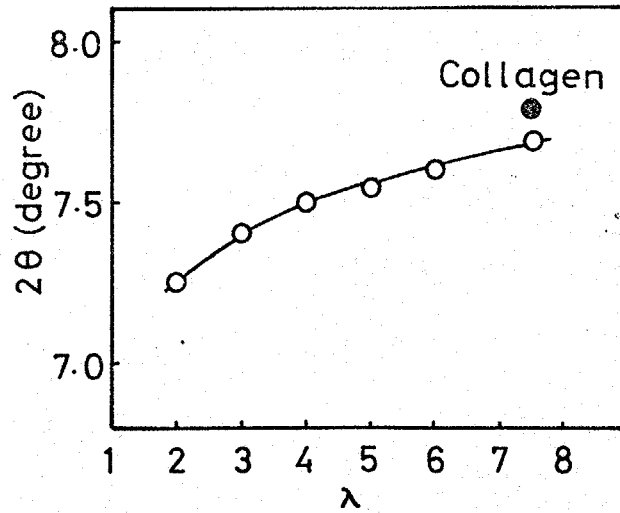


Fig.33 Change in diffraction angle near  $2\theta = 7.5^\circ$  on the equator of renatured collagen with drawing ratio.

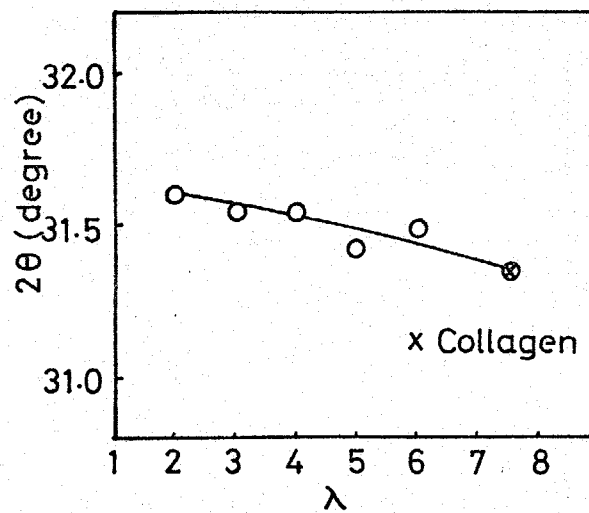


Fig.34 Change in diffraction angle near  $2\theta = 31.5^\circ$  on the meridian of renatured collagen with drawing ratio.

### 4-3-2 転移量の伸張率依存性

コラーゲンへの転移量を広角X線回折およびDSCによって定量化を試み、風乾およびアニーリング試料について比較し転移量の伸張率依存性をのべる。Fig. 35 に風乾試料の赤道 $2\theta = 7.5^\circ$  附近の回折ピークのプロファイルを示す。伸張率2~4の間で強度は増加するが4以上では一定値をとる。次にアニーリング試料赤道 $2\theta = 7.5^\circ$  附近の回折ピークのプロファイルをFig. 36に示す。伸張率2から7.5までほぼ一定の割合で増加する。なお比較のためコラーゲンフィルムのもれに対応するピークのプロファイルが示されている。コラーゲンも伸張

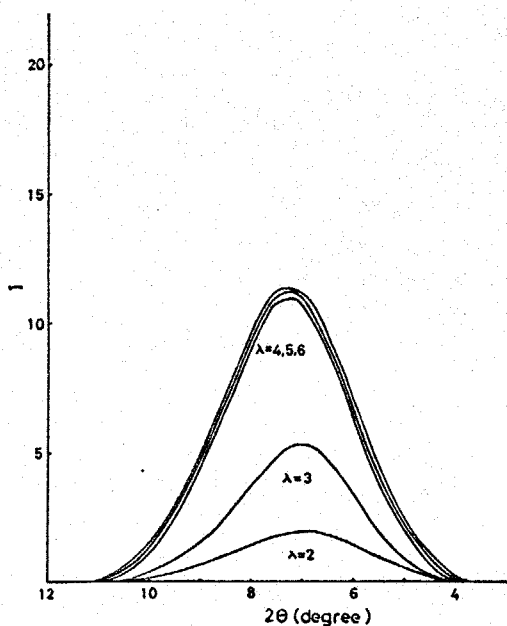


Fig.35 Change in the diffraction profile for the crystallized fraction of air-dried sample with stretching of hot gelatin.

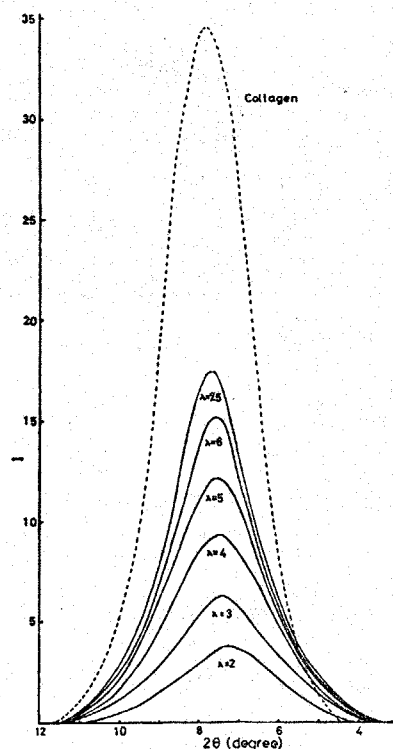


Fig.36 Change in the diffraction profile for the crystallized fraction of annealed sample with stretching of hot gelatin and collagen film.

ゼラチンも共に同程度に高度に配向しているので Fig. 35 および Fig. 36のプロフィルの大小関係は近似的にそのまま再生したコラーゲンの分率に比例するものとみることができる。したがってコラーゲンのプロフィルの積分強度を基準にとるとコラーゲン化の割合を求めることができる。Fig. 37にはこのようにして求めたコラーゲン化分率を各伸張倍率に対して示してある。これから最大限アニーリング試料で40%、風乾試料で約30%ゼラチンからコラーゲンへ再生したと考えられる。

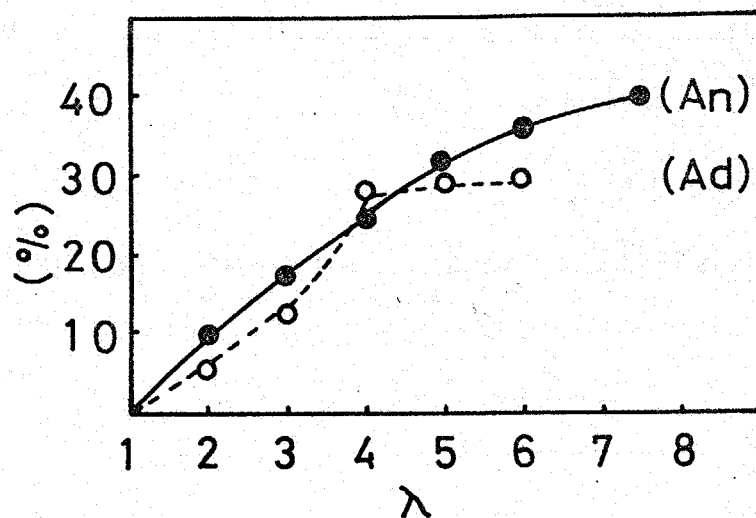


Fig. 37 Collagenized fraction of drawn gelatin by X-Ray diffraction profile.

さらに DSC より求めた伸張ゼラチン 1g あたりの転移熱  $\Delta H$  を Fig. 38 に示す。風乾試料はアニーリング試料より  $\Delta H$  が大きく  $\lambda=4$  以上ではほぼ一定値をとる。アニーリング試料は伸張倍率と共に  $\Delta H$  は増加するが変化率は高倍率になるほど小さい。同時に比較のため再生コラーゲン固体の  $\Delta H$  を示した。次にコラーゲンの  $\Delta H$  を基準にとり各伸張倍率における  $\Delta H$  の値を Fig. 39 に示した。もしコラーゲンの triple

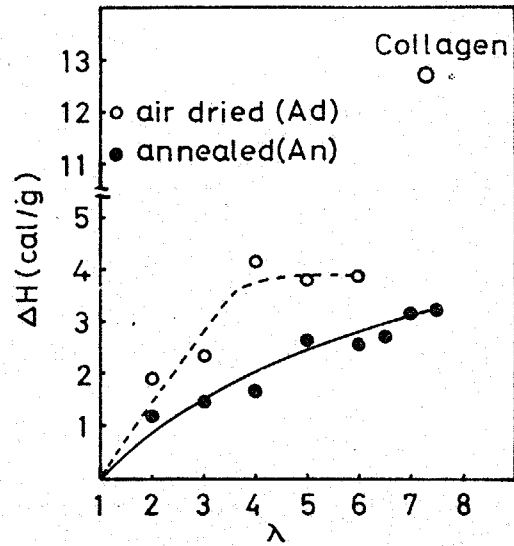


Fig.38 Entalpy change of renatured collagen with drawing ratio.

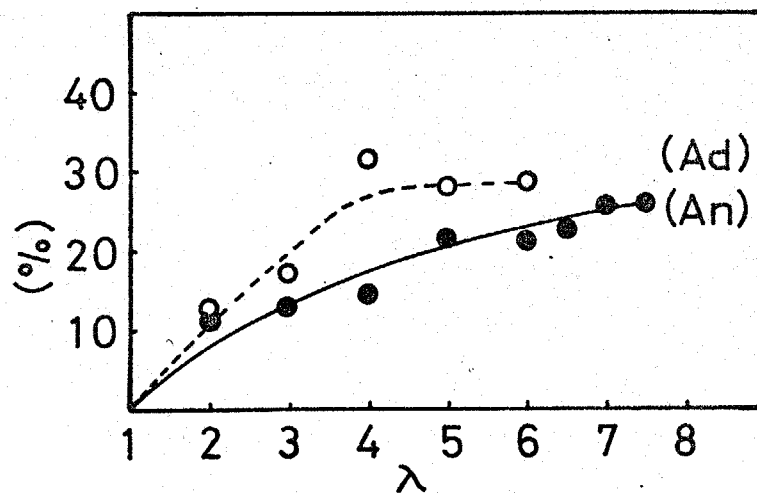


Fig.39 Collagenized fraction of drawn gelatin by DSC.

helix が鎖間の水素結合によって安定化しており、 $\Delta H$ は水素結合の  
 角解離エネルギーに起因すると仮定するならばコラーゲンの $\Delta H$ で基準  
 化した Fig. 39 の値は % helix と考えることができゼラチンのコラー  
 ゲンへの再生の割合といえる。この図から明白なごとく風乾試料で約  
 1/3 , アニール試料で約 1/4 程度コラーゲン化しているといえよ  
 う。このように風乾した試料ではアニールしたそれよりもコラー  
 ゲン化分率が高いことは再生が伸張のみならず、その後の乾燥過程で  
 も生じることを示し、乾燥時の脱水中に生じる収縮力がこの再生に有  
 効であることを示す。

さらにアニールした試料の X 線回折および DSC より求めたコ  
 ラーゲン化分率を Fig. 40 に示し比較検討する。増加の傾向は類似  
 しているが X 線による結果の方が大きな値を示している。Fig. 8 および  
 Fig. 32 の X 線写真から明らかのように、伸張ゼラチンは完全に配向

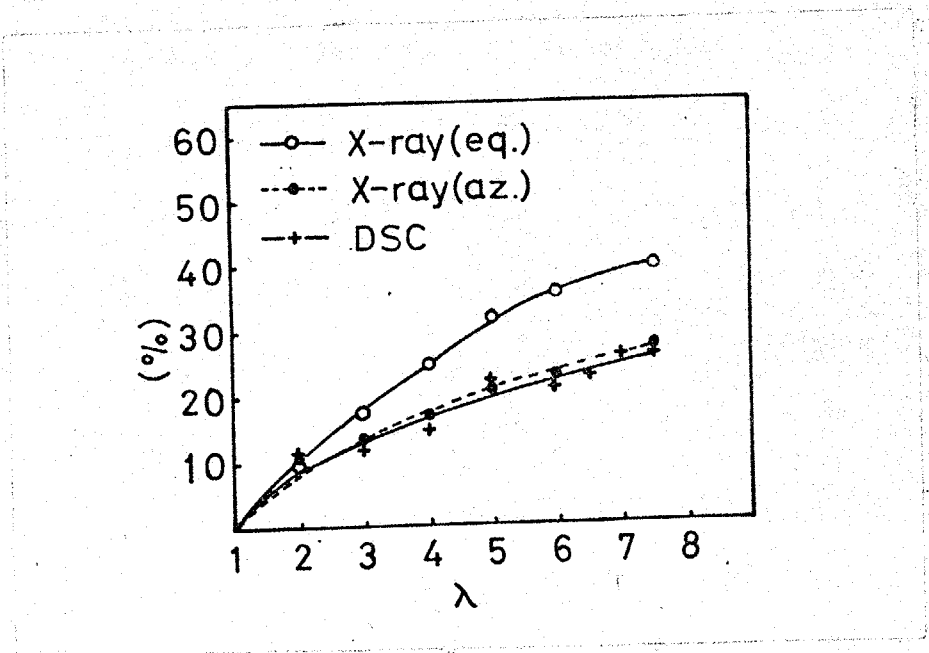


Fig. 40 Collagenized fraction of drawn gelatin by X-Ray (equator), X-Ray (azimuth) and DSC.

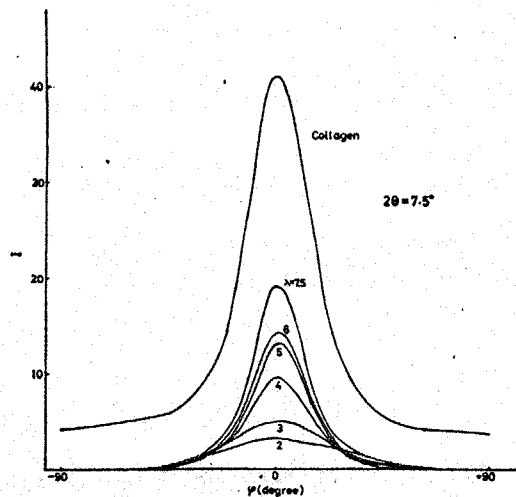


Fig.41 Change in the diffraction profile for the crystallized fraction of annealed sample with stretching of hot gelatin and collagen film in azimuth direction.

しているにもかかわらずコラーゲンは配向が完全でないことも一部原因かと考えられる。したがって、配向が乱れている部分も評価するために赤道に  $2\theta = 7.5^\circ$  におけるピークについて赤道を中心に方位角方向に  $\pm 90^\circ$  にわたり回折強度を求めた。まずピークのプロファイルを Fig. 41 に示す。コラーゲンは  $\pm 90^\circ$  においても散乱が見られ、配向が乱れた部分についても評価される。さらにこのコラーゲンの値を基準にとり各伸張倍率における値を比較すると Fig. 40 の  $\bullet$  印となる。この図から明らかのごとく DSC より求めた値とほぼ同一の値を示す。したがって伸張によってセラチンよりコラーゲン化する分率は最大限 25% 程度ではないかと考えられる。

### 4-3-3 熱処理による効果

さらにアニーリング試料に $100^{\circ}\text{C}$ 以上で熱処理を行ないその効果について検討する。特に熱処理温度を $100^{\circ}\text{C}$ 以上に選んだのは次に示す効果のため影響が大きいと期待されるからである。まずコラーゲンやゼラチンのガラス転移温度をFlory<sup>(42)</sup>らはディラトメトリーの実験から $95^{\circ}\text{C}$ , Okamoto<sup>(59)</sup>らは動的粘弾性の実験から $120^{\circ}\text{C}$ であると報告していること。つぎに $100^{\circ}\text{C}$ 以上では結合水の脱水が生じ結晶構造に変化をおこすことが知られているため<sup>(1)(19)</sup>。さらにゼラチンやコラーゲンを熱処理すると不溶化しYannasらは脱水反応,  $\text{P-COOH} + \text{H}_2\text{N-P}' \rightarrow \text{P-CONH-P}' + \text{H}_2\text{O}$ なる架橋による<sup>(19)(60)(61)</sup>としてしていること, また $150^{\circ}\text{C}$ 以上では架橋, 分解, 酸化等の反応が複雑におこりコラーゲンやゼラチンでない化合物になるとする見解があることによる<sup>(62)</sup>。以上のことが再生コラーゲンフィルムに与えられ, 結晶化度や融点に変化を及ぼすかどうか観察した。

$110^{\circ}\text{C}$ および $130^{\circ}\text{C}$ で熱処理した物質は30時間の処理によっても, DSCから観察した $\Delta H$ および $T_m$ にはほとんど変化を及ぼさなかった。さらに広角X線による回折強度および $2\theta = 7.5^{\circ}$ のピーク位置に変化がなく $2\theta = 31.5^{\circ}$ 附近のピーク位置は $0.3^{\circ}$ だけ小さくなり結晶のunit heightがわずかに長くな

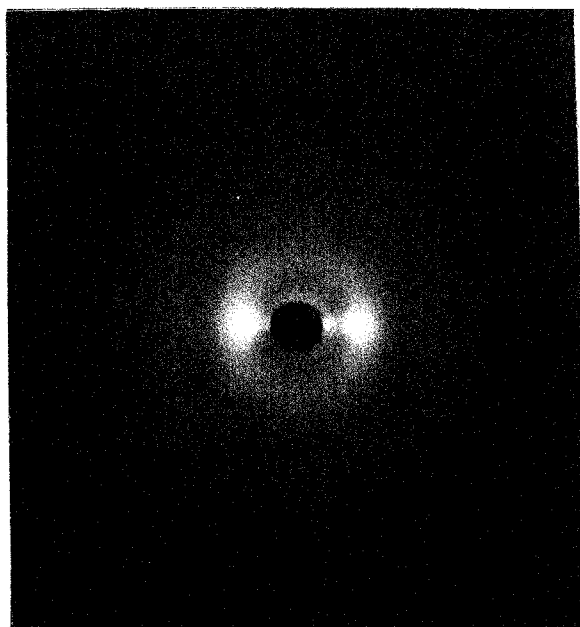


Fig.42 X-Ray diffraction photographs of renatured collagen film which was annealed at  $130^{\circ}\text{C}$  for 30 hrs.

Fig.43 Entalpy change of renatured collagen annealed at 155°C with annealing time.

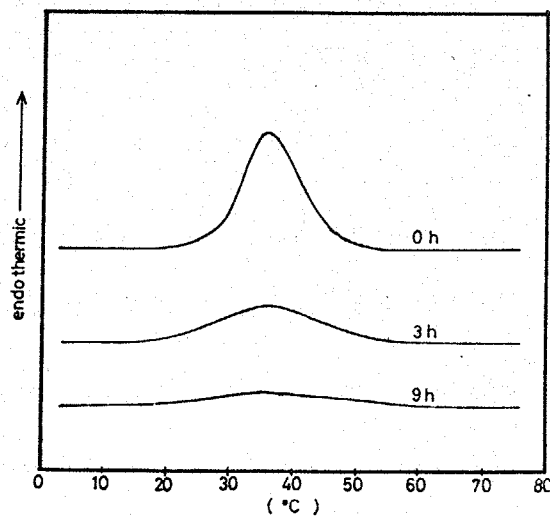
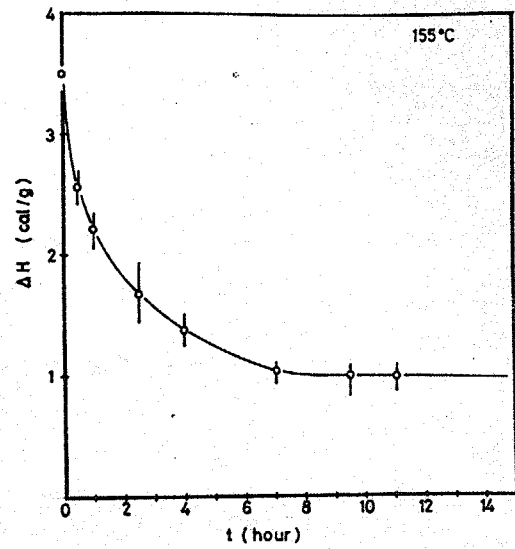


Fig.44 DSC profile of renatured collagen annealed at 155°C with annealing time.

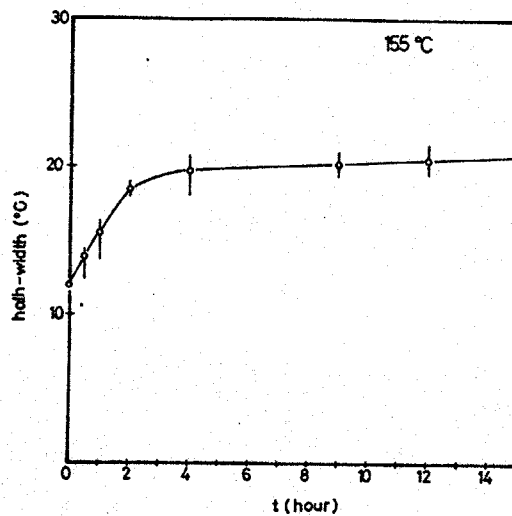


Fig. 45 Half width in DSC profile of renatured collagen annealed at 155°C with annealing time.

ったことを示す。さらに155°および170°Cで熱処理した物質は $\Delta H$ が処理時間とともに低下する。Fig. 43 に155°Cにおける熱処理時間と $\Delta H$ との関係を示す。また広角X線の回折強度も同様に低下する。しかし赤道 $2\theta = 7.5^\circ$ のピーク位置には変化がなく $2\theta = 31.5^\circ$ の子午線上のピーク位置に関しては約 $0.3^\circ$ だけ減少する。さらに興味あることはDSCの融解ピークが処理時間とともにFig. 44に示すごとく $T_m = 36^\circ$ を中心にブロードになる。またFig. 45に処理時間と融解ピークの半値幅を示す。したがって150°C以上では脱水反応以外の架橋もおこり $T_m$ を上昇させること、分解による分子量の低下による $T_m$ の下降によって $T_m$ が分布し、融解ピークがブロードになるのではないかと考えられる。

#### 4-4 結 言

以上の結果次のことが結論される。まず伸張によってゼラチンは結晶化しコラーゲンに再生される。つぎに分子間のパッキングは伸張率の増加と共に密になり $\lambda=7.5$ でほぼコラーゲンに近くなる。再生分率は伸張倍率に依存し伸張率の増加と共に増し、アニーリング試料で $\lambda=7.5$ でほぼ1/4程度コラーゲンに再生される。風乾した試料の方がアニーリング試料より再生分率は大きい。これは乾燥時の脱水によって生じる収縮力が風乾試料の方が大きいためであろう。また $100^{\circ}\text{C}$ 以上で熱処理すると架橋がおこり水に不溶化する。しかし結晶化度の増加や $T_m$ の上昇は見られない。また $155^{\circ}\text{C}$ 以上の熱処理はDSCのプロファイルをブロードにし $\Delta H$ を減少させる。

## 第5章 ゼラチンより再生した コラーゲン皮膚膜の物性

### 5-1 緒言

伸張によりゼラチンからコラーゲンへ再生することが第4章より明らかになった。しかしコラーゲンへの再生化分率は低く1/4程度にすぎず、ゼラチンの分率が可成り多いと考えられる。したがってこの物質の物性はコラーゲンよりゼラチンに近いと考えられるが、最も大きな問題は水による影響である。2章や3章と同様の実験を行ない水の力学的性質におよぼす効果を求め、ゼラチンやコラーゲンと比較検討した。ところでこの物質は水による影響が大きく、水溶液中で約40°Cにおいてすら溶解し医用材料として生体に適用する場合好ましくない。したがって架橋を導入し不溶化する必要がある。ところでコラーゲンの架橋導入時において生体に有害な化学試剤架橋を導入することは好ましくなく、紫外線やγ線による架橋方法が有用である。<sup>(63)</sup>この再生コラーゲンに紫外線照射を行ない架橋を導入し、第2章、第3章と同様の実験を行ない水の効果について検討した。最後にこの再生コラーゲンの材料としての有用性について論じたい。

## 5-2 実験方法

吸着等温曲線, 応力緩和曲線, 動的剛性率の測定はすべて第2章, 第3章と同様の方法を使用した。

### 紫外線照射

再生コラーゲンに紫外線(波長 $\lambda=2537\text{\AA}$ )照射を行ない架橋を導入した。照射量を決定する前に, ゼラチンフィルムに照射を行ない,  $60^\circ\text{C}$  の水中でゲル化しゲル化分率と紫外線の照射量との関係を求めた。Fig.46に照射量とゲル化分率との関係を示す。ゲル化分率にピークが見られるのは, ペプチド鎖の架橋と切断が同時に行なわれていることを示す。<sup>(63)</sup> この結果照射量が  $10^6 \text{ erg/cm}^2$  のときゲル化分率が最も大きく, 再生コラーゲンへの照射量もこの値とした。またフィルムの厚さが  $0.15 \text{ mm}$  以上では紫外線は透過せず本実験に使用したフィルム<sup>(64)</sup> の厚さは  $0.11 \text{ mm}$  以下であった。さらにDSCによって転移熱 $\Delta H$ や融点 $T_m$ におよぼす架橋の効果を求めたが, 変化は見られなかった。

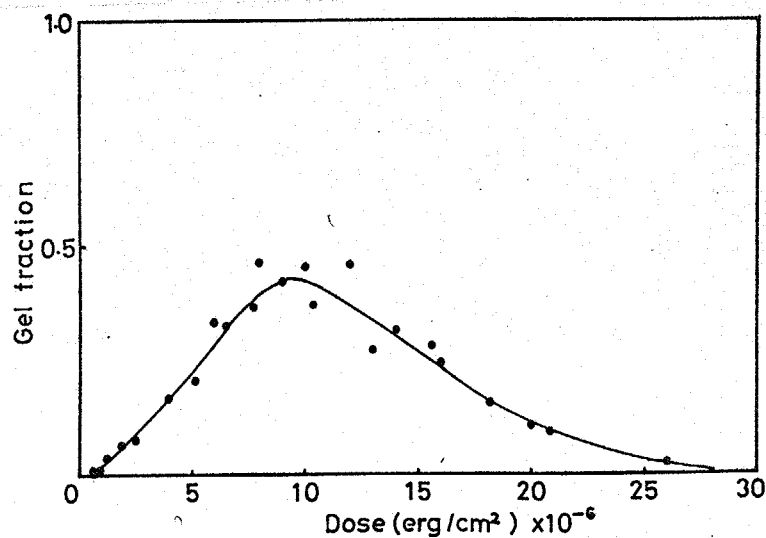


Fig. 46 Effect of UV-irradiation on gel fraction of gelatin film.

### 5-3 結果と考察

#### 5-3-1 再生コラーゲン皮膜の物性に及ぼす水の効果

Fig.47に再生コラーゲンの吸着等温曲線を示す。さらに同時にゼラチンとコラーゲンと比較する。再生コラーゲンはコラーゲンよりも吸着量は少なく、ゼラチンとほぼ等しい曲線を示す。このことは前章でのべたごとく、コラーゲンは室温で乾燥した物質であり、空隙が多くまた triple helical structure が  $-C=O$  や  $-N-H$  を  $H_2O$  と結合しやすい配置をとらせているが、ゼラチンは高温で凝固、乾燥させたもので分子鎖が密につまっております。さらに再生コラーゲンフィルムはそれを伸張することによって作製したものであることが原因と考えられる。

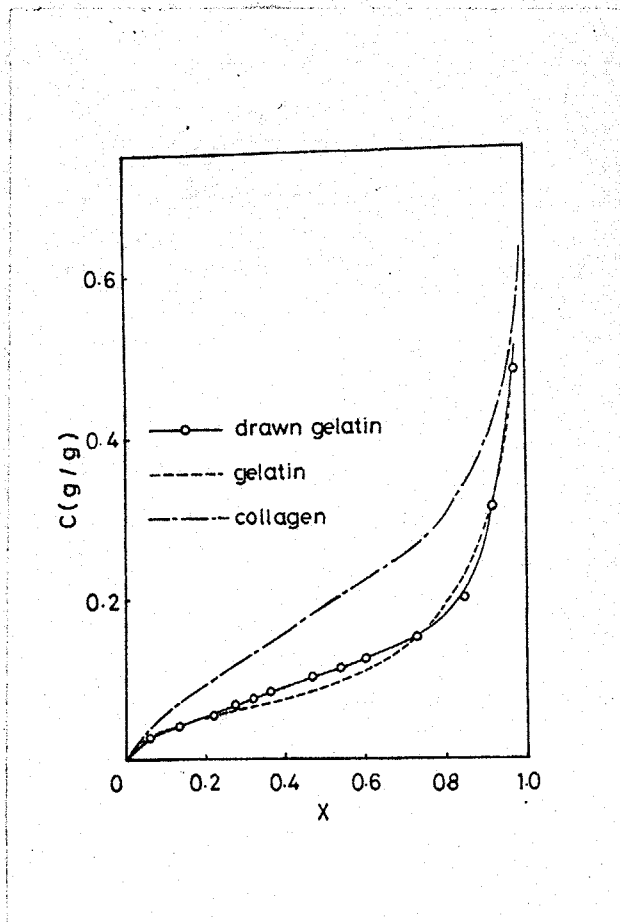


Fig.47 Sorption isotherm of renatured collagen compared with collagen and gelatin.

また再生コラーゲンとゼラチンと比較すると、相対湿度20~70%ではやや再生コラーゲンの方が収着量は多く、70~90%ではゼラチンの方が多。このことは再生コラーゲンは結晶化しておりコラーゲンと同様に $-C=O$ 、 $-N-H$ が水と結合しやすい配置をとっているため、<sup>(29)-(32)</sup>収着量が少し多くなる。しかし高相対蒸気圧側では膨潤の効果により、収着量がゼラチンと比べて増加しないためと考えられる。さらにこの曲線を吸着の機構による部分( $C_1$ )と溶解の機構による部分( $C_2$ )とに分離し $C_2$ からEq.(2)のFlory-Huggins<sup>(27)</sup>の式における相互作用パラメーター $\chi_1$ を求めコラーゲンやゼラチンと比較するとFig.48になる。

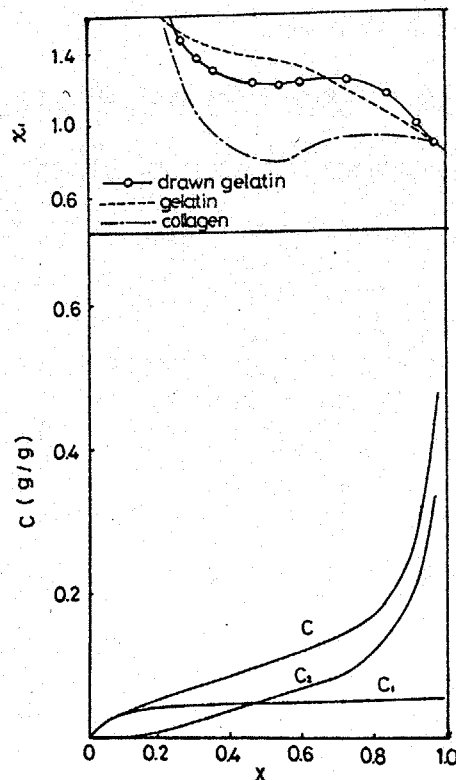


Fig.48 Separation of sorption isotherm into adsorption part  $C_1$  and dissolution part  $C_2$ , and interaction parameter  $\chi_1$  in eq.(2) of renatured collagen. These are compared with collagen and gelatin.

まずコラーゲンよりもは高く水分子との相互作用がコラーゲンより低いことを示している。またゼラチンのように一方的に低下せず相対蒸気圧が0.4~0.9の間で一定であり、結晶化による膨潤の効果が認められる。

次に応力緩和曲線を各水分率に対して Fig. 49 に求め水による力学的性質の影響を考察した。再生コラーゲンも他の物質と同様に水分率に関して合成曲線が書け、時間-水分率換算則の成立することが明らかになった。これを次の Fig. 50 に示しゼラチンとコラーゲンと比較する。この合成曲線はコラーゲンよりゼラチンに類似しているが、ゼラチンでは得られなかった75%以上の高水分率でも測定が可能であった。さらにシフトファクターを水分率に対してプロットし Fig. 51 に示す。実線が総水分量、点線が溶解の機構に寄与する水に対してである。さらに Fig. 51 を Fujita - Kishimoto<sup>(38)</sup> の式 Eq. (7) に適用した。

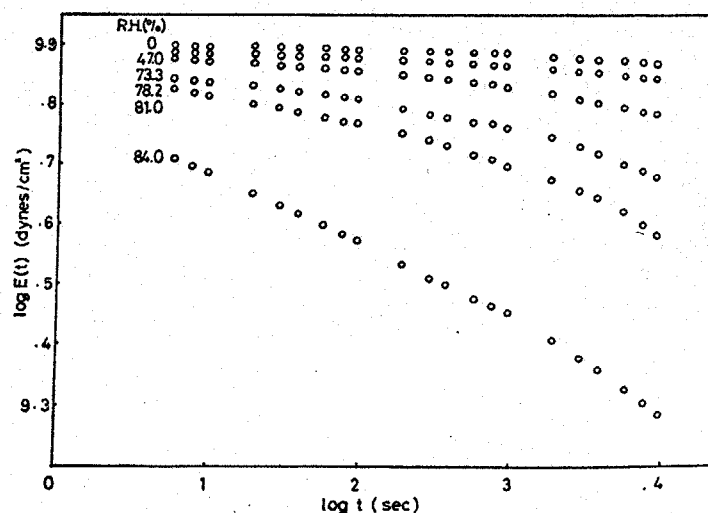


Fig. 49 Stress relaxation curves of renatured collagen at various relative humidities.

Fig.50 Stress relaxation master curve of re-natured collagen, compared with collagen and gelatin.

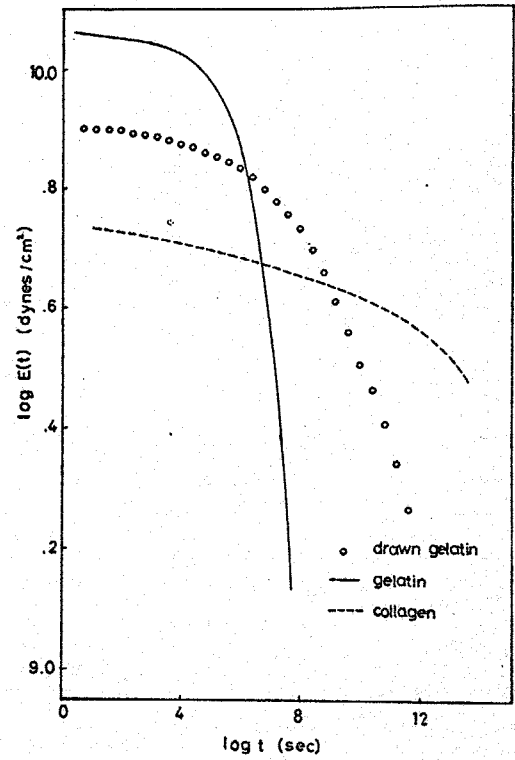


Fig.51 Concentration shift factors  $a_c$  of re-natured collagen as a function of total water content  $C$  and dissolved water content  $C_2$ .

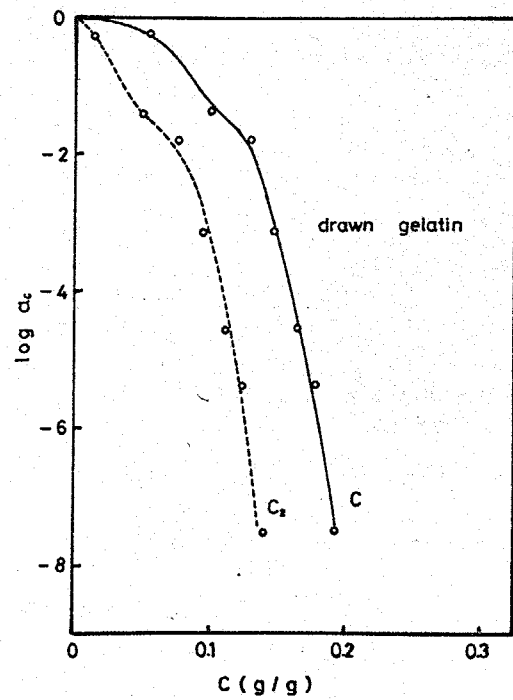


Fig.52 Test of eq.(7)  
on the system of renatured  
collagen-total water C.

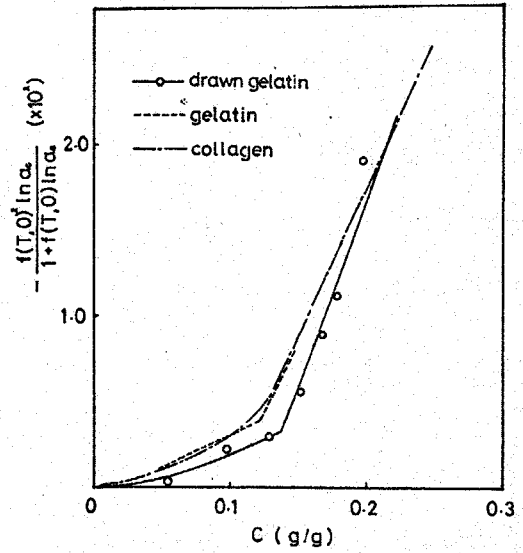


Fig.53 Test of eq.(7)  
on the system of renatured  
collagen-dissolved water  
C<sub>2</sub>.

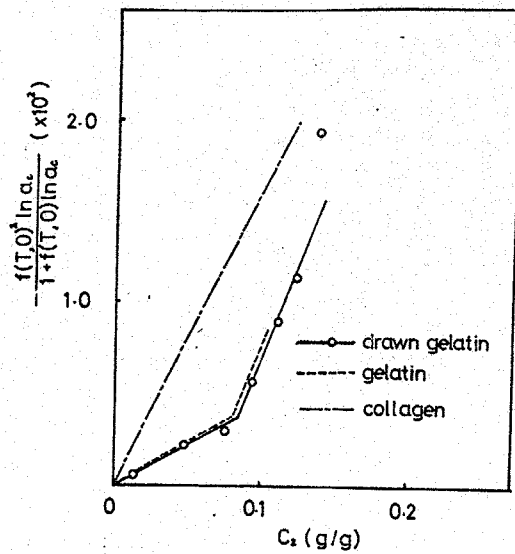


Fig. 52 に総水分量  $C$  に対してプロットする。再生コラーゲン, コラーゲン, ゼラチンとも同一の形となり非常に興味をもたれる。またゼラチンと同様に三つの部分からなり溶解の機構の水  $C_2$  に対してプロットすると最初の曲線部分は消失し再生コラーゲンはゼラチンと同一の形となる。 $C_2=0.1$  以下では傾き  $\beta$  は  $0.6$  であり,  $C_2=0.1$  以上ではコラーゲンと同じ  $0.16$  となる。しかし傾きが不連続に変るところでゼラチンは  $10^7 \text{ dyn/cm}^2$  程度のカで急激に伸張されたが伸張ゼラチンでは観察されなかった。これは鎖がのびきっていることと結晶化の影響によると考えられる。

次に動的剛性率の結果について考察する。Fig. 54 に剛性率と水分率との関係を示す。ゼラチンでは  $C=0.12$  までしか測定できなかったが本実験では  $C=0.15$  まで測定が可能であった。これは鎖が伸びきっているためと結晶化しているため、試料が伸張されないのであろうと考えられる。しかしこの水分率以上では減衰が激しく,  $\ln \Delta / \pi < 0.1$  という条件を満足せず測定値を得ることはできなかった。

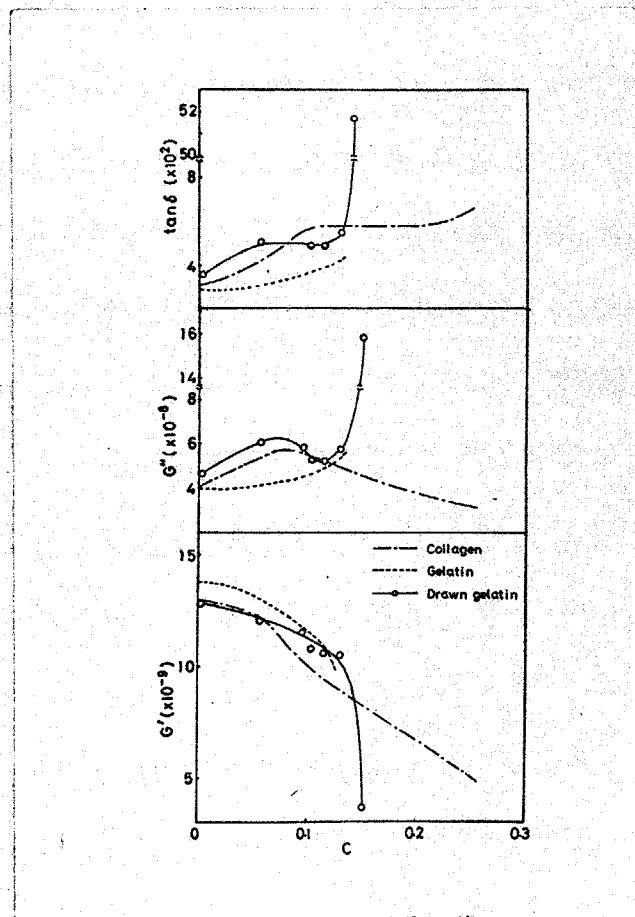


Fig. 54 Dynamic shear modulus  $G'$ , loss modulus  $G''$ , and  $\tan \delta$  of renatured collagen as a function of water content, compared with collagen and gelatin.

ところで  $C = 0.05$  附近で  $G'$  の傾きはやや急になり、 $G''$  や  $\tan \delta$  に分散が見られる。これは溶解の機構の水  $C_2$  の寄与によると考えられる。さらに  $C = 0.14$  附近で  $G'$  は急激に減少しており、また  $G''$ ,  $\tan \delta$  の値も急激に増大している。これは Fig. 53 における傾き  $\beta$  が不連続的に変化する水分率と対応している。曲線全体はゼラチンと同様の水の影響を受けていると考えられるが、しかし  $C = 0.14$  以下では  $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan \delta$  ともややコラーゲンに類似しているといえよう。

### 5-3-2 紫外線照射の効果

紫外線の照射によって架橋、切断、さらに空気中の酸素との酸化が同時に生じる。一般に架橋は主としてチロシンやフェニルアラニンに作用しており、また切断はペプチド鎖のみ炭素と窒素の間の結合即ち  $\begin{matrix} \text{H} & \text{H} \\ | & | \\ \text{C} - \text{N} & \text{C} \\ | & | \\ \text{O} & \text{R} \end{matrix}$  の切断によるものと考えられる。<sup>(63)</sup> 紫外線照射を行ない、力学的性質の水による影響を求め、コラーゲン、ゼラチン、再生コラーゲンと比較検討した。まず Fig. 55 に紫外線照射した再生コラーゲン(UV 再生コラーゲン)の吸着等温曲線を示す。収着量はコラーゲンよりも少ない。しかし相対蒸気圧 0.9 以下では再生コラーゲンよりも多い。また吸着の機構に寄与する水  $C_1$  も UV 再生コラーゲンの方が多く紫外線照射による鎖の切断、酸化による吸着座席の増加を示す。一方相対湿度 90% 以上では収着量の増加は少なく、架橋の導入によって水の収着が阻害されるためと考えられる。さらに Fig. 55 の吸着等温曲線を吸着の機構による水  $C_1$  と溶解の機構による水  $C_2$  とに分離し、 $C_2$  から  $C_1$  を求め Fig. 56 に示す。  $X = 0.3$  から 0.9 の間ではほとんど変化せず、 $X = 0.9$  以上では増加の傾向が見られる。他の

Fig.55 Sorption isotherm of UV-irradiated renatured collagen.

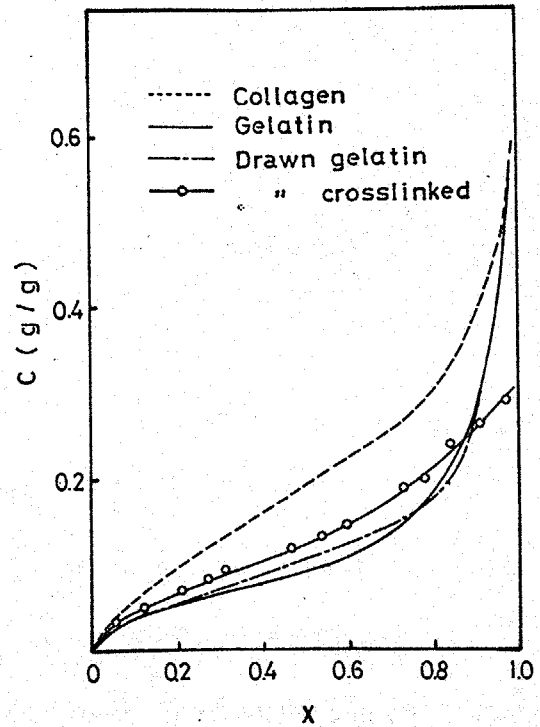
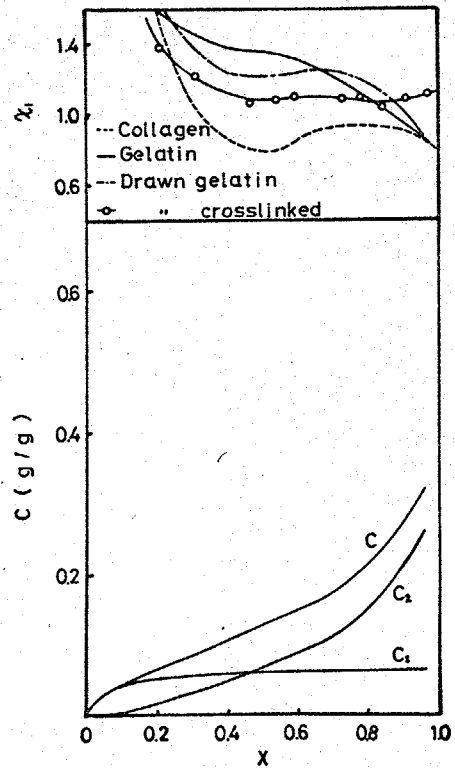


Fig.56 Separation of sorption isotherm into adsorption part  $C_1$  and dissolution part  $C_2$ , and interaction parameter  $\chi_1$  of UV-irradiated renatured collagen.



物質の値が0.8であるにもかかわらず、UV再生コラーゲンは1.1もの高い値を示し架橋の効果が観察される。

さらに力学的性質におよぼす効果を検討するために応力緩和の実験を行ない結果をFig. 57に示す。これも他の物質と同様に対数時間軸にそってシフトするとグラフは重なり合成曲線が書ける。架橋の効果によって相対湿度91%以上のものについても得られたが、重ね合わせることができなかった。Fig. 58に合成曲線を示し他の物質と比較する。コラーゲンとゼラチンの中間の形態をとり再生コラーゲンに類似している。またFig. 59にシフトファクターと水分率 $C_1, C_2$ についてプロットした。さらにFig. 59にFujita-Kishimoto<sup>(38)</sup>の式Eq.(7)を適用した。まずFig. 60にEq.(7)の右辺を総水分量に対してプロットした。架橋の影響により他の物質とは異なったグラフになるが、三つの部分に分けることができる。さらにこれを $C_2$ に対してFig. 61

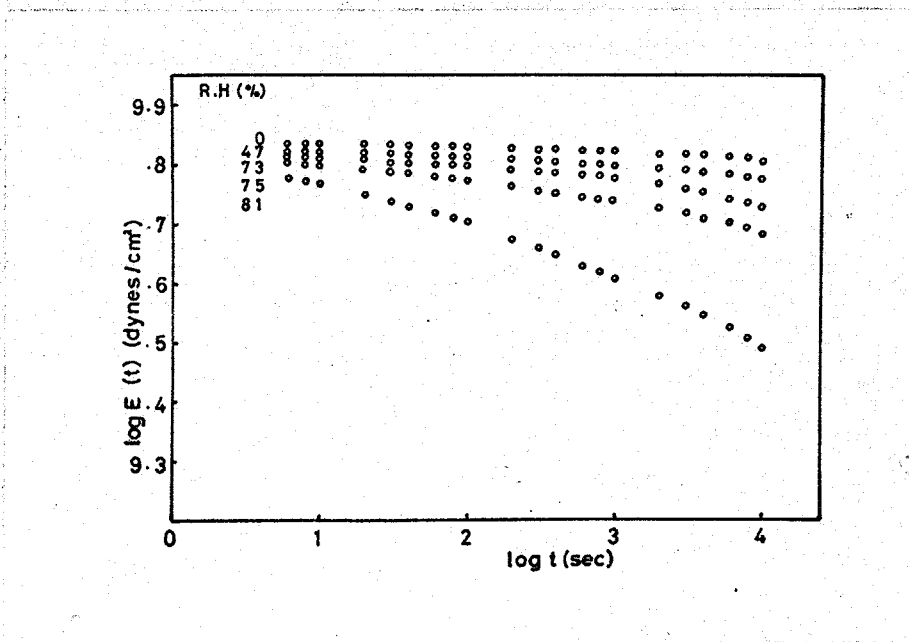


Fig. 57 Stress relaxation curves of UV-irradiated renatured collagen at various relative humidities.

Fig.58 Stress relaxation master curve of UV-irradiated renatured collagen compared with collagen, gelatin and renatured collagen.

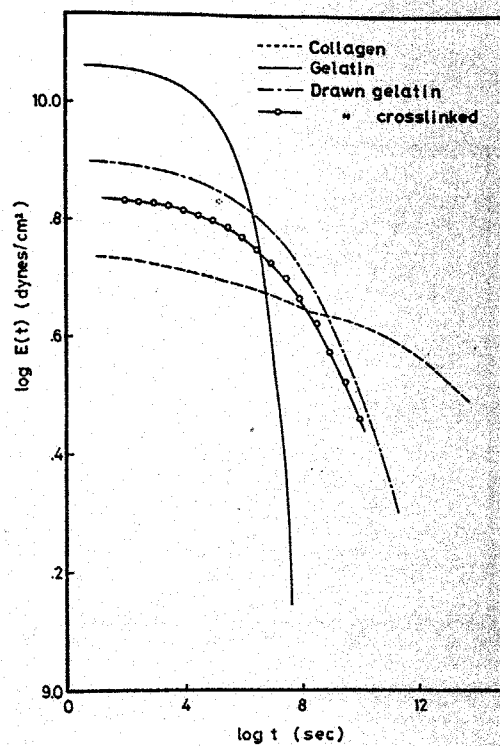


Fig.59 Concentration shift factors  $a_c$  of UV-irradiated renatured collagen as a function of total water content  $C$  (solid line) and dissolved water content  $C_2$  (dotted line).

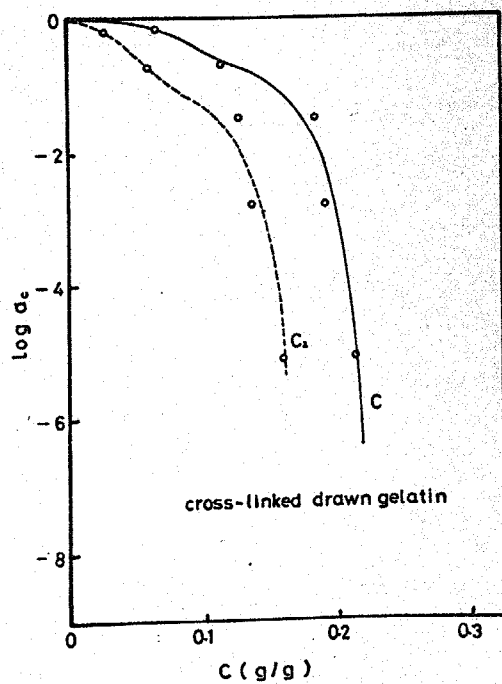


Fig.60 Test of eq.(7) on the system of UV-irradiated renatured collagen-total water C, compared with collagen, gelatin and renatured collagen.

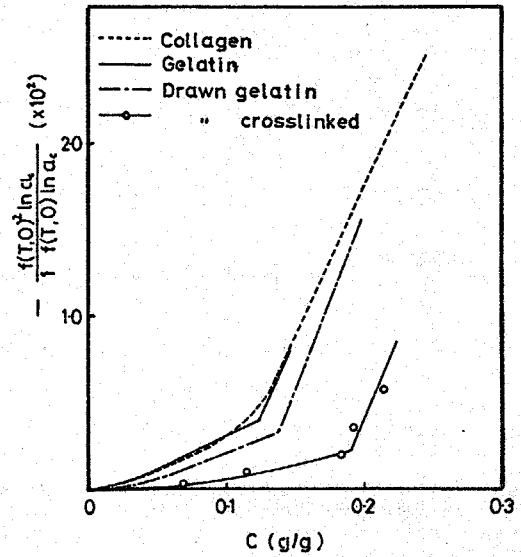
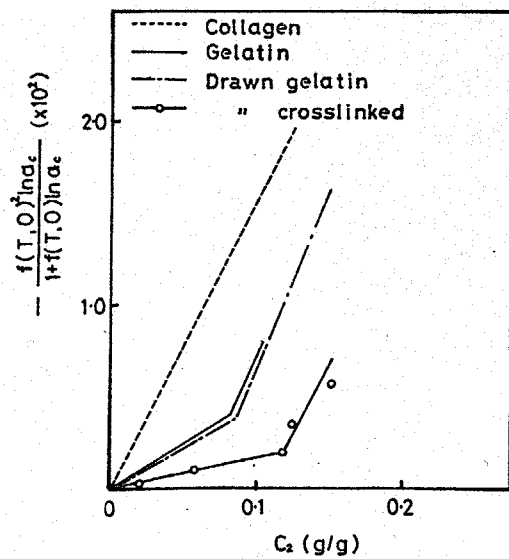


Fig.61 Test of eq.(7) on the system of UV-irradiated renatured collagen-dissolved water C<sub>2</sub>, compared with collagen, gelatin and renatured collagen.



にプロットする。他の物質と同様最初の曲線部分は消失し  $C_2$  の寄与により緩和が始まることを示す。しかしゼラチンや再生コラーゲンと同様二つの部分から成っており、最初の部分の傾きは約 0.18 であり、 $C_2 = 0.12$  以上での傾きはコラーゲンと同じ  $\beta = 0.16$  であった。したがって  $C_2 = 0.12$  以下 ( $C = 0.18$  以下) では他の物質と比較して自由体積に対する水の寄与は少なく緩和現象に与える水の効果は小さいと考えられる。これは比較的水分率が多いにもかかわらず架橋によって緩和がさまたげられると言える。しかし、 $C_2 = 0.12$  以上での傾き  $\beta$  は他のものと同じであった。

最後に剛性率の結果を Fig. 62 に示し他の物質と比較検討する。傾

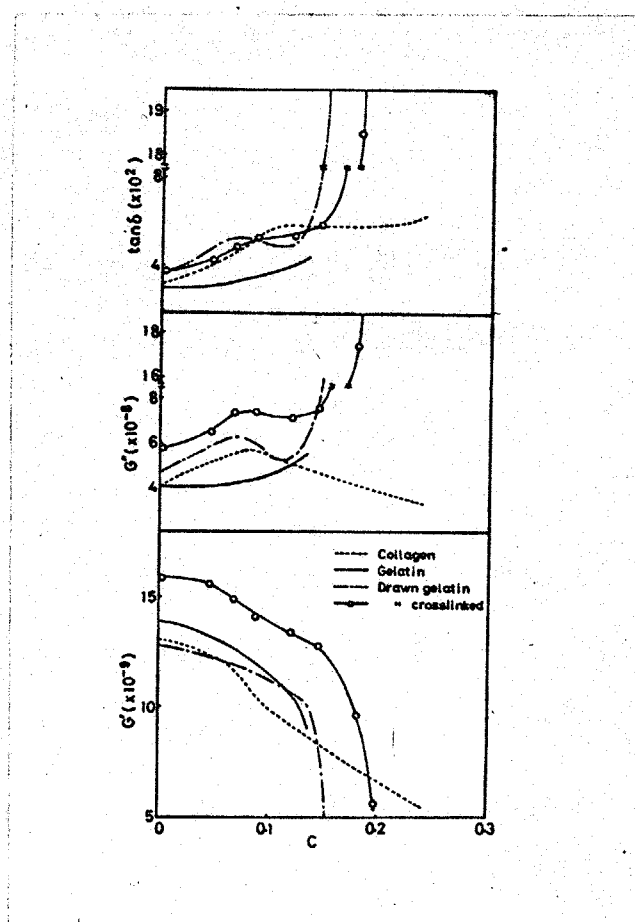


Fig. 62 Dynamic shear modulus  $G'$ , loss modulus  $G''$ , and  $\tan \delta$  of UV-irradiated collagen as a function of water content, compared with collagen, gelatin and renatured collagen.

向は再生コラーゲンと類似しているが、架橋の導入によってゼラチンや再生コラーゲンで測定できなかつた  $C = 0.2$  なる高水分率まで測定が可能であつた。ところで  $C = 0.06$  附近で  $G'$  はやや急激に低下しており  $G''$ ,  $\tan \delta$  にも分散が見られるが、溶解の機構の水  $C_2$  の密着によるものと考えられる。さらに  $C = 0.18$  以上では  $G'$  の減少,  $G''$ ,  $\tan \delta$  の増加は大きいが、この領域は Fig. 61 における傾き  $\beta$  の不連続な変化領域と対応している。ところでコラーゲンは  $C = 0.3$  附近まで測定でき、 $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan \delta$  にも大きな変化は見られない、しかし UV 再生コラーゲンは架橋を導入したにもかかわらず、実験において  $\ln \Delta / \pi < 0.1$  なる条件を満たさず  $C = 0.2$  以上は測定できなかつた。したがつて UV 再生コラーゲンは結晶化度が低い上に架橋の量も少なく水の影響が大きいと考えられる。

#### 5-4 再生コラーゲンの応用について

ゼラチンよりコラーゲン系を直接再生することは、ゼラチンの原価もコラーゲンと比較すると安く、製造工程も単純でき、経済的にも有利である。したがつてコラーゲン系に代り手術用系、人工皮膚、人工血管等への利用が考えられる。しかし伸張により再生したコラーゲンは、コラーゲンと比較すると、本章でも明らかになごとく架橋を導入したにもかかわらず水分率の低いところで力学的性質は大きな影響を受ける。したがつて生体内で使用するにあたり水の効果をできるだけおさえる方向で改良せねばならない。しかし水分の影響が少ない人工皮膚などは当面有望だと考えられる。またコラーゲンは天然において単独で機能をはたしているのではなく他の多くの物質との共存下にお

いて高度の機能を発揮していることから、この再生コラーゲンも他の物質との複合材料として使用した時、その応用範囲は広がるのではないかと考えられる<sup>(14)</sup>。

## 5-5 結言

以上の結果次のような結論が導びかれる。

### ①再生コラーゲン

まず吸着等温曲線において水の収着量はコラーゲンより少ない。相対湿度20~70%の間はゼラチンより多く結晶化の影響をうける。70~90%ではゼラチンより少なく膨潤の効果を示す。次に応力緩和曲線はゼラチンより高水分率まで測定が可能であった。また重ね合わせができ時間-水分率換算則の成立が可能であることを示した。Fujita-Kishimotoの式 eq.(7) は前章と同様  $C_2$  に対して整理した方が合理的であることが明らかになった。また傾き  $\beta$  はゼラチンと全く同一で、 $C_2 = 0.08$  以下は  $\beta = 0.05$  でありそれ以上はコラーゲンと同じ  $\beta = 0.16$  であった。動的剛性率の値はゼラチンでは得られなかった  $C = 0.15$  まで測定され、結晶化と鎖ののびきりの影響が現われている。しかし  $C = 0.14$  附近で  $G'$  の値は急激に低下しており Eq.(7) の  $\beta$  の値が急に変化する領域と対応する。したがって再生コラーゲンはコラーゲン化分率が低く、無定形部分が多いためむしろその物性はコラーゲンよりゼラチンに近い。

### ②紫外線照射により架橋した再生コラーゲン

まず吸着等温曲線において水の収着量はコラーゲンより少なくゼラチンや再生コラーゲンより多い。これは紫外線照射による鎖の切断と酸化によると考えられる。しかし相対湿度90%以上では他の物質よ

り少なく，相互作用パラメーター $\alpha_1$ も大きい。これは架橋による膨潤の効果と考えられる。次に応力緩和曲線は重ね合わせができ，時間-水分率換算則の成立が可能なことを示した。またEq.(7)は $C$ より $C_2$ に対して整理した方が合理的であることを明らかにした。また傾き $\beta$ は $C_2=0.12$  ( $C=0.18$ ) 他の物質より低く $\beta=0.018$ となり， $C_2=0.12$ 以上では他の物質と同じ $\beta=0.16$ なる値を示した。動的剛性率 $G'$ は $C=0.20$ まで測定できたが $C=0.18$ 以上の減少は大きい。これは， $\beta$ の不連続に変化する領域と対応している。以上のことよりこの物質も力学的性質が水によってうける影響はゼラチンに近いといえよう。

## 第6章 結 論

本研究において得られた結果を総括する。

まず第2章においてコラーゲンおよびゼラチンの吸着等温曲線を求めた。さらにこれを吸着の機構に寄与する水の量 $C_1$ と溶解の機構に寄与する水の量 $C_2$ とに分離し、 $C_2$ からFlory-Hugginsの式における相互作用パラメータ $\chi$ を求めた。これらのことからまずアミノ酸組成が同一にもかかわらず収着量はコラーゲンの方が多い。これは $-C=O$ 、 $-N-H$ 等の基が水と結合しやすい配置をとっていること、パッキング密度がコラーゲンの方が低いことによると考えられる。さらに動的剛性率 $G'$ と水分率との関係を求め、 $G'$ が $C_2$ の寄与によって急激に低下することを明らかにした。またゼラチンは $C=0.12$ 以上で試料が伸張され測定できなかった。

次に第3章において、コラーゲンの応力緩和曲線を水分率に対して求め、時間-水分率換算則の成立することを明らかにした。またシフトファクターと水分率の関係をFujita-Kishimotoの式に適用したが直線関係は得られなかった。しかし第2章の剛性率の結果からも力学的性質に効果を与える水は溶解の機構に寄与する水 $C_2$ であるとした方がよくこの式を $C_2$ に対して再びプロットすると直線関係が得られ傾きは $\beta=0.16$ となった。またこれを羊毛繊維に対して適用したところ $C$ より $C_2$ を使用した方が合理的であることが明らかで傾き $\beta=0.16$ であった。したがって $C_2$ が力学的性質に影響を及ぼすという考え方がある程度一般性を持つと言える。さらにゼラチンに対して同様の実験を行なったところ、時間-水分率換算則が成立した。同様にFujita-

Kishimoto らの式に適用したところ、やはり  $C$  よりも  $C_2$  に対してプロットした方がより合理的であることが明らかとなり  $\beta = 0.05$  であった。しかし  $C_2 = 0.10$  で傾きは急激に変化し  $\beta = 0.16$  となった。これは 2 章でゼラチンの  $G'$  が急激に減少し伸張が起った領域に対応している。

さらに第 4 章では、ゼラチンの水分率を適当に調節すれば 8 倍近く伸張されコラーゲンに転移することを明らかにした。X 線および DSC により転移量を求めたところ、伸張率依存性をもち 7.5 倍伸張で約 1/4 コラーゲン化することが明らかになった。このようにコラーゲン化分率が低い理由は、コラーゲンの結晶が triple helix という特殊な形であり、(Gly-Pro-X) という鎖が三本集合せぬ限り結晶化しないこと、糖たんぱく等の不純物が混入しているためであろう。さらに百度以上の高温で熱処理を行なったが、融点  $T_m$ 、融解熱  $\Delta H$  はほとんど変化しなかった。しかし  $155^\circ$  以上の温度による熱処理によって  $T_m$  の分布が広がり、 $\Delta H$  が低下することが明らかになった。

最後に第 5 章において伸張によりゼラチンより再生したコラーゲンの力学的性質に与える水の効果について検討し、さらに紫外線照射による架橋を行ないその効果を求めた。まず再生コラーゲンについてのべる。吸着等温曲線はコラーゲンよりゼラチンに近い。しかし相対湿度 20~70% ではゼラチンより収着量は多く、70~90% では少ない。これは結晶化の効果によるものと考えられる。また応力緩和曲線を求めコラーゲンとゼラチンと同様のとりあつかいをした。Eq. (7) の傾き  $\beta$  はゼラチンと全く同一で二つの領域から ( $\beta = 0.05, 0.16$ ) 成立した。しかし鎖が伸張されているためと結晶化しているためゼラチンより高水

分率まで測定が可能であった。また動的剛性率もゼラチンでは測定できなかった $C=0.15$ の水分率まで測定可能であった。しかしコラーゲンと比較すると $G'$ はこの領域でコラーゲンより小さく、また $G''$ ,  $\tan\delta$ はコラーゲンより大きかった。次に紫外線照射した再生コラーゲンについて述べる。照射によってDSCから求めた融点および融解熱に変化は見られなかった。さらに前者と同様の実験を行ない物性におよぼす水の効果を求めた。吸着等温曲線によると収着量は再生コラーゲンより多く、鎖の切断と酸化を示す。しかしコラーゲンより少ない。相対湿度90%以上では再生コラーゲンの方が多く架橋の効果を示す。またこの傾向は $\mu_1$ にも見られた。また応力緩和の実験より求めたEq.(7)の傾き $\beta$ は、 $C_2=0.12$ 以下では $\beta=0.018$ とゼラチンより小さく、水が緩和現象に与える効果の小さいことを示す。しかし、 $C_2=0.12$ 以上では $\beta=0.16$ となり他の物質と同一であった。また動的剛性率は再生コラーゲンと同様の傾向を示すが $C=0.20$ まで測定が可能であった。以上の結果再生コラーゲンはコラーゲンよりゼラチンにその物性の水によって受ける影響が類似していると考えられる。したがってこのようにして再生したコラーゲンを材料として応用するにあたり、比較的水の影響の少ないところで使用しなければならぬ。

## 文 献

- (1) G.N.Ramachandran, Treatise on Collagen Vol.1, Academic Press New York (1967)
- (2) 河瀬 収, 高分子, 11, 1287 (1962)
- (3) A.Rich and F.H.C.Crick, J.Mol.Biol., 3, 483 (1961)
- (4) G.N.Ramachandran and R.Chandrasekharan, Biopolymers, 3, 1649 (1968)
- (5) R.Y.Yee and S.Walter Englander, J.Mol.Biol., 83, 1 (1974)
- (6) R.S.Bear, Adv. Protein Chem., 7, 69 (1952)
- (7) T.Nishihara and T.Miyata, "Collagen Symposium", III (1962) Collagen Research Society, Japan
- (8) W.F.Harrington and N.V.Rao, Biochemistry, 9, 3714 (1970)
- (9) 宮田 暉夫, 高分子, 19, 355 (1970)
- (10) 宮田 暉夫, 皮革化学, 15, 167 (1970)
- (11) 宮田 暉夫, 繊維工業, 4, 480 (1971)
- (12) 榊井 靖久, サイエンス, 3, No.2 p.40 (1973)
- (13) 宇津尾 明, 繊維工業, 26, 1 (1973)
- (14) 宇津尾 明, 皮革化学, 19, 117 (1973)
- (15) 日特公, 昭40-9062, 昭41-15258, 昭41-15259, 昭41-15260
- (16) 谷口 政勝, 高分子, 12, 608 (1963)
- (17) H.B.Bull, J.Amer.Chem.Soc., 66, 1499 (1944)
- (18) M.A.Rougvie and R.S.Bear, J.Am.Leather Chemists' Assoc. 48, 735 (1953)
- (19) I.V.Yannas, J.Macromol.Sci.-Revs.Macromol.Chem., C7(1) 49 (1972)
- (20) I.V.Yannas and C.Haung, J.Poly.Sci.A-2, 10, 577 (1972)
- (21) M.Moritani, N.Hayashi, A.Utsuo and H.Kawai, Polymer J. 2, 74 (1971)
- (22) J.R.Katz, J.C.Derksen and W.F.Bon, Rec.Trav.Chim.Pays-Bas, 50, 725 (1930)
- (23) J.R.Katz, J.C.Derksen, Rec.Trav.Chim.Pays-Bas, 51, 513 (1932)
- (24) 材料と水介ハンドブック, 高分子学会編, 共立出版, p240

## 付 記

最後に本論文を終るにあたり，終始御指導いただきました，石川欣造先生，宮坂啓象先生 に厚く感謝いたします。また研究の御協力をいただいた，城島栄一郎，田沢彦，伊藤善郎，佐々木久衛の各氏をはじめ有機材料物理研究室の皆様，有機材料工学科内の他の研究室の皆様，さらに実験用の試料をこころよく提供してくださり，また御助言くださった日本皮革研究所の岡本康所長，宇津尾明博士，甲野格博士に御礼申し上げます。

1975年 1月6日