コラーゲンフィルムにおよぼす脂質の影響^{*1,*2}

(昭和45年7月2日受理)

軽部 征夫・金子 隆・鈴木 周一・故水 口 純^{*3}

著者らは繊維性蛋白質からフィルム，糸などを電気化学的に成形する方法を開発してきた。それらの製品の原料である腱，皮などは，かなりの量の脂質を含有している。

本実験では，コラーゲンフィルムの機械的性質におよぼす脂質の影響について検討した。まっこう鯨の腱の脂質は，有機溶媒（クロロホルム-メタノール 1:1）で処理して抽出した。電気化学的に成形したフィルムの機械的強度は脂質含量の減少とともに増大した。逆に，脂質を添加すると機械的強度は減少した。これらの結果からフィルム中の脂質はフィブリル同志のからみ合いを妨げるものと考えられる。

1 緒 言

著者らは既に繊維性蛋白質の再生によるフィルム，チューブなどを成形する電気化学的方法を提案した¹⁾。この繊維性蛋白質，すなわちコラーゲンの原料である各種動物の皮，腱などは，コラーゲン以外にかなりの脂質を含有している。したがって，この脂質含有原料から電気化学的方法によってフィルムを成形する場合，脂質がフィルム中に夾雑して，コラーゲンフィブリル同志のからみ合いを妨げ，結果として各種機械的強度を低下させる事が考えられる。また，この脂質の混入はフィルムの油やけ，油じみの原因ともなる。そこで，この実験では脂質を除去した試料，および脂質を含有する試料からそれぞれフィルムを電気化学的に成形し，それぞれのフィルムについて機械的強度の差異を比較し，脂質が電着フィルムの性質におよぼす影響について検討した。

2 実験方法および装置

2.1 試 料

原料として，南氷洋産まっこう鯨の腱（丸筋）を用いた。これを流水中に 15°C，24 時間浸漬し，腱の表面に付着している脂質層，肉片，血液，食塩などを可及的に除去した後，約 10cm² 位に細断し，試料の約 20 倍量の蒸留水に浸漬し，かきまぜながら水洗した。水洗は蒸留水を 2 時間毎に新しく取り替えて 12 時間，5°C 以下で行なった。次いで，この水洗した鯨の腱を遠心脱水した後，前報に報告したように機械的方法¹⁾で微細化して精製試料とした。

2.2 脱 脂 方 法

2.2.1 有機溶媒による抽出 上記の精製試料を 5 倍量のクロロホルム-メタノール混液（1:1）中に懸濁し，25°C でかきまぜながら脂質の抽出を行なった。この場合，クロロホルム-メタノール混液への浸漬時間を変化させて 0.22，0.29，1.68，3.98 wt % の脂質含量の異なる試料を得た。抽出終了後，風乾して有機溶媒を除いた。

2.2.2 リパーゼによる脂質の加水分解 上記精製試料を 10 倍量の蒸留水中に懸濁し，試料重量当り 10% になるようにリパーゼ（名糖社製，lipase MY，20000 u/g）を加え，25°C で 48 時間かきまぜながら試料中の脂質を加水分解した。次いで，1 N 水酸化ナトリウムをリパーゼ処理液に滴下して pH 11~12 とし，遊離した脂肪酸をケン化し，これを遠心脱水して酵素処理試料を得た。次に，この酵素処理試料を 100 倍量の蒸留水に懸濁させ，20 分間かきまぜた後，遠心脱水する操作を 4 回繰り返して遊離脂肪酸塩を完全に除去して，脱脂精製試料を得た。

2.3 脂質の定量

乾燥量をあらかじめ求めておいた上記精製試料約 10 g を丸底フラスコに入れ，クロロホルム-メタノール混液（1:1）100 ml を注加し，水浴上で 70°C，4 時間加熱した。この抽出操作を 2 回繰り返して，得られた抽出液を加温して蒸発乾固し，これにエーテル 70 ml を加えて脂質のみを抽出し，これを加温してエーテルを蒸発させた後，105°C で 24 時間乾燥し，重量を測定して脂質量を求めた。

2.4 コラーゲンフィブリル電解液の調製

上記精製試料および脱脂精製試料を前報¹⁾と同様に塩酸を加えて膨潤させ，機械的方法で微細化した後，蒸留水および 0.1 N 塩酸を滴下して pH 3.3，コラーゲン濃度約 0.5% の電解液を調製した。

2.5 電着装置および方法

電着に用いた装置として図 1 に示すように塩化ビニル製円筒型（φ 15 cm，長さ 70 cm）電解槽を用いた。この電解槽の中央にステンレス（18-8）製の円筒管（φ 1.6 cm，長さ 70 cm）を挿入して陰極とし，陽極は白金線（φ 0.05 cm，長さ 5 m）をラセン状にして用いた（電極間距離 2.5 cm）。

この電解槽に pH 3.3，濃度約 0.5% のコラーゲンフィブリル電解液をポンプで連続的に送り込み（流量 2 l/min），両極間に 300 V の直流電圧を加え（電流密度 9~10 mA/cm²）で陰極上にコラーゲンを電着させ，成形した湿チューブの上端を無段変速機（シンボ工業社製 TW-A 型）を用いて，1.5 m/min の速度で連続的に引き上げた。電解中は電解液を冷却装置によって 10°C に保った。

2.6 各種機械的強度の測定

上記の各脂質含量の湿チューブをチューブ状で風乾し（水分含量 18%）各種機械的強度の測定用試料とした。この試料を乾燥状態および 25°C 水中に 10 分間浸漬した後の湿润状態で各種機

*1 この報文を「繊維性蛋白質フィルムの電気化学的成形に関する研究（第4報）」とする。

*2 前報（第3報），水口 純，軽部 征夫，小林 武，鈴木 周一，工化，74，134（1971）。

*3 Isao KARUBE, Takashi KANEKO, Shuichi SUZUKI, Jun MIZUGUCHI 東京工業大学資源化学研究所：東京都目黒区大岡山。

1) 水口，軽部，鈴木，工化，70，2123（1970）。

図1 電着装置

1: ステンレス陰極 ($\phi 1.6 \text{ cm} \times 70 \text{ cm}$), 2: 白金線陽極 ($\phi 0.05 \text{ cm} \times 500 \text{ cm}$), 3: 塩化ビニル製電解槽 ($\phi 15 \text{ cm} \times 70 \text{ cm}$), 4: 記録計, 5: 電解液入口, 6: 電解液出口

機械的強度を測定した。

抗張力および伸長率の測定には、チューブ状試料を 10cm に切り取り、ショッパー型抗張力試験機（東洋精機社製，94 型 TSS 式）を用いて測定した。フィルムの厚さは試料の表面積，重量および密度より算出した。耐圧力の試験は耐圧力試験機に一端を閉じた 10cm のチューブを装着し，破裂時の圧力を圧力計で読みとり測定した。引裂強度の測定はチューブ状試料を 10 枚重ね合わせ引裂全長を 2cm として，エルメンドルフ引裂強度試験機（東洋精機社製，63 型荷重式）で測定し，試験機の日盛りの読みの平均値と比較した。各種機械的強度の測定は温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度 $54 \pm 2\%$ で行なった。

3 実験結果および考察

3.1 原料中の脂質含量について

この実験に原料として使用した鯨の腱（丸筋）の断面は直径約 5~6cm のほぼ円型に近く，長さ約 5m のものであり，そのまわりには約 1cm 位の厚さで脂質層が付着している。さらに腱はいくつかの繊維束に分れており，この繊維束の皮膜にも脂質が多量に存在している。今回はこれら脂質層を除去したものを用い，機械的に微細化した試料の脂質を定量した結果その含量は 5.42% であった。これを試料として以後の実験を行なった。

3.2 脱脂法の検討

始めに成牛皮コラーゲンを用いて脱脂法の差異がコラーゲンの性質におよぼす影響を検討した。すなわち，脂質を加水分解する酵素リパーゼおよび有機溶媒【クロロホルム-メタノール (1:1)】を用いて試料中の脂質を除いたものからそれぞれ上記の電気化学的方法によってフィルムを成形し，フィルムの抗張力を比較した結果を表 1 に示す。有機溶媒処理試料およびリパーゼ処理試料からそれぞれ成形したフィルムの抗張力はほぼ同じ値であった。また他の機械的強度についても比較したが，大体同様の結果が得られ機械的性質の差異は余り認められなかった。リパーゼは最も温和な条件下で脂質を加水分解することから，この有機溶媒処理に

表 1 脱脂法の比較

脱脂法	フィルム 脂質含量 (%)	抗張力 (kg/mm^2)
クロロホルム-メタノール*1 (1:1)	0.41	2.96
リパーゼ*2	0.50	2.91

試料：成牛皮コラーゲン
*1 12 時間クロロホルムメタノール処理
*2 48 時間リパーゼ処理

よってコラーゲンの性質はほとんど変化していないものと考えられる。Nikkari らも，同様にクロロホルム-メタノールでコラーゲンを処理してもコラーゲンの性質は変化しない事を報告している²⁾。このように，有機溶媒処理はコラーゲンの性質に影響を与えない事がわかったので，以後の実験は比較的操作の簡単なクロロホルム-メタノールを用いて脱脂処理を行なうこととした。

3.3 フィルムの機械的強度の測定

上記の方法によって成形した乾燥チューブ状フィルムおよび，これを 25°C 水中に 10 分間浸漬した後の湿潤フィルムの抗張力，伸長率，耐圧力，引裂強度をそれぞれ測定した結果を図 2, 3, 4, 5 に示す。

この結果，図 2~5 に見られるように，乾燥フィルムにおいてはフィルム中の脂質含量が減少するに従って抗張力，耐圧力，引

図 2 電着フィルムの抗張力におよぼす脂質の影響

図 3 電着フィルムの伸長率におよぼす脂質の影響

2) T. Nikkari, E. Heikkinen, *Acta. Chem. Scand.*, 22, 3047 (1968).

図4 電着フィルムの耐圧力におよぼす脂質の影響

図5 電着フィルムの引裂強度におよぼす脂質の影響

引裂強度は顕著に増大した。また、抗張力測定の際フィルムの切断時における伸長率を測定した結果、乾燥フィルムにおいては伸長率は増加する傾向が観察されたが、湿潤状態では余り増加しないことが認められた。また、湿潤フィルムの各種機械的強度は、乾燥状態の場合に比べて、脂質含量の減少に伴う顕著な強度の増大を示さなかった。これはフィルムを水中に浸漬している間に吸水して膨潤するためと考えられる。しかし、脂質を除いた試料でフィルムを成形すると明らかに乾燥状態および湿潤状態ともにその機械的強度は増大することが示された。これは、試料中の脂質を除いたためコラーゲンフィブリル同志が緻密にからみ合い、強度が増大したものと考えられる。

3.4 フィルムの吸水量および吸水速度

上記3.3において、湿潤フィルムの各種機械的強度は脂質を除いても乾燥フィルムに比べて増大しないことを述べ、これがフィルムの吸水量と関係があることを推察した。そこで脱脂処理を施して得られた低脂質含量フィルム（脂質含量 0.75%）、脂質含有フィルム（脂質含量 3.40%）の吸水速度および吸水量を比較検討した。その結果を図6に示す。

図6からわかるように、水中に10分間浸漬することによって、低脂質含量フィルムおよび脂質含有フィルムはともに急速に吸水した。しかも、低脂質含量フィルムは脂質含有フィルムに比べて吸水速度が速く、吸水量も多く著しく膨潤することが認められ、これらの現象から低脂質含量フィルムの機械的強度の顕著な増大

図6 電着フィルムの吸水量と吸水速度

が示されなかったものと考えられる。

3.5 フィルムにおよぼす脂質添加の影響

これまででは試料の脂質を除去して各脂質含量におけるフィルムの機械的強度を測定し、脂質がフィルムの性質に与える影響について検討した。次に、脱脂した試料に逆に抽出脂質を加えた試料から、上記の場合と同様な方法によってフィルムを成形し、添加した脂質がフィルムの性質に与える影響について検討した結果を表2に示す。

表2から明らかなように、脱脂精製した試料に逆に脂質を添加すると、乾燥および湿潤状態のいずれの場合においても機械的強度は次第に減少することが示された。脂質の添加は、フィルムの強度をかえて低下させ、上記3.3において得られた事実を裏書きするものであり、脂質はコラーゲンフィブリルの緻密なからみ合いを妨げるのであると推定された。

3.6 電着フィルムの電子顕微鏡写真

脱脂精製試料を用いて上記方法により成形したコラーゲン電着フィルムの電子顕微鏡写真を図7に示す。この写真からわかるよ

表2 電着フィルムにおよぼす脂質添加の影響

フィルムの脂質含量 (%)	抗張力 (kg/mm²)	耐圧力 (kg/mm²/mm)	引裂強度*1	伸長率 (%)
0.22	11.67 (4.52)	81.00 (42.35)	12.0 (72.5)	5.6 (11.6)
5.42	8.60 (3.67)	50.46 (36.36)	6.8 (44.0)	5.1 (14.6)
12.50	8.95 (3.22)	54.72 (26.28)	5.8 (47.0)	5.4 (16.1)

() 内は湿潤状態

*1 引裂強度は測定機の相対目盛

図7 電着フィルムの電子顕微鏡写真

うに、フィブリルが互いに緻密にからみ合ってフィルムを成形している。フィルム中に脂質が含まれると、このフィブリル同志の緻密なからみ合いを妨げ、従ってフィルムの機械的強度が低下するものであろう。

4 総 括

鯨腱、羊腸、牛皮を脱脂精製して電気化学的方法によってフィ

ルムを成形した場合、フィルムの機械的強度として抗張力、耐圧力、引裂強度などは、乾燥状態および湿潤状態ともに著しく増大することがわかった。また、逆に脱脂精製試料に脂質を添加して同様にフィルムを成形すると明らかに機械的強度は減少することがわかった。これらの結果から、脂質はコラーゲンフィブリル同志のからみ合いを妨げるものと考えられる。

セルロース物質の酵素加水分解反応の反応特性

(昭和 45 年 7 月 13 日 受理)

荻原 允隆^{*1}・荒井 健一郎^{*1}・山本 将登^{*2}

セルロース物質の酵素加水分解反応を反応速度論的に取扱うために、まず反応速度式におけるパラメーターを求める方法を検討した。従来のほとんどの報告では還元糖の増加量からパラメーターを求めているが、著者らの市販の粉末セルラーゼを用いた実験では加水分解生成物は主としてグルコースおよびセロビオースであり、これらの割合が反応の経過とともに著しく変化することを認めたので、還元糖の測定から反応速度を追跡することは妥当でないと推定した。次に、加水分解におけるセルロース物質の重量損失からパラメーターを求める方法を検討し、24 時間加水分解後のセルロース物質の重量損失を反応速度とし、Michaelis-Menten の式を変形した Hofstee プロットを用いることによって反応速度パラメーターを精度良く求めることができた。さらにこれらのパラメーターがセルロース物質の微細構造の影響を受けることを認めたので、このようなパラメーターを用いるセルロース物質の微細構造の解析が可能であると推察した。

1 緒 言

最近、セルロース加水分解酵素セルラーゼに関する研究が多く報告されているが、その大部分は酵素の挙動に着目したもので、反応基質としては比較的取扱いやすいカルボキシメチルセルロース (CMC) や粉末セルロースなどが用いられている。この反応の反応速度についてもいくつかの報告¹⁻⁶⁾があるが、従来の研究では還元糖の増加量から反応速度を追跡した例が多い。著者らは市販の粉末セルラーゼを用いてセルロース繊維の加水分解反応を不均一系高分子反応の立場から検討してきたが、この加水分解における可溶性生成物がほとんどグルコースとセロビオースのみであり、この両者の比率は反応の経過とともに著しく変化することを認めた⁶⁾ので、還元糖の測定によって反応のパラメーターを求める方法は必ずしも妥当ではないと推定した。そこで、著者らは加水分解におけるセルロース物質の重量損失から反応速度パラメーターを求める方法を検討し、さらにこの方法を用いて二、三の改質したセルロース物質の加水分解速度パラメーターを求め、その

結果について考察した。

用いた市販の粉末セルラーゼは純度のあまり高いものではなく、また数種の活性、すなわちセルロース鎖の末端からセロビオース単位を切り取る活性、ランダムにセルロース鎖を切断する活性、セロビオースをグルコースに分解する活性などが含まれていると考えられる。したがって、酵素の反応性に重点を置いた理論的取扱いはあまり意味がないと考えられるが、著者らはこの粗セルラーゼの主反応がセルロース鎖のランダムな切断にあることを統計的に確かめており、このような混合物でも一定の組成を有する限りそのセルロース繊維の反応性に重点を置いた検討を行なうことは十分意味があると考えた。

2 実 験

2.1 試 料

試料としては溶解亜硫酸パルプを水中で離解し、水をアセトンで置換してから風乾したもの、およびこれを 40°C の所定濃度の水酸化ナトリウム水溶液で 1 時間膨潤処理した後十分水洗したものを湿潤状態のまま用いた。セルラーゼは市販の粉末セルラーゼ「セルラーゼオノヅカ P 500」をそのまま用いた。

2.2 実験方法

2.2.1 セルラーゼ加水分解 セルラーゼを pH 4.1 の 1/10 規定酢酸緩衝液に溶解し、試料を加えて 40°C で所定時間保持した後、煮沸によって反応を停止させた。つぎにガラスフィルターを用いて残渣をろ別し、水洗した後、105°C で 10 時間乾燥して秤量した。

2.2.2 セルラーゼ加水分解における可溶性生成物の定量⁶⁾ 加水分解残渣のロ液に水酸化ナトリウム水溶液を加えて pH 7.0 とし、動物性半透膜を用いて 24 時間透析した後、透析液を 30°C

*1 Yoshitaka OGIWARA, Kenichiro ARAI 群馬大学工学部 高分子化学科：群馬県桐生市天神町。

*2 Masataka YAMAMOTO 三島製紙株式会社吹田工場：大阪府吹田市御旅町。

1) 雨村明倫, 照井堯造, 醸酵工学, 43, 275, 281 (1965)。

2) 若沢 正, 丹羽富造, 一之瀬炯次, 田中辰雄, 醸酵工学, 41, 40 (1963)。

3) 松葉 豊, 醸酵工学, 41, 47 (1963)。

4) W. Gilligan, E. T. Reese, *Cand. J. Microbiol.*, 1, 90 (1954)。

5) A. D. McLaren, *Enzymologia*, 26, 237 (1963)。

6) 荒井健一郎, 荻原允隆, 角田 正, 繊維学会昭和 45 年春期研究発表会講演要旨。