[農化 第 39 卷, 第 12 号, p. 495~500, 1965]

皮革の熱変性に関する研究 (第1報)

コラーゲンの熱分析について

久保知義, 安積敬嗣* (兵庫農科大学, * 姫路工業大学)

昭和 40 年 7 月 12 日 受 理

Studies on the Thermal Denaturation of Hides and Leathers Part I. The Thermal Analysis of Native and Tanned Collagen

By Tomoyoshi KUBO and Takatsugu AZUMI*

*Hyogo University of Agriculture ; *Himegi Institute of Technology*

Thermal analysis was employed to study the thermal behavior of collagen including native and variously tanned collagen (chrome-, alum-, vegetable-, sulphonyl chloride- and formaldehyde-tanned collagen). The differential thermal analysis (DTA) curves of the native and tanned collagen samples under dry condition all showed distinct endothermic peaks at the temperature region of 50~200°C with the maximum peak at 130°C. The weight changes of the samples determined by thermobalance method, however, were not so distinct. Besides, it was observed that the thermal changes appeared in the peaks were not influenced by the type and the amount of tanning materials used, and the changes were irreversible. From these results, it is assumed that the occurred change is attributable to the heat transformation of the crystalline part of collagen. On the other hand, DTA curves of the wet collagen samples all showed endothermic peaks at the temperature corresponding to shrinkage temperature (T_s) determined by conventional method. The endothermic peak of DTA curve was about 10~17°C lower than the T_s . It is assumed that the endothermic change or shrinkage of collagen in an aqueous medium is resulted from the denaturation of amorphous part of collagen.

(Received July 12, 1965)

緒 論

コラーゲンの熱変性は“収縮現象”または“熱水安定性”としてとり挙げられ, 1900 年代初期の Fahrion⁽¹⁾ 以来非常に多くの報告があり, Nayudamma⁽²⁾ の総説もある。これらの研究は主として 100° までのコラーゲンの熱変性に関する問題であり, 水の存在する状態における加熱現象を取扱ったものである。しかし, 水が存在しないか, または非常に少ない状態での皮革, すなわち, コラーゲンおよび鞣剤結合コラーゲンの熱変性の研究は少なく, 特に 100° 以上での熱変性に関する研究は非常に少ない。

最近, わが国でも合成底の靴が相当量生産されるようになり, この製靴工程の重要な段階の一つである甲革とゴム底との接着において比較的高温 (140~160°) を伴う圧着処理が一般に行なわれている。この場合, 甲革およ

び中底の耐熱性が製品の品質に著しい影響を及ぼすことは衆知の事実であり, このような高温における皮革の熱変性を追求することは現在重要な問題の一つである。

Kanagy⁽³⁾ と Meyer ら⁽⁴⁾ はコラーゲンを 140° まで乾熱処理したとき, ごくわずかに分解するが, この温度まで収縮しなかったと報告している。Lennox⁽⁵⁾ はコラーゲンの水分の減少とともに収縮温度が高くなると述べている。同じく, Kütyanin⁽⁶⁾ は乾燥コラーゲンは 90° まででは変化しないが, 210~250° で急激な変化が認められ, 90~210° の温度範囲ではコラーゲン中の初期水分含量の影響を受け, 水分含量の減少により収縮温度は高くなるが, 225° における最終収縮温度は初期水分含量に無関係であると報告している。最近では, Cassel⁽⁷⁾ がコラーゲンを真空中, 空气中と酸素中で, 125~170° の温度で乾熱処理, または空气中で 100° の温度で湿熱処理 (20

～90% R. H.) を行ない, 一部のアミノ酸の減少と水溶性分の増加を認め, 乾熱の場合は酸化分解, 湿熱の場合は加水分解がおもに起こることを報告している。

しかし, これらの研究はコラーゲンの熱変性の本質にまで及んでいず, また, 鞣剤結合コラーゲンの乾熱変性の究明にまでは至っていないので, 著者らは比較的高温度におけるコラーゲン (なめし処理直前のアルカリ処理したコラーゲン, 以下の文章で同様) および皮革の熱変性を逐次追求することを目的とし, まず基礎的に種々のコラーゲンの比較的高温度における熱変性を知る目的でヘビーカーフより調製したコラーゲンおよび各種鞣剤結合コラーゲンの熱的变化を熱分析により考察した。また従来の熱縮温度測定法と比較するため, 湿熱における示差熱分析をも試みた。

実験方法

1. コラーゲン試料の調製

北米産ヘビーカーフのパット部を常法⁽⁸⁾により水漬, 石灰脱毛, 脱灰, 酵解などの準備工程処理を行なった。

これを試料皮片とし, 種々の鞣剤結合コラーゲンを調製した。ただし熱縮温度測定用試料はコラーゲン試料を乾燥直前に, 背線に平行に長軸をとり 4×0.5 cm に切りとって別に保存した。

(a) 原料コラーゲン : 試料皮片をアセトンで脱脂, 脱水を行ない, ウィレーミルで粉碎し, これを原料コラーゲン試料 (No. 1) とした。

(b) クロム塩結合コラーゲン : 試料皮片 100 部を水 80 部, 食塩 8 部と硫酸 0.7 部の混合溶液とともに振盪機で 2 時間浸酸処理を行ない, 18 時間熟成*し, その後クロム塩処理は水 150 部, 食塩 3 部の溶液に塩基性クロム錯塩として市販の Chromosal B (ドイツ・バイエル染料薬品株式会社製) を試料皮片重量に対して Cr_2O_3 として 1, 2, 3, 4, 5 および 10 % をそれぞれ 1 時間毎 3 回に分けて添加し, 5 時間処理後, 重炭酸ソーダを適量添加して溶液 pH を 4.0 に調製しながら 5 時間振盪処理を行ない, これを 3 日間熟成し, 水洗, 中和, 乾燥したのち粉碎し, 6 種の異なった Cr_2O_3 含量をもつクロム塩結合コラーゲンを得た。これらをコラーゲン試料 No. 2,

No. 3, No. 4, No. 5, No. 6 と No. 7 とする。

(c) アルミニウム塩結合コラーゲン : 試料皮片 100 部を水 100 部, 食塩 5 部と加里明礬 0.5, 2 または 5 部の混合溶液に 24 時間浸漬処理を行ない, 水洗, 乾燥したのち粉碎し, 3 種のアルミニウム塩結合コラーゲンを得た。これらをコラーゲン試料 No. 8, No. 9 と No. 10 とする。

(d) タンニン結合コラーゲン : 試料皮片 100 部を市販のチェストナット・タンニン・パウダーまたはミモサ・タンニン・パウダーの 10, 20 および 30 % 溶液 200 部に浸漬し, 室温で 7 日間処理の後, 2 日間熟成, 乾燥, 粉碎し, 3 種のチェストナット・タンニン結合コラーゲンと 3 種のミモサ・タンニン結合コラーゲンを得た。これらをコラーゲン試料 No. 11, No. 12 と No. 13 および No. 14, No. 15 と No. 16 とする。

(e) スルホニルクロライド結合コラーゲン⁽⁹⁾ : 試料皮片 100 部を小ドラムに入れ, スルホニルクロライドとして市販の Immergan (ドイツ・バジッシェアニリンソーダ株式会社製) 10 部, タラ油 3 部, 炭酸ソーダ 3 部および Bastamol (ドイツ・バジッシェアニリンソーダ株式会社製) 0.3 部の混合物を 1 時間毎に 3 回に分けて添加し, さらに 5 時間回転を続け, 45° の恒温器中に 5 日間熟成した後, 過剰の鞣剤を中性洗剤で洗浄除去し, 水洗, 乾燥, 粉碎し, これをスルホニルクロライド結合コラーゲン (No. 17) とした。

(f) アルデヒド結合コラーゲン : 試料皮片 100 部をホルマリン 0.05, 0.1, 0.5 および 3 % 水溶液 400 部で処理しながら 0.4 % ホウ酸ソーダ溶液を添加して pH を 7.0 に調製し, 24 時間処理した。これを 2 日間熟成し, 十分に水洗を行ない, 乾燥, 粉碎し, 4 種のアルデヒド結合コラーゲンを得た。これらをコラーゲン試料 No. 18, No. 19, No. 20 と No. 21 とした。

2. 鞣剤結合量の測定

クロム結合量はクロム塩結合コラーゲンを SLTC 公定法により Cr_2O_3 と窒素を定量し, 窒素量より求めた皮質物重量に対する Cr_2O_3 % で示した。

タンニン結合量はタンニン結合コラーゲンを SLTC 公定法により分析し, タンニン % を測定した。

アルデヒド結合量は, アルデヒド結合コラーゲンを Highberger と Retzsh 法⁽¹⁰⁾によって測定し, アルデヒド % で示した。

上記の方法によって測定した各コラーゲン試料の鞣剤

* 熟成 : 反応生成物を一定条件の下に保って, 化学変化を一定の要求程度まで進行させること, あるいは現象をいう。たとえば浸酸において, 皮に酸を十分に浸透させ, 均一に結合させるために, 浸酸処理後, 処理液より取り出してさらに積重ね, 室温で一定時間においておくこと。

第 1 表 種々のコラーゲンの鞣剤結合量

コラーゲンの種類	試料 No.	鞣剤処理量 (%)	鞣剤結合量 (%)
原料コラーゲン	1	—	—
	2	1	0.88
	3	2	1.71
クロム-コラーゲン	4	3	2.43
	5	4	3.00
	6	5	4.77
	7	10	7.10
アルミニウム-コラーゲン	8	0.5	—
	9	2.0	—
	10	5.0	—
チェストナット・タンニン-コラーゲン	11	20	3.12
	12	40	5.57
	13	60	9.78
ミモサ・タンニン-コラーゲン	14	20	4.84
	15	40	7.39
	16	60	10.57
スルホニルクロライド-コラーゲン	17	10	—
アルデヒド-コラーゲン	18	0.2	0.08
	19	0.4	0.12
	20	2.0	0.28
	21	12.0	0.44

処理量と鞣剤結合量を第 1 表に示す。なお、鞣剤処理量はコラーゲンに対する百分率で示した。

3. 熱分析方法

(a) 示差熱分析⁽¹¹⁾：示差熱分析は島津製示差熱分析装置 DT-10 型を用い、原料コラーゲンおよび鞣剤結合コラーゲン試料は 45° で 24 時間真空乾燥して用いた。

測定条件は乾熱分析の場合に試料を 50 mg 用い、湿熱分析の場合には 50 mg の試料に水 50 mg を加えて測定した。対照物質には α -アルミナ、昇温速度は 7.5°/min., 感度は $\pm 100 \mu V$, 雰囲気は空気または窒素とし、充填法は白金製の試料セルの最底部に試料をまず充填し、その上部を対照物質の α -アルミナでおおうボトム法⁽¹²⁾を用いた。

(b) 熱天秤分析：熱天秤による熱重量変化の測定は上記装置に島津製熱天秤付加装置 TB-10 型を付加して行なった。測定条件を示すと、試料量は 200 mg, 昇温速度は 5°/min. で、感度は 200 mg, 空気雰囲気中で測定した。

4. 熱縮温度の測定法

熱縮温度測定用試料のうち、クロム結合コラーゲンの場合は 75% (v/v) グリセリン水溶液中⁽¹³⁾で、その他のコラーゲンの場合は水中で熱縮温度測定器⁽¹⁴⁾を用い、加温速度 2°C/min. で測定した。

実験結果および考察

1. 乾熱分析

第 1 図 原料コラーゲンの熱分析

(a) 示差熱分析曲線 (空气中)
(b) 示差熱分析曲線 (窒素中)
(c) 熱重量変化曲線

(a) 原料コラーゲンの熱分析：原料コラーゲンの空气中および窒素中の示差熱分析および熱天秤による重量変化の結果を第 1 図に示す。

コラーゲンの示差熱分析曲線では、130° を頂点とする 50~200° の大きな吸熱ピーク、230° 付近および 300° 付近の吸熱ピークの 3 つの明瞭な熱変化が認められる。そして、空气中および窒素中での示差熱分析曲線を比較すると 350° 付近まで両者に大きな差は認められない。したがって、これら 3 つの示差熱曲線のピークは酸化反応には直接関係がないことが明らかである。一方、熱天秤による熱重量変化曲線においては 100° までに約 5% の重量減少が認められるが、100~200° の温度範囲ではほとんど重量変化が認められない。それ故に、130° 付近

第 2 図 コラーゲンの反復加熱による示差熱分析曲線

(a) は未処理試料の示差熱分析曲線である。

図中の数字は試料熱処理温度を示し、斜線部分は反復加熱による面積の減少を示す。

(50~200°の範囲)の吸熱ピークは熱変性によるものと考えられる。また、200°より高温では著しい重量の減少が起っている。それ故、230°および300°付近のピークはともに熱分解によるものと考えられる。

さらに、130°付近の熱変性について検討を加えるために、同一試料について加熱と冷却を反復して、次第に加熱温度を上昇していくようにして示差熱分析を行なった。この結果を第2図に示した。

第2図から明らかなように、吸熱ピークは冷却によりもとに戻らず、ピーク面積は加熱処理により次第に減少してくることが認められた。このことから、コラーゲンのこの熱変性は不可逆的な構造変化によることが明らかである。

(b) 鞣剤結合コラーゲンの熱分析：種々の鞣剤結合コラーゲンについて原料コラーゲンと同様に熱分析を行なった。その結果を第3図、第4図および第5図に示す。第3図はクロム塩結合コラーゲン、第4図の(a)はミモサ・タンニン結合コラーゲン、そして(b)および(c)はチェストナット・タンニン結合コラーゲン、第5図の(a)はアルミニウム塩結合コラーゲン、(b)はスルホニルクロライド結合コラーゲン、そして(c)はアルデヒド結合コラーゲンの熱分析結果である。

これらの結果を原料コラーゲンの示差熱分析曲線と比較すると、いずれの鞣剤を用いた場合もほとんど類似の

第3図 クロム塩結合コラーゲンの熱分析
(a)は試料 No. 2, (b)は試料 No. 4 の熱分析結果である。実線は空气中、破線は窒素中での示差熱分析曲線を、点線は熱重量変化曲線を示す。

第4図 タンニン結合コラーゲンの熱分析
(a)はミモサ・タンニン結合コラーゲン (No. 14), (b)と(c)はチェストナット・タンニン結合コラーゲンの No. 11と No. 13 の熱分析結果である。

第5図 雑鞣剤結合コラーゲンの熱分析
(a) アルミニウム塩結合コラーゲン (No. 9)
(b) スルホニルクロライド結合コラーゲン (No. 17)
(c) アルデヒド結合コラーゲン (No. 19)

示差熱分析曲線を示し、特に、最初の 130° 付近の吸熱ピークが鞣剤の量や鞣剤の種類によって変らないことや熱重量変化を伴わないことから、この吸熱変化はコラーゲンの結晶部分の融解によることを暗示し、そして井上⁽¹⁵⁾も述べているように鞣剤は主としてコラーゲンの

非結晶部分において架橋結合を行ない、コラーゲンの安定化に関係すると考えられる。しかも 50~200° の熱変性は不可逆的变化であることから、比較的高温処理 (140~180°) を伴う製靴工程の圧着において本質的に安定な革を製造することは従来の鞣し方法では不可能であることを示している。したがって、皮革をこのような高温で処理する場合にはできるだけ低温で、かつ短時間の処理で完結するようにしないと、皮革の強度低下を防ぐことはできないから、皮革の製造方法よりも、加工工程での処理方法のほうがより重要な因子であることを示唆している。

そして、クロム結合コラーゲンの場合に 200~300° における示差熱分析曲線は鞣剤処理により多少の変化が認められるが、これはコラーゲンの非結晶部分の熱分解が鞣剤処理により影響をうけたことを暗示している。またタンニン結合コラーゲンの場合には 200~300° における発熱が他の試料の場合と比較して幾分か大きいようであるが、これはタンニン鞣剤そのものの熱分解の影響と考えられる。

2. 湿熱分析

皮革の重要な熱変性を知る手段として、熱縮温度の測定が現在一般に用いられている。そこで水分存在下での示差熱分析を行なった。2, 3 のコラーゲンの湿熱示差熱

分析による代表的な示差熱分析曲線を第 6 図に示した。

この図に示したように、100° 付近で水の蒸発による大きな吸熱ピークが現われるが、その温度以下に小さな吸熱ピークの肩が認められる。この吸熱ピークは乾熱分析の場合には全く認められなかったもので、第 6 図からもわかるように鞣剤の種類や量によって吸熱ピークの温度が変化することから考えて、これはコラーゲンの非結晶部分の水の存在下での熱変性による吸熱ピークと考えられる。そして、このピークの低温側傾斜と基線との交点温度を湿熱変性温度として表わした。

種々のコラーゲン試料について、このようにして求めた湿熱変性温度と従来の方法による熱縮温度の測定結果を第 2 表に示す。

試料 No.	熱縮温度 (°C)	湿熱変性温度 (°C)
1	60.5	57
2	79.0	64
3	83.0	67
4	90.8	75
5	98.2	83
6	106.6	90
7	110.1	92
8	66.7	58
9	66.7	58
10	69.1	59
11	73.3	64
12	77.4	63
13	79.4	69
14	84.1	66
15	87.4	74
16	86.8	70
17	68.1	58
18	74.7	59
19	77.4	65
20	82.0	67
21	87.0	71

度よりいずれの場合でもかなり低い値が得られている。

そして、両者の関係を図示すると第 7 図に示すようにやはり示差熱分析による湿熱変性温度は熱縮温度より低い温度を示すが、両者に密接な相関関係の存在することが明らかである。

このように示差熱分析による湿熱変性温度が従来の熱縮温度より低い値を示していることはコラーゲンの収縮という形状変化が認められる以前の熱変化を示差熱分析とはとらえることができるので、熱収縮で測定するより時間的なおくれは少ないと考えられる。したがって、正確な湿熱変性の開始温度を知るには示差熱分析のほうがよ

第 6 図 湿熱における示差熱分析曲線

(a) 原料コラーゲン (No. 1)

(b) クロム塩結合コラーゲン (No. 4)

(c) タンニン結合コラーゲン (No. 11)

第7図 各種コラーゲンの熱縮温度と湿熱変性温度との関係

- 原料コラーゲン ○ クロム-コラーゲン
 △ アルミニウム-コラーゲン × タニン-コラーゲン
 ▲ スルホニクロライド-コラーゲン
 ● アルデヒド-コラーゲン

り適切な方法であろう。このことは Witnauer ら⁽¹⁶⁾も指摘している。

以上の結果から、皮革の加熱処理を行なう場合には革中の水分が相当影響するものと考えられ、水分の含有量はできるだけ低いことが望ましい。しかし、この湿熱変性は鞣し方法および鞣剤結合量により著しく変化し、実際の製靴工程では相当の水分を含んだ革が用いられている。そこで、加熱処理の初期では、まず湿熱変性が起こると考えられるから、この影響も無視できないであろう。従って、この点からは湿熱変性温度の高い革を用いたほうが有利と考えられる。

要 約

種々の鞣製革の熱変性を知る目的でコラーゲンおよび鞣剤結合コラーゲンをヘビーカーフより各種の鞣剤を用いて調製し、これらの種々のコラーゲンの熱変性を示差熱分析と熱天秤分析による熱重量変化の測定により検討した。

乾熱示差熱分析により、原料コラーゲンも各種鞣剤結合コラーゲンも、ともに 130° をピークの頂点とする 80～200° の範囲にわたって大きな吸熱ピークを示した。し

かし、この温度範囲において熱天秤による熱重量変化はほとんど認められず、また、鞣剤の量および種類によっても変わらないことより、この吸熱ピークはコラーゲンの結晶部分の融解によるものと考えられる。

また、湿熱示差熱分析によって、熱縮温度よりも 10～17° 低い温度に吸熱ピークが認められた。これはコラーゲンの非結晶部分の水の存在下での変性によるものと考えられ、湿熱変性開始温度を示差熱分析により知ることができた。

なお、本研究は昭和 39 年度日本農芸化学会大会において発表した。

- (1) W. Fahrion : *Collagium*, **339**, 495 (1908).
- (2) Y. Nayudamma : "The Chemistry and Technology of Leather", II, Reinhold Publishing Corporation, 1958, p. 28.
- (3) J. R. Kanagy : *J. Am. Leather Chemists' Assoc.*, **38**, 609 (1941).
- (4) K. H. Meyer, G. V. Susich, E. Valko : *Kolloid-Z.*, **59**, 208 (1932).
- (5) F. G. Lennox : *Biochim. et Biophys. Acta*, **3**, 170 (1949).
- (6) G. I. Kutyanin : *Kolloid Zhur*, **15**, 36 (1953).
- (7) J. M. Cassel : *J. Am. Leather Chemists' Assoc.*, **53**, 507 (1958).
- (8) 東京大学農芸化学教室 : 実験農芸化学, 下巻, 朝倉書店, p. 689 (1960).
- (9) A. Kuntzel : "The Chemistry and Technology of Leather", II, Reinhold Publishing Corporation, 1958, p. 451.
- (10) J. H. Highberger, C. E. Retzsh : *J. Am. Leather Chemist's Assoc.*, **33**, 341 (1938).
- (11) 山本 明 : 島津評論, **18**, No. 4, 5 (1961).
- (12) 高嶋四郎, 安積敬嗣, 前田嘉道 : 日化, **85**, 776 (1964).
- (13) Committee : *J. Am. Leather Chemists' Assoc.*, **49**, 543 (1954).
- (14) 伊藤和彦, 久保和義, 出口公長 : 兵庫農科大学研究報告, **4**, 31 (1959).
- (15) 井上吉之 : 日本皮革技術協会誌, **1**, 10 (1955).
- (16) L. P. Witnauer, A. Wisniewski : *J. Am. Leather Chemists' Assoc.*, **58**, 598 (1964).