コラーゲン膜の膨潤度と透過性

杉 浦 正 昭

(工業技術院化学技術研究所)

平成 3 年 8 月 26 日 受 理

Swelling and Permeability of Collagen Membranes

Masaaki SUGIURA

National Chemical Laboratory for Industry, 1-1 Higashi, Tsukuba,
Ibaraki 305

To elucidate the relationship between the swelling and permeability of reconstituted collagen membranes from hides of cattle, two experiments were done. The permeation rate of KCl through the membranes, the membrane potential, and the swelling of the membranes were measured in the presence of anionic surfactants: sodium decyl (C_{10}), dodecyl (C_{12}), and tetradecyl (C_{14}) sulfates. The membranes swelled as the charge density of the membranes increased. The permeation coefficient of KCl remained in the range of 7.0 to $8.0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$, except at concentrations of C_{14} surfactant above $5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$.

In the second experiment, the swelling of the membranes and the permeation rate of KCl and *p*-nitrophenol through the membranes were measured at various pHs. A C_{12} surfactant or urea was added and *p*-nitrophenol was added again. The swelling was minimum at the isoelectric point of the collagen, except when a C_{12} surfactant was present. The permeation coefficients of KCl and *p*-nitrophenol were affected by the kind of solute. The swelling in the presence of a C_{12} surfactant decreased with a decrease in the pH. The permeation coefficient of *p*-nitrophenol decreased with decreased pH in the range in which acetate buffer was used for the adjustment of pH.

(Received August 26, 1991)

緒 言

動物の皮、腱等から抽出されるコラーゲンは、その特異な分子構造と性質から、近年、医用材料を中心にその利用法が種々検討されているが⁽¹⁾、とくに膜材料としては、その高い膨潤性から、透析膜だけではなく、薬物放出システムやケミカルバルブに応用することが考えられる。

コラーゲン膜の研究では、著者とその共同研究者は、これまで牛皮より抽出したコラーゲンを原料とし、調製したコラーゲン膜およびその化学修飾膜について、アルカリ金属塩の透過性^(2~4)、および吸湿性⁽⁵⁾の研究、ならびに酵素を固定化した膜の基質およびその生成物の透過性^(6,7)の研究を行ってきたが、本研究では、上記膜材料としての利用を念頭におき、コラーゲン膜の膨潤度と透過性の関係を検討した。

アルカリ処理後酢酸により可溶化、製膜したコラーゲンの等電点は pH 5.0 で⁽²⁾、蒸留水中では (pH 5.6 付近)、膜はかなり収縮した状態にあり、これに界面活性剤を加えると、陽イオンおよび非イオン界面活性剤では変化は認められないが、陰イオン界面活性剤ではコラーゲン膜に吸着し、膜は膨潤または収縮を起こす。そこで、本研究では、まず、陰イオン界面活性剤として、アルキル硫酸エステルナトリウム (C_{10} , C_{12} , C_{14}) を用い、これら活性剤の共存下で、塩化カリウムの膜透過速度と膜電位ならびに膜の膨潤度の測定を行い、膜の電荷と膨潤度ならびに透過性の関係を検討した。

次に、緩衝溶液を用い、pH を変え、塩化カリウムおよび *p*-ニトロフェノール (PNP) の膜透過速度と膜の膨潤度の測定を行った。PNP の透過では、さらに陰イオン界面活性剤 (C_{12}) およびタンパク質の変性剤である尿素の共存下で同様な測定を行い、膜の膨潤度と透過性

の関係を検討した。

本研究に用いた上記界面活性剤は、その希薄な濃度において、膜の荷電状態を変化させ、膜の膨潤あるいは収縮を容易に起こすもので、コラーゲン膜を薬物放出システムやケミカルバルブのような膨潤や収縮を利用する膜材料として応用する場合、その性質を調べるうえで有用な添加物質と考えられる。透過物質として用いた塩化カリウムは、陽イオンと陰イオンの移動度がほぼ等しく、そのため、膜の荷電状態を膜電位の値に反映させることができる。一方、PNP は、芳香族系薬物のモデル物質として、またその透過量を吸光度から正確に測定できるため用いられた。

実 験 方 法

1. コラーゲン膜の調製 成牛皮を原料として、その真皮中間層より、Veis らの方法⁽⁶⁾によって精製されたコラーゲン線維(約 3 mm 角の皮片)を用い、先の報告^(6,7)と同様にアルカリ-アミン前処理⁽⁹⁾によって次のように可溶化し、コラーゲン膜を得た。

0.2 M のモノメチルアミンと 1.5 M の水酸化ナトリウムを含む水溶液 250 ml 中に 10 g のコラーゲン線維を加え、5°C の冷蔵庫中に 48 時間保存した。その後、これをステンレス製の目の細かい網のかごで濾過し、溶液を取除いた後、コラーゲン線維を 5% 塩化ナトリウム溶液で 3 回、0.02 M 酢酸溶液で 5 回洗浄した。次に、これを約 250 ml の 0.02 M の酢酸溶液中加入し、5°C の冷蔵庫中に一昼夜保存した。その後、これを濾過して溶液を取除いた後、0.4 M の酢酸溶液 500 ml を加え、20 分間ホモジナイザー (Ivan Sorvall 社製) にかけて皮片を破碎し、これを 5°C の冷蔵庫に保存した。翌日、これに 0.4 M の酢酸溶液 500 ml を加え、20 分間ホモジナイザーにかけて、ふたたび 5°C の冷蔵庫に保存した。次の日、さらに 0.4 M の酢酸溶液 300 ml を加え(全量 1300 ml)、20 分間ホモジナイザーにかけた後、9000×g で 15 分間遠心を行った。その上澄液(コラーゲン濃度、0.4~0.55 g/100 ml)を脱気した後、アクリル樹脂板上に流し、2 日間はゆるやかな扇風機の風により、その後は自然乾燥により徐々に乾燥させ、約 1 週間後、0.06~0.09 mm の膜を得た。この膜より径 47 mm の円形の膜(膜厚誤差 ±0.003 mm 以内の膜)をカッターにより打抜き、これらを脱イオン水の流水中で 4~5 時間洗浄した後、24 時間以上電解透析を行った。これらを

ふたたびアクリル樹脂板上で 2 日間風乾した後、蒸留水に浸漬して、5°C の冷蔵庫に保存し測定に供した。このような処理によって、水に対しほぼ一定の膨潤度を示す膜が得られた。

2. 界面活性剤 実験に用いた陰イオン界面活性剤はアルキル硫酸エステルナトリウム ($C_nH_{2n+1}OSO_3Na$) で、デシル ($n=10$, Lancaster 社製)、ドデシル ($n=12$, 東京化成製) およびテトラデシル ($n=14$, Aldrich 社製) 硫酸エステルナトリウムの 3 種類である。以下本文中ではそれぞれ C_{10} , C_{12} , C_{14} 活性剤と表記する。

3. 膜電位の測定 成書^(10,11), および先の報告⁽¹²⁾に記された方法に準じて膜電位を測定した。ただし、本実験では半セル容量 160 ml, 膜面直径 3 cm のガラス製膜電位セルを用いた。また、電位計は Keithley 610 C 型エレクトロメータ、基準電極は pH メータ用比較電極を用いた。測定温度は 25°C である。膜の両側には、一定濃度 (1.0×10^{-3} M 以下) の界面活性剤を含む濃度の異なる塩化カリウム溶液を加えたが、その濃度比は、2:1 では発生する電位が低く誤差が大きいのので 10:1 とした。測定は塩化カリウムの低い濃度より行い、順次高い濃度の測定を行った。この際、高い濃度の測定に移るとき、低い濃度の溶液をセルより取除いた後、25°C の高い濃度の溶液を加え、10 分以上かきまぜた後、これと同一の溶液を入れかえて膜電位の測定を行った。なお、測定に用いたコラーゲン膜は、あらかじめ 25°C の所定の濃度の界面活性剤溶液に 1 時間浸漬した後、測定に供した。また、測定に用いた水溶液の pH は 5.5~6.0 であった。

4. 透過速度の測定 塩化カリウムおよび PNP (東京化成製) の透過速度の測定装置は、先の報告⁽²⁾で述べたものと同じものを用いた。すなわち、恒温槽で、1 l のビーカーの内部に径 3 cm の円筒形セルを組合わせたものである。膜をその内部セル底部に固定し、内部セルには 30 ml, 外部容器には 600 ml の溶液を加え、それぞれ、一定の速さでかきまぜた。

この測定では、まず界面活性剤共存下で塩化カリウムの透過速度の測定を行った。これは上記膜電位の測定と関連づけるためである。測定に用いたコラーゲン膜は、膜電位の場合と同様、25°C の所定の界面活性剤溶液に 1 時間浸漬した後、内部セル底部に固定し、同じ濃度の界面活性剤溶液 600 ml を外部容器に、15 ml を内部セルに加え、約 10 分後、同じ濃度の界面活性剤と 0.02 M

の塩化カリウムを含む溶液 15 ml を内部セルに加えて測定を開始した。測定温度は 25°C である。この場合、内部セルの塩化カリウムの初期濃度は 0.01 M で、外部容器のそれは 0 である。コラーゲン膜における塩化カリウムの一定時間ごとの透過量は、外部容器の塩化カリウム濃度を電導度により測定し算出した。電導度の測定は、東亜電波 CG 2001 PL 電導度セルを横河ヒューレットパッカード 4255 A 型ブリッジに連結して行った。なお、界面活性剤と塩化カリウム溶液の電導度は、その混合溶液において相加性が認められた。

次に、0.05 M の酢酸-酢酸ナトリウム (pH 4.0, 4.5, 5.0, 6.0) あるいはトリス-塩酸 (pH 9.0) の緩衝溶液を加えて、溶液の pH を一定として、塩化カリウムおよび PNP の透過速度を測定した。また、PNP の透過では、さらに 1.0×10^{-3} M の C_{12} 活性剤および 0.5 M の尿素の共存下で同様な測定を行った。いずれの場合も、透過速度の測定前に、測定と同じ成分の溶液に 25°C で 1 時間浸漬した後、上記の測定と同様、塩化カリウム、PNP 共に、内部セル初期濃度 0.01 M、外部容器初期濃度 0 として測定を行った。外部容器の濃度は、塩化カリウムでは、上記と同様に電導度の測定により、PNP では、一定時間ごとに 0.5 ml を採取し、1 M の炭酸ナトリウム溶液 2 ml を加え、410 nm における吸光度を測定し決定した。この吸光度の測定では、共存物による妨害は認められなかった。なお、0.5 M の尿素を加えた場合、溶液の pH はそれぞれ pH 4.3, 4.6, 5.1, 6.1, 8.9 へ移行した。

また、透過実験中における膜からのコラーゲンの溶出の有無を検討するために、pH 4.0, 6.0, 9.0 (尿素を加えた場合は pH 4.3, 6.1, 8.9) において、0.01 M の塩化カリウムおよび 0.01 M の PNP の共存下で (透過実験と同じ条件で) 膜を 25°C にて 4 時間振盪し、溶出したコラーゲンの量を、先の報告⁽²⁾と同様な方法で測定した。

5. 膨潤度の測定 塩化カリウムおよび PNP の透過速度の測定は、いずれも 3 時間行い、測定終了後膜をセルよりはずし、その透過面を切り取り、表面に付着した水滴を濾紙で吸い取った後、その重量 (W_s) を測定した。その後、これを厚さの均一なポリ塩化ビニル板に挟み、マイクロメータ (三豊製) で膜厚の測定を行ってから、100°C で 1 時間真空乾燥を行い、ただちにその重量 (W_d) を測定した。膨潤度は Cassel らの表示法⁽¹³⁾に従

い、乾燥コラーゲン 1 g 当たりの水分を吸収したコラーゲンの重量によって表わした。界面活性剤のみを共存させた塩化カリウムの透過速度の測定では、膜に収着した界面活性剤および塩化カリウムの量は無視して、膨潤度 (S_w) は、 $S_w = W_s / W_d$ により算出した。

一方、緩衝溶液を加えた場合の膜透過の測定では、共存物の膜への吸着は無視できないので、上記と同様、膨潤した膜の重量 (W_s)、膜厚および乾燥した膜の重量 (W_d) を測定した後、一昼夜多量の脱イオン水中に浸漬して、ふたたび 100°C で 1 時間真空乾燥を行い、ただちにその重量 (W_0) を測定した。この場合、膨潤度は、 $S_w = (W_s - W_d + W_0) / W_0$ により算出した。ただし、この場合も乾燥によって失われる酢酸あるいは塩酸の量は無視される。

実験結果と考察

1. 界面活性剤共存下における膜電位、膜透過および膨潤度

3 種類の界面活性剤を加えた場合の膜電位と塩化カリウムの高濃度側の濃度 (C_1) の関係を Fig. 1 (C_{12} 活性剤) と Fig. 2 [(a) C_{10} 活性剤, (b) C_{14} 活性剤] に示す。 C_{14} 活性剤の 5.0×10^{-4} M 以上の濃度では、塩化カリウムの添加によって活性剤が凝析し、一定の膜電位の値は得られなかった。また、 C_{10} 活性剤では、 1.0×10^{-4} M の濃度において、活性剤を加えない場合 (Fig. 1 参照) と同等の膜電位の値が得られたので、それより低い活性剤濃度の測定は行わなかった。

Kobatake らによれば⁽¹⁴⁾、1-1 型電荷を持つ電解質による膜電位 ($\Delta\psi$) とその電解質濃度 (高濃度側 C_1 、低濃度側 C_2) の関係は次の式で表わされる。

$$\Delta\psi = -\left(\frac{RT}{F}\right) \left[\frac{1}{\beta} \ln \frac{C_1}{C_2} - \left(1 + \frac{1}{\beta} - 2\alpha\right) \times \ln \left(\frac{C_1 + \alpha\beta\theta}{C_2 + \alpha\beta\theta} \right) \right] \quad (1)$$

ただし、

$$\alpha = l_+ / (l_+ + l_-) \quad (2)$$

$$\beta = 1 + (kF\theta / l_+) \quad (3)$$

ここで、 R は気体定数、 T は絶対温度、 F は Faraday 定数、 θ は膜の電荷密度、 l_+ l_- はそれぞれ正、負イオンの移動度、 k は溶液の粘度と膜の網目構造にかかわる定数である。

(1) 式において、 $C_1/C_2 = \gamma(C_1 > C_2)$ の値を一定とし、

Fig. 1. Membrane Potential vs. KCl Concentration (C_1) in the Presence of Sodium Dodecyl Sulfate (C_{12}). Surfactant concentration: $\circ$, 1.0×10^{-3} M; $\bullet$, 5.0×10^{-4} M; $\bullet$, 2.0×10^{-4} M; $\bullet$, 1.0×10^{-4} M; Δ , 5.0×10^{-5} M; $\square$, 2.0×10^{-5} M; $\diamond$, 1.0×10^{-5} M; $\bullet$, surfactant absent. The ratio of KCl concentrations in two aqueous phases separated by the membrane was $C_1/C_2=10$. The polarity of the membrane potential was negative in the source phase with respect to the receiving phase.

C_1 が十分に小さいとすれば、次の式が与えられる⁽¹⁴⁾.

$$|\Delta\phi| \cong \frac{RT}{F} \left[\frac{1}{\beta} \ln \gamma - \frac{(\gamma-1)}{\alpha\beta\gamma} \left(1 + \frac{1}{\beta} - 2\alpha \right) \frac{C_1}{\theta} \right] \quad (4)$$

Fig. 1 と Fig. 2 において、 C_1 の低い濃度 (0.01 と 0.03 M) の値を直線とみなして外挿し、 α は自由溶液中の l_+ , l_- の値⁽¹⁵⁾を用いて計算し、(4) 式より θ を算出すると、Fig. 3 (a) に示す θ と界面活性剤濃度の関係が得られる。一方、透過実験に用いた膜の膨潤度と界面活性剤濃度の関係は、Fig. 3 (b) に示すとおりである。Fig. 3 において、(a) と (b) の曲線の変動は、ほぼ同じ傾向を示す。すなわち、界面活性剤の吸着によって膜の電荷が増大すれば、膜はそれに対応して膨潤すると考

Fig. 2. Membrane Potential vs. KCl Concentration (C_1) in the Presence of Sodium Decyl (C_{10}) and Tetradecyl (C_{14}) Sulfates. (a) C_{10} surfactant concentration: $\circ$, 1.0×10^{-3} M; $\bullet$, 5.0×10^{-4} M; $\bullet$, 2.0×10^{-4} M; $\bullet$, 1.0×10^{-4} M. (b) C_{14} surfactant concentration: $\bullet$, 2.0×10^{-4} M; $\bullet$, 1.0×10^{-4} M; Δ , 5.0×10^{-5} M; $\square$, 2.0×10^{-5} M; $\diamond$, 1.0×10^{-5} M.

えられる。

次に、透過実験において測定された外部容器の塩化カリウム濃度の値 (C_2) から、下記に述べる式によって、みかけの透過係数 (K_a) を算出した。すなわち、膜を横切る塩化カリウムの流束 (J) は、

$$J = K_a(C_1 - C_2)/L \quad (5)$$

である。ここで、 C_1 は内部セルの塩化カリウム濃度、 L は膜厚である。外部容器の溶液の容量を v_2 、膜の有効面積を A 、時間を t とすれば、(5) 式は

$$\frac{v_2}{A} \cdot \frac{dC_2}{dt} = K_a \frac{C_1 - C_2}{L} \quad (6)$$

であるから、(6) 式より

$$K_a = \frac{v_2 L}{A t} \int_0^{C_2} \frac{1}{C_1 - C_2} dC_2 \quad (7)$$

となる。内部セルの塩化カリウムの初濃度を C_1^0 、その溶液の容量を v_1 とし、塩化カリウムの膜への吸着を無

Fig. 3. Charge Density (θ) (a) and Swelling (b) of the Membrane vs. Surfactant Concentration. $\circ$, C_{10} surfactant; Δ , C_{12} surfactant; $\square$, C_{14} surfactant. The swelling was expressed as the total weight of swollen membrane per gram of dry membrane.

視すれば、

$$C_1 = C_1^0 - (v_2/v_1)C_2 \quad (8)$$

であるから、これを(7)式に代入し積分すると、

$$K_a = - \frac{v_2 L}{A t [1 + (v_2/v_1)]} \ln \left[1 - \left(1 + \frac{v_2}{v_1} \right) \frac{C_2}{C_1^0} \right] \quad (9)$$

が得られる。ここで、 $v_1 = 30 \text{ cm}^3$, $v_2 = 600 \text{ cm}^3$, $A = 7.07 \text{ cm}^2$, $C_1^0 = 0.01 \text{ M}$ として各測定における C_2 , L , t の値から、それぞれの K_a の値を計算した。 C_{10} , C_{12} , C_{14} の各活性剤の $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$, C_{14} 活性剤の $5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ の場合および活性剤が存在しない場合の K_a と C_2 の関係を Fig. 4 (a) に示す。他の場合もこれらと同様な傾向で、定常状態では、ほぼ直線となる。そして、定常状態での K_a の値は、 C_{14} 活性剤の 1.0×10^{-3} , $5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ の場合を除いて $7.0 \sim 8.0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ の範囲の値を示した (Table I 参照)。

Kobatake らによれば⁽¹⁴⁾, (1)式に関連して、みかけの透過係数と標準の透過係数 (K_0 , 電荷の影響がないときの透過係数) の比は、次の式により表わされる。

Fig. 4. Apparent Permeation Coefficient (K_a) vs. Concentration of Permeant in the Receiving Phase (C_2). (a) Transport of KCl: Surfactant concentration; $\circ$, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M } C_{10}$; Δ , $1.0 \times 10^{-3} \text{ M } C_{12}$; $\square$, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M } C_{14}$; $\diamond$, $5.0 \times 10^{-4} \text{ M } C_{14}$; $\bullet$, surfactant absent. (b) Transport of PNP: $\circ$, pH 4.0; Δ , pH 4.5; $\square$, pH 5.0; $\diamond$, pH 6.0; $\bullet$, pH 9.0.

$$\frac{K_a}{K_0} = \left[1 - \frac{(\beta-1)(2\alpha-1)}{2(1-\alpha)} \right] \times \left[1 + \frac{(1-\alpha\beta)\theta}{C_1 - C_2} \ln \left(\frac{C_2 + \alpha\beta\theta}{C_1 + \alpha\beta\theta} \right) \right] \quad (10)$$

透過実験から得られた K_a と C_2 の関係から、 $C_2 = 2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ における K_a の値を求め、次に膜電位の値から得られた β および θ の値を用い、(10) 式より $C_2 = 2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ [C_1 は (8) 式より計算] における K_a/K_0 の値を計算した。さらに、この値と前記 K_a の値から K_0 を算出した。これらの結果を Table I に示す。ここで K_0 は、次の因子を含む。

$$K_0 = s_0 D_0 \quad (11)$$

$$D_0 = (2RT/F) l_+ l_- / (l_+ + l_-) \quad (12)$$

ただし、 s_0 は膜の単位面積当たりのイオンの入りうる細孔 (断面) の総面積、 D_0 は電解質の拡散係数である。なお、 β より得られる k の値ならびに (11) 式における s_0 の値を Table I に併記する。

Table I の値が示すように、界面活性剤濃度の高いところで K_a/K_0 の値は減少し、 K_0 の値は増大した。こ

Table I. Values of K_a , K_a/K_0 , K_0 , k and s_0 for the Membrane Transport of KCl in the Presence of Surfactants

Surfactant concentration (M)	$K_a \times 10^8$ (cm ² /sec)	K_a/K_0	$K_0 \times 10^8$ (cm ² /sec)	$k \times 10^3$ (cm ⁵ /J·sec)	s_0	
C ₁₀	1.0×10^{-3}	7.98	1.85	4.31	2.44	0.217
	5.0×10^{-4}	7.79	1.98	3.93	4.48	0.197
	2.0×10^{-4}	7.60	2.10	3.62	4.91	0.182
	1.0×10^{-4}	7.40	2.19	3.38	7.20	0.170
C ₁₂	1.0×10^{-3}	7.65	1.40	5.46	0.43	0.274
	5.0×10^{-4}	7.68	1.51	5.09	0.89	0.256
	2.0×10^{-4}	7.72	1.84	4.20	3.36	0.211
	1.0×10^{-4}	7.54	1.96	3.85	3.99	0.193
	5.0×10^{-5}	7.92	2.01	3.94	4.14	0.198
	2.0×10^{-5}	7.65	2.11	3.63	4.71	0.182
	1.0×10^{-5}	7.80	2.18	3.58	5.71	0.180
	2.0×10^{-4}	7.27	1.70	4.28	2.72	0.215
C ₁₄	1.0×10^{-4}	7.39	1.95	3.79	2.85	0.190
	5.0×10^{-5}	7.60	2.00	3.80	3.55	0.191
	2.0×10^{-5}	7.65	2.03	3.77	4.29	0.189
	1.0×10^{-5}	7.54	2.11	3.57	4.71	0.179

K_a : apparent permeation coefficient calculated from Eq. (9).

K_a/K_0 : calculated from Eq. (10).

K_0 : standard permeation coefficient.

k : a constant which is considered to depend on the viscosity of the solution and the structural details of the polymer network of which the membrane is composed. It was calculated from Eq. (4).

s_0 : effective cross-sectional area per unit area of the membrane for the electrolyte solution. It was calculated from Eq. (11).

The values of K_a , K_a/K_0 , K_0 and s_0 were calculated at $C_2=2.0 \times 10^{-4}$ M.

C₁₀: sodium decyl sulfate,

C₁₂: sodium dodecyl sulfate,

C₁₄: sodium tetradecyl sulfate.

れは膜の細孔が大きくなり(膨潤により s_0 が増大), イオンの透過に対し, 膜の電荷の寄与が少なくなることである。しかし, K_0 と膜の膨潤度の値を比較すると, 必ずしも同じ傾向ではなく, C₁₄ 活性剤の 2.0×10^{-4} M の濃度では, 膨潤度が低い値を示すにもかかわらず K_0 の値は大きい。C₁₀, C₁₂ 活性剤の高い濃度では, K_0 の値と膨潤度は共に高く, 上述の解釈が当てはまると思われるが, C₁₄ 活性剤のようにアルキル鎖の長い活性剤では, 膜の表面のみに吸着し, また高い塩濃度でその一部が膜表面に凝析するために異常な値を示すものと考えられる。また, k の値は, 前述のように, 溶液の粘度と膜の網目構造にかかわる値, すなわち溶液の網目による粘性抵抗に依存する値であるから, 膜が膨潤し, s_0 の値の大きいところでは, k は小さい値を示し, イオンの透過が網目構造の影響を受けなくなると考えられる。

2. PH 変化における膜透過と膨潤度

緩衝溶液を加えて, 溶液の pH を変えた場合の PNP の透過実験より, (9) 式を用いて得られた K_a と C_2 の関係を Fig. 4 (b) に示す。この PNP の透過においても, 塩化カリウムの場合と同様に, 定常状態では直線関係を示した。その他の透過実験においても同様である。すべての透過実験より得られたこの直線関係から, 塩化カリウムでは $C_2=2.0 \times 10^{-4}$ M, PNP では $C_2=6.0 \times 10^{-5}$ M における K_a の値を求めた。その結果を Table II に示す。また, この表には膨潤度の測定値を併記する。

C₁₂ 活性剤を加えた場合を除いて, 膨潤度は等電点 (pH 5.0) 付近で最小となるが, K_a は溶液中の溶質の種類, とくに緩衝溶液の種類によって異なる値を示した。一方, C₁₂ 活性剤を加えた膜では, pH が低いほどその膨潤度は低下した。また, K_a の値は, pH 6.0 以下

Table II. Values of K_a , S_w and J_s for the Membrane Transport of KCl and *p*-Nitrophenol (PNP) at Various pHs

Permeant (Added solute)* pH	$K_a \times 10^6$ (cm ² /sec)	S_w (g/g)	$J_s \times 10^{10}$ (mol/cm ² .sec)
KCl	4.0	18.6	15.6
	4.5	17.8	8.0
	5.0	10.1	6.9
	6.0	15.8	8.8
	9.0	13.4	11.3
PNP	4.0	6.33	15.8
	4.5	3.76	7.8
	5.0	3.63	6.7
	6.0	4.10	8.1
	9.0	2.84	10.6
PNP (1.0×10^{-3} M C_{12} surf.)	4.0	2.57	3.6
	4.5	3.03	4.5
	5.0	3.34	5.3
	6.0	3.88	8.3
	9.0	2.69	10.8
PNP (0.5 M urea)	4.3	6.11	14.7
	4.6	4.34	7.5
	5.1	3.83	6.2
	6.1	4.10	7.9
	8.9	2.92	10.1

* To the solution, 1.0×10^{-3} M C_{12} surfactant or 0.5 M urea was added.

S_w : swelling of membrane.

J_s : flux of permeant (per unit area of swollen membrane).

The values of K_a and J_s for KCl and PNP were calculated at $C_2 = 2.0 \times 10^{-4}$ and 6.0×10^{-5} M, respectively.

Table III. Amounts of Collagen Dissolved from Its Membrane in the Presence of Various Solutes for 4hr at 25°C

Solute	pH	Amount of collagen dissolved (g/100 g. membrane)
0.01 M KCl	4.0	0.11
	6.0	0.08
	9.0	0.19
0.01 M PNP	4.0	0.11
	6.0	0.10
	9.0	0.12
0.01 M PNP + 1.0×10^{-3} M C_{12} surfactant	4.0	0.10
	6.0	0.16
	9.0	0.30
0.01 M PNP + 0.5 M urea	4.3	0.20
	6.1	0.29
	8.9	0.26

The pH of the solution was adjusted with 0.05 M sodium acetate (pH 4.0 to 6.1) or Tris-HCl (pH 8.9 and 9.0) buffers.

Fig. 5. Swollen Thickness vs. Swelling for the Membranes Obtained from a Large Collagen Film.

の酢酸緩衝溶液中では、pH の低下とともに低下した。

本実験に使用した膜のなかで、同一乾燥膜より切取った膜 (厚さ約 0.09 mm) について、その膨潤した膜厚を膨潤度に対してプロットすると、Fig. 5 に示す関係が得られる。この図が示すように、膜厚は膨潤度の増加とともに、ほぼ直線的に増加した。このことは膜は面積方向よりも厚さ方向に大きく膨潤することを示す。これは乾燥の際に、膜はアクリル樹脂板に付着し、面積方向に張力がかかった状態で乾燥するためと考えられる。

ここで、Fig. 5 に示した直線関係がすべての膜に適用できると仮定して、測定した膨潤度の値から膜厚を計算し、(5) 式に従って流束を計算すると、Table II に併記した値 (J_s で示す) が得られる。本研究に用いた膜では、上述のように、面積方向の膨潤が小さいので、膜がかなり大きく膨潤しても、単位時間内に膜を透過する塩化カリウムおよび PNP の量は、あまり増加しないと考えられる。なお、0.01 M の塩化カリウムおよび PNP の共存下における各 pH の膜からのコラーゲンの溶解量の測定結果を Table III に示す。溶解量はいずれも 0.3% 以下で、透過実験等の結果には影響をおよぼさないと考えられる。

要 約

牛皮から得られた再生コラーゲン膜の膨潤度と透過性の関係を明らかにするために、2 種類の実験を行った。その 1 つは、界面活性剤、アルキル硫酸エステルナトリウム (C_{10} , C_{12} , C_{14}) の共存下で、塩化カリウムの膜透過速度、膜電位ならびに膜の膨潤度の測定を行った。膜の膨潤度は、膜の電荷密度の上昇とともに上昇した。ま

た、塩化カリウムの透過係数は、一部を除いて、 $7.0 \sim 8.0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ の値を示した。

第2の実験では、緩衝溶液を加えて、種々の pH において、塩化カリウムおよび PNP の膜透過速度と膜の膨潤度の測定を行った。この PNP の実験では、さらに C_{12} 活性剤あるいは尿素の共存下で測定を行った。膜の膨潤度は、 C_{12} 活性剤を加えた場合を除いて、コラーゲンの等電点で最小値を示した。一方、塩化カリウムと PNP の透過係数は、溶液に加えられた溶質の種類によって異なる値を示した。 C_{12} 活性剤を加えた実験では、膨潤度は pH の低下とともに低下した。また、PNP の透過係数は、酢酸緩衝溶液を加えて pH 調節を行った領域では、pH とともに低下した。

- (1) 宮田暉夫：皮革化学，28，75—90 (1982)。
- (2) 杉浦正昭，新保外志夫，吉川正義，豊田春和：農化，48，215—220 (1974)。
- (3) 杉浦正昭，新保外志夫，吉川正義，豊田春和：農化，48，493—498 (1974)。
- (4) 杉浦正昭，新保外志夫，豊田春和：農化，49，

- 563—564 (1975)。
- (5) 杉浦正昭，新保外志夫，吉川正義，豊田春和：農化，49，545—551 (1975)。
- (6) 杉浦正昭，豊田春和：農化，51，703—708 (1977)。
- (7) 吉川正義，杉浦正昭：化技研報，84，459—463 (1989)。
- (8) A. Veis, J. Anesey, and J. Cohen : *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 55, 548—563 (1960)。
- (9) T. Fujii : *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 350, 1257—1265 (1969)。
- (10) 日本化学会編：「実験化学講座8 高分子化学(下)」，丸善，1957，pp.182—184。
- (11) H. T. Tien : in "Bilayer Lipid Membranes," Marcel Dekker, 1974, pp.507—524。
- (12) 杉浦正昭：農化，47，563—569 (1973)。
- (13) J. M. Cassel and E. McKenna : *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 49, 553—574 (1954)。
- (14) Y. Kobatake, N. Takeguchi, Y. Toyoshima, and H. Fujita : *J. Phys. Chem.*, 69, 3981—3988 (1965)。
- (15) 日本化学会編：「化学便覧，基礎編Ⅱ」，丸善，1966，pp.1041—1042。