

# 繊維に加工したコラーゲンの定量分析

堂ノ脇 靖巳<sup>\*1</sup>

## Investigation of Quantifying Collagen Processed into Fibers

Kiyoshi Donowaki

繊維の機能加工は、製品の差別化や消費者の快適性向上において重要であるが、その機能材料の固着量、固着保持率も重要な訴求点になると考えられる。本稿ではコラーゲン加工した繊維においてコラーゲンに特異的な簡易定量方法の検討を行うとともに、この方法を用いたコラーゲン加工の挙動、既存繊維製品の洗濯耐久性について調査を行ったので報告する。

### 1 はじめに

世界の繊維構成比は化学繊維が72 %を占め<sup>1)</sup>、今後も増加すると予想されている。一方、化学繊維は皮膚に対する悪影響が懸念されており<sup>2)</sup>、快適性向上のために極端なpH変化を阻害し、保湿性などの機能も有する蛋白質の加工が行われており、今後も重要な繊維加工技術であると言える。例えば、ハンドケア繊維製品としてコラーゲン加工したナイロン糸で製編した手袋などがある。しかしながら、これらの製品の多くはコラーゲン加工量が明確ではない、洗濯などの耐久性が分からないなどの課題がある。

蛋白質の定量分析は、食品やバイオ分野で活発に検討がなされ、現在では蛋白質を分解したアミノ酸に色素や蛍光剤を結合させ、液体クロマトグラフィーにて定量を行うアミノ酸分析方法がある<sup>3)</sup>。しかしながら、この手法は機器が高額であること、蛋白質の分解に強酸（塩酸）を使用するため耐酸性がないナイロンなどではアミノ酸量が相対的に大きく減少するため、検出しにくくなる欠点がある。

本報告では繊維に加工したコラーゲンの定量方法について、染色加工工場で実施可能で、かつコラーゲンに特異的な呈色による簡易定量方法の検討を行った。一つ目の方法はコラーゲン特有のアミノ酸であるヒドロキシプロリンをクロラミンT と反応させることでピロールに変換させ、さらにエールリッヒ試薬と反応させて呈色させた。二つ目は水溶性シリウスレッド（ダイレクトレッド80）がコラーゲンと錯体結合して水不溶性になることを利用し、繊維をシリウスレッドで染

色してコラーゲンの定量ができるか検討を行った。

また検討した定量方法を用いて、ナイロンのコラーゲン加工量の分析、および既存のコラーゲン加工繊維製品の洗濯耐久性を評価した。

### 2 実験方法

#### 2-1 ヒドロキシプロリン呈色

コラーゲンはフィッシュコラーゲンペプチド SVF（旭陽化学工業（株））を用いた。加工する繊維の絶乾重量は（株）エー・アンド・ディ製水分計MS-70で測定し、既報<sup>4)</sup>に従って実験を行った。コラーゲン固着量は560 nmの吸光度を日本分光（株）製紫外可視分光光度計V-650で測定して予め作成した検量線を用いて $\mu\text{g/g-fiber}$ として求めた。

#### 2-2 シリウスレッド染色

浴中のコラーゲン定量を行った。コラーゲンとシリウスレッドの水不溶物を遠心分離で沈殿させ、上澄み液を除去した後、0.1 %ギ酸水溶液を加えて超音波処理および遠心分離を行って洗浄した。2回洗浄を行った後、0.1 N水酸化カリウム水溶液で再溶解させて540 nmを測定した。また、繊維の染色は浴比1 : 10の0.1 %ギ酸を含む0.1 %シリウスレッド水溶液中、60℃、60分間振盪させて行った。水洗、乾燥後に日本電色工業（株）製色差計NF-333を用いて未処理の繊維との色差 $\Delta E^*$ を求めた。

#### 2-3 コラーゲンの加工

各濃度のコラーゲン水溶液、および5 %水系ブロックドイソシアネート架橋剤TZ-1372（北広ケミカル（株））を使ってナイロン手袋にコラーゲンを加工した。

#### 2-4 コラーゲン加工繊維製品の耐洗濯性試験

試験用サンプルとしてコラーゲン加工糸で編んだ保

\*1 化学繊維研究所

湿手袋「モイスト・コート®ライト」((株)ワールドグローブ)を用いた。洗濯方法は、JIS L 0844 洗濯に対する染色堅ろう度試験方法を用いて、A-2法(石けん5 g/L, 浴比1:20, 50 °C, 30分), およびA-7法(石けん5 g/L, 炭酸ナトリウム2 g/L, 浴比1:20, 95 °C, 240分)で行った。

### 3 結果と考察

#### 3-1 ヒドロキシプロリン呈色

濃度が異なるコラーゲンをを用いてヒドロキシプロリン呈色反応を行い、図1のように560 nm付近の吸収変化が観測できた。各測定サンプルに含まれるコラーゲン濃度と吸光度(Abs)のプロットから検量線を求めた(図2)。この相関係数は0.998以上となり、コラーゲン定量に有用であることが示された。

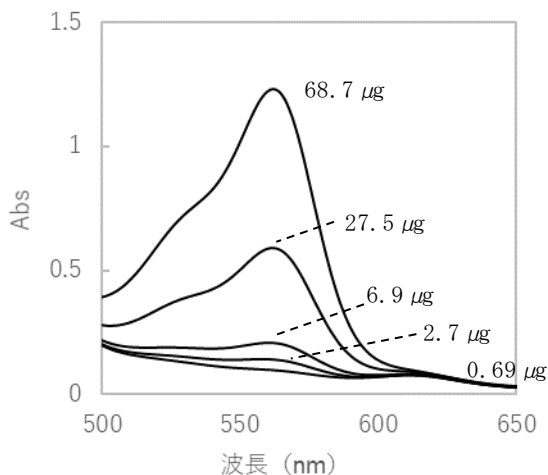


図1 コラーゲン量によるヒドロキシプロリン呈色挙動 (UVスペクトル)

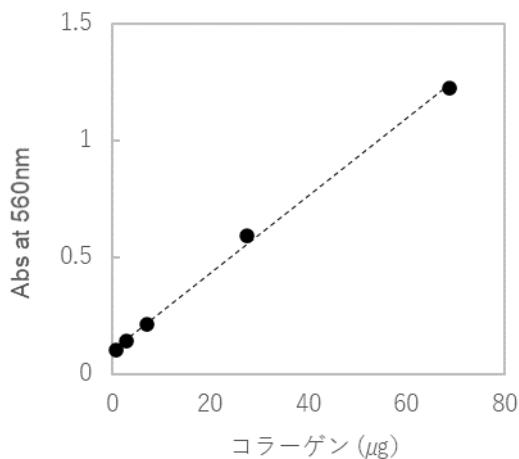


図2 コラーゲン定量のための検量線

#### 3-2 シリウスレッド染色

同じように各濃度のコラーゲンとシリウスレッドの錯体形成を行い、洗浄後、アルカリで再溶解させたところ540 nm付近の吸収が観測された。各コラーゲン濃度に対する吸光度をプロットすると図3のようになった。コラーゲンが28.6, 71.4 μgでは吸光度が大きくなったため10倍希釈して測定し、図3では補正を行ってプロットしたが、特に高濃度側での相関性が低かった。これは、錯体形成量が多くなると洗浄工程で誤って上澄み液と同時に除去する可能性があり、操作によっては誤った分析結果になると考えられる。

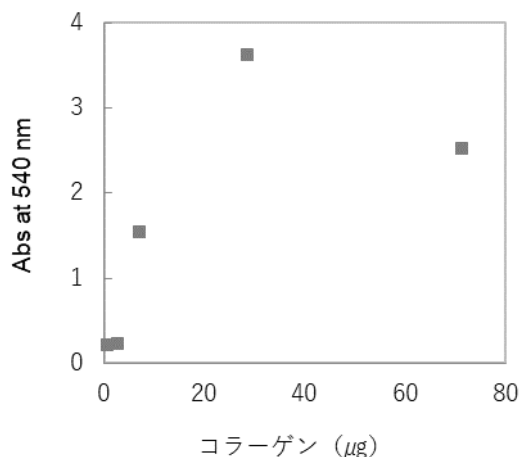


図3 コラーゲン-シリウスレッド溶液(0.1 N KOH水溶液)の検量線

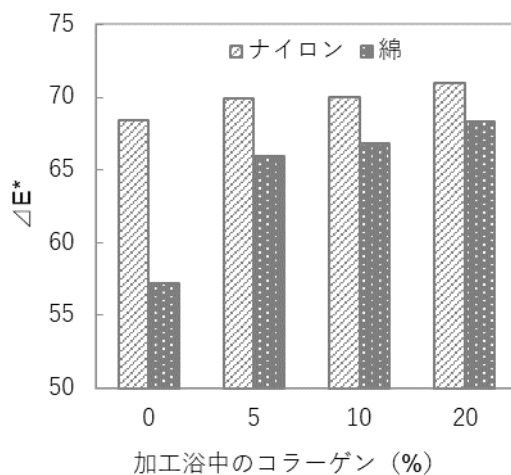


図4 シリウスレッドによるコラーゲン加工繊維の染色性

また、シリウスレッドは直接染料であり、繊維を染色できる。さらにコラーゲン加工された繊維では錯体形成も加わるために濃色に染色できる可能性がある。

そこで、繊維の染色によるコラーゲン定量を検討した。図4にコラーゲン加工したナイロンの結果を示す。ナイロンの $\Delta E^*$ は未処理との差が最大2.5であり、定性的な判断も困難であると考えられる。また、比較としてコラーゲン加工した綿の染色結果も図4にあわせて示す。未処理と5 %コラーゲン水溶液で加工した綿では $\Delta E^*$ が8.7向上し、コラーゲン加工の効果が示唆され、定性的な判断は可能であった。しかし、加工浴中のコラーゲン濃度に対してはナイロンと同じく $\Delta E^*$ の変化量は少なく、定量的な判断は困難であった(図4)。

以上の結果から、シリウスレッドを用いたコラーゲンの定量は困難であると考えられた。また、これらの小さい変化量からコラーゲンは繊維に固着し難いことが示唆された。

### 3-3 コラーゲン加工した繊維のコラーゲン定量分析

上述した定量方法の検討結果からヒドロキシプロリン呈色を採用してコラーゲン加工繊維のコラーゲン定量分析を行った。ナイロン手袋での加水分解ではナイロン自体も溶解するが、この方法では560 nm付近のピークが観測でき、図5のように固着量を算出できた。しかし、加工浴中のコラーゲン濃度の依存性は小さく、仕込み量に対する固着率も0.1 %未満とほとんど固着できていないことが明らかとなった。

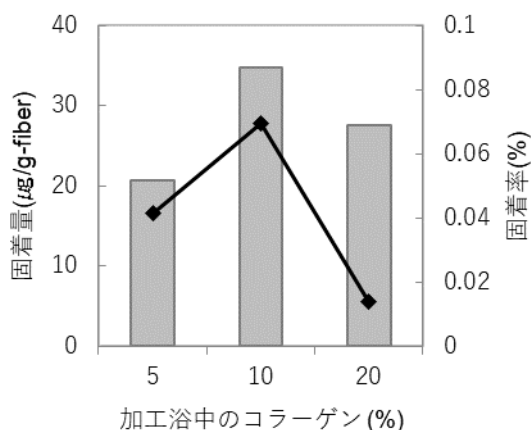


図5 コラーゲン濃度に対する固着量

### 3-4 コラーゲン加工繊維の洗濯耐久性

機能性繊維を用いた雑貨やアパレル製品は頻りに洗濯を繰り返すため、その機能性保持が問われる。コラーゲン加工した繊維製品も洗濯に対するコラーゲン保持率評価についての要求が多い。そこで、ヒドロキシプロリン呈色による洗濯前後のコラーゲン保持率を求めた。図6に結果を示すが、未処理を保持率100 %とす

るとJIS L 0844 A-2, A-7の順に保持率が低下した。A-7法は温度、時間、アルカリ条件とも厳しい条件であるが、70 %近い保持率が示された。

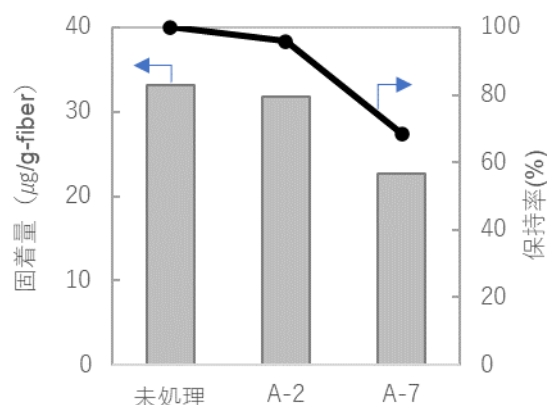


図6 各種洗濯条件におけるナイロン手袋製品のコラーゲン保持率

## 4 まとめ

繊維に加工したコラーゲンの定量分析の検討について報告した。これらの結果から、ヒドロキシプロリン呈色によるコラーゲンの定量が最も相関性が良く、加工量や保持率を評価できた。今回はナイロン、綿へのコラーゲン加工結果を報告したが、コラーゲン加工量は数十 μg/g-fiberと少なく、その固着率は0.1 %に満たない結果であった。今後はコラーゲン加工における固着率向上が課題であると考えられる。

## 5 謝辞

最後に、本研究を遂行するにあたり、各種サンプルを提供いただいた各機関に感謝申し上げます。また本研究は科研費(19K02388)の助成を受けたものである。

## 6 参考文献

- 1) 日本化学繊維協会「内外の化学繊維生産動向2018年」<https://www.jcfa.gr.jp/mg/wp-content/uploads/2018/06/ed0d7cac100ad6f59f4297632c0a77c8.pdf>
- 2) 水谷千代美ら, 染色化学討論会発表要旨集, 22-23(2017)
- 3) 例えば, <https://onl.tw/HEjWPFm>
- 4) 永谷康典ら, 薬学雑誌, 106 (1), 41-46 (1986)