

ウールケラチンを利用した複合多孔体の開発

金山賢治^{*1}、吉村 裕^{*1}、中西裕紀^{*1}

Preparation of the Porous Composite Material of Wool Keratins and Polycaprolactone

Kenji KANAYAMA^{*1}, Hiroshi YOSHIMURA^{*1} and Yuki NAKANISI^{*1}

Owari Textile Research Center,AITEC ^{*1}

羊毛から還元抽出したケラチンと生分解性樹脂のポリカプロラクトン(PCL)との複合多孔体を加熱圧縮成形／脱塩処理により作製し、ケラチン単一多孔体の「強く、脆い」という問題点を解決し、可撓性を付与したケラチン/PCL 複合多孔体を開発した。また、多層多孔体の開発を検討した結果、ケラチン及び PCL の各単一組成からなる二層多孔体は体積膨潤率の違いにより変形が生じるが、三層構造にすることで変形が生じないことから、多層構造の複合多孔体において表裏で対称構造とすることで変形のない多孔体を成形出来ることが分かった。

1. はじめに

ケラチンは髪、羊毛、爪などを構成する繊維状タンパク質である。タンパク質のアミノ酸配列から、ケラチンの分子骨格には比較的多くのシステイン残基が存在し、それらが分子間ジスルフィド架橋結合で結ばれている。この架橋構造を利用してケラチン 100%からなる多孔体の作製法をこれまで開発してきた¹⁾。しかし、この多孔体を三次元の培地・足場材等に活用するには「強く、脆い」という問題を有していた。このためにケラチンと生分解性高分子とを複合させることを検討し、その複合素材としてゼラチンを試みたが、多孔体作製にはグルタルアルデヒド等の架橋剤を必要とし、生体材料としては不向きなものであった。

そこで、今回医用材料としても用いられ、乾燥時でも柔らかく弾性の高い PCL²⁾を使用し、可撓性を付与することで、ケラチン単体での多孔体の問題点を解決することを試みた。複合化させるケラチンと PCL との比率を変えて、それぞれの多孔体の圧縮率、弾性率、剛軟度、含水率、密度、通気抵抗、体積変化の物性を評価することで、どの比率がより良い機能をもった多孔体かの検討を行った。

また、ケラチン多孔体、PCL 多孔体の単一層から成る多層構造を作製して、表裏、内外での違いを作ることで、さらに幅の広い利用ができるかどうかの検討も行った。

2. 実験方法

2.1 試料

2.1.1 ケラチン

羊毛を二亜硫酸ナトリウム、尿素、ドデシル硫酸ナトリウムの混合水溶液に加えて 100℃、30 分間還元処理することにより、羊毛からケラチンを抽出した。そして、得られたケラチン水溶液をセルロースチューブ（分画分子量：12,000～14,000）に充填し 3 日間透析した後、ロータリーエバポレーター（N-11、東京理科器械(株)製）で濃縮した。そして、精製ケラチン水溶液を 60℃でスプレードライ乾燥（Pulvis Mini-Spray GA32、ヤマト科学(株)製）して、ケラチン粉末とした。

2.1.2 ポリカプロラクトン

ペレット状態の PCL（ダイセル化学工業株式会社製、品名：PLACCEL H7）を使用した。

2.2 多孔体の作製

2.2.1 複合多孔体の作製

複合多孔体作製のために、まず PCL ペレットをテトラヒドロフラン溶液(THF)の中に 5%になるように溶解した。金枠に尿素、粒径を整えた(100 μm～300 μm)塩化ナトリウム(NaCl)、複合多孔体のケラチン濃度が(0、13、28、50、100%)となるようにケラチンを配合し、スキージで高さを揃え静置した。ここに PCL 溶液を全体に行渡らせ、THF がなくなるまでしばらく置いた。出来上がった試料板を大きさ 40mm×40mm に切り出し、テフロンシートで挟み、温度 140℃で加熱した金型で圧力 30MPa、5 分間加熱圧縮成形した。その後、水中で脱塩し、NaCl を鑄型とした多孔体を作製した。脱塩処理後の濡れた状態を Wet とした。さらに Wet 多孔体の水

^{*1}尾張繊維技術センター 加工技術室

をアルコール置換した後、乾燥させたものを Dry とした。

2.2.2 多層多孔体の試作

ケラチン単体、PCL 単体、ケラチンと PCL 複合体の試料板を用いて成形、多層にして多孔体を作製した。試料板や多孔体の作製方法は上記 2.2.1 で示したとおりである。以下の多層多孔体を試作した。

- ・ケラチン/PCL の二層多孔体
- ・PCL/ケラチン/PCL の三層多孔体
- ・ケラチン/PCL の三層傾斜多孔体
- ・ケラチン単一成分の多孔体・フィルムの二層構造体

2.3 複合多孔体の物性評価

2.3.1 ケラチン、PCL 複合体の見掛け密度、体積変化、通気抵抗

作製した各比率の Dry 複合多孔体 3 枚を測定試料とした。見掛け密度は(「見掛け密度」= (Dry 状態の多孔体質量/Dry 状態の多孔体体積))で表し、体積変化は(「体積変化」= ((Wet 多孔体体積 - Dry 多孔体体積) / Wet 多孔体体積))により算出し、通気抵抗は KES 通気度試験機(KES-F8-AP1 カトーテック(株)製)により測定した。

2.3.2 ケラチン、PCL 複合体の含水率

作製した各比率の複合多孔体の Wet 状態の質量を湿質量、Dry 状態の質量を乾質量と表して、含水率は(「含水率」= ((湿質量-乾質量) / 乾質量) × 100)で求めた。

2.3.3 ケラチン、PCL 複合体の圧縮率と圧縮弾性率

作製した各比率の Wet、Dry 状態の複合多孔体を用いて圧縮試験機により圧縮率、圧縮弾性率を測定した。試験方法は JIS L 1096 に準用し、試験条件は加圧面積 4cm²、初荷重 40g、圧縮荷重 400g とした。

2.3.4 ケラチン、PCL 複合体の剛軟度

作製した各比率の Wet、Dry 状態の複合多孔体を用いて、ガー式試験機(東洋精機(株)製)の測定値から剛軟度を算出した。

3. 実験結果及び考察

3.1 ケラチン/PCL 複合、多層多孔体の構造

3.1.1 ケラチン/PCL 複合多孔体の構造

ケラチン/PCL 複合多孔体を図 1 に載せる。複合多孔体はそり返る事なく、まっすぐな状態の多孔体となった。また、図 2 の複合多孔体の断面から、ケラチンと PCL が均一に混ざった状態であること、脱塩されたことによりスポンジの穴が生成されていることが見て取れる。

3.1.2 ケラチン/PCL 多層多孔体の構造

ケラチン/PCL 多層多孔体の平面、断面を図 3～5 に載せる。図 3 からフィルム+多孔体の多層では界面剥離がおきるが、図 3～5 のように多孔体+多孔体では界面剥離はおきず、層を成していることがわかる。しかし、



図 1 複合多孔体全体

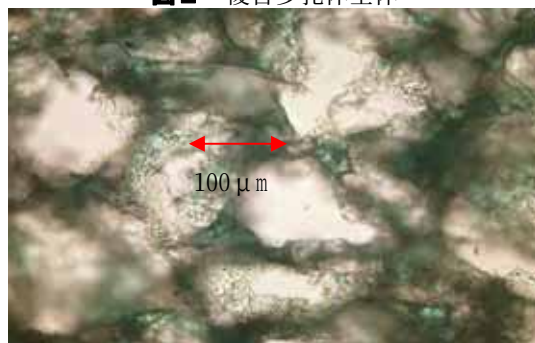


図 2 複合多孔体の断面



図 3 ケラチンフィルムと多孔体の剥離

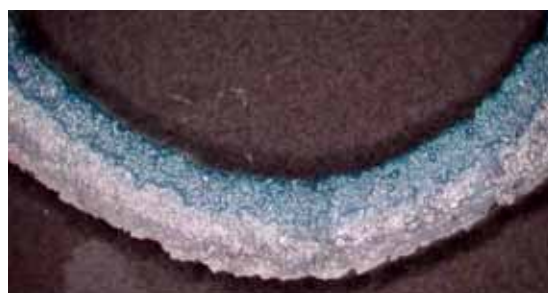


図 4 二層多孔体の断面 (上:ケラチン 下:PCL)



図 5 三層多孔体 (対象構造) の断面
(上下:PCL 中:ケラチン)

図4で示すように二層の多孔体では、上下で層の組織が非対称になっているため、水中にしばらく置くと変形、湾曲がおき、一用途である細胞培養のディッシュとして使用できない。一方、図5に示す対称構造の三層多孔体では変形が見られず、ケラチン層がPCLの層間にあることでケラチン層の収縮が両側からバランス良く抑制されるためであると考えられる。

また、図6に示す三層の傾斜構造では変形が殆ど見られず、各層間の組成差が二層の場合よりも少ないことで収縮差を抑制出来たことと多孔体が全体に厚くなったことで大きな変形を生じなかったと考えられ、今後これらの技術を活かした様々な用途の使用が期待される。

3.2 ケラチン/PCL 複合多孔体の物性

3.2.1 各種複合多孔体の見掛け密度、体積変化、通気抵抗

各種複合多孔体の見掛け密度、体積変化、及び通気抵抗を図7に示す。ケラチン 100%多孔体では乾燥時に大きく収縮してしまい体積変化が大きくなるが、PCL を混合することにより、乾燥時での変化の差を抑えられる事がわかった。

また、通気抵抗はどの組成でも大きくは変わらず 2.0R/s.m 以下であることから、連通孔の多孔体であることが確認され、三次元の培地・足場材等の活用が可能である事がわかった。

3.2.2 各種複合多孔体の含水率、見掛けの密度

各種複合多孔体の見掛け密度、含水率を図8に示す。含水率は見掛けの密度と逆相関の関係にあり、どの複合多孔体も自重の 500%以上の含水率を有することから細胞足場材としての適性が有ると見られる。尚、ケラチン 100%では含水率が複合多孔体よりも大きい、これはWetとDry状態の体積収縮によるためであると考えられる。

3.2.3 各種複合多孔体の圧縮率、圧縮弾性率

各種複合多孔体の圧縮率、圧縮弾性率を図9、10に示す。圧縮率については、単一のケラチン多孔体はWetの状態では混率の影響は少なく、PCLと同様の圧縮率であった。一方、Dry状態では圧縮率が低く脆いという問題点があるが、適度にPCLを配合させることにより、その問題点が解決されることが分かった。圧縮弾性率については、ケラチンの比率が増すごとに上がり、複合多孔体にすることでPCL単一の多孔体にはない弾性を有することが分かった。

3.2.4 各種複合多孔体の剛軟度

各種複合多孔体の剛軟度を図11に示す。Wet状態ではどのケラチン比率の多孔体も剛軟度は大きくは変わらず、ある程度の軟らかさを有している。一方、Dry状態



図6 三層多孔体（傾斜構造）の断面
(上：PCL 中：PCL/ケラチン 下：ケラチン)

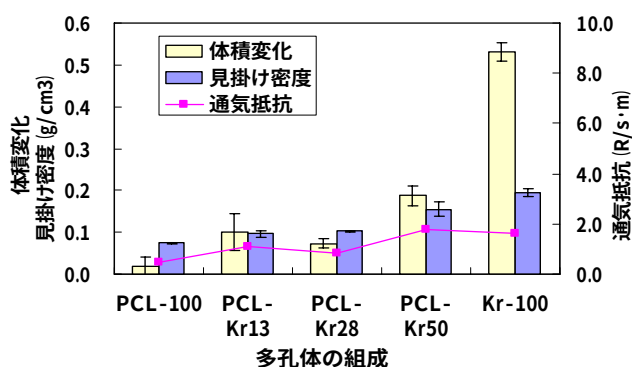


図7 多孔体組成に対する体積変化
見掛け密度、通気抵抗

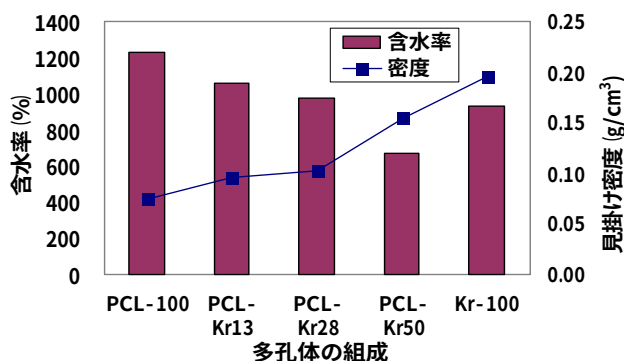


図8 多孔体組成に対する含水率、見掛け密度

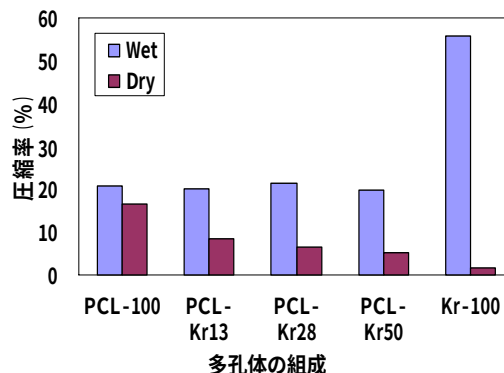


図9 多孔体組成に対する圧縮率

では、ケラチン単一の多孔体は剛軟度が高く、「堅い、脆い」という問題点があるが、PCL にケラチンを複合することにより、単一のケラチン多孔体にはない軟らかさを付与出来ることが分かった。

4. 結び

本研究の結果をまとめると、以下のとおりである。

- (1) ケラチンと PCL との複合多孔体を開発した。又、この複合多孔体作製のための技術手法を明らかにした。
- (2) ケラチン/PCL 複合多孔体は、圧縮・剛軟特性の評価から「軟らかく・弾性」を有し、単一のケラチン多孔体での「堅く・脆い」問題点を解決出来た。
- (3) ケラチンと PCL との多層複合多孔体において、非対称構造体は変形を生じるが、対称構造体は変形を抑えることが可能である。
- (4) 羊毛ケラチンの高付加価値・高度利用技術として、ケラチン複合体を細胞培養の足場材・培養ディッシュとして活用するための可能性を見出した。

文献

- 1) 加藤ほか：愛知県産業技術研究所研究報告，2，162 (2003)
- 2) 筏義人：生分解性高分子，P41 (1994), 高分子刊行会

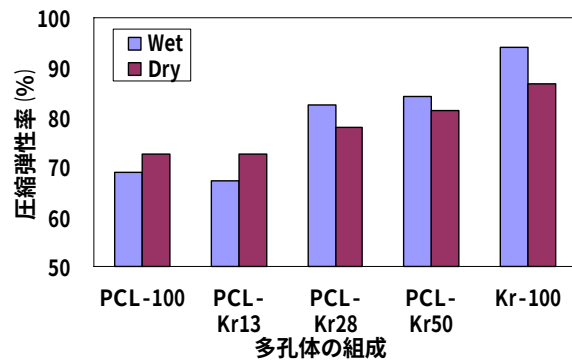


図 10 多孔体組成に対する圧縮弾性率

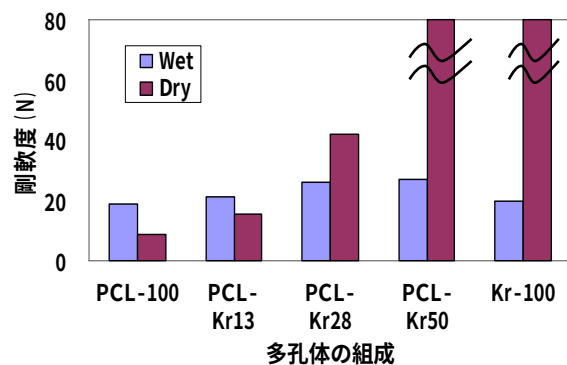


図 11 多孔体に対する剛軟度