

原 著

## エゾシカ外皮の鞣しに伴う変化

福永 重治・杉浦 智樹・小林 謙・山川 育生・竹之内 一昭・中村 富美男

北海道大学大学院 農学研究院 畜産資源開発学分野  
〒060-8589

札幌市北区北9条西9丁目

Tel : 011-706-2546 Fax : 011-706-2538

## Changes of the integument in Yeso sika deer with tannage

Shigeharu FUKUNAGA, Tomoki SUGIURA, Ken KOBAYASHI,  
Ikuo YAMAKAWA, Kazuaki TAKENOUCI and Fumio NAKAMURA

Research Group of Animal Products Science,  
Graduate School of Agriculture, Hokkaido University  
Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan

Tel : 011-706-2546 Fax : 011-706-2538

E-mail : kamui@anim.agr.hokudai.ac.jp

キーワード : エゾシカ皮, クロム革, タンニン革, コラーゲン

Key words : Yeso sika deer skin, chrome leather, vegetable tanned leather, collagen

### Abstract

To obtain the basal observation for the utilization of Yeso sika deer skin as leather, we compared chemical compositions, physicochemical properties and morphological changes of Yeso sika deer skin with those of calf skin during tannage. It is cleared by the changes of chemical compositions and scanning electron micrographs that the dermal collagen of Yeso sika deer skin is purified by the normal beamhouse process. However, some care may be necessary to prevent the damage of grain in Yeso sika deer skin on scudding. Since the Yeso sika deer skin have aquired the resistances to heating, chemicals and proteases by the tanning with chrome or vegetable tannin, it is thought that Yeso sika deer skin is a good material of leather as the calf skin. Different from calf skin, the collagen fibrillare structure of Yeso sika deer skin had many inter fiber spaces and fibers were bundled loosely, then these structural properties may bring the flexible leather which has high absorbance of water and vegetable tannin. It is required that the practical examinations to make the good use of the properties of Yeso sika deer skin.

### 要 約

エゾシカの有効活用法の一つとして、外皮を革として利用するために必要な基礎知見を得る目的で、鞣しに伴うエゾシカ皮の一般組成、理化学的特性および形

態的变化を子牛皮と比較検討した。一般組成および走査電子顕微鏡像の変化から、子牛皮と同様の準備工程によってエゾシカ真皮は、鞣しに適したコラーゲン構造体へと純化されることが明らかとなったが、石灰づけ後の垢出しにおいては銀面の損傷を防ぐ配慮が必要と判断された。エゾシカ外皮は、クロムあるいはタンニンによる鞣しによって子牛革と同等の耐熱性や化学

受理 2007年2月14日

薬品、タンパク質分解酵素等に対する耐性が付与され、子牛皮に匹敵する革素材と判断された。また、エゾシカ真皮網状層コラーゲンの線維構造は、子牛とは異なり、線維束としての束ねが緩くコラーゲン細線維束間の間隙も多く、エゾシカ皮は吸水性やタンニン吸着性に優れた柔軟な革に仕上がることが示唆され、これらの特性を活かした製品化に向けた検討が今後必要と考えられた。

## 緒 言

野生シカの個体数管理手段の一つとして北海道庁は、エゾシカの有効活用方策を打ち出しており、エゾシカの食肉としての利用を促進するための肥育方法の検討もなされている（伊藤ら 2005）。しかし、エゾシカを北海道特有の地域資源として捉えた場合、皮（外皮）に代表される非可食部を含めた動物体組織全体の利用も考慮する必要がある。シカ皮は、日本においても古くから革として様々に利用されてきたが（出口ら 2006; 出口 2006）、エゾシカの外皮については、形態学的特徴が明らかにされている程度である（近藤ら 2004; FUKUNAGA *et al.* 2006）。一方、外皮を革として利用するには、鞣しが必要であり、通常の鞣しでは、毛や表皮等を除去してほぼコラーゲンからなる真皮へと準備工程で純化させた後、クロムあるいはタンニンを用いて真皮コラーゲンに熱、化学薬品あるいはプロテアーゼに対する耐性を付与する（日本皮革技術協会 2005）。そこで本研究では、エゾシカ外皮を革として利用するための基礎知見を得ることを目的として、身体の大きさが比較的近く、カーフスキンとして流通している子牛皮と鞣しに伴う理化学的、形態学的変化を比較検討した。

## 材料および方法

### 供試皮

エゾシカ雌 3 才 2 頭およびホルスタイン種去勢 0.5 才 2 頭の外皮より、日本工業規格革試験法: JIS K 6550（日本規格協会 2000）に従い、約 20cm × 20cm の試料各 4 枚を採取し、毛刈り後に余分な皮下組織を除去したものを生皮として実験に供試した。

### 鞣し

一般的な製革工程（日本皮革技術協会 2005）に従って、エゾシカおよび子牛生皮に下記処理を施した。

#### A. 石灰づけと脱灰

水づけ後の生皮を 4 % 水酸化カルシウムと 0.3 % 硫化ソーダを含む石灰液に 4 日間室温で浸漬し、銚刀で垢出し後、3 % 塩化アンモニウム水中で脱灰を行い、水洗した試料を脱灰皮とした。

#### B. クロム鞣し

脱灰皮を 7 % 食塩と 0.7 % 硫酸を含む浸酸液に浸し、試料重量の 3 % のクロム鞣剤（ネオクローム; 日本化学工業, 東京）を浸酸液に加え、pH 調整後浸漬を継続した。翌日 pH と熱収縮温度の上昇を確認し、水洗した後に室温で乾燥させ、クロム革とした。

#### C. タンニン鞣し

脱灰皮をケブラチヨ粉末（BASF ジャパン, 東京）を溶解したタンニン鞣し液に浸漬した。鞣し液の比重は隔日、pH は毎日調整して 2 週間後に水洗、乾燥し、タンニン革とした。

### 一般分析

エゾシカと子牛の生皮、脱灰皮、クロムおよびタンニン革を細切後液体窒素中で凍結粉碎した皮粉を用いて水分、灰分、脂肪、粗タンパク質およびコラーゲン含量を測定した。なお、クロム革中のクロム含量は JIS K 6550 に従って  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  量として測定し、タンニン革中のタンニン含量は総重量より水分、灰分、脂肪および粗タンパク質量を差し引くことにより算出した。

### 化学薬品および酵素処理

皮粉を 100 倍容量 (W/V) の 1 M HCl, 1 M NaOH, 9 M 尿素, 5 M グアニジン塩酸, 0.5 M 酢酸存在下の 0.1 % ペプシン (Nacal tesque, 京都), 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) と 1 mM  $\text{CaCl}_2$  存在下の 0.005 % トリプシン (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) あるいは前記条件下の 0.01 % コラゲナーゼ (和光純薬工業, 大阪) 溶液中で、24 時間 25°C で攪拌処理し、遠心分離 (1,500 × g, 20 min) 上清のコラーゲン含量を測定した。なお、熱水処理は 105°C で 2 時間蒸留水中で行った。

### 熱収縮温度の測定

JIS K 6550 に従い切り出した皮片を、蒸留水あるいは 25 % グリセリン水溶液中で加温し、荷重下での収縮開始温度を測定した。

### 吸水度の測定

JIS K 6550 に従い切り出した皮片を、室温で 24 時間蒸留水に浸漬し、過剰な水分を濾紙で除去した後に重量を測定し、含水後重量の試料重量に対する割合を算出した。

### コラーゲンの定量

各試料のヒドロキシプロリン (Hyp) 含量を BERGMAN and LOXLEY の方法 (1963) に従って測定し、7.52 倍量をコラーゲン量として算出した (中村ら 2000)。

なお、一般分析等における測定結果は、生皮と脱灰

皮については8試料の、クロムあるいはタンニン革については各々4試料の平均値を示した。

走査電子顕微鏡 (SEM) 観察

SEM 試料は, OHTANI *et al.* (1989) のアルカリ処理・細胞消化法に従い, 2.5%グルタルアルデヒドによる浸漬固定, 水洗, 10% NaOHによるアルカリ処理, 水洗, タンニン酸処理, 水洗, オスミウムによる導電染色, エタノール系列による脱水, トーチルアルコールを用いた凍結乾燥の手順(小林ら 2005)で作成した。ただし, 脱灰皮ではアルカリ処理とその後の水洗を省き, クロム革とタンニン革では導電染色までの手順を省いた。凍結乾燥した試料は金属試料台に貼付け, プラズマコーター (NL-OPC80A; JEOL, TOKYO) を用いて金属オスミウムを蒸着後SEM (JSM-6301F, JEOL) で観察した。

結 果

一般組成の変化

石灰づけおよび脱灰処理に伴い, エゾシカ, 子牛脱灰皮共に水分含量は生皮の約60%から約75%へと増加し, 灰分含量は約4%からほぼ0%へ, 脂肪含量も約9%からほぼ0%へと減少していた (Fig. 1)。また, 粗タンパク質含量は若干減少したが, エゾシカ, 子牛皮共に総タンパク質に占めるコラーゲンの割合は, 生皮の約75%から脱灰皮では96%以上へと増加してい

た。

クロム鞣しによって灰分含量はエゾシカ, 子牛革共に約7%へと増加しており, クロム量をCr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として測定した場合, いずれも革重量の約4.5%であった。一方, タンニン鞣しでは, 革中タンニン含量は子牛の約36%に比しエゾシカでは約40%と幾分か高かった。室温で乾燥させた革の水分含量はエゾシカ, 子牛共にタンニン革で約11%と低く, クロム革では子牛の24%に対し33%のエゾシカで高かった。粗タンパク質含量は, 子牛クロム革で最も高く, エゾシカクロム革, 子牛タンニン革, エゾシカタンニン革の順であった。

理化学的特性の変化

エゾシカ, 子牛共に生皮および脱灰皮の熱収縮温度は65°C 前後であったが, タンニン革では共に約80°Cに, クロム革では共に約110°Cまで上昇していた。

吸水度は, エゾシカのクロム革で約270%と最も高く, エゾシカタンニン革 (217%), 子牛クロム革 (215%), 子牛タンニン革 (203%) の順であった。

各々の処理によって溶出するコラーゲンの割合として測定した熱水を含む化学薬品あるいはプロテアーゼに対する耐性は, 強アルカリ以外ではエゾシカ, 子牛革共に鞣しにより可溶化率は減少し, 全体的に耐性は増加していた (Fig. 2)。しかし, タンニン革においては, タンパク質変性剤に対する耐性増加はほとんど見られず, 尿素, グアニジン塩酸いずれに対しても鞣しの有無に係わらずエゾシカの方が子牛より高い耐性を

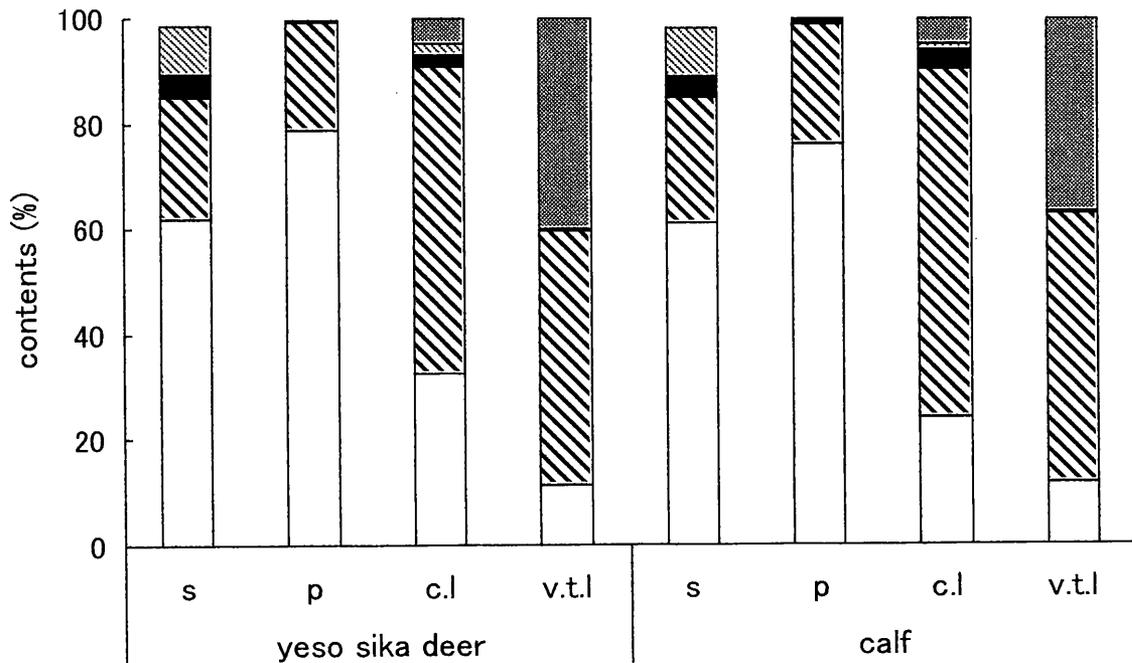


Fig. 1 Changes of chemical compositions in Yeso sika deer and calf skin during tannage. The weight percentages of water (□), crude protein (▨), ash (■), ash lipid (▩) and vegetable tannin (■) in raw skin (s), delimed pelt (p), chrome leather (c.l) and vegetable tanned leather (v.t.l) of Yeso sika deer or calf are shown.

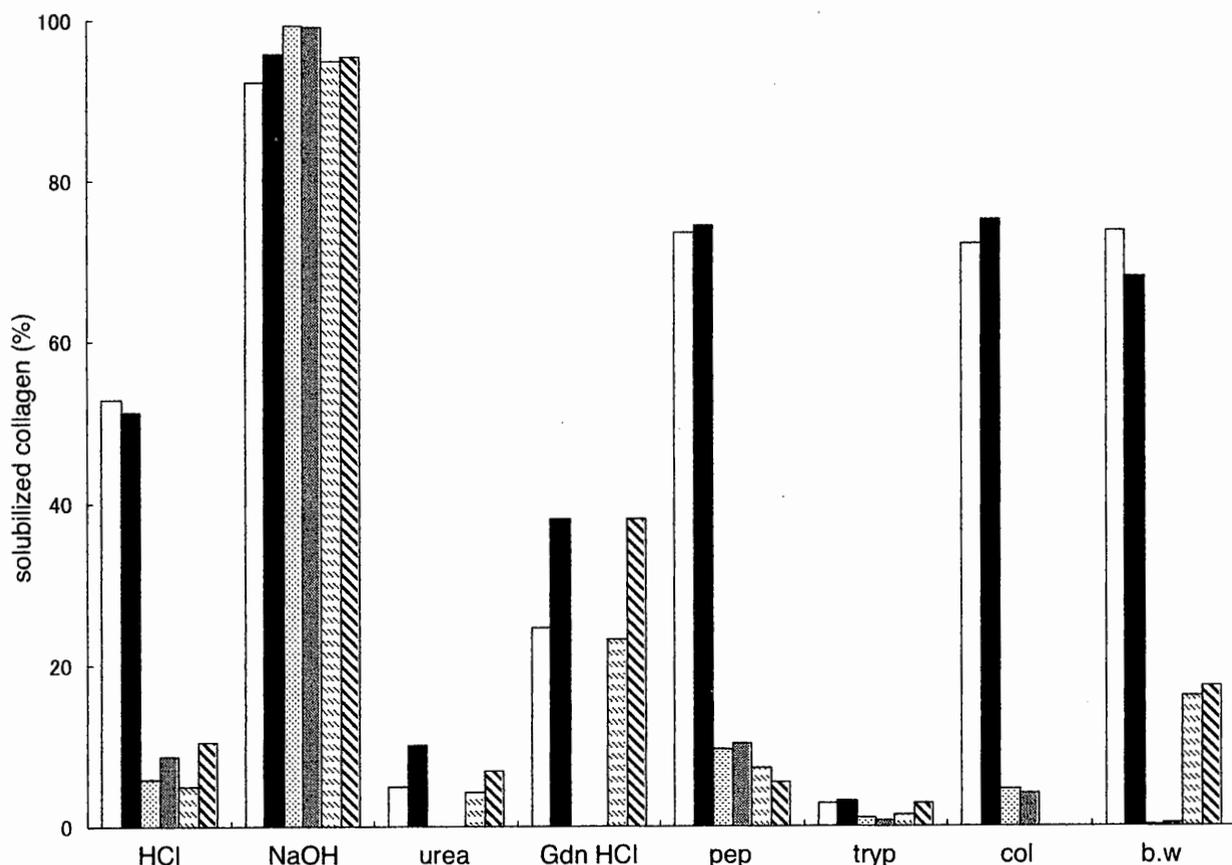


Fig. 2 Changes of collagen extractability from Yezo sika deer and calf skin during tannage. The weight percentages of extractable collagen by the treatment with 1 M HCl (HCl), 1 M NaOH (NaOH), 9 M urea (urea), 5 M guanidine HCl (Gdn HCl), 0.1% pepsin (pep), 0.005% trypsin (tryp), 0.01% collagenase (col) or boiling water (b.w) from delimed pelt (□, ■), chrome (▨, ■) or vegetable tanned leather (▩, ■) of Yezo sika deer (□, ▨, ▩) or calf (■, ■, ■) are shown.

示した。一方、プロテアーゼに対しては、トリプシンでは差がなかったが、クロム革よりもタンニン革が高い耐性を示し、特に、コラゲナーゼによって可溶化されるコラーゲンは検出されなかった。なお、コントロールとして行った25℃ 蒸留水処理によって可溶化されるコラーゲンはいずれの試料においても検出されなかった。

### SEM像の変化 銀面

細胞消化処理により表皮と基底膜が除去されたエゾシカ生皮の真皮表面（銀面）では、上毛と下毛の毛穴が正中線に対して直交するように配列し、全体的な起伏は存在するが皺（皮溝）は観察されなかった（Fig. 3 A）。子牛では上毛と下毛の毛穴はほぼ均等無作為に分布し、起伏や皮溝は無く、平滑な銀面を呈していた（Fig. 3 B）。各々に挿入した拡大像においては、エゾシカ、子牛共にコラーゲン細線維束の隆起による波状紋が観察され、その下部では個々のコラーゲン細線維の不規則な配向も観察された。

エゾシカ脱灰皮の銀面では、毛穴間が山脈様に隆起して小さな皮溝も存在していたが、子牛銀面は幾分膨潤はしていたが比較的平坦であった（Fig. 3 C,D）。しかしそれらの拡大像では、エゾシカ、子牛共にコラーゲン細線維束による波状紋は消え、子牛では線維状の凝集体とコラーゲン細線維が認められたのに対し、エゾシカでは粒状凝集体の下方に部分的にしか細線維は観察されなかった。

エゾシカのクロム革銀面は皮溝が顕著で凹凸を有し（Fig. 3 E）、拡大像では脱灰皮同様、粒状凝集体が観察された（Fig. 3 I）。タンニン革は皮溝が浅く少ない平坦な様相を呈し（Fig. 3 F）、拡大像では沈着したタンニンによる不規則な凹凸が観察された（Fig. 3 J）。子牛クロム革は上毛の毛穴が変形し、毛穴間を連結するような小さな皮溝は存在するが全体的には平滑で（Fig. 3 G）、拡大像では屈曲したコラーゲン細線維に加え一部細線維束も観察された（Fig. 3 K）。子牛タンニン革は生皮に類似した平滑な低倍率像を呈し（Fig. 3 H）、拡大像ではエゾシカ同様に沈着したタンニンによって銀面は被覆され、コラーゲンの線維構造

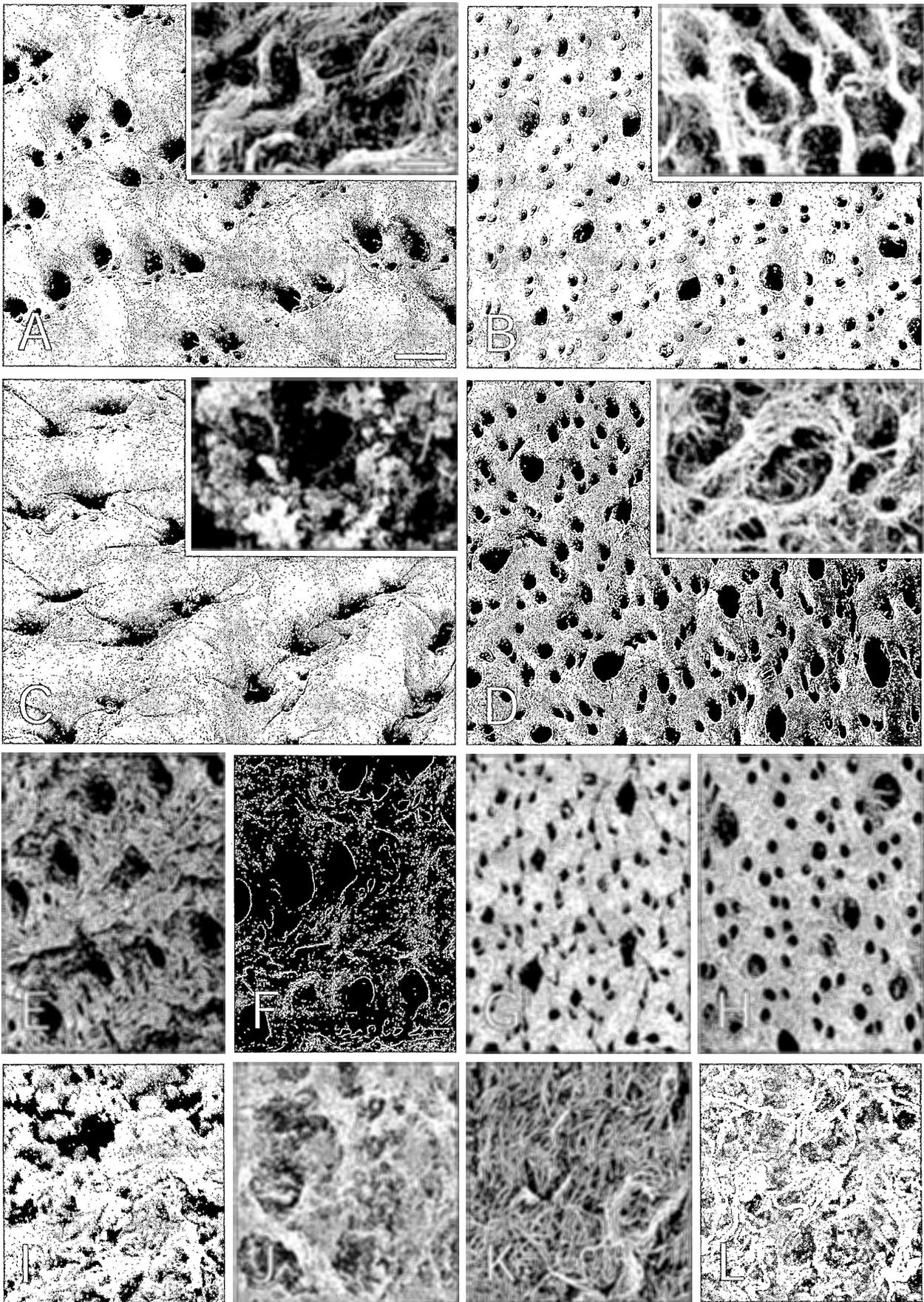


Fig. 3 Changes of collagen fibrillar structure on dermal surface in Yeso sika deer and calf skin during tannage. SEM views of raw skin (A,B), delimed pelt (C,D), chrome (E,G,I,K) or vegetable tanned leather (F,H,J,L) of Yeso sika deer(A,C,E,F,I,J) or calf (B,D,G,H,K,L) are shown. Scale Bar: 200  $\mu$ m (A-H), 1  $\mu$ m (I-L, inset of A-D).

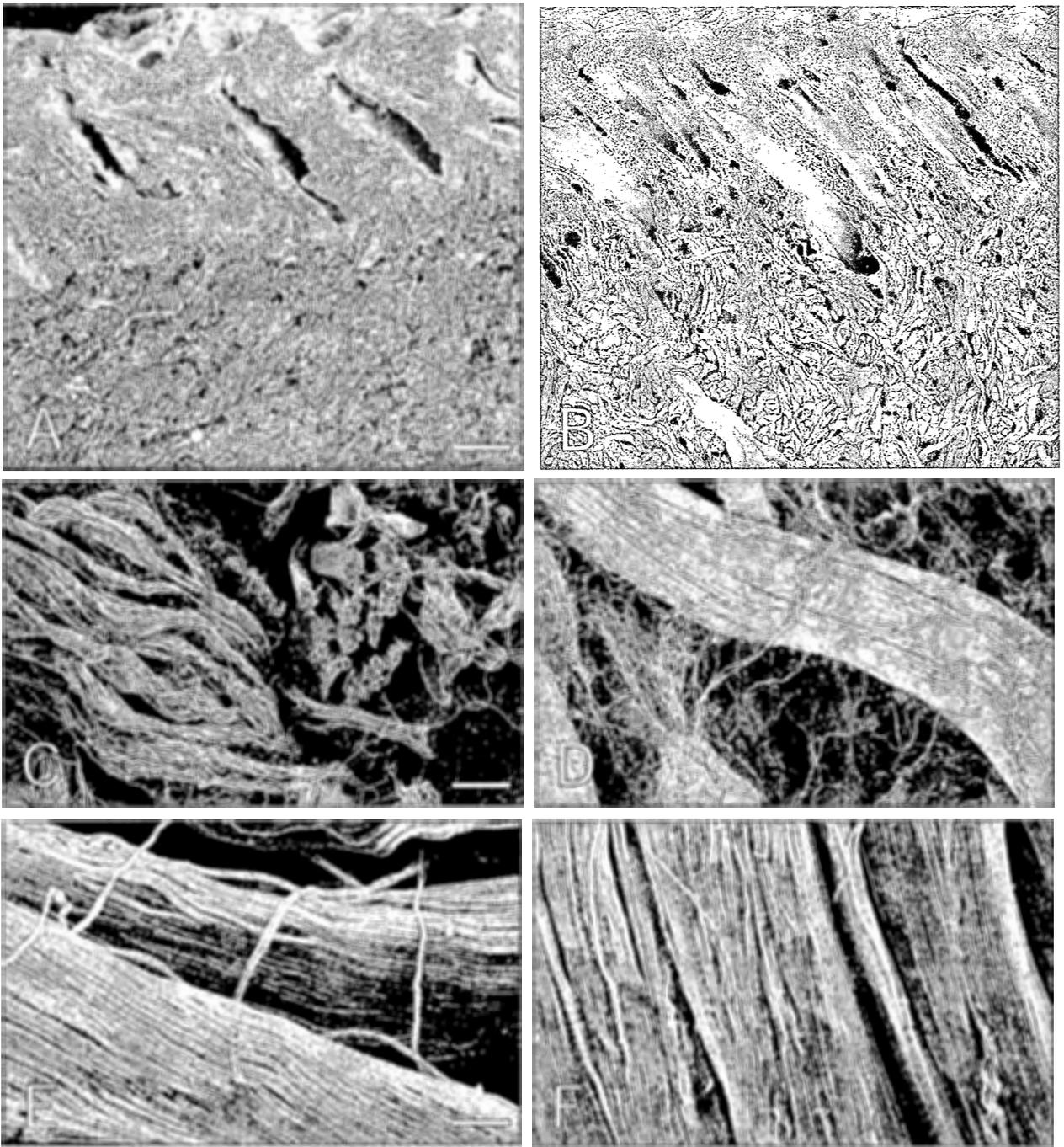


Fig. 4. Collagen fibrillar structure of dermal sagittal plane in Yeso sika deer and calf skin.

SEM views of Yeso sika vegetable tanned leather (A,C,E) and calf chrome leather (B,D,G) are shown. In magnification of reticular layer in Yeso sika deer (C,E), collagen fibrillars bundles (E) are bundled very loosely as the fiber bundles (C) contrary to that of calf (D). Scale bar: 200  $\mu$ m (A, B), 10  $\mu$ m (C D), 1  $\mu$ m (E, F).

は観察されなかった (Fig. 3 L).

#### 矢状断面

エゾシカ、子牛共に、真皮矢状断面のSEM像では、生皮、脱灰皮、クロム革、タンニン革間で、顕著な差は観察されなかった。Fig. 4ではエゾシカタンニン革 (Fig. 4 A,C,E)、子牛クロム革 (Fig. 4 B,D,F) を示した。毛穴より下方 (網状層) において、子牛では様々な方向と太さのコラーゲン線維束が緻密な網状を呈し

ていたが (Fig. 4 B)、エゾシカでは明確な線維束が観察されなかった (Fig. 4 A)。エゾシカ網状層の拡大像では、極めて緩やかにコラーゲン細線維束が束ねられ、直交する線維束も細線維束間の間隙が多く大きかった (図 4 C)。しかし、個々の細線維は比較的密にコラーゲン細線維束として束ねられており、銀面とは異なり、細線維間や細線維を被うタンニン沈着像は観察されなかった (Fig. 4 E)。子牛クロム革網状層のコラーゲン線維束は細線維束間隙が不明な程密に束ねられ、個々

の細線維の間隙は小さく少なく (Fig. 4 D,F), 銀面およびタンニン革断面と同様, コラーゲン細線維間等に鞣剤の沈着は観察されなかった。

## 考 察

エゾシカ生皮および脱灰皮の一般組成は子牛皮の各々に類似しており, 石灰づけ・垢出し・脱灰処理までの準備工程においては, 子牛皮同様の一般的な操作によって鞣しに供し得る状態となったことが示唆された。このことは脱灰皮では, 総タンパク質に占めるコラーゲンの割合が96%以上であったこと, および細胞消化を省いた表面および断面のSEM像で残存毛等は観察されず, エゾシカ, 子牛共に真皮がコラーゲン構造体へと純化されていたことから支持された。しかし, 銀面のSEM拡大像において, エゾシカはコラーゲンの線維構造が損傷を受けており, アルカリ下での機械的操作に対してエゾシカ皮は子牛皮よりも弱く, 垢出し作業に際しては機械的圧力を弱める等の配慮が必要と考えられた。

エゾシカクロム革のCr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>含量は子牛と同等であったが, タンニン革のタンニン含量はエゾシカの方が高く, 革中のタンパク質含量に対するタンニン含量の割合として算出される鞣し度(日本皮革技術協会 1987A)は, 子牛の71%より高い83%で, エゾシカ皮は子牛皮よりタンニン吸着性に優れていた。また, 室温乾燥後の水分含量は, エゾシカ, 子牛共にクロム革で高く, エゾシカでもクロム革はタンニン革より保水性が高いと判断された。加えて, 吸水性はクロム, タンニン革共にエゾシカが子牛よりも優れており, この特性が要求されるセーム革(日本皮革技術協会 1987B)に適した素材と考えられた。

エゾシカ革の熱収縮温度と熱水処理により可溶化するコラーゲン量は子牛のクロムあるいはタンニン革各々と同等であり, 鞣しの主要件である耐熱性は十分に付与されていた。強アルカリ下での鞣剤溶脱はよく知られており(日本皮革技術協会 2005), 強アルカリに対する耐性は付与できなかったが, 強酸や他の化学薬品およびプロテアーゼに対する耐性をエゾシカ革はクロム, タンニンいずれの鞣しによっても獲得していた。従って, エゾシカ皮は, 子牛皮に匹敵する鞣し効果を有する革素材と考えられた。なお近年, タンニンのプロテアーゼ活性阻害作用が注目されているが(Xu *et al.* 2000; SUTIAK *et al.* 2002), 本研究では, コラーゲナーゼに対する阻害作用がトリプシンやペプシンに対するよりも顕著であった。

脱灰皮では膨潤起伏していたエゾシカ銀面は鞣しに伴い平坦化したが, クロム革は皮溝が残存した幾分か凹凸を有する形態から, 特有の手触り感を与えると思われた。また, タンニン革では, 損傷したコラーゲン

の細線維構造が被覆され, SEM低倍率像ではクロム革以上に平坦化しており, タンニンは準備工程での銀面損傷の補修効果を有すると判断された。このタンニン革とクロム革銀面の違いは, 子牛においてより顕著で, クロム革SEM拡大像で観察されたコラーゲン細線維構造はタンニン革では被覆され観察されず, タンニンの銀面被覆作用は畜種を問わないと判断された。

一方, 矢状断面のSEM像では, クロムだけではなくタンニン革でも, コラーゲン細線維間や細線維構造を被う様な鞣剤の沈着はエゾシカでも子牛でも観察されなかった。従って, タンニンの被覆作用は毛穴を含む基底膜下の真皮表面に特異的な現象と考えられ, I型コラーゲン以外にもIII型やV, VI型コラーゲンが畜種を問わずこの部位に多く局在すること(FUKUNAGA *et al.* 2006)との関連性が推察されたが, 本研究では断定されなかった。

エゾシカ革は, 子牛革よりも吸水性およびタンニン吸着性が高かったが, このことは真皮コラーゲンの線維構造, すなわち, コラーゲン細線維束間に間隙が多く, 線維束としての束ねが極めて緩やかで, 水だけではなく難浸潤性であるタンニン鞣し液も容易に浸透したためと考えられる。また, 真皮コラーゲン線維構造に間隙が多いと革は柔軟に仕上がるとされており(日本皮革技術協会 2005), 柔軟な革である子牛カーフスキン以上の柔軟性をエゾシカ革は有すると考えられた。

上記のように, エゾシカ外皮は, 子牛に類似した点も多いが革として異なる特性を有していることが本研究で明らかとなり, 優れた革素材と判断された。今後は, 特性を活かした用途への製品化に向けた実用的な強度試験等が必要と考えられる。

## 参考文献

- BERGMAN, I. and R. LOXLEY (1963) Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Analytical Chemistry*, 35:1961-1965.
- 出口公長・竹之内一昭・奥村章・小澤正実 (2006) 正倉院宝物特別調査報告 皮革製宝物材質調査. 正倉院紀要, 28: 1-46.
- 出口公長 (2006) 正倉院宝物に見る皮革の利用と技術. 正倉院紀要, 28:47-65.
- 伊藤修一・増子孝義・関川三男・日高智・伊東正男 (2005) エゾシカ若齢肥育における増体量および枝肉成績. 北海道畜産学会報, 47:79-82.
- FUKUNAGA, S., HIMOTO, A. YAMAKAWA, I. TAKENOUCHI K. and F. NAKAMURA (2006) Morphological characteristics of Yeso sika deer skin in comparison with bovine and porcine skins. *Hikaku Kagaku*, 52:33-46.

- 小林謙・福永重治・竹之内一昭・加藤（森）ゆうこ・中村富美男（2005）ニワトリ初生羽の発生に伴う真皮コラーゲンの形態変化. 北海道畜産学会報, 47:65-71.
- 近藤敬治・二宮嘉健・市川秀雄・福永重治（2004）エゾシカの毛衣に関する形態学的研究. 北大植物園研究紀要, 4:55-63.
- 中村富美男・後藤麗・田中浩子・海津幸子・埴友之・秦寛・福永重治（2000）北海道和種馬浅指屈筋腱の加齢に伴う変化. 北海道畜産学会報, 42:29-34.
- 日本規格協会編（2000）日本工業規格. 日本規格協会. 東京.
- 日本皮革技術協会編（2005）皮革ハンドブック. 1-117. 樹芸書房. 東京.
- 日本皮革技術協会編（1987A）革および革製品用語辞典. 125. 光生館. 東京.
- 日本皮革技術協会編（1987B）革および革製品用語辞典. 98. 光生館. 東京.
- OHTANI, O., USHIKI, T., TAGUCHI, T., and A. KIKUTA (1989) Collagen fibrillar networks as skeletal frameworks: a demonstration by cell-maceration/scanning electron microscope method. Arch. Histol. Cytol., 51:249-261.
- SUTIAK, V., KORENEK, M., SUTIAKOVA, I., KORENEKOVA, B., SOBEKOVA, D., VASKO L., and J. NEUSCHL (2002) The induction of inflammation in mouse tails with *Aspergillus oryzae* protease and the inhibitory effects of synthetic and natural substances in vitro. Acta Veterinaria-Beograd, 52:345-353.
- XU, H. X., WAN, M. DONG, H., BUT P. P. H., and L.Y. FOO (2000) Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 23:1072-1076.