

コラーゲンを用いた無水プロトン伝導体の創製と
伝導メカニズムに関する研究

古関 智樹

コラーゲンを用いた無水プロトン伝導体の創製と 伝導メカニズムに関する研究 目次

【第1章】 背景

1-1 コラーゲン	4
1-2 ハイドロキシアパタイト(HAp)	6
1-3 イミダゾール	7
1-4 プロトン(H ⁺)伝導体	8
1-5 本研究の目的	10

【第2章】 実験方法

2-1 試料作製

2-1-1 コラーゲン膜の作成	11
2-1-2 HAp 膜の作成	12
2-1-3 HAp-コラーゲン複合体の作成	12
2-1-4 人工コラーゲン膜とイミダゾール-コラーゲン複合体の作成	13

2-2 測定方法

2-2-1 示差熱測定 (DTA 測定)	14
2-2-2 フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR)	14
2-2-3 ¹ H-NMR 測定	15
2-2-4 インピーダンス測定 (プロトン伝導測定)	16

【第3章】 結果および考察

3-1 HAp-コラーゲン複合体の結果および考察

3-1-1 HAp-コラーゲン複合体の試料特性	21
3-1-2 HAp-コラーゲン複合体の電気伝導特性	23
3-1-3 ¹ H-NMR 測定による H ⁺ 挙動の観測	24

3-1-4 インピーダンス解析による分子ダイナミクスの解明	26
3-1-5 HAp-コラーゲン複合体の H ⁺ 伝導経路の解明	27
3-1-6 HAp-コラーゲン複合体の配向方向と H ⁺ 伝導の関係	31
3-1-7 HAp-コラーゲン複合体における天然コラーゲンと人工コラーゲンの H ⁺ 伝導特性	31
3-2 イミダゾール-コラーゲン複合体の結果および考察	
3-2-1 イミダゾール-コラーゲン複合体の試料特性	34
3-2-2 イミダゾール-コラーゲン複合体の電気伝導特性	36
3-2-3 ¹ H-NMR 測定による H ⁺ 挙動の観測	37
3-2-4 インピーダンス解析による分子ダイナミクスの解明	38
3-2-5 イミダゾール-コラーゲン複合体の H ⁺ 伝導経路の解明	41
3-2-6 イミダゾール-コラーゲン複合体の異方性と H ⁺ 伝導の関係	44
3-3 複合体の H ⁺ 伝導特性	46
【第 4 章】 まとめ	49
参考文献	50
本論文の構成	60
謝辞	64

【第 1 章】 背景

1-1 コラーゲン

近年、自然分解性があるため環境にやさしく、豊富に存在することから安価であるバイオマテリアルが、環境にやさしい新規材料として様々な分野で注目されている。バイオマテリアルには核酸や糖、タンパク質など非常に多くの種類が存在しているが、その中でも生体親和性が高く、物理的強度も高いコラーゲンは特に研究対象として様々な分野で扱われている[1-8]。コラーゲンは、鎖状タンパク質の一種であり、生物の皮膚、血管、靭帯、骨、軟骨、鱗、角膜などあらゆる器官に存在している[9-16]。コラーゲンは物理的な強度が高だけでなく柔軟性もあり、様々な器官を構成する骨格のような役割がある。また、コラーゲンには 20 種類以上の種類があることが知られており、種類によって性質が異なる[17]。例として骨や鱗、角膜などは、比較的強度が高い I 型、III 型コラーゲンによって構成されている[9,10,18-20]。コラーゲンは、骨や歯の構成成分としてよく知られており、ハイドロキシアパタイト(HAp)と複合体を形成することで高い強度を実現している[3,21,22]。コラーゲンとハイドロキシアパタイトの複合体は、コラーゲン内のカルボニル酸素とアミド窒素が HAp を構成するカルシウムと配位結合することで形成されており、HAp がコラーゲン鎖を覆うような形で存在している[23-25]。このように、コラーゲンにはカルシウムなどの二価の金属イオンをキレートする性質があることも知られており、海洋汚染などの原因の 1 つであるストロンチウムや鉛などを吸着できる材料としても注目されている[21,26-29]。コラーゲンは、食品などによく産業利用されており、豚や牛の皮を煮詰めることで加水分解されたコラーゲンであるゼラチンを容易に抽出することが可能である[30,31]。また、靴や財布などの皮製品はコラーゲンが主な構成要素であり、様々な形でコラーゲンは利用されている。また、近年では、骨や皮膚の再生医療分野においてもコラーゲンが使われており、医療分野での研究も進んでいる[32-34]。特にコラーゲンを高配向化したコラーゲン糸は、生体親和性が高く拒絶反も起きないため、手術糸の代わりとしての利用も期待されている[35,36]。

コラーゲンは、生体内において図 1-1-1 に示すような 3 重らせん構造を組んだ状態で存在している[37,38]。また、コラーゲンは(-グリシン(Gly)-X-Y-)の配列によって構成されており、X、Y には Gly 以外のアミノ酸が入る。X に入るアミノ酸は、多くの場合プロリン(Pro)であり、Y には Pro がヒドロキシラーゼ酵素によりヒドロキシル化したヒドロキシプロリン(Hyp)がよく入る[39-41]。そのため、コラーゲンを構成するアミノ酸のうち Gly は全体の約 30%、Pro、Hyp は約 20%を占めている[41]。この次に多いアミノ酸はアラニン(Ala)の約 10%である。このように、コラーゲンの大部分は Gly、Pro、Hyp によって構成されており、Pro と Hyp がコラーゲンのらせん構造の形成に重要であることが知られてい

る[37,38,40]. コラーゲンのらせん構造は、コラーゲンの高い強度などに関係しており、コラーゲン配列の X と Y がすべて Pro もしくは Hyp の時、物理的強度だけでなく、熱や酸性溶液による変性耐性が高くなることが知られている[40,42]. また、Hyp が多く存在するコラーゲンでは水和が起りやすくなり、構造中に多くの水分子を保持することができる[6,7]. コラーゲンは保水性が高いことが良く知られており、これはらせん構造と親水性の Hyp が深く関係している.

最近では Matsuo らによって、コラーゲンに H^+ 伝導性があることが発見されており、コラーゲンを電解質として燃料電池を作製することが可能であることが知られている[6,7]. コラーゲンの H^+ 伝導性は、コラーゲンの高い水和性に起因しており、コラーゲンが水和することで構造内に水架橋が形成され、水架橋によって H^+ が伝導される. 上述したように、コラーゲンの水和性には Hyp が重要であり、Hyp の数が多いほど H^+ 伝導特性が向上することが明らかになっている[6,7].

このように、コラーゲンは、医療や食品の分野だけでなく、エネルギー分野においても利用が可能である. また、コラーゲンは、水産系廃棄物に大量に含まれており、廃棄コラーゲンを再利用することでゼロ・エミッションへの貢献が期待できることからコラーゲンが優れた新規材料であることがわかる.

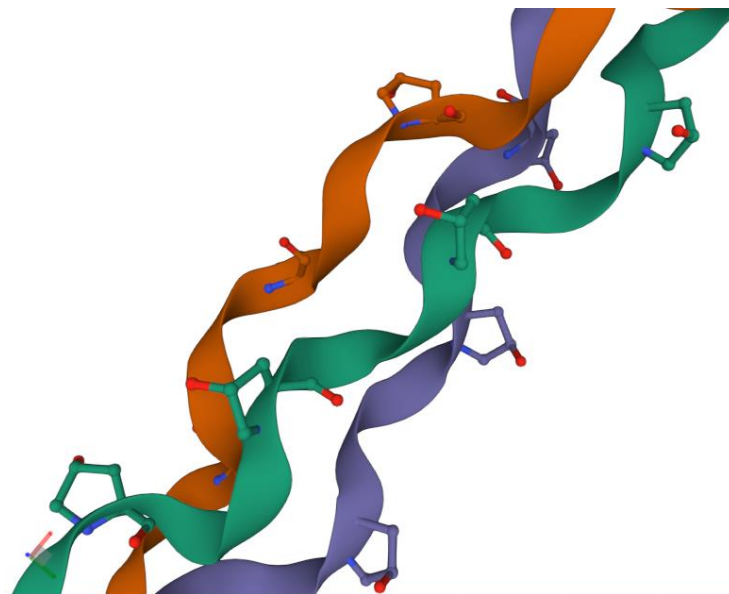


図 1-1-13 重らせん構造のコラーゲン(PDB 1CGD)

1-2 ハイドロキシアパタイト(HAp)

ハイドロキシアパタイト(HAp)は、分子量 1005、化学式では $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ で表されるリン酸カルシウム化合物の一種である。HAp は多くの生物体内に存在することが知られており、骨や歯は主に HAp で構成されている[27,43-45]。この他にも、HAp は魚の鱗や象牙、角の構造内に存在している。特に、骨や歯は重量比において 60~80%を HAp が占めている。また、HAp は生体内において多くの場合、コラーゲンと複合体を形成した状態で存在しており、その部分の強度を高める役割を担っている[3,21,22,32]。さらに、HAp はタンパク質や糖鎖、脂質を吸着することができることや二価の金属イオンなどを構造内のカルシウムイオンと置換する性質を備えている[26,27,46]。

HAp の生体内での合成は、幾つかの前駆体から形成されることが知られており、アモルファス相リン酸カルシウム (ACP)、リン酸第 8 カルシウム (OCP)、リン酸第 3 カルシウム β 相(β -TCP)、リン酸一水素カルシウム二水和物 (DCPD) などの HAp 前駆体が存在している[47-50]。また、HAp は化学合成によって容易に合成が可能であり、湿式法、乾式法、ゾル-ゲル法など多くの合成方法が開発されている[3,51-56]。湿式法では、pH の調整による水溶液中での容易な合成が可能であるが、結晶化度が低い場合、最終的に乾式法と同様に 1000 °C以上での焼結処理が必要である。しかし、近年ではコラーゲンなどを足場とすることで、コラーゲン上で HAp 結晶が安定して成長することが明らかになっている[3,57,58]。コラーゲン内のアミド窒素とカルボニル酸素がカルシウムイオンをキレートすることで HAp の結晶核が形成される。この結晶核が、キレートにより固定化されたまま HAp 結晶が成長する[8,49][24]。この発見により、湿式法においてもコラーゲン足場などを利用することで結晶化度が高く、天然の状態と同様の HAp を得ることが可能となった。

このように、人工合成が容易な HAp は様々なことに応用利用されている。高い硬度を利用した研磨剤としてや、タンパク質との親和性を利用したアフィニティークロマトグラフィーなどに古くから利用されている[59,60]。この他にも近年では、環境問題の解決や医療分野からも注目されている。例として、HAp の吸着性や金属の置換性を利用することで、土壌や湖中の汚染物質を HAp に吸着させることで浄化することが可能であり、環境浄化材料として注目されている[61,62]。また、骨の再生医療などにも利用されており、動物試験などが実施されている。

HAp の結晶は空間群 P63/m の六方晶系として存在しており、図 1-2-1 に示すように c 軸に水酸基を配列した構造である[63]。この c 軸に沿った水酸基の配列は、800 °C前後においてプロトン (H^+) 伝導を起こすことが知られている。この HAp の H^+ 伝導特性は、M Yashima が中性子測定によって、HAp の c 軸上の水酸基を利用して H^+ 移動が起こり、 H^+ 伝導が起こることを明らかにしている[64-67]。

このように、HAp は 800 °C前後の高温域において、無水 H⁺ 伝導体となることが近年明らかにされており、水を必要としない新たな H⁺ 伝導体として注目されている。

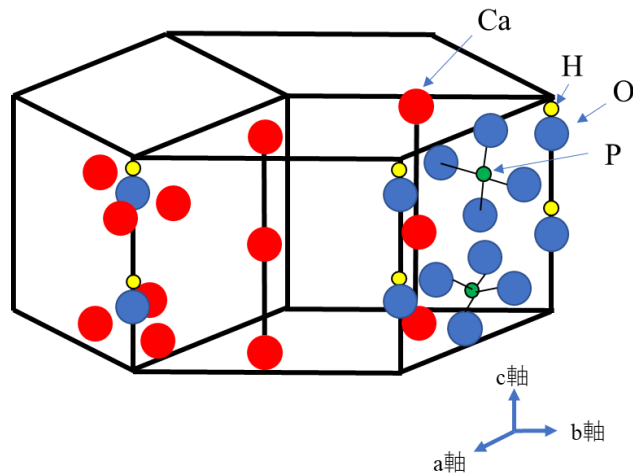


図 1-2-1 ハイドロキシアパタイト(HAp)の結晶構造

1-3 イミダゾール

イミダゾールは、化学式 $C_3N_2H_4$ で示される複素環式芳香族化合物の一種であり、五員環上の 1,3 位に窒素原子をもつ(図 1-3-1)。イミダゾールは生体分子内において、ヒスチジンの側鎖やビタミン B12 の構造内に存在していることが知られている[68-70]。イミダゾールは、1 位のプロトン (H⁺) が解離し、3 位の窒素に H⁺ が受け渡されても対照的な構造となっており、電荷を分散安定化することができる[71]。この性質は、生体内において酵素反応などに利用されており、酵素の活性中心付近にはイミダゾール環をもつヒスチジンが存在していることがある[70,72]。また、イミダゾールは酸性、塩基性両方の脱離基となることができる性質から、有機合成においてよく利用されている。また、様々な医薬、農薬の前駆体や誘導体として使用されている他、His タグを利用したタンパク質の精製などにも応用されている[73-75]。

近年では、イミダゾールをドーブした材料やイミダゾリウム塩複合体が無加湿の H⁺ 伝導体となることも知られている[76-79]。イミダゾールの H⁺ は 2 つの環状窒素原子の近傍に 2 つの等価位置を持ち、イミダゾールの 5 員環を回転させることで H⁺ 移動が可能である。しかし、イミダゾールを生体材料にドーブしたバイオ無水 H⁺ 伝導体に関する報告はほとんどない。

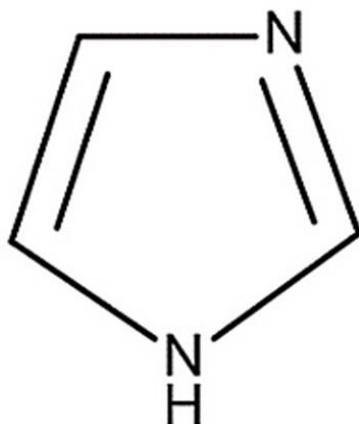


図 1-3-1 イミダゾールの構造

1-4 燃料電池とプロトン(H⁺) 伝導体

近年、温暖化などの進行を抑制するために CO₂ 等の温室効果ガスを削減する試みが行なわれている。特にゼロ・エミッションという廃棄物を排出せずに資源を循環させる仕組みや、循環を実現させるためのデバイスの開発が注目されており、水素型燃料電池もその 1 つである[80]。日本では 2030 年までに水素燃料電池車や水素ステーションの普及を計画しており、燃料電池を大型トラックやバス、バイク、電車などにも組み込むことで、現在の化石燃料中心社会から環境にやさしく、これまで利用されてこなかった物質や廃棄物から容易に生成可能な水素を燃料とした水素エネルギー社会の実現を目指している[81]。クリーンエネルギーとして知られる燃料電池は、水素と酸素から水を生成するという単純な反応を利用して高効率にエネルギーを得ることができるため、次世代の環境にやさしいエネルギーデバイスの 1 つとして注目されている[82]。図 1-4-1 には水素型燃料電池の模式図を示しており、燃料電池が燃料極、電解質、空気極の 3 層から構成されていることがわかる。燃料極では、外部から燃料となる水素を挿入することで、白金触媒により水素から 2 つの電子と H⁺ が生成される。そして、生成された H⁺ は電解質を、電子は外部回路を介して空気極に輸送され、空気極に供給される酸素と反応することで水が生成される。このように、水の生成反応を利用することで燃料電池は発電している。そして、H⁺ を輸送する電解質は、燃料電池にとって重要な構成要素である。水素型燃料電池の電解質には、プロトン (H⁺) 輸送能を有した物質 (H⁺ 伝導体) が使用されており、H⁺ 伝導特性が高いほど燃料電池の性能が向上する。それゆえ、近年では高い H⁺ 伝導特性をもつ材料の研究・開発が進められて

いる[83-87]。現在、燃料電池によく使われている電解質は、スルホン基やフッ素を構造中に有する合成高分子が使用されている。

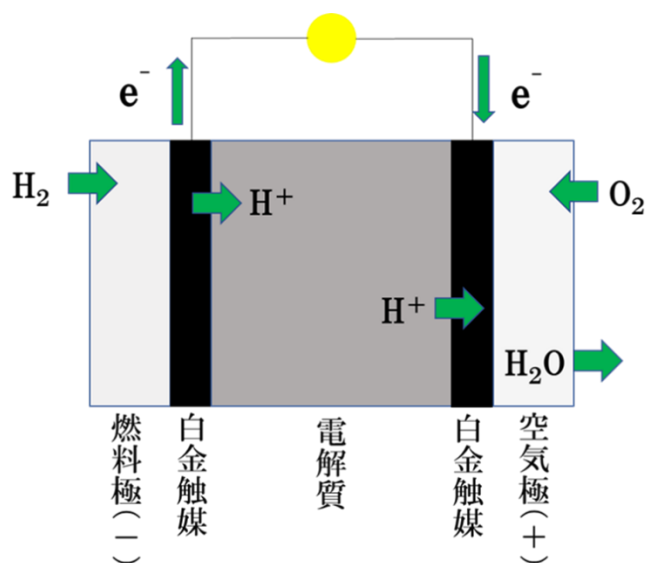


図 1-4-1 燃料電池の模式図

スルホン基やフッ素原子が構造中に存在する H^+ 伝導体は、多くの水分子を水和することが可能であり、高い H^+ 伝導特性を持つことが知られている[88,89]。水分子は伝導体構造内で水架橋(ウォーターネットワーク)を形成することが知られており、水架橋の形成に伴い H^+ 伝導経路が形成される[6,90]。そして、 H^+ 伝導経路数が多いほど、 H^+ 伝導特性が向上するため、水和数の多い硫酸基やフッ素原子をもつ H^+ 伝導体を電解質に用いることで、高性能な燃料電池を作製することが可能である。しかし、スルホン基やフッ素化合物は反応性が高く、環境汚染の原因として問題視されている。また現在、燃料電池に使用されている電解質は高コストであり、大規模な普及が難しい問題などが残っている。また、加湿条件下で H^+ 伝導を実現する H^+ 伝導体は室温での動作において優秀であるが、 $0^{\circ}C$ 以下または $100^{\circ}C$ 以上の温度領域では H^+ 伝導膜として機能しない。特に、 $200^{\circ}C$ 程度の中温で動作する固体水素型燃料電池は、電極上で水素をイオン化する触媒反応に対して高活性となり、排熱も利用できるため、早急な開発が求められているが、無加湿条件という H^+ 伝導体において難しい条件が電解質膜に課せられるため、その実用例はほとんどない。そのため近年、水を介さずに H^+ を輸送することが可能な無加湿 H^+ 伝導体の研究開発が盛んに行なわれている[91]。例えば、固体酸型燃料電池電解質である $CsHXO_4$, $M_3H(XO_4)_2$, CsH_2PO_4 (M : K, Rb, Cs, Tl; X : S, Se) は $200^{\circ}C$ 付近で無加湿 H^+ 伝導体となることが報告されている[92-98]。これらの無加湿 H^+ 伝導体における H^+ 伝導は図 1-4-2 に示すように、無加

湿状態において構造内に形成される水素結合の切断と再配列によって実現される。また、イミダゾールをドーブした材料やイミダゾリウム塩複合体が無加湿 H^+ 伝導体となることも知られている[76-78].

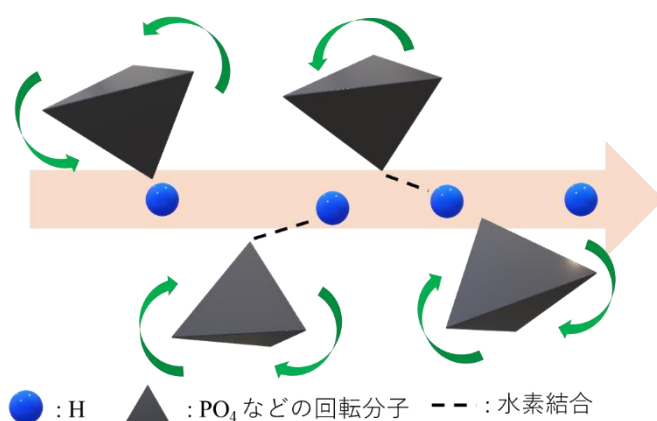


図 1-4-2 無加湿 H^+ 伝導体の伝導メカニズム. オレンジの矢印は H^+ の伝導経路. 緑の矢印は分子の回転.

最近では、低コストかつ環境に優しい材料として期待されているバイオマテリアルを利用した、 H^+ 伝導体の研究・開発が行われている。例えば、DNA やイオンチャネル、コラーゲンなどの加湿条件下で H^+ 伝導性をもつバイオマテリアルを電解質膜として利用した燃料電池の作製が可能であることが明らかになっている[7,99-102]。また、バイオマテリアルは上記のように低コスト・環境負荷低減というメリットがあるにもかかわらず、無加湿条件で H^+ 伝導を起こすバイオマテリアルに関する研究およびこれを用いた燃料電池に関する創製はほとんど行なわれていないのが現状である。

1-5 本研究の目的

近年、環境にやさしく、低コストであるバイオマテリアルは医療分野や建築分野など様々な領域において注目されている。日本においても、大量に排出される魚介類などの水産系廃棄物には、キチンやコラーゲンなどが大量に含まれており、これらのバイオマテリアルを再利用する試みが進んでいる[103-105]。これらのバイオマテリアルは、医薬品や医療器具、サプリメントなどなどの医療、薬学分野では利用され始めているが、エネルギー、工業分野では利用されていないのが現状である。1-4 章において述べたように、コラーゲンやキチンなどのバイオマテリアルは加湿条件において H^+ 伝導性を有しており、燃料電池の電解質に利用することが可能である。このように、バイオマテリアルは医療、薬学分野だけでなく、燃料電池などのエネルギー分野においても応用利用が可能であり、ゼロ・エミッション達成に必要な新規マテリアルとして注目されている[106-109]。また、1-4 章でも述べたように、近年では様々な環境で使用可能な無加湿 H^+ 伝導体の研究開発が盛んに行なわれている[77,91,110]。しかし、バイオマテリアルを材料とした無加湿 H^+ 伝導体の研究はほとんど行なわれていない。

本研究では、バイオマテリアルとしてよく知られているコラーゲンを基盤とし、新規バイオ中温無加湿 H⁺ 伝導体の創製を試み、その H⁺ 伝導性について調べた。コラーゲンには、高い割合で側鎖に水酸基を有した Hyp が含まれている[19,37,40]。水酸基は、H⁺ 伝導体において H⁺ ドナーとしての働きがあり、H⁺ 伝導において重要である。さらに、コラーゲン内には水素結合が可能なカルボニル酸素も多く存在しており、このカルボニル酸素は H⁺ アクセプターとして、H⁺ 伝導に寄与することが期待できる。また、コラーゲンは乾燥状態では耐熱性に優れており、100 °C 以上においても構造が崩れないことが知られているので、本研究に使用する材料として適している。まず、バイオマテリアルであるコラーゲんに、水酸基の配列を構造内にもつハイドロキシアパタイト (HAp) を複合し、中温無加湿 H⁺ 伝導体の創製を試み、その H⁺ 伝導性について調べた[111]。さらに、H⁺ 伝導性向上を見据えて、コラーゲんに解離性の高い H⁺ をもつイミダゾールを複合した無水 H⁺ 伝導体も創製し、その H⁺ 伝導性について調べた[112]。本研究は、新たなバイオ無加湿 H⁺ 伝導体の開発に貢献するだけでなく、エネルギー分野におけるバイオマテリアル利用のさらなる展開が可能であると考えられる。

【第 2 章】実験方法

2-1 試料作製

2-1-1 コラーゲン膜の作成

コラーゲン膜は淡水魚であるティラピア (*Oreochromis niloticus*) の鱗 (新田ゼラチン) から抽出したものを使用した。鱗に含まれる HAp やリン酸などは、脱灰処理の後、大量の蒸留水によって洗浄することで取り除いた。図 2-1-1 には、脱灰前の鱗と抽出したコラーゲンの写真を示している。写真からわかるように、脱灰前は全体的に白色であったが、脱灰処理後は半透明のコラーゲン膜を得ることができた。試料の厚みは 0.10 mm となるように調整した。また、試料は 1.0 cm×0.70 cm に切断し測定に使用した。

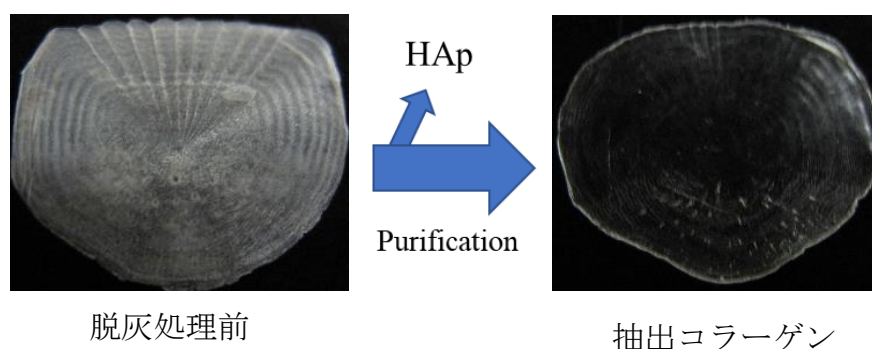


図 2-1-1 抽出したコラーゲンの写真

2-1-2 ハイドロキシアパタイト (HAp) 膜の作成

HAp 膜は、精製した HAp 粉末 (HAp-100, 太平化学産業) を用いて作成した。HAp 膜は、HAp100 2.50 g, クエン酸 (ナカライテスク) 0.125 g, ジルコニアビーズ (太平化学産業) 50.0 g, エタノール (ナカライテスク) 20.0 g を混ぜ、8 時間攪拌した後、型に流し込み 1000 °C で成形・焼結することで作製した。

2-1-3 ハイドロキシアパタイト (HAp) - コラーゲン複合体の作成

図 2-1-2 は、HAp-コラーゲン複合体の作成方法の模式図である。図 2-1-2 に示すように、HAp の重量を調整することで、HAp-コラーゲン複合体を作製した。HAp-コラーゲン複合体は、HAp を導入する足場として精製コラーゲンをを用いて湿式法で合成された[51]。HAp の合成には Na_2HPO_4 (ナカライテスク) と CaCl_2 (ナカライテスク) を使用した。溶媒には Milli-Q water を用いた。精製したコラーゲンを 200 mM CaCl_2 で攪拌してカルシウムイオンを注入し、未反応の遊離イオンを Milli-Q water で洗浄した。次に、カルシウムイオンを注入したコラーゲンを 120 mM Na_2HPO_4 水素溶液で攪拌し、コラーゲン内に HAp を合成することによって、HAp-コラーゲン複合体を作製した。最後に、生成した HAp-コラーゲン複合体を Milli-Q water で洗浄し、未反応の Na_2HPO_4 を除去した。この一連の操作を 1 サイクルとして、HAp の濃度 (wt/wt) を調製した HAp-コラーゲン複合体を製造した。これを 10~100 サイクル行なった。

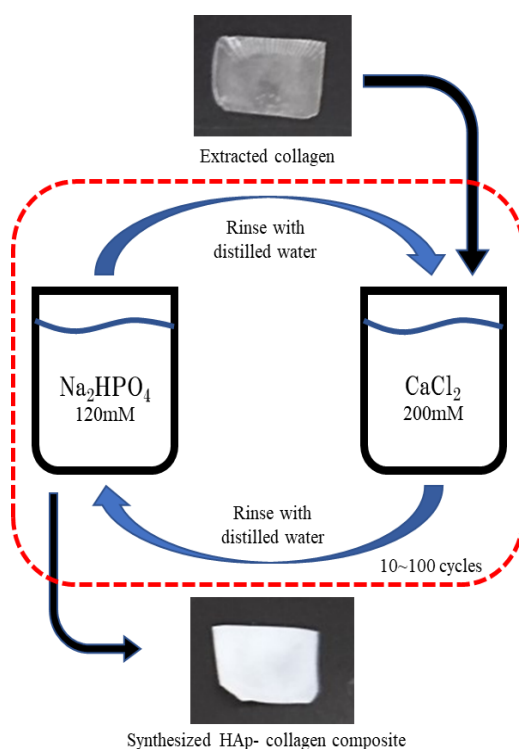


図 2-1-2 HAp-コラーゲン複合体の合成方法

図 2-1-3 には、作製した HAp 濃度 (wt/wt) の異なる HAp-コラーゲン複合体 0%, 5%, 15%, 25%, 31%, 40% を示している. 図 2-1-3 に示すように、HAp 濃度が増加するに伴い試料が白くなっていることが確認できた. これは、コラーゲン内に HAp が合成されていることを示している. また、HAp とコラーゲンの重量比を用いて、Gly-Pro-Hyp で表されるコラーゲンペプチドあたりに結合する HAp の数である HAp 濃度 n を求めることができ、HAp 濃度 0%, 5%, 15%, 25%, 31%, 40% に対応する値は 0, 0.029, 0.11, 0.19, 0.25, 0.38 である.

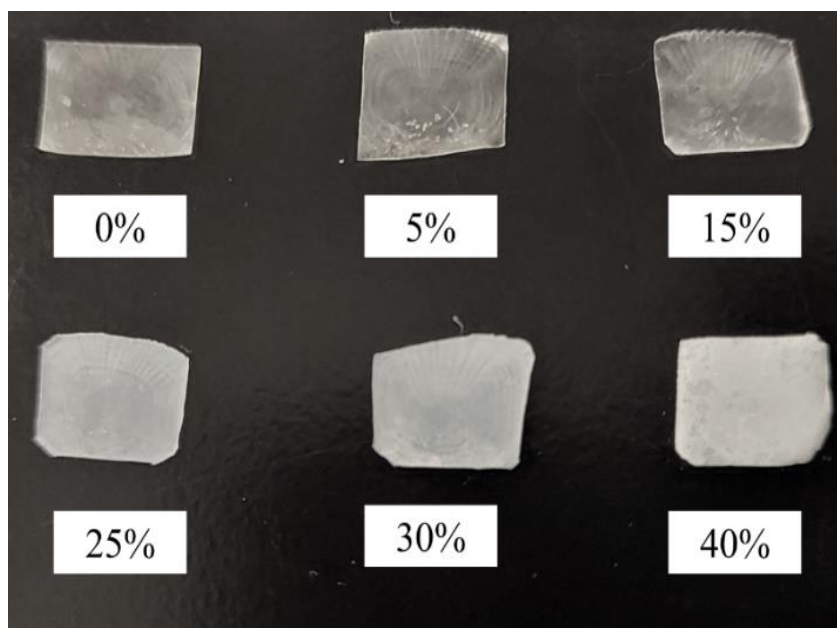


図 2-1-3 コラーゲンと各 HAp 濃度 (wt/wt) の HAp-コラーゲン複合体試料

2-1-4 人工コラーゲン膜とイミダゾール-コラーゲン複合体の作成

人工コラーゲン膜の作製には、グリシン (Gly) -ヒドロキシプロリン (Hyp) -プロリン (Pro) の配列を有する人工コラーゲン (ポリペプチド-6: UNIQS) を使用した. コラーゲン膜は、300 μ L のコラーゲン溶液 (0.5 %ポリペプチド-6 コラーゲン溶液) をテフロン基板上に滴下し、45 $^{\circ}$ C のデシケーター中で 24 時間乾燥させることにより作製した.

イミダゾール-コラーゲン複合体は、イミダゾール粉末をコラーゲン溶液に溶解し、得られた混合液 300 μ L をテフロン[®] 基板上にキャストし、45 $^{\circ}$ C, 24 時間デシケーター内で乾燥させることにより作製した. 図 2-1-4 に、作製したコラーゲン膜と、コラーゲン 1 分子あたりのイミダゾール分子濃度 (Gly-Hyp-Pro) を n としたときに $n = 2.0$ と $n = 4.0$ のイミダゾール-コラーゲン複合体の写真を示す. 図 2-1-4 に示すように、コラーゲンおよびイミダゾール-コラーゲン複合体の膜を作製することに成功した.

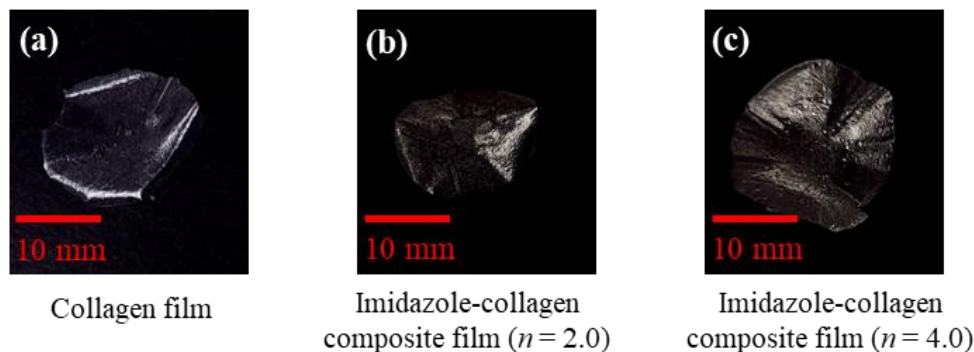


図 2-1-4 人工コラーゲン膜とイミダゾール量の異なるイミダゾール-コラーゲン複合体

2-2 測定方法

2-2-1 示差熱測定 (DTA)

示差熱測定 (DTA) は、温度による変化を受けない不活性な標準物質と測定試料に対して一定の間隔で温度を変化させたときに、標準物質と測定試料の間に生じる潜熱による温度差を温度の関数として測定する手法である。DTA 測定によって、融解、ガラス転移、結晶化、気化、昇華、結晶転移等の相転移、脱水、分解、酸化、硬化等の反応現象を捉えることが可能である。

デジタルマルチメータ (Keithley 2000, Keithley instruments) とコンピュータで構築した自作 DTA 装置を用いて、室温から 200 °C までの温度領域で DTA 曲線を測定した。温度制御とデータ取得はコンピュータを使用して行なった。標準試料としてアルミナ粉末を用い、温度測定には銅-コンスタンタン熱電対を用いた。DTA 測定に使用した試料は、メノウ乳鉢を使い破碎した粉末試料を用い、150 °C の真空中で十分に脱水し、使用した。

2-2-2 フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR)

FT-IR 測定は、測定試料に波数の異なる赤外線を連続照射し、その時に透過した赤外線を検出することで、IR スペクトルを得る測定手法である。赤外線を物質に照射すると、物質を構成する分子の運動エネルギー(振動エネルギー)に相当する IR スペクトルが吸収される。この吸収スペクトルを分析することで、試料の構造推定や同定、定量を行なうことが可能である。

FT-IR スペクトルは、FT-IR 分光器 (iS-5, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を用いて 400 ~4000 cm^{-1} の波数範囲で測定した。また、試料を脱水するために凍結乾燥処理を行なった。測定時に

は、ドライ真空ポンプ(DA-20D: ULVAC. Co. Ltd, Japan)を用いて、測定ボックス内を 5.33 KPa の真空状態にした。

2-2-3 固体 ^1H -核磁気共鳴分枝測定 (^1H -NMR 測定)

^1H -NMR 測定は静磁場中にある試料に対して、試料周りに巻いたコイルから水素のラーモア周波数と同じ周波数の電磁波パルスを照射することで、水素の NMR シグナルを得る測定手法である。NMR シグナルを分析することによって、測定試料の水素の位置や構造に関する情報を得ることができる。また、 H^+ 伝導体の研究においても ^1H -NMR 測定はよく使われる手法であり、 H^+ ダイナミクスに関する様々な情報を NMR シグナルから得ることが可能である。例えば、下記の式 (1) を用いることで H^+ の相関時間 τ_c を得ることが可能である[113]。

$$\tau_c = \frac{2\pi}{\alpha\gamma\Delta H} \tan \left[\frac{\pi \Delta H^2 - B^2}{2 C^2 - B^2} \right] \quad (1)$$

温度ごとの相関時間を算出することによって、 H^+ 伝導に必要な活性化エネルギーを求めることも可能である。このように、 ^1H -NMR 測定から得ることのできるデータは、 H^+ 伝導体のミクロな H^+ 伝導ダイナミクスを知るうえで非常に重要である。

本研究における ^1H -NMR 測定は、300 Hz Multifunction generator (WAVE FACTORY), Pulse generator (N146-4746AM, Thamway), Amplifier for pulse reception (Thamway) からなる自作固体 NMR 装置で行ない、 ^1H -NMR スペクトルを共鳴周波数 9.979 MHz で観察した。直径 10 mm のガラス管に試料を封入し、80 ~ 200 °Cの温度範囲で測定した。

H^+ 伝導体を試料とした固体 ^1H -NMR 測定においては、モーショナルナローイングの観測などにもよく利用される。モーショナルナローイングは、図 2-2-1 に示すように NMR スペクトルが先鋭化する現象であり、 ^1H -NMR においては試料内で H^+ の移動が起きているときにみられる。NMR スペクトルの半値幅は、磁気双極子-双極子相互作用に依存しており、半値幅が広いほど双極子-双極子相互作用が強いことを示している。固体試料の場合、磁気双極子-双極子相互作用が強く働くため、半値幅が広くなり、ブロードな NMR スペクトルが得られる。しかし、固体 H^+ 伝導体試料では、 H^+ の移動が起こる条件下において、磁気双極子-双極子相互作用が急激に低下する。そのため、 H^+ 伝導が起きている試料では、シャープな NMR スペクトルが得られる。磁気双極子-双極子相互作用は、温度の上昇や水和などによって H^+ 伝導が増加するに伴い弱くなり、そして、NMR スペクトルが先鋭化する。本研究においても、この性質を利用することで、作成した試料が H^+ 伝導を起きているかを確認した。

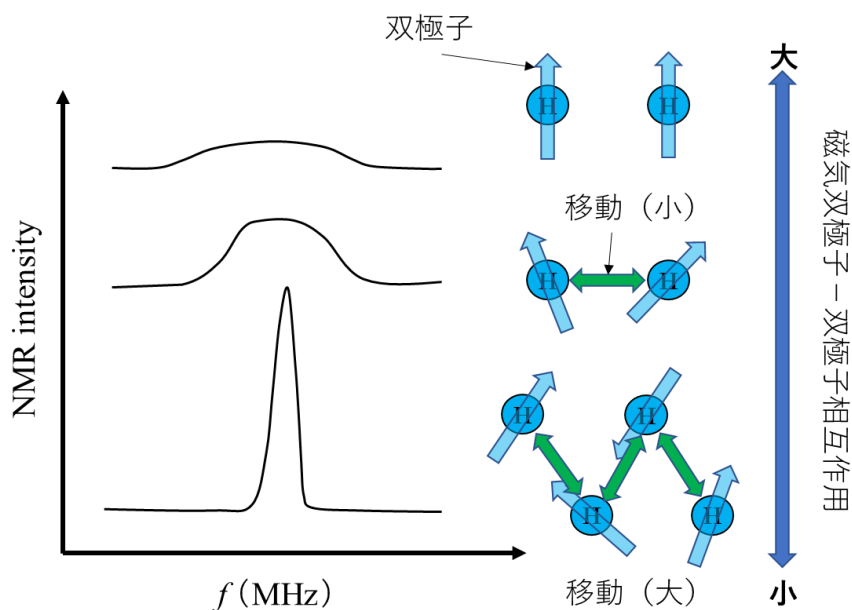


図 2-2-1 H⁺ 伝導体におけるモーショナルナローイング. 水色の矢印は H⁺ の磁気双極子, 緑の矢印は H⁺ の移動を示している.

2-2-4 インピーダンス測定 (プロトン伝導測定)

インピーダンス測定は様々な電気科学的測定に用いられる測定方法の 1 つであり, イオン伝導体の分野では伝導体の界面で起こる電氣的応答やイオン伝導度など様々なデータを得ることのできる測定である[114-116]. インピーダンス測定は LCR メーターから, 試料に交流信号(交流の電圧や電流)を印加することで, 試料からの抵抗 R やキャパシタンス C , インダクタンス L などの応答を読み取ることが可能である. H⁺ 伝導体においても LCR メーターを用いることで上記の成分を得ることができさらに, 理論式による解析から, 直流伝導度 σ_0 や誘電率 ϵ , H⁺ 伝導に必要な活性化エネルギー ΔE_a など様々な物性情報を得ることが可能である. 例えば, LCR メーターによる測定によって, 交流抵抗 R を得ることができ, この交流抵抗 R の逆数が交流伝導度 σ_{AC} である. また, 測定した試料が, キャパシタンス C と抵抗 R の単純な並列等価回路で示すことができる場合, 交流伝導度 σ_{AC} は次の式 (2) で表すことができる.

$$\sigma_{AC} = \sigma_0 + \omega \epsilon_0 \epsilon'' \quad (2)$$

ここでは, σ_0 は直流伝導度, ϵ'' は誘電率の虚数成分であり, ω と ϵ_0 は, 角周波数と真空中の誘電率である. このように式 (2) から, 直流伝導度 σ_0 などの H⁺ 伝導に関する情報を得ることができる. さらに, 得られた直流伝導度 σ_0 と温度の関係をグラフ化することで H⁺ の移動にかかる活性化エネルギー ΔE_a

を求めることが可能である。活性化エネルギー ΔE_a は、アレニウスプロットとして知られる縦軸に伝導度、横軸に温度の逆数をプロットしたグラフの傾きから、以下のアレニウスの関係式 (3) より求めることが可能である[117]。

$$\sigma_0 = Ae^{-\frac{\Delta E}{kT}} \quad (3)$$

ここでは k はボルツマン定数を示し、 T は温度、 ΔE_a は活性化エネルギー、 σ_0 は直流 H^+ 伝導度、 A はPre-exponential factorを示している。

また、インピーダンス測定は誘電体試料に交流電場を印加することで、試料内で分極を引き起こし、その応答を観測することができる。分極には、配向分極、イオン分極、電子分極があり、本研究では扱う交流電場の周波数領域では、配向分極を見るのが可能である。配向分極は、電気双極子を有する極性分子のみに存在する分極であり、この極性分子に電場をかけた時に電場方向に電気双極子が配向することによって起こる分極である。配向分極を模式的に表したものを図 2-2-2 に示す。

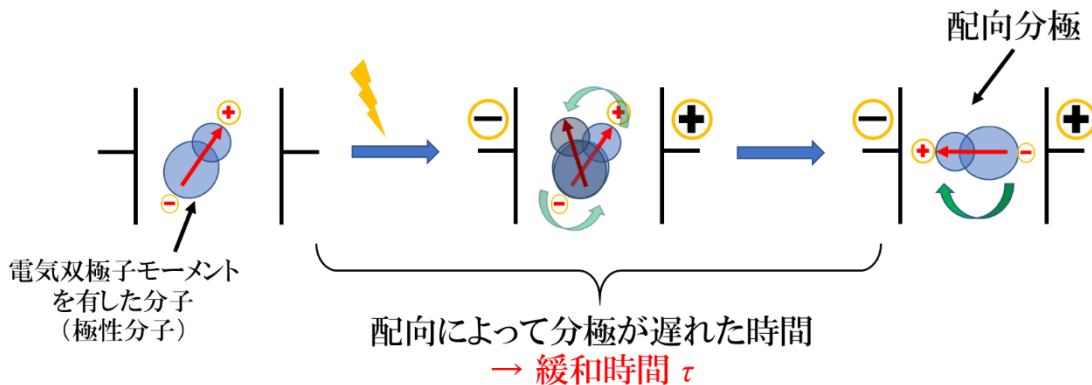


図 2-2-2 配向分極の模式図。緑の矢印は分子の動き。赤の矢印は双極子モーメント。

図 2-2-2 に示すように、電場を印加すると極性分子の電気双極子モーメントは、電場の方向に従って整列する。配向分極は電場を印加した瞬間には起こらず、遅れて整列する。この遅れた時間を緩和時間 (τ) という。また、分極のしやすさや双極子モーメント (極性分子) の量は、誘電率 ($\epsilon_s - \epsilon_\infty$) として示される。電気双極子は、極性分子に存在することから、水酸基などの官能基の動きをインピーダンス測定から調べることができる。高分子試料の場合には、電気双極子は高分子とその側鎖の間にも形成される。つまり、これらの情報を解析することで、高分子鎖の分子ダイナミクスを調べることができ、本研究で扱う生体高分子に関する情報を得ることが可能である。以下には、インピーダンス測定から、イカの軸索に存在する高分子タンパク質であるイオンチャネルの H^+ 伝導特性と分子ダイナミクスを調

べた結果を例として示す[102].

図 2-2-3～2-2-6 には、イオンチャンネル膜（イカの軸索）を試料としてインピーダンス測定を行なった結果を示している。図 2-2-3 には周波数 1 MHz におけるイオンチャンネル膜の交流伝導度 σ_{AC} と相対湿度の関係を示している。図 2-2-3 に示すように、相対湿度の増加とともに σ_{AC} が急激に増加している。水架橋による H^+ 伝導の場合、相対湿度の増加に伴い緩やかに伝導度 σ が増加することが知られており、これは H^+ 伝導経路となる水架橋が湿度の増加に伴い形成されていることが原因である[6,7]。しかし、イオンチャンネル膜の場合、相対湿度 85 ～ 95% において σ_{AC} が急激に上昇している。この結果は、イオンチャンネル膜における H^+ 伝導が、水架橋に依存した伝導ではないことを示唆している。この結果から、湿度 85% 以上における σ_{AC} の急激な増加は、イオンチャンネルが活性化したことに起因していることが考えられる。さらに詳細なイオンチャンネルの H^+ 伝導特性を調べるために、 σ_{AC} の周波数依存性について解析した。図 2-2-4 には、イオンチャンネル膜の σ_{AC} と周波数の関係を示している。図 2-2-4 の黒丸は実測値を示しており、黒の実線は、下記の誘電分散に関する式 (4) の計算値である[118].

$$\begin{aligned}\sigma_{AC} &= \sigma_0 - \text{Im} \left[\omega \epsilon_0 \epsilon_\infty + \frac{\omega \epsilon_0 (\epsilon_s - \epsilon_\infty)}{1 + (j\omega\tau)^\beta} \right] \\ &= \sigma_0 + \frac{\omega \epsilon_0 (\epsilon_s - \epsilon_\infty) (\omega\tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)}{\left(1 + (\omega\tau)^\beta \cos\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2 + \left((\omega\tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2} \quad (4)\end{aligned}$$

表 2-2-1 式から算出されたイオンチャンネル膜の誘電分散に関する各成分

RH(%)	σ_0 (S/m)	$\epsilon_s - \epsilon_\infty$	τ (sec)	β
95	2.10×10^{-3}	1.40×10^5	9.00×10^{-2}	0.395
85	6.80×10^{-5}	9.00×10^2	2.55×10^{-4}	0.850
70	9.20×10^{-6}	3.00×10^2	5.00×10^{-3}	0.660
50	4.80×10^{-7}	1.10×10^2	6.60×10^{-2}	0.574

図 2-2-4 に示すようにこの実測値は式 (4) の多分散を考慮した交流伝導度の計算結果とよく一致している。式 (4) から直流伝導度 σ_0 だけでなく、 H^+ 伝導と密接に関与した分子運動による誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ 、誘電緩和時間 τ 、多分散を表す指標 β を測定結果から得ることができる。表 2-2-1 には式から得られた誘電分散に関する成分を示している。

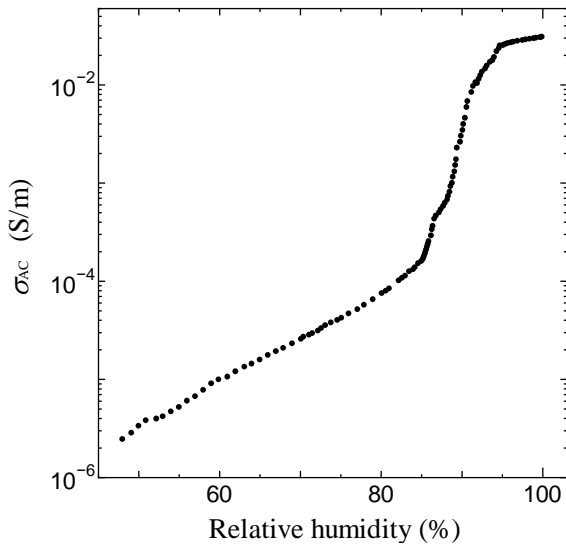


図 2-2-3 イオンチャネル膜における，交流 H^+ 伝導 σ_{AC} (1 MHz) と相対湿度の関係。

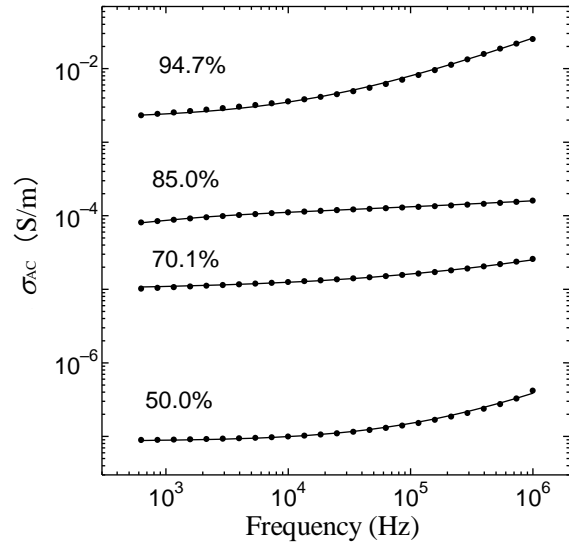


図 2-2-4 イオンチャネル膜における，交流 H^+ 伝導の周波数依存性。実線は式 (4) から得た計算値。

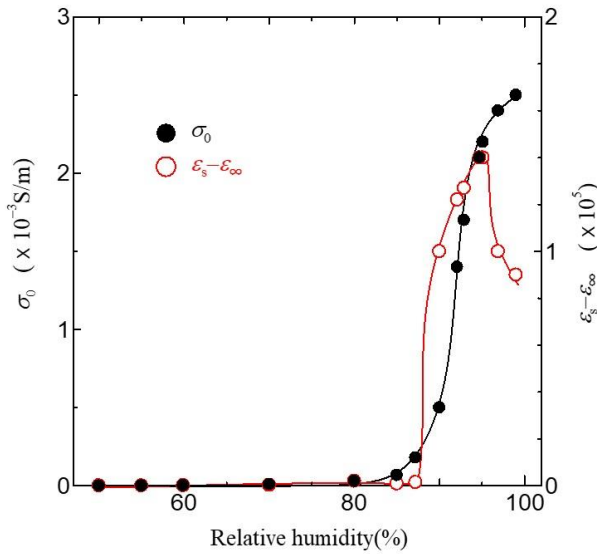


図 2-2-5 イオンチャネル膜における，直流 H^+ 伝導度 σ_0 ，誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ と相対湿度の関係。

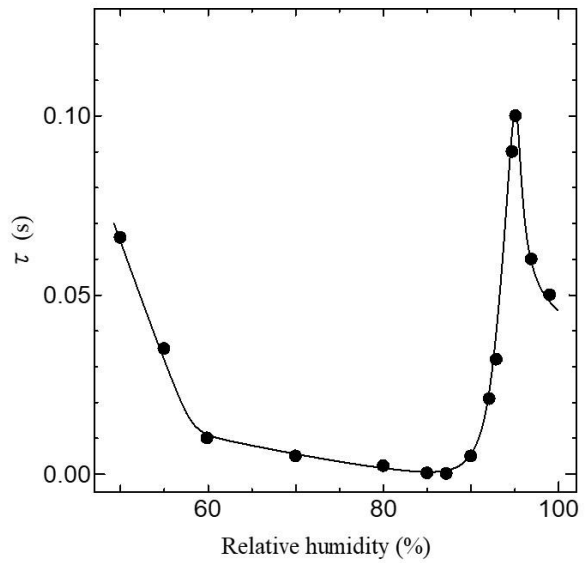


図 2-2-6 イオンチャネル膜における，緩和時間 τ と相対湿度の関係。

図 2-2-5 には式 (4) より得られた直流 H^+ 伝導度 σ_0 ，誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ と相対湿度の関係を示す。図 2-2-5 に示すように，相対湿度の上昇とともに σ_0 が増加しており， σ_{AC} と同様に湿度 85 %から急激に上

昇している. 図 2-2-6 には, 誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$, 緩和時間 τ と相対湿度の関係を示している. 図 2-2-6 に示すように, 誘電緩和時間 τ は相対湿度 85 ~ 96% で長くなり, 相対湿度の上昇とともに短くなっていることがわかる. また, 誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ は相対湿度 90% 付近においてピークをもち, その後, 相対湿度の上昇とともに減少していることがわかる. これらの誘電率と緩和時間のピークは, クリティカルスローイングダウン現象として知られている [119]. クリティカルスローイングダウンは, (秩序無秩序型) 相転移が起きるときに観測される現象である. 相転移が起きるときには, 電気双極子が秩序化することで, 双極子-双極子相互作用が強くなるため, 緩和時間が急速に長くなり, 誘電率が急激に増大する. つまり, これらの結果は, 湿度 96% においてイオンチャネルが相転移に伴う構造変化を起こしていることを示しており, 構造変化によるイオンチャネルの活性化によって H^+ 伝導度 σ_0 が増加したことを示唆している. これらの結果から, イカの軸索を用いたイオンチャネル膜は湿度 96% 以上において活性化したイオンチャネルが H^+ を輸送する加湿 H^+ 伝導体であることが明らかになった.

このように, インピーダンス測定によって生体高分子の H^+ 伝導特性や分子ダイナミクスを分析することが可能であることがわかる. 本研究では, インピーダンス測定から, 2 種類のバイオ無加湿 H^+ 伝導体の H^+ ダイナミクスを調べた.

インピーダンス測定は, LCR メーター (E4980A : Agilent technology, Santa Clara, CA, USA) を用いて実施された. 100 °C ~ 200 °C の温度範囲において, 1 kHz ~ 1 MHz の周波数でインピーダンスを求めた. コラーゲン膜と HAp-コラーゲン複合体のインピーダンスは, コラーゲン繊維に平行な方向とコラーゲン繊維に垂直な方向で測定された. インピーダンス測定の試料は, 5.33 KPa の乾燥真空環境下に置いた. 図 2-2-5 に示すように, 試料片に金電極を蒸着した.

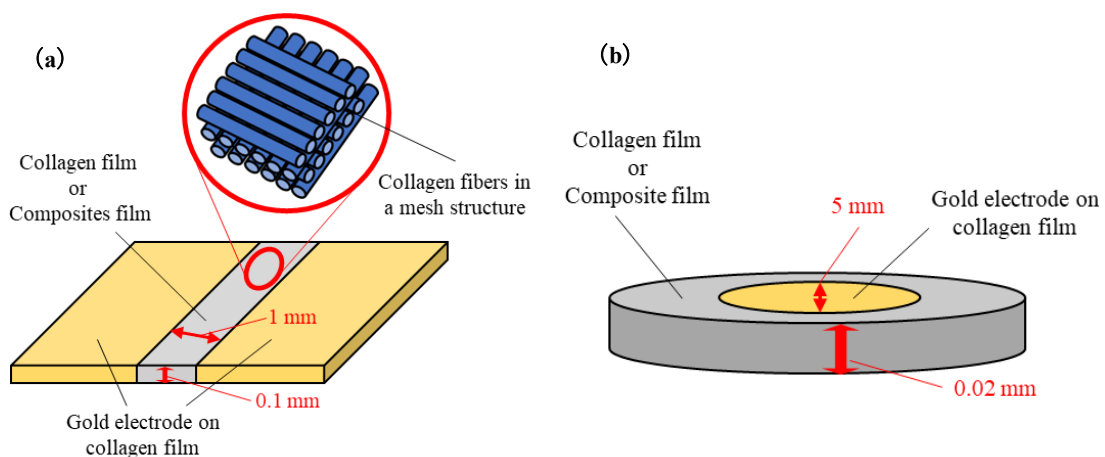


図 2-2-5 インピーダンス用測定試料. (a) コラーゲン繊維並行方向. (b) コラーゲン繊維垂直方向.

【第3章】 結果および考察

3-1 HAp-コラーゲン複合体の結果および考察

3-1-1 HAp-コラーゲン複合体の試料特性

図 3-1-1 にコラーゲンと HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の 25 ~ 200 °Cにおける顕微鏡写真を示す。図 3-1-1 (a) ~ (c) はコラーゲン, 図 3-1-1 (d) ~ (g) は HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) を示している。図 3-1-1 (a) ~ (c) では, コラーゲン特有の模様が 150 °Cまでは変化がなかったが, 160 °Cからは模様に変化が見られた。この現象は, コラーゲンが 160 °C以上において軟化したことを示唆している。しかし, 図 3-1-1 (d) ~ (g) の HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) では 200 °Cまで温度を上昇させたが, コラーゲン特有の模様に変化は見られなかった。この結果は, HAp-コラーゲン複合体は, コラーゲン単体よりも高い熱耐性を有していることを示している。HAp はコラーゲンと結合することでコラーゲン繊維間を架橋することで物理的強度を上昇させることが知られており, 今回の熱耐性試験の結果と一致する。

図 3-1-2 には, HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の熱特性を調べるために行なった DTA (示差熱測定) の結果を示している。図 3-1-2 からわかるように, 常温から 200 °Cまでの間で特異なピークは確認できなかった。HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) に溶や蒸発などの状態変化が起きた場合, 吸熱反応に由来するピークが出現することが知られているが, 図 3-1-2 からは確認できなかった。この結果は, HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) が常温から 200 °Cの間において構造の変化がないことを示しており, 図 3-1-1 の顕微鏡写真の結果と一致する。

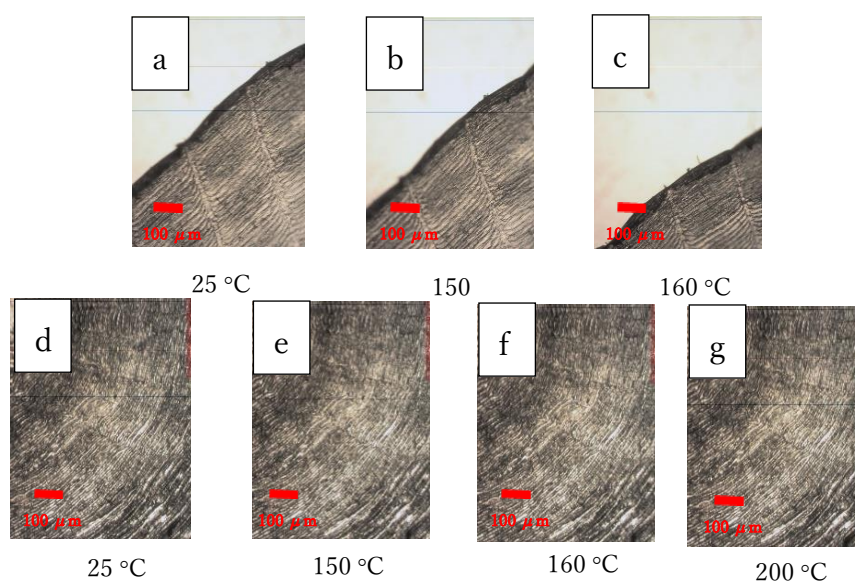


図 3-1-1 コラーゲンと HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の熱耐性の違い。

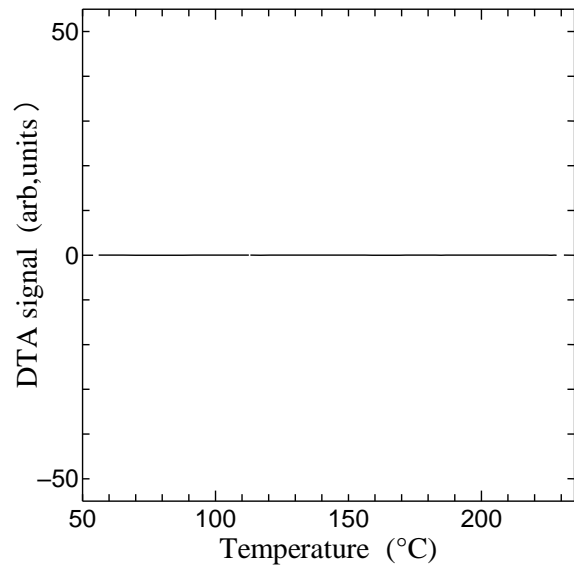


図 3-1-2 HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の DTA 曲線.

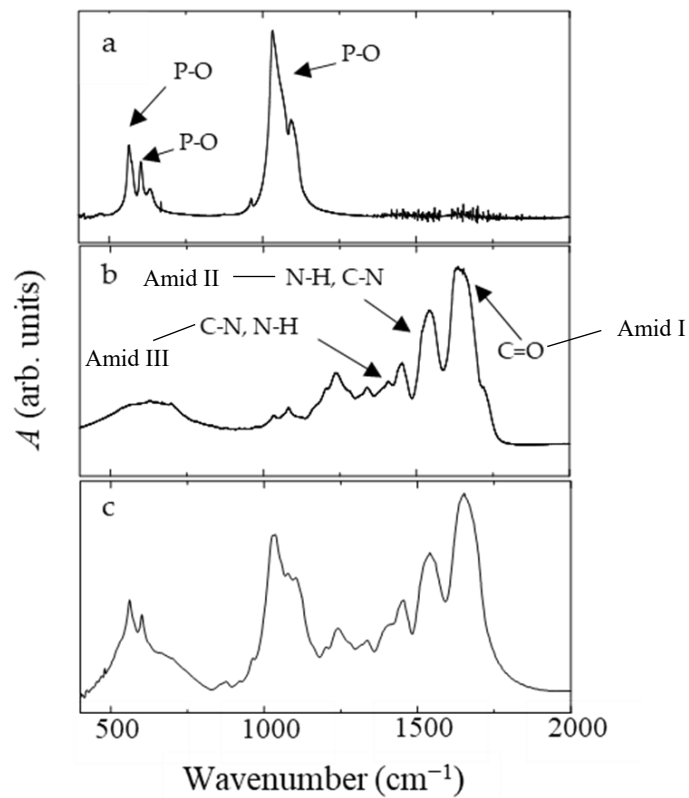


図 3-1-3 HAp-コラーゲン複合体の FT-IR スペクトル. (a) HAp 単体.
(b) コラーゲン単体. (c) HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$).

図 3-1-3 (a) ~ (c) には, HAp 単体, コラーゲン単体, HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の 400 cm^{-1} ~ 2000 cm^{-1} における IR スペクトルを示している. 図 3-1-3 (a) では, 560 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} に HAp 特有の P-O に由来するピークが確認できた[56]. また, コラーゲンの IR スペクトルである図 3-1-3 (b) では, 1650 cm^{-1} (アミド I), 1540 cm^{-1} (アミド II), 1480 cm^{-1} および 1240 cm^{-1} (アミド III) にコラーゲン特有のアミド I, アミド II, アミド III のピークが確認できた. アミド I は C=O の伸縮運動, アミド II は C-N の変角運動, N-H の伸縮運動, アミド III は N-H の変角運動, C-N の伸縮運動を由来とした吸収ピークである[14,120]. そして, 図 3-1-3 (c) の HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) では, コラーゲン特有のアミド I,II,III および P-O に由来する HAp 特有のピーク両方が確認された. これらの結果は, HAp-コラーゲン複合体が合成されたことを示している.

3-1-2 HAp-コラーゲン複合体の電気伝導特性

図 3-1-4 には, コラーゲン, HAp, HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ における周波数と交流伝導 σ_{AC} の関係を示している. 複合体は, HAp 数がコラーゲン 1 分子 (Gly-Pro-Hyp) に対して 0.38 個 ($n=0.38$) の試料を作製し使用した. 図 3-1-4 から, コラーゲン単体, HAp 単体よりも HAp-コラーゲン複合体の交流伝導度が高くなっていることが確認できる. この結果は, HAp とコラーゲンが複合体となることで伝導特性が向上したことを示している. 次に, 得られた交流電気伝導 σ_{AC} と周波数の関係から, さらに詳細な情報を得るために, 理論式による解析を行なった. 理論式には, C (キャパシタンス) と R (レジスタンス) の単純な並列回路を表すことができる式である $\sigma_{AC} = \sigma_0 + \omega\epsilon_0\epsilon''$ 式 (2) を使用した. 式 (2) の ω は周波数, ϵ'' と ϵ_0 は虚部の誘電率と真空の誘電率を示している. 理論式により得られた計算値は, 図 3-1-4 の点線のようにになった. 式 (2) から, コラーゲンと HAp の直流電気伝導度 σ_0 は $9.00 \times 10^{-9}\text{ S/m}$, $5.00 \times 10^{-10}\text{ S/m}$ であった. 図 3-1-4 から, 点線で示されたフィッティング線がコラーゲン単体と HAp 単体の実測値とよく一致していることが確認できる. しかし, HAp-コラーゲン複合体の実測値は, 式 (2) のフィッティング線と一致しなかった. これは, HAp-コラーゲン複合体の ϵ'' が周波数に強く依存しており, C と R の単純な並列等価回路では表せないことを示している. また, ポリマーと極性分子が結合した複合体では, 周波数 100 kHz 付近において誘電分散が起きることが知られており, 今回の HAp-コラーゲン複合体においても誘電分散が起きていることを示唆している. この誘電分散は, HAp とコラーゲンが複合したことにより出現した. この結果は, HAp-コラーゲン複合体の形成によって可動性分子が出現したことを示唆している. よく知られているように, 水酸基などの官能基は電場の影響を受け分極を起こす可動性分子である[121,122]. HAp とコラーゲン

はともに構造内に水酸基が多く存在していることから、観測された誘電分散は水酸基に由来しており、複合体形成による電気伝導度の上昇は水酸基に由来した H^+ の動きに関係していることが考えられる。

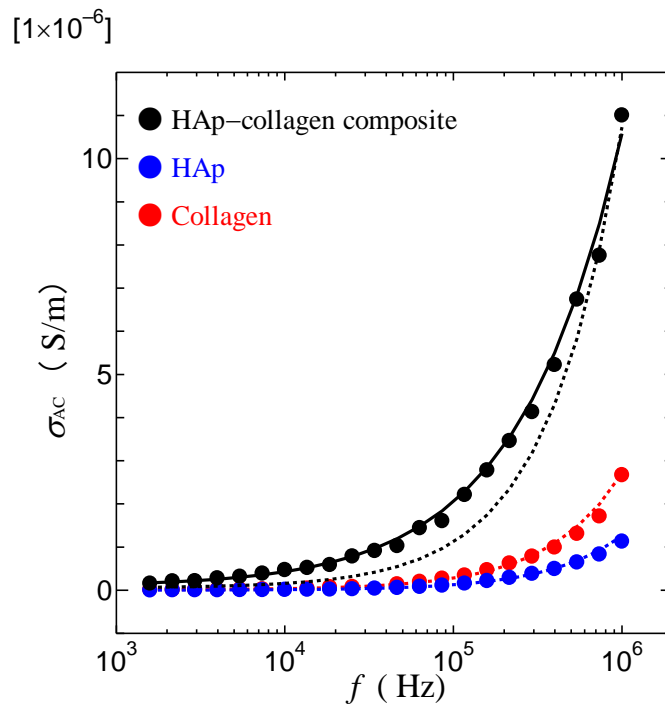


図 3-1-4 HAp-コラーゲン複合体の交流伝導度と周波数の関係．点はインピーダンス測定による実測値．破線は式 (2) による計算値．実線は式 (4) による計算値．

3-1-3 1H -NMR 測定による H^+ 挙動の観測

次に、HAp-コラーゲン複合体の H^+ ダイナミクスを調べるために 1H -NMR 測定を行った．図 3-1-5 には、 $130\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $160\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $180\text{ }^\circ\text{C}$ における HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の NMR スペクトルを示している．図 3-1-5 に示すように、温度の上昇とともに NMR スペクトル幅の先鋭化が見られた．この結果は、HAp-コラーゲン複合体内において H^+ の動きに由来するモーションナローイングが起きていることを示唆している．図 3-1-6 には、NMR スペクトルから得られた半値全幅 (ΔH) と温度の関係を示している．図 3-1-6 からわかるように、温度の上昇に伴い ΔH の低下が確認できた．次に、得られた ΔH を使い HAp-コラーゲン複合体の H^+ 挙動の相関時間 τ_c と温度の関係を調べた． H^+ 挙動の相関時間 τ_c は次の式 (1) によって得られた．

$$\tau_c = \frac{2\pi}{\alpha\gamma\Delta H} \tan \left[\frac{\pi \Delta H^2 - B^2}{2 C^2 - B^2} \right] \quad (1)$$

ここでは、 α は $(8\ln 2)^{-1}$ 、 γ は H^+ の磁気回転比を示している．また、 C はナローイング前の半値幅、 B はナローイング後の半値幅である．図 3-1-7 には式 (1) より得られた H^+ 挙動の相関時間 τ_c と温度の

逆数の関係を示している。図 3-1-7 からわかるように、温度の上昇に伴って τ_c が短くなっている。また、アレニウスの式より HAp-コラーゲン複合体の H^+ 挙動の活性化エネルギーは、0.55 eV であった。これらの結果は、HAp-コラーゲン複合体が H^+ 伝導を起こすことを示唆しており、電気伝導度（インピーダンス）測定で得られた値が H^+ 伝導に由来していることが明らかになった。

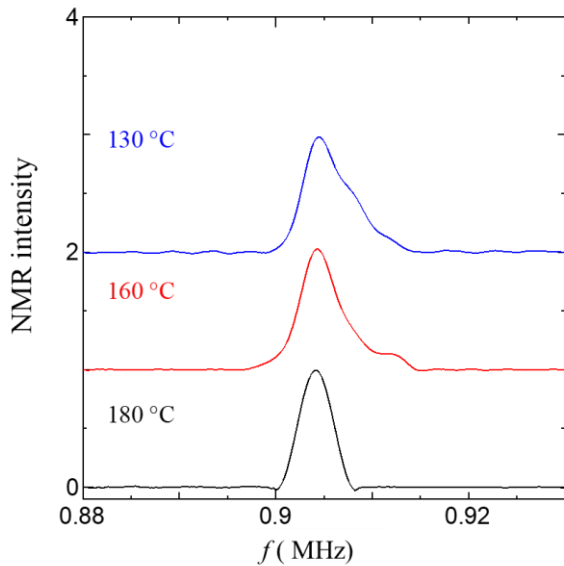


図 3-1-5 各温度における HAp-コラーゲン複合体 ($n=0.38$) の NMR スペクトル。

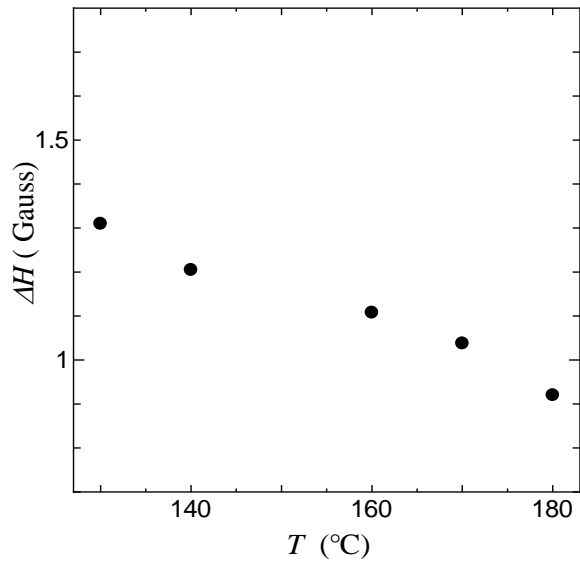


図 3-1-6 NMR スペクトルの 2 次モーメント ΔH と温度との関係。

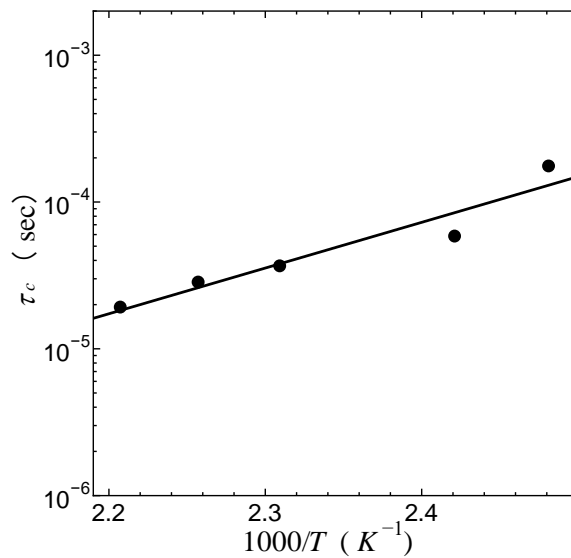


図 3-1-7 HAp-コラーゲン複合体における H^+ の相関時間 τ_c と温度の関係。

3-1-4 インピーダンス解析による分子ダイナミクスの説明

¹H-NMR 解析の結果より、HAp-コラーゲン複合体が H⁺ 伝導特性をもつことが明らかになった。この結果は、インピーダンス測定で得られた電気伝導が H⁺ 伝導であったことを示しており、得られたインピーダンス特性を解析することで、誘電分散の観点から、HAp をコラーゲンに注入することで生じる H⁺ 伝導と分子ダイナミクスの関係を調べるのが可能である。組織由来の生体材料では、 α 分散に相当する非デバイ誘電分散が観測されることが知られている。つまり、HAp-コラーゲン複合体においては、誘電分散を含む交流 H⁺ 伝導度を考慮する必要がある。誘電分散を含む交流 H⁺ 伝導度は、式 (4) において示した非デバイの式を使用することで求めることができる。式 (4) から得られた結果は図 3-1-4 に黒の実線として描画されており、算出された値は表 3-1-1 に示している。図 3-1-4 に示すように、計算結果は実測値とよく一致している。これらの結果は、コラーゲンに HAp を導入したことで、誘電分散が引き起こされたことを示唆している。図 3-1-8 には、式 (4) より算出された直流 H⁺ 伝導度 σ_0 と温度の逆数の関係をアレニウスプロットとして示している。図 3-1-8 に示すように、130 °C から直線的に σ_0 が増加している。また、直流 H⁺ 伝導度はアレニウス式に従うことが知られている。アレニウスの式より、130 ~ 200 °C における HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導に必要な活性化エネルギーは 0.56 eV であることが明らかとなった。この活性化エネルギーの値は、NMR において相関時間から求めた H⁺ 移動に必要な活性化エネルギー 0.55 eV とよく一致している。この活性化エネルギーの一致は、NMR 測定において観測された H⁺ の運動とインピーダンス測定から得られた H⁺ 伝導が同じ現象であることを示している。つまり、これらの結果は、HAp をコラーゲンに導入したことによって、HAp-コラーゲン複合体内では 0.55 eV の活性化エネルギーが必要な新たな H⁺ 伝導経路が出現したことを示唆している。

$$\sigma_{AC} = \sigma_0 + \frac{\omega \epsilon_0 (\epsilon_s - \epsilon_\infty) (\omega \tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)}{\left(1 + (\omega \tau)^\beta \cos\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2 + \left((\omega \tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2} \quad (4)$$

表 3-1-1 HAp-コラーゲン複合体における各温度の誘電分散成分

T (°C)	σ_0 (S/m)	$\epsilon_s - \epsilon_\infty$	τ (sec)	β
100	1.2×10^{-8}	4.9	1.8×10^{-3}	0.27
140	6.7×10^{-8}	6.6	1.3×10^{-3}	0.30
170	2.0×10^{-7}	8.0	2.0×10^{-4}	0.44
200	4.8×10^{-7}	17	4.8×10^{-4}	0.45

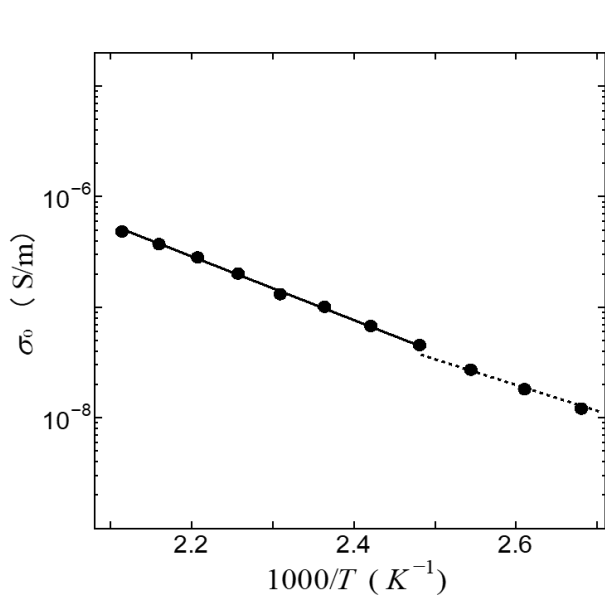


図 3-1-8 HAp-コラーゲン複合膜における H⁺ 伝導度のアレニウスプロット.

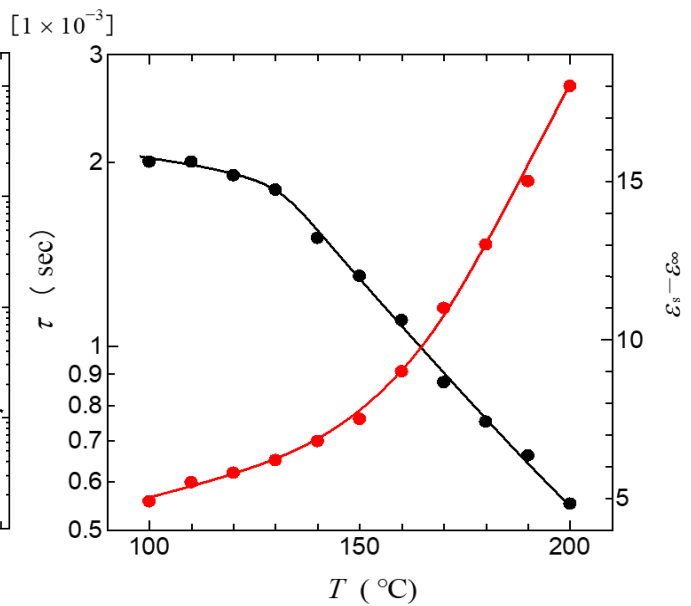


図 3-1-9 HAp-コラーゲン複合体膜の $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ と τ の温度依存性.

図 3-1-9 には、式 (4) より求めた H⁺ 伝導に関する緩和時間 τ と誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ の温度依存性を示している。図 3-1-9 に示すように、温度の上昇に伴い複合体の緩和時間は短くなり、誘電率は増加した。温度上昇に伴う誘電率の増加は、温度の上昇とともに誘電分散が起きていることを示している。また、緩和時間は 130 °C から短くなっていることが図 3-1-9 からわかる。この結果は、H⁺ 伝導度 σ_0 が 130 °C 以上において直線的に増加することと一致している。すなわち、130 °C からの緩和時間の増加は、複合体内に多く存在する可動性分子である水酸基のフリップフロップ運動によるものであり、複合体の H⁺ 伝導が水酸基の運動に由来していることを示唆している。これらの結果から、HAp-コラーゲン複合体が水分子ではなく、構造内の水酸基によって H⁺ を輸送していることが明らかになった。

3-1-5 HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導経路の解明

H⁺ 伝導経路の形成に関する情報を得るために、我々は様々な HAp 濃度の HAp-コラーゲン複合体を合成し、FT-IR および H⁺ 伝導度の測定を行なった。図 3-1-10 は、様々な HAp 濃度で合成した HAp-コラーゲン複合体の IR スペクトルを示している。図 3-1-10 に示すように、いくつかの強い吸収ピークが観察される。上述したように、1240 cm⁻¹, 1480 cm⁻¹, 1540 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹ の吸収ピークは、コラーゲンに由来するものである。一方、560 cm⁻¹, 600 cm⁻¹, 1030 cm⁻¹ の吸収ピークは HAp の P-O 結合に由来するものであり、これらのピークは図 3-1-10 に示すように、HAp 濃度の増加とともに強度が増加

することがわかる. HAp とコラーゲンの重量比 (wt/wt) を用いて, Gly-Pro-Hyp を表すコラーゲンペプチド 1 個あたりの HAp の数である HAp 濃度 n を求めることができ, HAp 濃度 0, 5, 15, 25, 31, 40% に対応する値は 0, 0.029, 0.11, 0.19, 0.25, 0.38 となった.

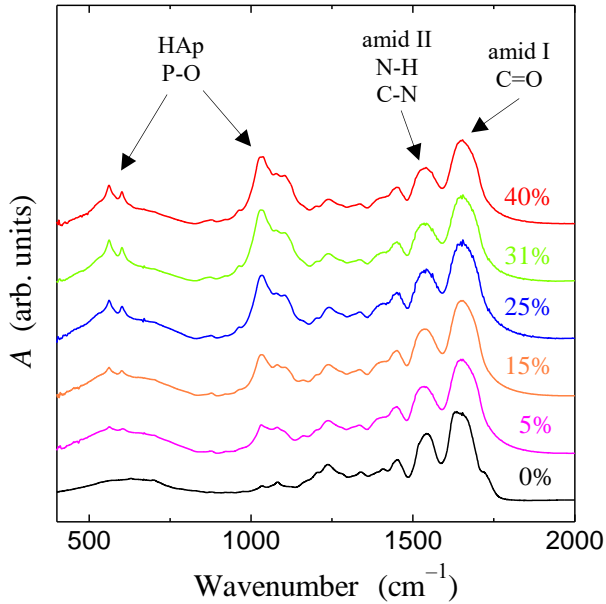


図 3-1-10 各 HAp 濃度の HAp-コラーゲン複合体の IR スペクトル.

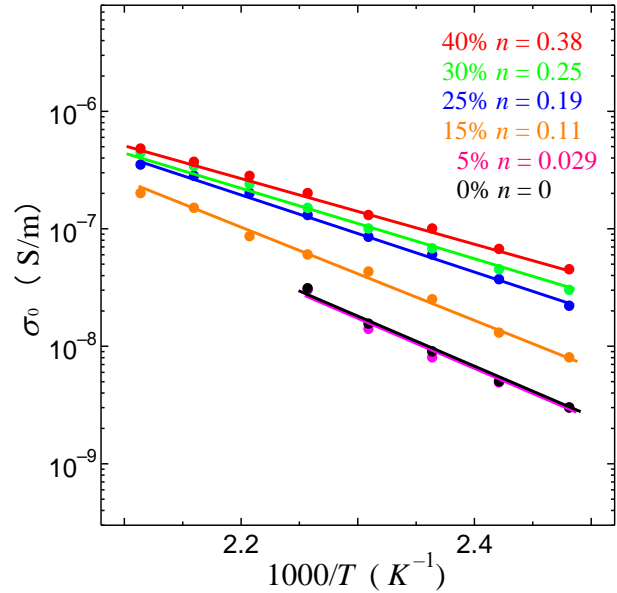


図 3-1-11 各濃度の HAp-コラーゲン複合体における H^+ 伝導度と温度の関係.

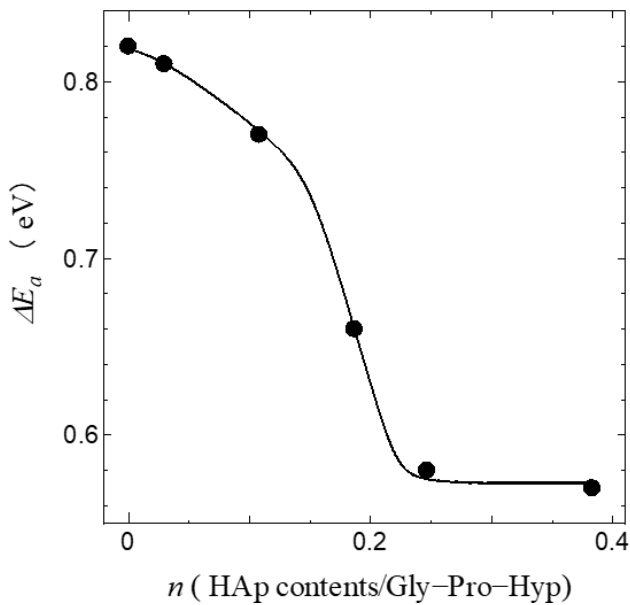


図 3-1-12 ΔE_a と HAp 濃度の関係 n .

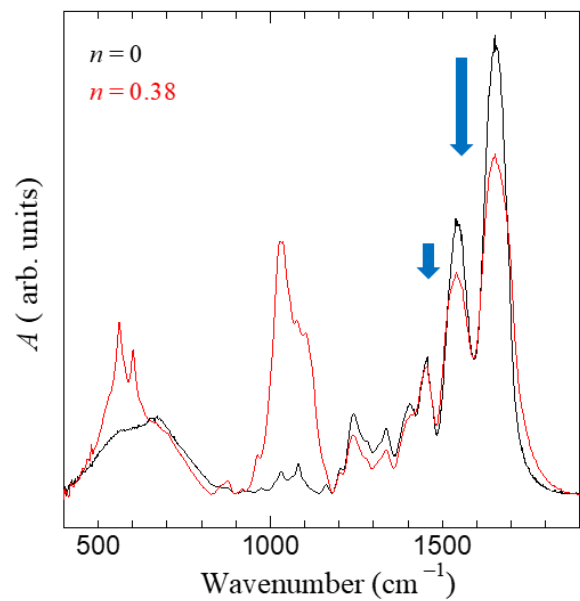


図 3-1-13 コラーゲンと HAp 濃度 40% の HAp-コラーゲン複合の IR スペクトル.

図 3-1-11 は、様々な HAp 濃度における HAp-コラーゲン複合体中の H^+ 伝導度の温度依存性を示している。ここで、HAp-コラーゲン複合体における直流 H^+ 伝導度 σ_0 は、測定した交流伝導度の周波数依存性を式 (4) で解析することにより求めた値である。図 3-1-11 に示すように、HAp-コラーゲン複合体における直流 H^+ 伝導度は n の増加とともに増加するが、 $n < 0.11$ の試料では 160°C 以上の溶解で直流伝導度が得られない。また、直流 H^+ 伝導度はアレニウスの式に従うことが知られている。したがって、図 3-1-11 から活性化エネルギー ΔEa を推定することが可能である。

図 3-1-12 は、HAp-コラーゲン複合体における活性化エネルギー ΔEa の HAp 濃度 n 依存性を示している。図 3-1-12 に示すように、HAp-コラーゲン複合体の ΔEa は、 $n \sim 0.10$ まで徐々に減少し、 $n \sim 0.20$ 付近で急激に減少し、 0.25 以上ではほぼ一定になることがわかる。この結果は、HAp-コラーゲン複合体における H^+ 伝導経路が、 $n \sim 0.25$ 以上でコラーゲンに HAp を注入することにより新たに形成されることを示している。ここで、HAp とコラーゲンの結合を考えるために、HAp-コラーゲン複合体とコラーゲンの IR スペクトルに注目する。図 3-1-13 は、コラーゲンと、HAp 濃度 40% の HAp-コラーゲン複合体の IR スペクトルである。図 3-1-13 に示すように、HAp 濃度 $n = 0.38$ の HAp-コラーゲン複合体では、 1650 cm^{-1} および 1540 cm^{-1} のピーク強度が減少していることがわかる。さらに、アミド I の 1650 cm^{-1} 、アミド II の 1540 cm^{-1} のバンドは、それぞれ C=O 伸縮振動 (1650 cm^{-1})、N-H 変曲振動 (1540 cm^{-1})、C-N 伸縮振動 (1540 cm^{-1}) に由来する吸収ピークであることが知られている[120]。また、コラーゲン中のカルボニル酸素 (C=O) とアミド窒素 (N-H) は二価の金属と配位結合することも知られている[123]。これらの結果を考慮すると、 1650 cm^{-1} と 1540 cm^{-1} のピークの減少は、HAp 中のカルシウムがコラーゲンに結合し、アミド I (C=O) とアミド II (N-H, C-N) の振動運動を抑制することに起因していることを示している。生体内では、コラーゲンを足場に HAp が合成され、HAp-コラーゲン複合体が生成されることが知られている。コラーゲン中のカルボキシル酸素やアミド窒素はカルシウムイオンなどの 2 価の金属イオンと結合し、HAp はカルボキシル酸素やアミド窒素にキレートされてコラーゲン繊維に沿ってコラーゲン周囲に成長する。すなわち、HAp はコラーゲン繊維を足場として合成され、HAp-コラーゲン複合体は、コラーゲン繊維と HAp の c 軸が平行に並んだ構造をもつことになる[120]。

これらの結果から、図 3-1-14 に示すように、HAp-コラーゲン複合体における H^+ 伝導モデルを推論することができる。高温での HAp への H^+ 伝導経路は、水酸基の間に形成されることが報告されている[65]。また、コラーゲンを構成するアミノ酸配列の大部分を Gly, Pro, Hyp が占めていることが知ら

れている[38,40]. 最近, 水和コラーゲン中の H^+ 伝導は Gly-Pro-Hyp 部位で起こることが報告されている[6]. インピーダンス解析を含めたここまでの結果から, HAp-コラーゲン複合体において, コラーゲンの大部分を形成する Gly-Pro-Hyp の水酸基と HAp の水酸基が相互に作用することで H^+ 伝導を起こすことが示唆された. HAp-コラーゲン複合体では, 図 3-1-14 に示すように, HAp とコラーゲンの間に新たな水素結合が形成され, 図 3-1-14 では水素結合の連結が緑の実線として現れている. これは, 水素結合の切断により H^+ 伝導経路が現れることを意味する. 水酸基はドナーとして H^+ を供給し, カルボキシル酸素基は H^+ アクセプターとして振る舞う. すなわち, H^+ は, 水素結合の切断と再配列により HAp とコラーゲン中の水酸基およびカルボニル酸素との間に形成される新しい結合を介して, HAp-コラーゲン複合体内を移動することを示唆している.

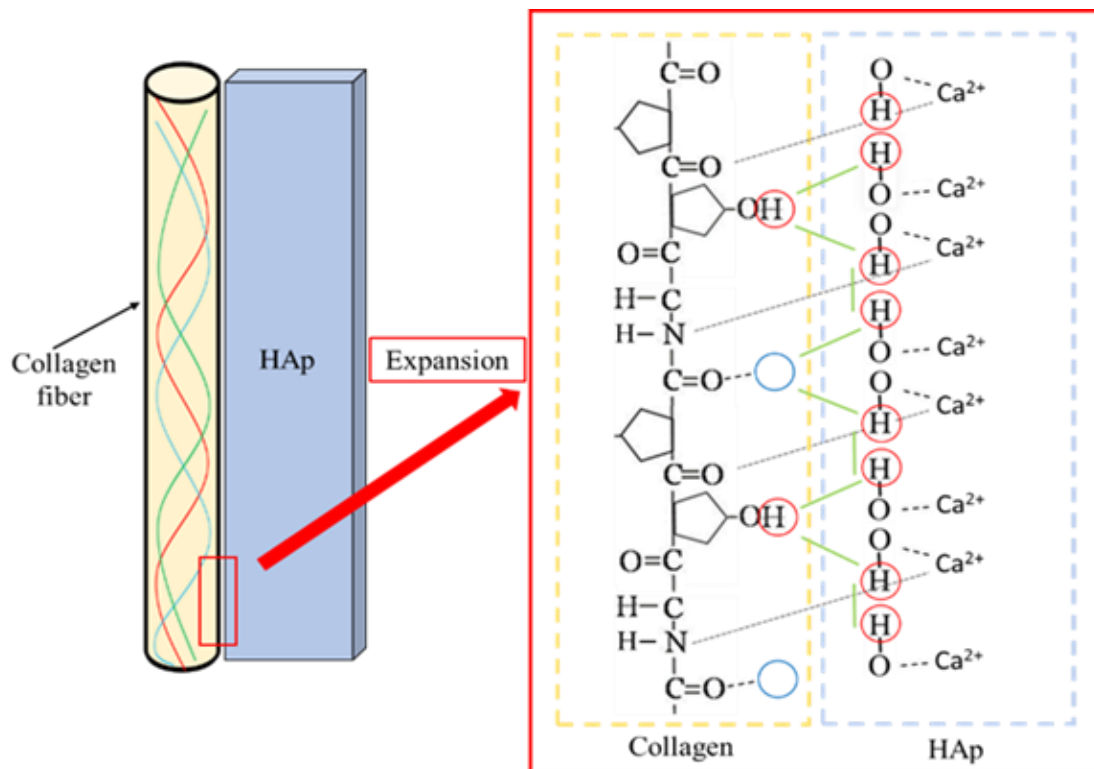


図 3-1-14 HAp-コラーゲン複合体における H^+ 伝導経路.

3-1-6 HAp-コラーゲン複合体の配向方向と H⁺ 伝導の関係

次に、図 3-1-14 の H⁺ 伝導度モデルとの整合性を確認する。図 3-1-15 は、HAp-コラーゲン複合体の膜垂直方向と繊維方向のインピーダンス測定結果である。図 3-1-15 に示すように、膜垂直方向の H⁺ 伝導度は、繊維方向で測定した場合よりもはるかに低くなっている。この結果は、図 3-1-14 に示すように、H⁺ 伝導経路がコラーゲン繊維方向に沿って形成されていることを示唆している。この結果は、提案した導伝性モデルの整合性を示している。

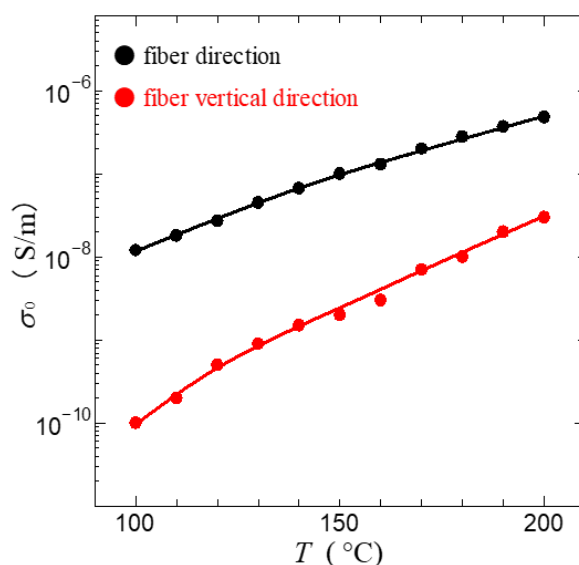


図 3-1-15 HAp-コラーゲン複合体の繊維方向とプロトン伝導度の関係。

3-1-7 HAp-コラーゲン複合体における天然コラーゲンと人工コラーゲンの H⁺ 伝導特性

ここまで、HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度や H⁺ 伝導に必要な活性化エネルギー、そして H⁺ 伝導メカニズムについて触れてきた。ここでは、基盤であるコラーゲンに変化を加えることで、HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度向上を目指した結果について示す。序論でも述べているが常温において、コラーゲンは加湿することによって H⁺ 伝導性が発現する。加湿によるコラーゲンの H⁺ 伝導特性においては、水和が重要であり、コラーゲン内の水和可能な位置が増えることで H⁺ 伝導度が上昇することが知られている[6]。実際、コラーゲンの配列に水酸基を側鎖に有したアミノ酸であるヒドロキシプロリン (Hyp) を増加させることで、H⁺ 伝導度が上昇することが明らかになっている。これは、水和位置である水酸基が増加したことで、水和量が増えたことに起因する。今回の HAp-コラーゲン複合体による無加湿プロトン伝導においても、水酸基は H⁺ 伝導経路として重要な役割がある。ここまでの結果

を考慮すると、水酸基を構造内にもつ Hyp 割合が変化することで HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導特性が変化することが推測できる。そこで、水酸基の割合が高い人工コラーゲンを基盤として HAp-コラーゲン複合体を作製し、その H⁺ 伝導度を調べた。人工コラーゲンには、-Gly-Hyp-Pro- の配列のみが繰り返している Poly (Tripeptide-6) (UNIQS) を使用した。人工コラーゲンを使用した HAp-コラーゲン複合体は、塩化カルシウムとリン酸、アンモニア水を利用した方法で、人工コラーゲン膜内に HAp を合成することによって作成した。

図 3-1-16 には、魚の鱗由来のコラーゲンをを用いた低 Hyp の HAp-コラーゲン複合体と人工コラーゲンをを用いた高 Hyp の HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度と温度の関係を示している。

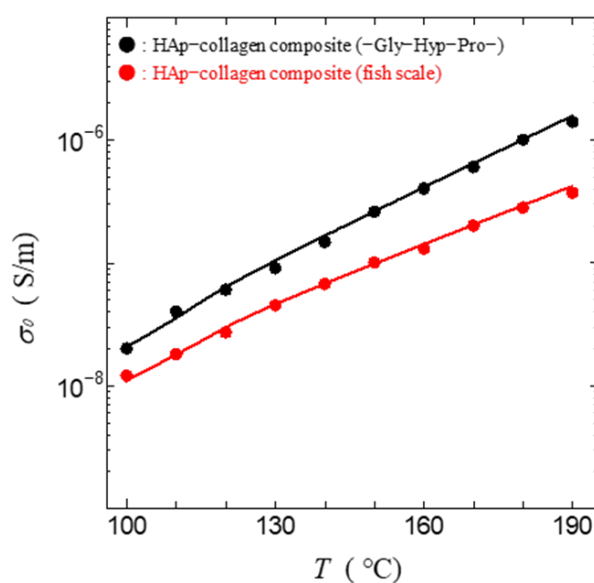


図 3-1-16 魚鱗由来コラーゲンと人工コラーゲン (-Gly-Hyp-Pro-) を用いた HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度と温度の関係。

図 3-1-16 が示すように、魚鱗由来のコラーゲンをを用いた HAp-コラーゲン複合体よりも、Hyp 割合の高い人工コラーゲンをを用いた HAp-コラーゲン複合体の方が H⁺ 伝導度が高くなった。この結果から、Hyp の割合を増やすことで HAp-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度が増加すると考えられる。天然のコラーゲンにおける Hyp の割合は約 10% であり、今回使用した淡水魚である Tilapia の鱗には、8.6% 存在していることが知られている[13]。さらに、今回使用した人工コラーゲンの Hyp の割合は約 33.3% であることを考えると、人工コラーゲンの Hyp 割合は鱗由来のコラーゲンに比べ約 3.9 倍になっている。また、図 3-1-16 より、190 °C における HAp-コラーゲン複合体のプロトン伝導度は魚由来のコラーゲンをを用いた試料では、 3.7×10^{-7} S/m であり、人工コラーゲンをを用いた試料では、 1.4×10^{-6} S/m であった。結果から、鱗由来のコラーゲンをを用いた試料よりも人工コラーゲンをを用いた試料の H⁺ 伝導度

の方が 3.8 倍上昇していることが確認できる。この値は、鱗由来のコラーゲンと人工コラーゲンの Hyp 割合の比 (3.9 倍) とよく一致する。これらのことから、コラーゲン内の Hyp の割合は、HAp-コラーゲン複合体の H^+ 伝導度に影響を与えていることが明らかとなった。つまり、この結果は水酸基の割合がコラーゲンを基盤とした無加湿 H^+ 伝導体の伝導特性に重要な役割があることを示唆している。

そこで、次の 3-2 章からは、人工コラーゲンを基盤とすることで H^+ 伝導特性の高い無加湿プロトン伝導体を創製することを目指した。

3-2 イミダゾール-コラーゲン複合体の結果および考察

3-2-1 イミダゾール-コラーゲン複合体の試料特性

図 3-2-1 (a), (b), (c) は、それぞれ $n = 2.0$ のイミダゾール、人工コラーゲン (-Gly-Hyp-Pro-), イミダゾール-コラーゲン複合体における IR スペクトルを示している。ここで、 n は、コラーゲン 1 分子 (Gly-Hyp-Pro) あたりに結合しているイミダゾールの分子数である。図 3-2-1 (b) に示すように、コラーゲン膜は、 1403 cm^{-1} , 1453 cm^{-1} , 1553 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} に IR スペクトルを観測できた。これらの IR スペクトルは、コラーゲン膜に特有のものである。例えば、 1639 cm^{-1} , 1553 cm^{-1} , 1453 cm^{-1} の IR スペクトルは、それぞれ C=O 伸縮運動、N-H 伸縮運動、C-N 振動運動の吸光度として知られている。さらに、図 3-2-1 (c) に示すイミダゾールコラーゲン複合膜では、コラーゲン膜では観測できない 752 cm^{-1} , 1063 cm^{-1} の吸光度がわずかなピークシフトを伴って観測されることが確認された。これらの吸光度はイミダゾール特有のものであり、C-H の ring out bending に由来するものである。また、 615 cm^{-1} , 662 cm^{-1} 付近に観測されるイミダゾールの ring bending に対応するスペクトルが、イミダゾール-コラーゲン複合膜を形成することにより減少していることがわかる。この結果は、イミダゾールとコラーゲンの結合によってイミダゾール由来の ring bending が阻害されることを示唆している。これらの結果は、イミダゾールがコラーゲンに導入されたことによって、イミダゾール-コラーゲン複合体が形成されることを示している。

図 3-2-2 (a) ~ (d) には、イミダゾール-コラーゲン複合体の DTA 測定の結果と各温度での試料の顕微鏡写真を示している。図 3-2-2 (a), (b) はそれぞれ $n = 2.0$ のコラーゲン、イミダゾール-コラーゲン複合における DTA 曲線である。図 3-2-2 (a) に示すように、コラーゲンでは $30 \sim 230\text{ }^{\circ}\text{C}$ の温度範囲で熱異常が観測されないことがわかる。一方、図 3-2-2 (b) に示すように、イミダゾール-コラーゲン複合では、温度上昇に伴い $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 付近に吸熱ピークが観測される。なお、イミダゾールの融解による相転移は、 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 付近で観測されることが知られている[76]。図 3-2-2 (b) に示すように、イミダゾール-コラーゲン複合膜では、 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 付近の吸熱ピークを観察することができない。また、図 3-2-2 (c), (d) にはコラーゲンとイミダゾール-コラーゲン複合体試料の各温度における顕微鏡写真を示している。図 3-2-2 (c), (d) の $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ において観察した人工コラーゲンとイミダゾール-コラーゲン複合体の写真では、人工コラーゲン、イミダゾール-コラーゲン複合体ともに変化が見られない。これらの結果から、 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 付近の吸熱ピークは、イミダゾール-コラーゲン複合体の融解によるものではなく、イミダゾール-コラーゲン複合体の相転移によるものであることを示唆している。

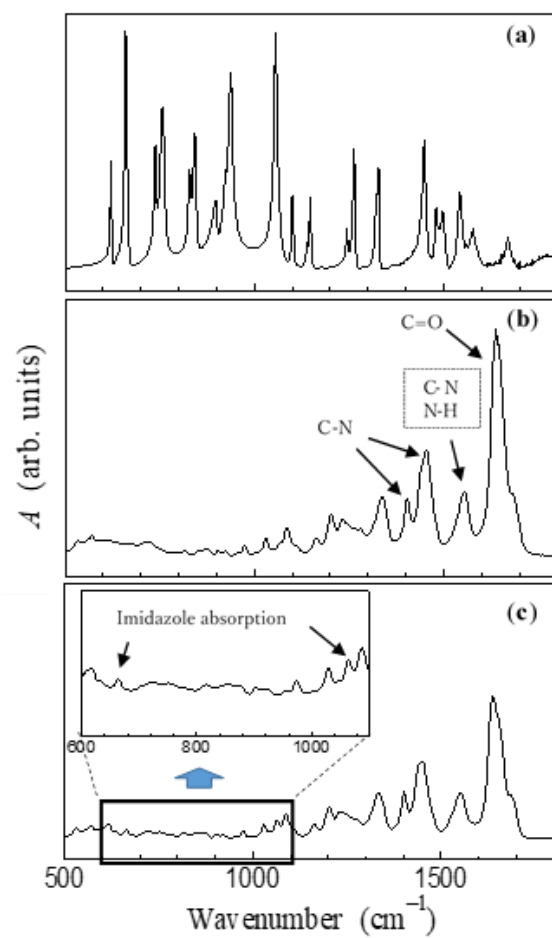


図 3-2-1 (a) イミダゾール、(b) コラーゲン、(c) イミダゾール-コラーゲン複合体における IR スペクトル。

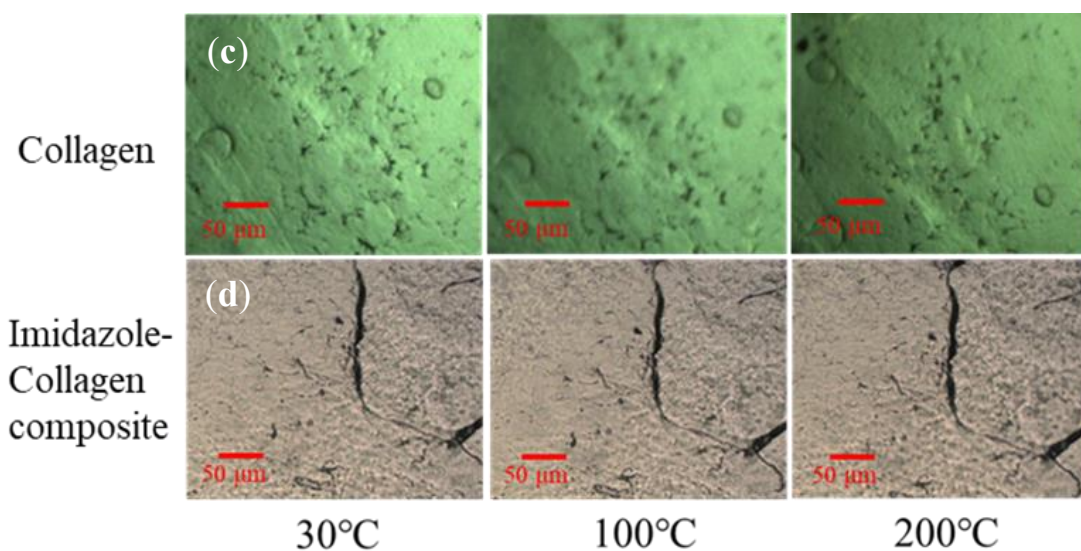
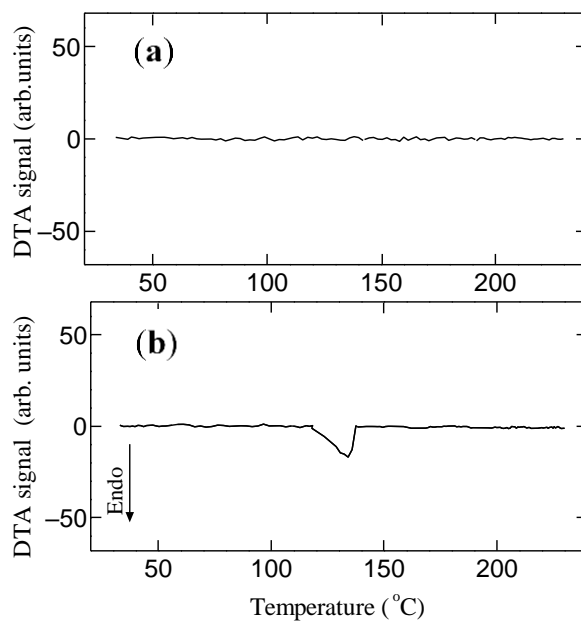


図 3-2-2 (a) 人工コラーゲンおよび (b) イミダゾール-コラーゲン複合体の DTA 曲線の温度依存性. 30 °C~200 °Cにおける (c) 人工コラーゲン膜および (d) イミダゾール-コラーゲン複合体膜の顕微鏡写真 ($n = 2.0$).

3-2-2 イミダゾール-コラーゲン複合体の電気伝導特性

図 3-2-3 は, 人工コラーゲンと $n = 2.0$ のイミダゾール-コラーゲン複合体における 160 °Cでの交流電気伝導度 σ_{AC} の周波数依存性を示している. 図 3-2-3 に示すように, イミダゾール-コラーゲン複合体膜の σ_{AC} は, コラーゲン膜の σ_{AC} の 10^3 倍以上となる. これらの結果は, コラーゲンとイミダゾールの合成により, コラーゲンやイミダゾールでは観測できない新たな電気伝導経が路形成されることを示している.

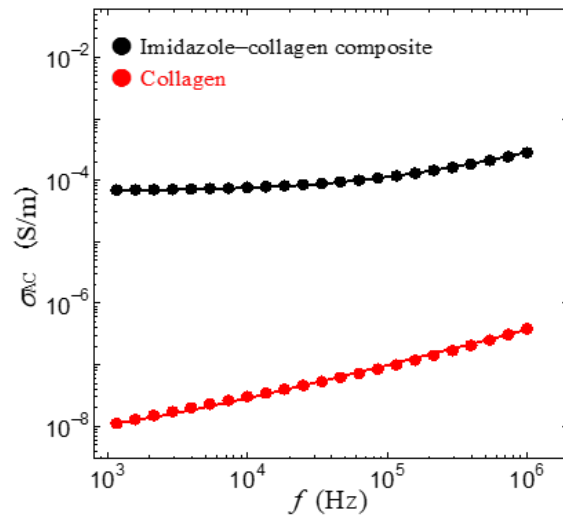


図 3-2-3 人工コラーゲンおよびイミダゾールコラーゲン複合体における σ_{AC} の周波数依存性 ($n=2.0$).

3-2-3 ^1H -NMR 測定による H^+ 挙動の観測

さらに、イミダゾールコラーゲン複合体の H^+ 挙動を調べるために ^1H -NMR 測定を行なったところ、 80°C 以上の温度域において NMR スペクトルを観測できた。図 3-2-4 (a) には 100°C , 130°C , 160°C , 190°C における、イミダゾールコラーゲン複合体 ($n=2.0$) の NMR スペクトルを示す。図 3-2-4 (a) に示すように、 100°C ではブロードであった NMR スペクトルが、温度の上昇とともにシャープになることが観測されたことから、モーションナルナローイング現象が起きている。すなわち、 H^+ がイミダゾールコラーゲン複体内を分散することを示している。図 3-2-4 (b) は、NMR 線幅 ΔH の温度依存性を示す図である。図 3-2-4 (b) に示すように、 ΔH は、 110°C 付近まで温度上昇とともに減少し、 120°C 付近で小さなピークをとり、再び温度上昇とともに単調に減少している。 120°C 付近での異常な挙動は、イミダゾールコラーゲン複合体の相転移に起因すると推測される。 ΔH の温度依存性を用いて、 H^+ 挙動に関する相関時間 τ_c の温度依存性を得ることができる。相関時間 τ_c は、HApコラーゲン複合体と同様に式 (1) から算出される。図 3-2-4 (c) には τ_c の温度依存性を示している。図 3-2-4 (c) に示すように、 τ_c は温度の上昇に伴い増加する。さらに、 120°C 付近において τ_c が温度非依存的に、傾きが変化していることがわかる。この結果は、 H^+ の挙動に関する相関時間が 120°C における相転移によって変化することを示している。また、相関時間が増加していることから、 120°C 付近における相転移は、イミダゾールのフリップフロップ運動に起因していることを示唆している。これらの結果から、 120°C 付近での相転移に伴い、 H^+ の移動は 120°C 以上でさらに速くなることが推論され

る。また、アレニウスの式を使うことによって、 τ_c の温度依存性から H^+ 挙動の活性化エネルギーを得ることができる。イミダゾール-コラーゲン複合体の $120^\circ C$ 以上での微視的 H^+ 挙動の活性化エネルギー $-\Delta E_a$ は $0.72 eV$ と算出された。この結果は、イミダゾール-コラーゲン複合体の電気伝導性が、 $0.72 eV$ の活性化エネルギーを持つ H^+ 移動に起因していることを示している。すなわち、NMR 測定から得られたこれらの結果は、イミダゾール-コラーゲン複合体が H^+ 伝導特性をもつことを示している。さらに、インピーダンス測定より得られた電気伝導が H^+ 伝導であったことを示している。

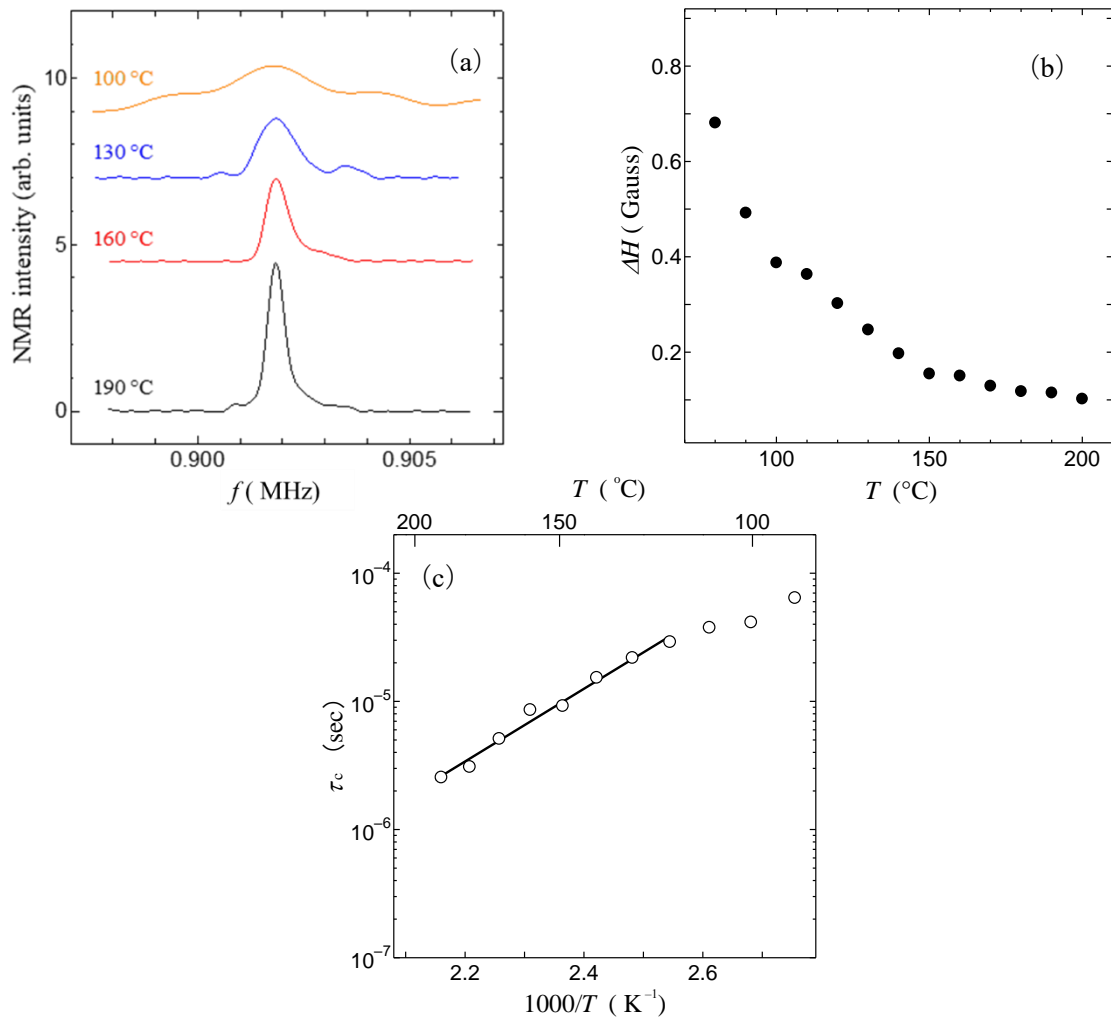


図 3-2-4 イミダゾール-コラーゲン複合体 ($n=2.0$) の NMR 測定.
 (a) 各温度における NMR スペクトル. (b) ΔH の温度依存性. (c) τ_c の温度依存性.

3-2-4 インピーダンス解析による分子ダイナミクスの解明

次に、誘電分散の観点から、イミダゾール-コラーゲン複合体膜における H^+ 伝導度と分子ダイナミクスの関係をインピーダンス測定により詳細に検討した。図 3-2-5 (a) は、イミダゾール-コラーゲン複合体 ($n=2.0$) における交流 H^+ 伝導度の周波数依存性を示している。図 3-2-5 (a) に示すように、

全ての温度領域において、周波数の上昇とともに σ_{AC} の値が大きくなっていることがわかる。イミダゾール-コラーゲン複合体を抵抗 R と静電容量 C の単純な並列等価回路で記述すると、 σ_{AC} は 3 章 2 節と同様に以下の式 (2) に従うことが推察できる。

$$\sigma_{AC} = \sigma_0 + \omega \varepsilon_0 \varepsilon'' \quad (2)$$

図 3-2-5 (a) に (2) 式で計算した σ_{AC} の周波数依存性を点線で示す。実測値の σ_{AC} の周波数依存性は、理論式によって計算した σ_{AC} の周波数依存性と一致しないことがわかる。この結果は、イミダゾール-コラーゲン複合体の等価回路が単純な R と C の並列回路では定義できないことを示している。よく知られているように、組織由来の生体材料は α 分散に由来する非デバイ誘電分散を示す。このことを考慮し、イミダゾール-コラーゲン複合膜における誘電分散を含む交流 H^+ 伝導度を考察する必要がある。誘電分散を含む交流 H^+ 伝導度は、HAp-コラーゲン複合体と同様に、式 (4) に示す非デバイの式によって表すことができる[118]。

$$\sigma_{AC} = \sigma_0 + \frac{\omega \varepsilon_0 (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) (\omega \tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)}{\left(1 + (\omega \tau)^\beta \cos\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2 + \left((\omega \tau)^\beta \sin\left(\frac{\pi}{2}\beta\right)\right)^2} \quad (4)$$

式 (4) を用いることにより、イミダゾール-コラーゲン複合膜における σ_{AC} の周波数依存性を算出することができる。計算結果は、図 3-2-5 (a) の実線で示す通りである。理論式に用いたパラメータの値は、表 3-2-1 に示す通りである。図 3-2-5 (a) に示すように、計算された周波数依存性は、実測値とよく一致する。これらの結果は、イミダゾール-コラーゲン複合膜に誘電分散が存在することを示している。また、式 (4) の解析から直流 H^+ 伝導度を求めることができる。

図 3-2-5 (b) は、イミダゾール-コラーゲン複合膜における直流 H^+ 伝導度 σ_0 の温度依存性を示している。図 3-2-5 (b) に示すように、 σ_0 は温度の上昇とともに増加し、120 °C 以上では $1/T$ に比例する。したがって、アレニウスの式を使うことで σ_0 の温度依存性から活性化エネルギーを求めることができる。

表 3-2-1 AC H⁺ 伝導度の理論式により得られた誘電分散成分.

T (°C)	σ_0 (S/m)	$\epsilon_s - \epsilon_\infty$	τ (s)	β
100	1.4×10^{-7}	40	4.0×10^{-2}	0.26
115	6.0×10^{-7}	90	8.0×10^{-2}	0.29
120	1.1×10^{-6}	165	1.5×10^{-1}	0.31
160	6.8×10^{-5}	85	6.0×10^{-5}	0.41
190	5.3×10^{-4}	80	5.0×10^{-6}	0.45

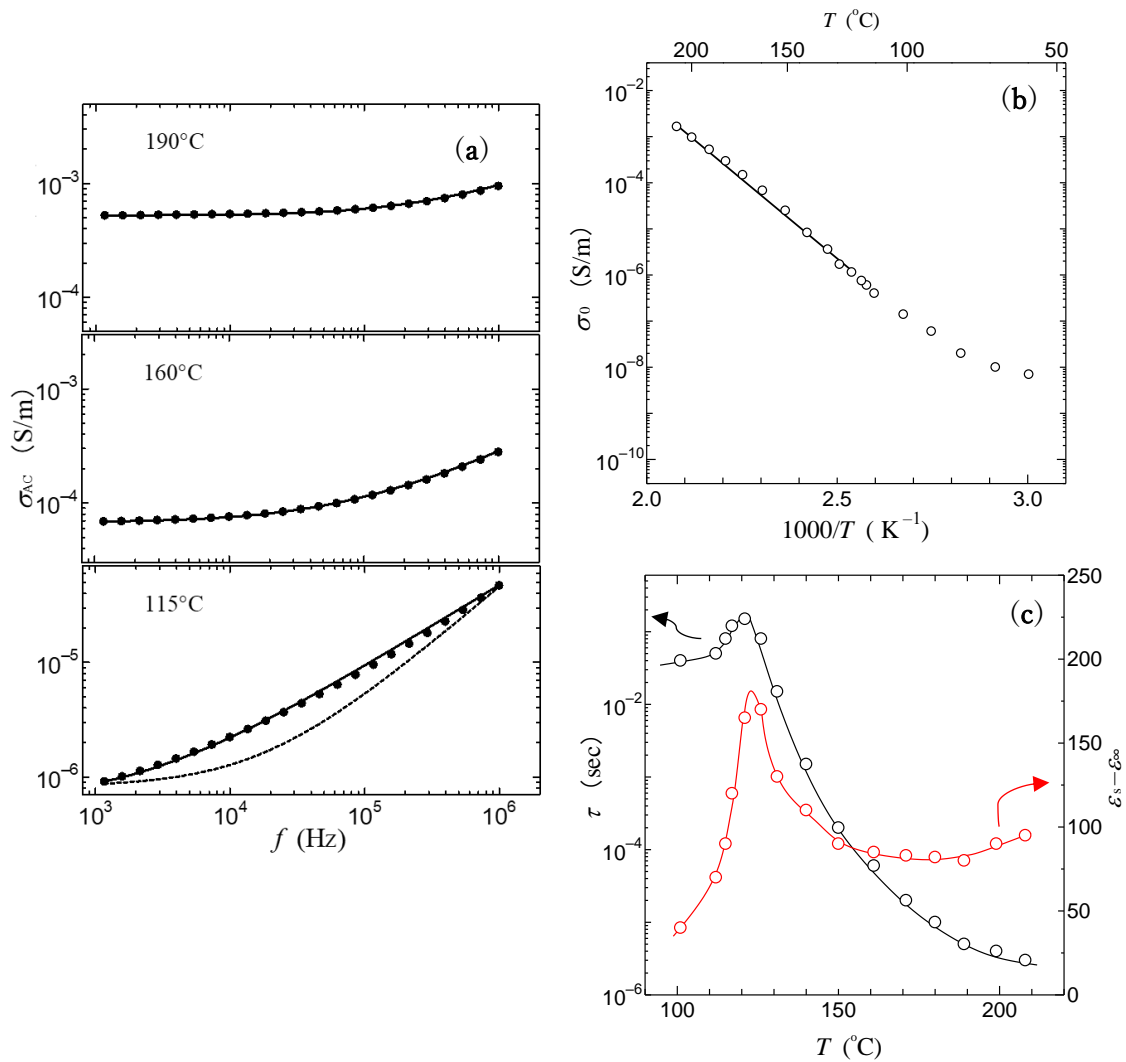


図 3-2-5 ミダゾール-コラーゲン複合体 ($n=2$) のインピーダンス測定.
 (a) σ_{AC} の周波数依存性. (b) σ_0 の温度依存性. (c) τ および $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ の温度依存性.
 (a) の破線は式 (2) の計算値, 実線は式 (4) の計算値.

この結果から、120 °C以上での H⁺ 伝導の活性化エネルギーは 0.98 eV であることがわかった。この値は、NMR 測定から得られた活性化エネルギー (0.72 eV) に近い値であるが、NMR 測定から得られた活性化エネルギーと比較するとやや大きい値である。これは NMR の H⁺ 相関時間から得られる活性化エネルギーが局所的な H⁺ 移動に由来することを考慮すると、マクロな H⁺ 伝導における H⁺ 移動は、長い H⁺ 伝導経路に存在する活性化エネルギーのやや高いサイトによって妨げられていると推察できる。

図 3-2-5 (c) は、式 (4) を用いた解析から得られた誘電緩和時間 τ と誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ の温度依存性を示している。図 3-2-5 (c) に示すように、誘電緩和時間 τ は 120 °C 付近で長くなり、温度が上がると短くなっていることがわかる。また、誘電率 $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ は 120 °C 付近においてピークをもち、温度の上昇とともに増加していることがわかる。よく知られているように、相転移を起こす物質では、相転移温度付近で電気双極子モーメントが強く相関するため、クリティカルスローイングダウンが観測される[119]。また、クリティカルスローイングダウンが起きたとき、相転移温度付近において誘電率が増加し、誘電緩和時間が長くなる現象が観測されることが知られている。

これらの結果を考慮すると、120 °C 付近での $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ と τ の異常な挙動は、イミダゾール-コラーゲン複合体におけるクリティカルスローイングダウンによるものであることがわかる。さらに、イミダゾール結晶中のイミダゾールのフリップフロップ運動の緩和時間は、約 10^{-5} s と報告されている[76]。

この緩和時間は、図 3-2-5 (c) の 170 °C 付近の緩和時間と近い。これらの結果から、本研究で得られた誘電緩和は、イミダゾール-コラーゲン複合体中のイミダゾール分子のフリップフロップ運動と密接に関連していることがわかる。また、イミダゾールのフリップフロップ運動の緩和時間は、H⁺ 相関時間 τ_c と近いことも注目すべき点である。これらの結果は、イミダゾール-コラーゲン複合膜における H⁺ 伝導特性の発現には、イミダゾールのフリップフロップ運動が重要な役割を果たしていることを示唆している。

3-2-5 イミダゾール-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導経路の解明

次に、H⁺ 伝導度とイミダゾール分子数の関係から H⁺ 伝導経路の形成について調べるために、イミダゾール濃度を変化させたイミダゾール-コラーゲン複合体を作製し、H⁺ 伝導度と IR スペクトルを測定した。作製したイミダゾール-コラーゲン複合体は、 $n=0, 0.2, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 2.0, 3.0, 4.0$ とした。図 3-2-6 (a), (b) は、各イミダゾール濃度のイミダゾール-コラーゲン複合体の IR スペクトルを示す図である。図 3-2-6 (a), (b) に示すように、図 3-2-6 (a), (b) において、 1403 cm^{-1} , 1453 cm^{-1} , 1553 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 3347 cm^{-1} の IR スペクトルは n の増加とともに減少していることがわかる。これらの

1403 cm^{-1} , 1453 cm^{-1} , 1553 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 3347 cm^{-1} の IR スペクトルは、コラーゲン中の C-N 伸縮, N-H 伸縮, C-N 振動, C=O 伸縮, O-H 伸縮に由来する IR スペクトルに相当するので, n の増加に伴う IR スペクトルの減少はイミダゾール分子とコラーゲン分子が結合していることを示している [14]. 図 3-2-6 (c) は, 直流伝導度 σ_0 と活性化エネルギー ΔEa のイミダゾール濃度 n 依存性を示す. ここで, σ_0 は式 (4) から, ΔEa は σ_0 の温度依存性 (アレニウスプロット) から求めている. 図 3-2-6 (c) に示すように, σ_0 は n の増加とともに $n=2.0$ まで増加し, $n>2$ において減少する.

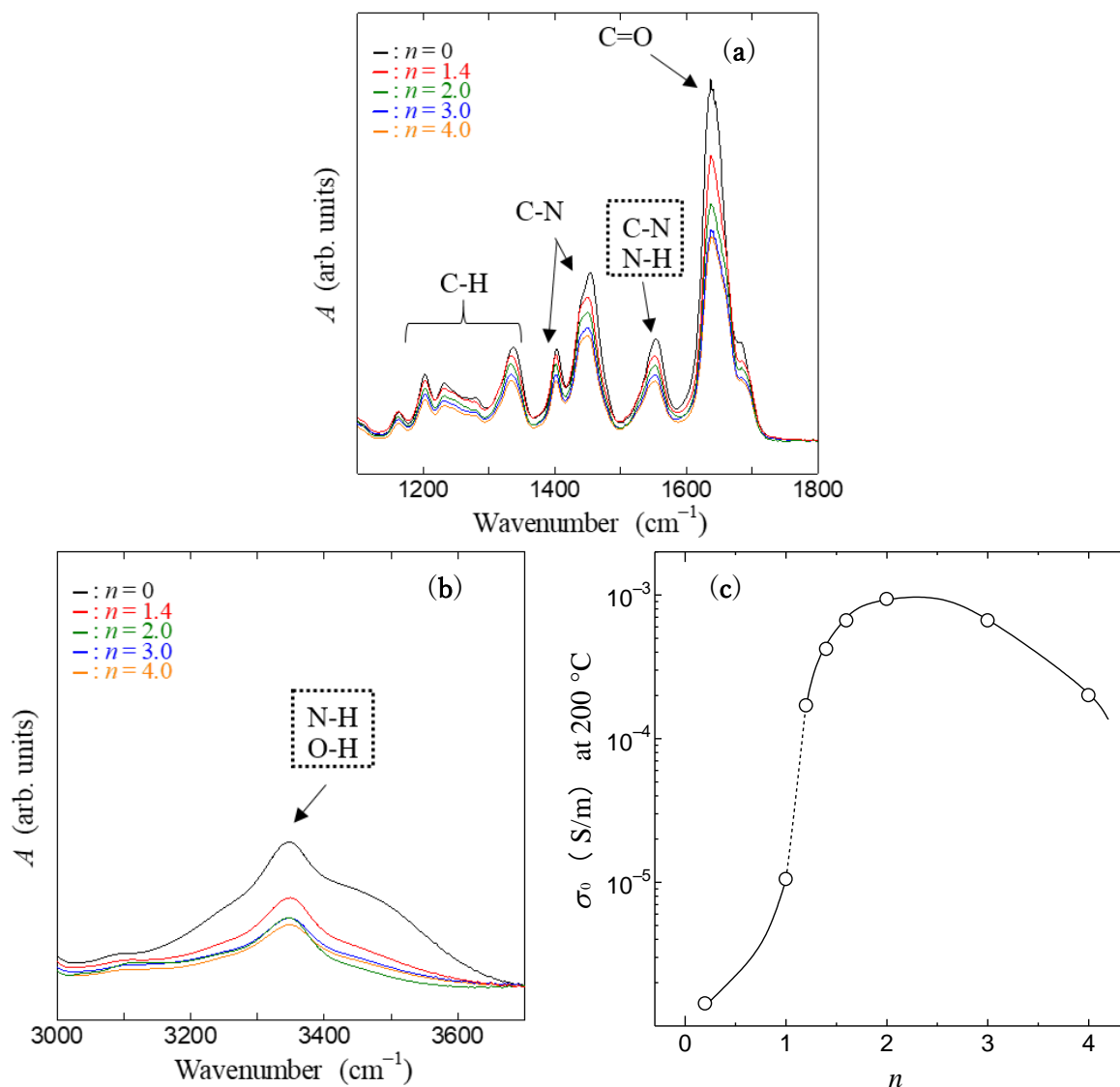


図 3-2-6 ミダゾール濃度の異なるイミダゾール-コラーゲン複合体の IR スペクトルと H^+ 伝導. (a) 各イミダゾール濃度のイミダゾール-コラーゲン複合体の IR スペクトル ($500 \text{ cm}^{-1} \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$). (b) 各イミダゾール濃度の複合体膜の IR スペクトル ($3300 \text{ cm}^{-1} \sim 3700 \text{ cm}^{-1}$). (c) $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ での H^+ 伝導度とイミダゾール濃度 n との関係.

また、活性化エネルギーは $n = 2.0$ において最小となる。このように、 H^+ 伝導度と活性化エネルギーは、イミダゾール濃度に強く依存する。

すなわち、これらの結果は、イミダゾール-コラーゲン複合膜において、イミダゾール濃度が H^+ 伝導性に密接に関係していることを示している。さらに、 σ_0 と ΔE_a が $n = 1.0$ において急激な変化を示すことも注目される。このことから、 H^+ 伝導経路は $n = 1.0$ から構築され始め、 $n > 1$ 以上で接続されると推論される。また、 $n > 2$ において、 σ_0 は減少し、 ΔE_a は増加することがわかる。これらの現象は、過剰なイミダゾール分子によって巨視的な H^+ 伝導が阻害されたためであると考えられる。イミダゾール結晶は、イミダゾール分子の連続的な再配向運動を伴う水素結合の切断と再配列によって、 H^+ 伝導を起こすことが知られている[76]。IR スペクトルから、イミダゾール-コラーゲン複合体では、コラーゲンの O-H, C-N, N-H, C=O 基とイミダゾール分子の N-H 基が水素結合でつながっていることが確認された。水素結合は弱く、 100°C 以上では転位することを考えると、コラーゲンとイミダゾール分子間の水素結合の切断と転位が、イミダゾール-コラーゲン複合体の H^+ 伝導をもたらすと考えられる。これらの結果を基に、イミダゾール-コラーゲン複合体の H^+ 伝導に関する模式構造を図 3-2-7 に示す。

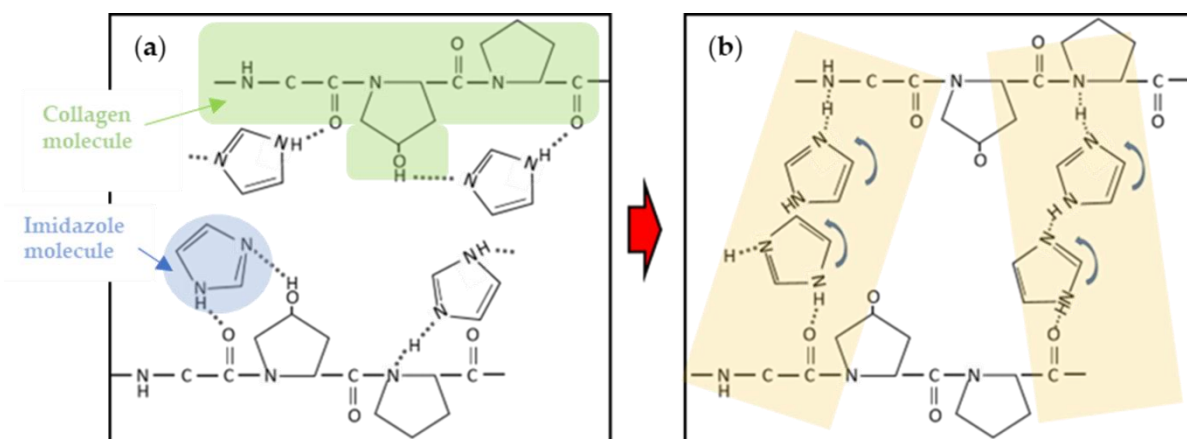


図 3-2-7 イミダゾール-コラーゲン複合体における H^+ 伝導経路 ($n = 2.0$)。 (a) イミダゾール-コラーゲン複合体の模式図。 (b) 活性化したイミダゾール-コラーゲン複合体の H^+ 伝導経路。

次に、イミダゾール-コラーゲン複合体における H^+ 伝導性について、模式構造を用いて考察する。IR の結果から、イミダゾールはコラーゲン中のカルボニル酸素 (C=O)、アミド窒素 (N-H)、Hyp の水酸基 (O-H) に結合することが明らかになった。そこで、これらの結果に基づく $n = 2.0$ におけるイミダゾール-コラーゲン複合体の模式構造を図 3-2-7 に示す。図 3-2-7 (a) に示すように、FT-IR 測定の結果から明らかになった複合体の結合部位には、コラーゲン 1 分子に 2 分子のイミダゾールが結合し

ている。このように、イミダゾール分子はコラーゲン側鎖と水素結合を形成し、コラーゲン主鎖の軸を中心存在している。DTA、インピーダンス分析、NMR で得られた 120 °C以上の相転移によって起こるイミダゾールのフリップフロップ運動を考慮すると、イミダゾールとコラーゲン間の水素結合は連続的に切断、再配列することが容易に推測される。図 3-2-7 (b) に、イミダゾール-コラーゲン複合体における H⁺ 移動の様子を示す。ここで、図 3-2-7 (b) 中のオレンジ色の太線は、H⁺ 伝導経路を示す。図 3-2-7 (b) に示すように、イミダゾールのフリップフロップによる水素結合の切断と再配列により、H⁺ が異なるコラーゲン鎖に移動していることがわかる。

したがって、イミダゾール-コラーゲン複合体は、主にコラーゲン主鎖に垂直な方向への H⁺ 輸送を実現していると考えられる。この構造に基づいて、図 3-2-6 (c) の H⁺ 伝導のイミダゾール濃度 n 依存性を解釈することができる。 $n=1.0$ では、イミダゾールとコラーゲンを結ぶ伝導路が形成され始め、H⁺ 伝導度が上昇する。 $n=2.0$ では、図 3-2-7 (b) の 2 本の経路（オレンジ色の太線）が形成され、伝導度が上昇することが推察される。一方、 $n>2$ では、イミダゾールがさらに結合することで、イミダゾールのフリップフロップ運動が阻害され、水素結合の切断や再配列が抑制されることによって、伝導度が低下する。このように、イミダゾール分子はコラーゲン繊維間を繋ぎ、イミダゾールのフリップフロップにより、コラーゲンとイミダゾール間の水素結合の切断と再配列を伴う H⁺ 伝導を実現していることがわかる。このとき、イミダゾールはコラーゲン繊維方向に対して垂直な位置に存在することから、コラーゲン繊維に垂直な方向の H⁺ 伝導度は、コラーゲン繊維に平行な方向と比べて高くなることが推察される。そこで、H⁺ 伝導度の異方性について検討した。

3-2-6 イミダゾール-コラーゲン複合体の異方性と H⁺ 伝導の関係

図 3-2-8 は、イミダゾール-コラーゲン複合体 ($n=2.0$) における、膜試料に平行および垂直方向の H⁺ 伝導度の温度依存性を示す。図 3-2-8 に示すように、膜試料に対して垂直方向の H⁺ 伝導度は、膜試料に対して並行方向の伝導度の約 10 倍であることがわかる。これらの結果は、図 3-2-7 に示した H⁺ 伝導モデルと整合している。膜試料垂直方向には、コラーゲン繊維に対して垂直方向の成分が含まれており、コラーゲン繊維間の H⁺ 伝導を測定することができる。これに対して、膜試料並行方向にはコラーゲン繊維垂直方向に加えて、コラーゲン繊維方向の成分が含まれている。つまり、膜試料並行方向の測定では、2 種類以上の H⁺ 伝導経路が含まれている。膜試料並行方向と垂直方向の H⁺ 伝導経路を比較するために、アレニウスの式を使い膜試料並行方向の活性化エネルギーを求めた。その結果、膜試料並行方向の H⁺ 伝導における活性化エネルギーは、1.00 eV であった。この値は、膜試料垂直方向の活性化エネルギー(0.98 eV)と近似している。ここでの活性化エネルギーが特定の経路におい

て H^+ 伝導を起こすために必要なエネルギーであることを考慮すると、この結果は膜試料並行方向と垂直方向の H^+ 伝導経路が同じであることを示唆している。つまり、膜試料並行方向においても膜試料垂直方向と同様に、コラーゲン繊維間での H^+ 伝導が起きていると推察される。しかし、膜試料並行方向は、膜試料垂直方向に比べ H^+ 伝導度が低い。この伝導度の差は、 H^+ 伝導経路数の違いが原因であると推察される。これらの結果から、イミダゾール-コラーゲン複合体がコラーゲン繊維間の方向に H^+ を伝導する無加湿 H^+ 伝導体であることが明らかになった。

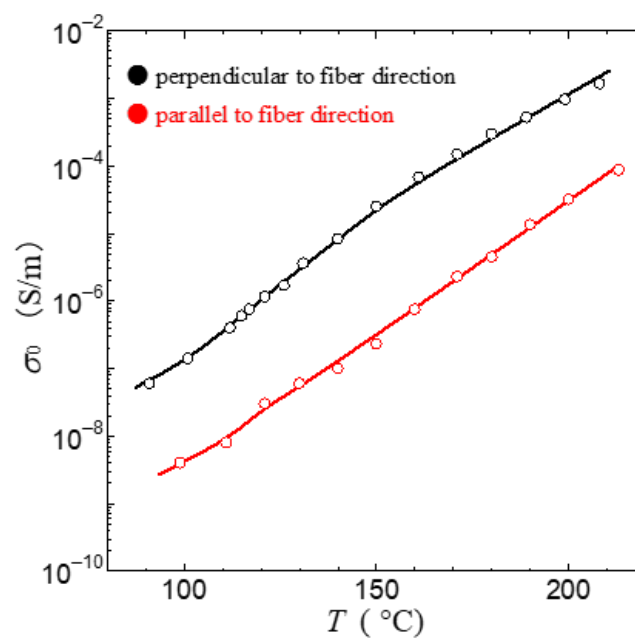


図 3-2-8 イミダゾール-コラーゲン複合膜のコラーゲン繊維方向に平行および垂直な直流 H^+ 伝導度。

3-3 複合体の H⁺ 伝導特性

本研究では、バイオマテリアルであるコラーゲンを基盤として、HAp-コラーゲン複合体とイミダゾール-コラーゲン複合体、2種類の無加湿 H⁺ 伝導体の作成に成功した。両複合体は、無加湿・中温域 (100 ~ 200 °C) において水を介さない H⁺ 伝導を起こすことが本研究によって明らかになった。しかし、両複合体は、異なるメカニズムによって H⁺ を伝導していることが今回明らかになった。HAp-コラーゲン複合体では、HAp の構造内に存在する水酸基とコラーゲンを構成する Hyp の側鎖の水酸基がフリップフロップ運動をすることで H⁺ を輸送していることがインピーダンス解析の結果などから明らかになった。また、イミダゾール-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導は、コラーゲンのカルボニル酸素や水酸基などとイミダゾールが水素結合し、イミダゾールのフリップフロップ運動に伴う水素結合の切り替えによって H⁺ が輸送されるメカニズムであることがわかった。どちらの複合体もコラーゲンとの相互作用によって H⁺ 伝導特性が発現しているが、HAp-コラーゲン複合体は官能基のフリップフロップ運動、イミダゾール-コラーゲン複合体では環状分子のフリップフロップ運動によって H⁺ を輸送している。どちらも H⁺ 伝導体ではよくみられるメカニズムである。

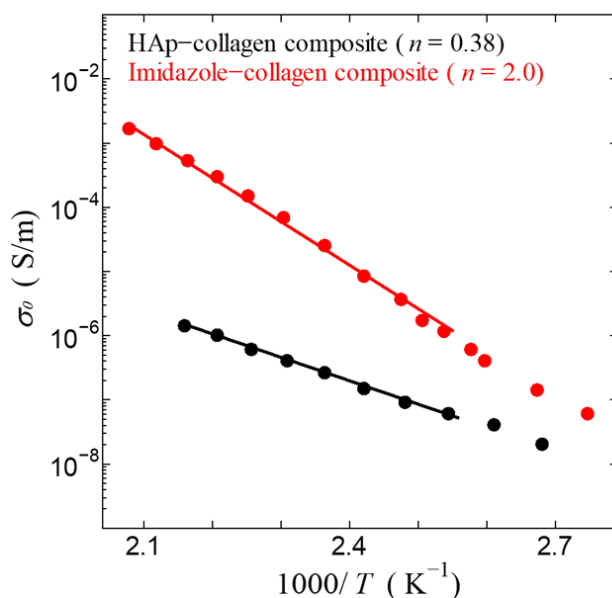


図 3-3-1 HAp-コラーゲン複合体とイミダゾール-コラーゲン複合体の H⁺ 伝導度の比較

図 3-3-1 には、HAp-コラーゲン複合体とイミダゾール-コラーゲン複合体の H^+ 伝導度と温度の関係を示している。図 3-3-1 に示すように、本研究から得られた 2 つのバイオ無加湿 H^+ 伝導体を比べると HAp-コラーゲン複合体よりも、イミダゾール-コラーゲン複合体の方が約 1000 倍 H^+ 伝導度が高いことがわかる。この結果は、水酸基のフリップフロップ運動よりもイミダゾールのフリップフロップ運動による H^+ 伝導の方が H^+ 輸送能が高いことを示唆している。このことから、コラーゲンを基盤とした無加湿 H^+ 伝導体を新たに創製する場合、フリップフロップ運動を起こすイミダゾールのような環構造を有した分子を導入することで高い H^+ 伝導特性を組み込むことが可能であると期待できる。

ここまでの結果が示してきたように、バイオマテリアルであるコラーゲンを利用することで水を必要としない、無加湿 H^+ 伝導体を作製することができた。本研究で作製した無加湿プロトン伝導体は、バイオマテリアルを原料としているため環境に優しい利点を備えているが、実用化するためには更なる H^+ 伝導度の向上が必須である。 H^+ 伝導度の大きさを決める因子は様々存在するが、その一つとして H^+ 伝導経路数が挙げられる。 H^+ 伝導経路数は、 H^+ 伝導体の伝導度に直接影響を与え、経路数が多いほど伝導度が高くなる。 H^+ 伝導経路数は、 H^+ 伝導に関わる H^+ ドナー、 H^+ アクセプターの数や伝導体の配向度によって変化し、 H^+ 伝導体の配向性を高めると H^+ 伝導特性が向上することが知られている。HAp-コラーゲン複合体は、HAp がコラーゲン繊維方向に配列する形で複合体を形成し、繊維方向に H^+ を伝導する。

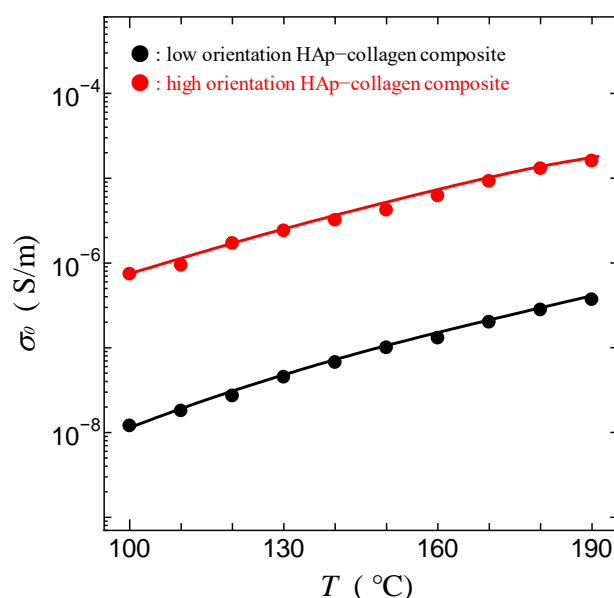


図 3-3-2 高配向性コラーゲンを基盤とした HAp-コラーゲン複合体の H^+ 伝導度と温度の関係。

しかし、本研究で使用したコラーゲン膜（鱗）は配向していないため、測定方向と繊維方向が一致していない。コラーゲン繊維方向が H^+ 伝導度に影響していることは、図 3-1-15 からわかる。そこで、配向性を高めた HAp-コラーゲン複合体を作成し、その H^+ 伝導性について調べた。図 3-3-2 に示すように、高配向性試料は、配向化していない試料よりも H^+ 伝導度が高くなった。この結果は、HAp-コラーゲン複合体の H^+ 伝導は配向度に依存していることを示している。

この結果から、HAp-コラーゲン複合体においても、コラーゲン繊維の配向度が H^+ 伝導特性を向上させることが明らかになった。この結果は、 H^+ 伝導特性の高いバイオ系の無加湿 H^+ 伝導体を新たに設計するには、配向度を高めることも重要であることを示している。

【第4章】 まとめ

本研究では、HAp-コラーゲン複合体とイミダゾール-コラーゲン複合体におけるプロトン (H^+) 伝導性を、FT-IR, NMR, 電氣的測定により検討した。インピーダンス測定の結果、HAp-コラーゲン複合体、イミダゾール-コラーゲン複合体の電気伝導度は、HAp やイミダゾール、コラーゲンそれぞれの電気伝導度よりも高くなることが明らかとなった。さらに、HAp-コラーゲン複合体、イミダゾール-コラーゲン複合体における 1H -NMR 測定では、どちらの複合体も $100\text{ }^\circ\text{C}$ 以上においてモーションナルナローイングが観測された。さらに、 1H -NMR 測定から得られた H^+ 相関時間 τ_c から計算される活性化エネルギーは HAp-コラーゲン複合体では 0.55 eV 、イミダゾール-コラーゲン複合体では 0.72 eV であった。これらの活性化エネルギーは、インピーダンス測定から得られた値と近似している。これらの結果は、HAp-コラーゲン複合体、イミダゾール-コラーゲン複合体が無加湿中温条件下において H^+ 伝導体となることを示している。さらに、両複合体の HAp 量、イミダゾール量を変化したときにおける H^+ 伝導度を測定した。これらの結果から、HAp-コラーゲン複合体では $n = 0.11$ から H^+ 伝導度が上昇しており、 $n = 0.25$ において H^+ 伝導度が飽和している。また、イミダゾール-コラーゲン複合体では $n = 1.0$ から H^+ 伝導度が上昇しており、 $n = 2.0$ において H^+ 伝導度がピークとなる。これらの結果は、HAp-コラーゲン複合体では $n = 0.25$ 以上、イミダゾール-コラーゲン複合体では $n = 2.0$ 以上において H^+ 伝導経路が形成されていることを示している。

また、本研究においてバイオマテリアルであるコラーゲンを基盤として新たに創製された無加湿中温 H^+ 伝導体である HAp-コラーゲン複合体、イミダゾール-コラーゲン複合体の H^+ 伝導度を比較するとイミダゾール-コラーゲン複合体の方が約 1000 倍高いことがわかった。この結果は、コラーゲンを基盤として複合体を作製したとき、水酸基などの官能基の運動よりも、環状分子の回転運動を介した H^+ 伝導の方が、伝導度が高くなることを示唆している。

本研究で得られたこれらの結果は、生物由来材料を用いた新しい無加湿 H^+ 伝導体の開発に役立つと期待できる。

参考文献

1. Orgel, J.P.R.O.; Irving, T.C.; Miller, A.; Wess, T.J. Microfibrillar Structure of Type I Collagen in Situ. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 9001–9005.
2. Rai, R.K.; Sinha, N. Dehydration-Induced Structural Changes in the Collagen-Hydroxyapatite Interface in Bone by High-Resolution Solid-State NMR Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 14219–14227.
3. Kikuchi, M.; Ikoma, T.; Itoh, S.; Matsumoto, H.N.; Koyama, Y.; Takakuda, K.; Shinomiya, K.; Tanaka, J. Biomimetic Synthesis of Bone-like Nanocomposites Using the Self-Organization Mechanism of Hydroxyapatite and Collagen. *Compos. Sci. Technol.* **2004**, *64*, 819–825.
4. Becerra, J.; Rodriguez, M.; Leal, D.; Noris-Suarez, K.; Gonzalez, G. Chitosan-Collagen-Hydroxyapatite Membranes for Tissue Engineering. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2022**, *33*.
5. Okuda, M.; Takeguchi, M.; Tagaya, M.; Tonegawa, T.; Hashimoto, A.; Hanagata, N.; Ikoma, T. Elemental Distribution Analysis of Type I Collagen Fibrils in Tilapia Fish Scale with Energy-Filtered Transmission Electron Microscope. *Micron* **2009**, *40*, 665–668.
6. Matsui, H.; Matsuo, Y. Proton Conduction via Water Bridges Hydrated in the Collagen Film. *J. Funct. Biomater.* **2020**, *11*, 61.
7. Matsuo, Y.; Ikeda, H.; Kawabata, T.; Hatori, J.; Oyama, H. Collagen-Based Fuel Cell and Its Proton Transfer. *Mater. Sci. Appl.* **2017**, *08*, 747–756.
8. Venkatesan, J.; Kim, S.-K. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering—An Overview. *Mar. Drugs* **2010**, *8*, 2252–2266.
9. Meek, K.M.; Boote, C. The Organization of Collagen in the Corneal Stroma. *Exp. Eye Res.* **2004**, *78*, 503–512.
10. Willoughby, C.E.; Batterbury, M.; Kaye, S.B. Collagen Corneal Shields. *Surv. Ophthalmol.* **2002**, *47*, 174–182.
11. Eyre, D. Collagen of Articular Cartilage. *Arthritis Res.* **2002**, *4*, 30–35.
12. Liu, S.H.; Yang, R.S.; Al-Shaikh, R.; Lane, J.M. Collagen in Tendon, Ligament, and Bone Healing: A Current Review. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **1995**, *318*, 265–278.
13. Handini, A.F.; Pratiwi, R.; Sunnah, T.D. REGENERASI SEL LIGAMEN PERIODONTAL DENGAN KOLAGEN SISIK IKAN NILA (*Oreochromis Niloticus*). *J. Medali* **2021**, *3*, 44.
14. Lazarev, Y.A.; Grishkovsky, B.A.; Khromova, T.B. Amide I Band of IR Spectrum and Structure of

- Collagen and Related Polypeptides. *Biopolymers* **1985**, *24*, 1449–1478.
15. SHUSTER, S.; BLACK, M.M.; McVITIE, E. The Influence of Age and Sex on Skin Thickness, Skin Collagen and Density. *Br. J. Dermatol.* **1975**, *93*, 639–643.
 16. Seliktar, D.; Black, R.A.; Vito, R.P.; Nerem, R.M. Dynamic Mechanical Conditioning of Collagen-Gel Blood Vessel Constructs Induces Remodeling in Vitro. *Ann. Biomed. Eng.* **2000**, *28*, 351–362.
 17. Gordon, M.K.; Hahn, R.A. Collagens. *Cell Tissue Res.* 2010, *339*, 247–257.
 18. Alexander, B.; Daulton, T.L.; Genin, G.M.; Lipner, J.; Pasteris, J.D.; Wopenka, B.; Thomopoulos, S. The Nanometre-Scale Physiology of Bone: Steric Modelling and Scanning Transmission Electron Microscopy of Collagen-Mineral Structure. *J. R. Soc. Interface* **2012**, *9*, 1774–1786.
 19. Ikoma, T.; Kobayashi, H.; Tanaka, J.; Walsh, D.; Mann, S. Physical Properties of Type I Collagen Extracted from Fish Scales of Pagrus Major and Oreochromis Niloticas. *Int. J. Biol. Macromol.* **2003**, *32*, 199–204.
 20. Bornstein, P.; Sage, H. Structurally Distinct Collagen Types. *Annu. Rev. Biochem.* 1980, *49*, 957–1003.
 21. Chang, M.C.; Tanaka, J. FT-IR Study for Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposite Cross-Linked by Glutaraldehyde. *Biomaterials* **2002**, *23*, 4811–4818.
 22. Bhowmik, R.; Katti, K.S.; Katti, D.R. Mechanics of Molecular Collagen Is Influenced by Hydroxyapatite in Natural Bone. *J. Mater. Sci.* **2007**, *42*, 8795–8803.
 23. Zhang, W.; Huang, Z.L.; Liao, S.S.; Cui, F.Z. Nucleation Sites of Calcium Phosphate Crystals during Collagen Mineralization. *J. Am. Ceram. Soc.* **2003**, *86*, 1052–1054.
 24. Chen, X.; Wang, Q.; Shen, J.; Pan, H.; Wu, T. Adsorption of Leucine-Rich Amelogenin Protein on Hydroxyapatite (001) Surface through -COO- Claws. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 1284–1290.
 25. Chang, M.C.; Yang, H.K. Modification of Hydroxyapatite-Gelatin Nanocomposite Using Side Group Reaction of Ca²⁺-RCOO⁻. *J. Korean Ceram. Soc.* **2012**, *49*, 72–77.
 26. Bera, J.; Kalia, V.; Roy, P.K. *Comparison of Electrical Properties between Ca and Sr Hydroxyapatites Materials*; 2004; Vol. 2;.
 27. Huang, Z.L.; Liu, G.Y.; He, Y.; Yi, Z.Z.; Guo, J.M. Interaction between Hydroxyapatite and Collagen. In *Proceedings of the Advanced Materials Research*; 2012; Vol. 412, pp. 384–387.
 28. Mushahary, D.; Wen, C.; Kumar, J.M.; Sravanthi, R.; Hodgson, P.; Pande, G.; Li, Y. Strontium Content and Collagen-I Coating of Magnesium-Zirconia-Strontium Implants Influence Osteogenesis and Bone

- Resorption. *Clin. Oral Implants Res.* **2016**, *27*, 15–24.
29. Klebe, R.J.; Hall, J.R.; Rosenberger, P.; Dickey, W.D. Cell Attachment to Collagen: The Ionic Requirements. *Exp. Cell Res.* **1977**, *110*, 419–425.
 30. Mhd Sarbon, N.; Badii, F.; Howell, N.K. Preparation and Characterisation of Chicken Skin Gelatin as an Alternative to Mammalian Gelatin. *Food Hydrocoll.* **2013**, *30*, 143–151.
 31. Songchotikunpan, P.; Tattiyakul, J.; Supaphol, P. Extraction and Electrospinning of Gelatin from Fish Skin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, *42*, 247–255.
 32. Xing, F.; Chi, Z.; Yang, R.; Xu, D.; Cui, J.; Huang, Y.; Zhou, C.; Liu, C. Chitin-Hydroxyapatite-Collagen Composite Scaffolds for Bone Regeneration. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *184*, 170–180.
 33. Avila Rodríguez, M.I.; Rodríguez Barroso, L.G.; Sánchez, M.L. Collagen: A Review on Its Sources and Potential Cosmetic Applications. *J. Cosmet. Dermatol.* **2018**, *17*, 20–26.
 34. Ferreira, A.M.; Gentile, P.; Chiono, V.; Ciardelli, G. Collagen for Bone Tissue Regeneration. *Acta Biomater.* **2012**, *8*, 3191–3200.
 35. Cavallaro, J.F.; Kemp, P.D.; Kraus, K.H. Collagen Fabrics as Biomaterials. *Biotechnol. Bioeng.* **1994**, *43*, 781–791.
 36. Feriz, H. Catgut and Collagen. *Surgery* **1941**, *10*, 326–335.
 37. Bella, J.; Brodsky, B.; Berman, H.M. Hydration Structure of a Collagen Peptide. *Structure* **1995**, *3*, 893–906.
 38. Brodsky, B.; Ramshaw, J.A.M. The Collagen Triple-Helix Structure. *Matrix Biol.* **1997**, *15*, 545–554.
 39. Szpak, P. Fish Bone Chemistry and Ultrastructure: Implications for Taphonomy and Stable Isotope Analysis. *J. Archaeol. Sci.* **2011**, *38*, 3358–3372.
 40. Persikov, A. V.; Ramshaw, J.A.M.; Brodsky, B. Prediction of Collagen Stability from Amino Acid Sequence. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 19343–19349.
 41. Chinh, N.T.; Manh, V.Q.; Trung, V.Q.; Lam, T.D.; Huynh, M.D.; Tung, N.Q.; Trinh, N.D.; Hoang, T. Characterization of Collagen Derived from Tropical Freshwater Carp Fish Scale Wastes and Its Amino Acid Sequence. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*.
 42. Shoulders, M.D.; Raines, R.T. Collagen Structure and Stability. *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 929–958.
 43. Almora-Barrios, N.; De Leeuw, N.H. A Density Functional Theory Study of the Interaction of Collagen Peptides with Hydroxyapatite Surfaces. *Langmuir* **2010**, *26*, 14535–14542.

44. Fara, A.N.K.A.; Abdullah, H.Z. Characterization of Derived Natural Hydroxyapatite (HAp) Obtained from Different Types of Tilapia Fish Bones and Scales. In Proceedings of the AIP Conference Proceedings; 2015; Vol. 1669.
45. Muhammad, N.; Gao, Y.; Iqbal, F.; Ahmad, P.; Ge, R.; Nishan, U.; Rahim, A.; Gonfa, G.; Ullah, Z. Extraction of Biocompatible Hydroxyapatite from Fish Scales Using Novel Approach of Ionic Liquid Pretreatment. *Sep. Purif. Technol.* **2016**, *161*, 129–135.
46. Laghzizil, A.; Elherch, N.; Bouhaouss, A.; Lorente, G.; Coradin, T.; Livage, J. Electrical Behavior of Hydroxyapatites $M_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ($M = Ca, Pb, Ba$). *Mater. Res. Bull.* **2001**, *36*, 953–962.
47. Von Euw, S.; Wang, Y.; Laurent, G.; Drouet, C.; Babonneau, F.; Nassif, N.; Azaïs, T. Bone Mineral: New Insights into Its Chemical Composition. *Sci. Rep.* **2019**, *9*.
48. Uskoković, V. The Role of Hydroxyl Channel in Defining Selected Physicochemical Peculiarities Exhibited by Hydroxyapatite. *RSC Adv.* 2015, *5*, 36614–36633.
49. Tavafoghi Jahromi, M.; Yao, G.; Cerruti, M. The Importance of Amino Acid Interactions in the Crystallization of Hydroxyapatite. *J. R. Soc. Interface* **2013**, *10*.
50. Palmer, L.C.; Newcomb, C.J.; Kaltz, S.R.; Spoerke, E.D.; Stupp, S.I. Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired by Bone and Enamel. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4754–4783.
51. Mututuvvari, T.M.; Harkins, A.L.; Tran, C.D. Facile Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Cellulose-Chitosan-Hydroxyapatite Composite Material: A Potential Material for Bone Tissue Engineering. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2013**, *101*, 3266–3277.
52. Horiuchi, N.; Shibata, K.; Saito, H.; Iwabuchi, Y.; Wada, N.; Nozaki, K.; Hashimoto, K.; Tanaka, Y.; Nagai, A.; Yamashita, K. Size Control Synthesis of Hydroxyapatite Plates and Their Application in the Preparation of Highly Oriented Films. *Cryst. Growth Des.* **2018**, *18*, 5038–5044.
53. Pérez-Solis, R.; Gervacio-Arciniega, J.; Joseph, B.; Mendoza, M.; Moreno, A. Synthesis and Characterization of a Monoclinic Crystalline Phase of Hydroxyapatite by Synchrotron X-Ray Powder Diffraction and Piezoresponse Force Microscopy. *Crystals* **2018**, *8*, 458.
54. Pramanik, N.; Mishra, D.; Banerjee, I.; Maiti, T.K.; Bhargava, P.; Pramanik, P. Chemical Synthesis, Characterization, and Biocompatibility Study of Hydroxyapatite/Chitosan Phosphate Nanocomposite for Bone Tissue Engineering Applications. *Int. J. Biomater.* **2009**, *2009*, 1–8.
55. Nayak, A.K. Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview. *Int. J. ChemTech Res.* 2010, *2*,

- 903–907.
56. Rapacz-Kmita, A.; Paluszkiwicz, C.; Ślósarczyk, A.; Paszkiewicz, Z. FTIR and XRD Investigations on the Thermal Stability of Hydroxyapatite during Hot Pressing and Pressureless Sintering Processes. In Proceedings of the Journal of Molecular Structure; 2005; Vol. 744–747, pp. 653–656.
 57. Chung, W.J.; Kwon, K.Y.; Song, J.; Lee, S.W. Evolutionary Screening of Collagen-like Peptides That Nucleate Hydroxyapatite Crystals. *Langmuir* **2011**, *27*.
 58. Ficaï, A.; Andronescu, E.; Voicu, G.; Ghitulica, C.; Vasile, B.S.; Ficaï, D.; Trandafir, V. Self-Assembled Collagen/Hydroxyapatite Composite Materials. *Chem. Eng. J.* **2010**, *160*, 794–800.
 59. Dattolo, L.; Keller, E.L.; Carta, G. PH Transients in Hydroxyapatite Chromatography Columns-Effects of Operating Conditions and Media Properties. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 7573–7578.
 60. Ohta, K.; Monma, H.; Tanaka, J.; Eda, H. Interaction between Hydroxyapatite and Proteins by Liquid Chromatography Using Simulated Body Fluids as Eluents. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2002**, *13*, 633–637.
 61. Zhou, Y.; Li, W.; Jiang, X.; Sun, Y.; Yang, H.; Liu, Q.; Cao, Y.; Zhang, Y.; Cheng, H. Synthesis of Strontium (Sr) Doped Hydroxyapatite (HAp) Nanorods for Enhanced Adsorption of Cr (VI) Ions from Wastewater. *Ceram. Int.* **2021**, *47*, 16730–16736.
 62. Zhu, Z.; Jiang, H.; Zhu, Y.; Zhang, L.; Tang, S.; Zhou, X.; Fan, Y. Strontium-Doped Hydroxyapatite as Adsorbent Effectively to Remove Lead Ions from Water. *SSRN Electron. J.* **2022**, *29*, 81063–81075.
 63. Van Rees, H.B.; Mengeot, M.; Kostiner, E. Monoclinic-Hexagonal Transition in Hydroxyapatite and Deuterohydroxyapatite Single Crystals. *Mater. Res. Bull.* **1973**, *8*, 1307–1309.
 64. Yashima, M.; Yonehara, Y.; Fujimori, H. Experimental Visualization of Chemical Bonding and Structural Disorder in Hydroxyapatite through Charge and Nuclear-Density Analysis. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 25077–25087.
 65. Yashima, M.; Kubo, N.; Omoto, K.; Fujimori, H.; Fujii, K.; Ohoyama, K. Diffusion Path and Conduction Mechanism of Protons in Hydroxyapatite. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 5180–5187.
 66. El Hammari, L.; Laghzizil, A.; Barboux, P.; Saoiabi, A.; Lahlil, K. Crystallinity and Fluorine Substitution Effects on the Proton Conductivity of Porous Hydroxyapatites. *J. Solid State Chem.* **2004**, *177*, 134–138.
 67. Yamashita, K.; Kitagaki, K.; Umegaki, T. Thermal Instability and Proton Conductivity of Ceramic

- Hydroxyapatite at High Temperatures. *J. Am. Ceram. Soc.* **1995**, 78, 1191–1197.
68. Fergusson, J.E.; Robinson, W.T.; Rodley, G.A. Significance of the Orientation of Coordinated Imidazole and Benzimidazole Groups in Haemoprotein and Vitamin B12 Structures. *Aust. J. Biol. Sci.* **1972**, 25, 1365–1371.
69. Shalini, K.; Sharma, P.; Kumar, N. Imidazole and Its Biological Activities: A Review. *Chem. Sin* **2010**, 1, 36–47.
70. Candour, R.D.; Nabulsi, N.A.R.; Fronczek, F.R. Structural Model of a Short Carboxyl-Imidazole Hydrogen Bond with a Nearly Centrally Located Proton: Implications for the Asp-His Dyad in Serine Proteases. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7816–7817.
71. Christen, D.; Griffiths, J.H.; Sheridan, J. The Microwave Spectrum of Imidazole; Complete Structure and the Electron Distribution from Nuclear Quadrupole Coupling Tensors and Dipole Moment Orientation. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. A J. Phys. Sci.* **1981**, 36, 1378–1385.
72. Schneider, F. Histidine in Enzyme Active Centers. *Angew. Chemie Int. Ed. English* 1978, 17, 583–592.
73. Porath, J.; Carlsson, J.; Olsson, I.; Belfrage, G. Metal Chelate Affinity Chromatography, a New Approach to Protein Fractionation. *Nature* **1975**, 258, 598–599.
74. Hengen, P.N. Purification of His-Tag Fusion Proteins from Escherichia Coli. *Trends Biochem. Sci.* **1995**, 20, 285–286.
75. Zhang, W.; Ramamoorthy, Y.; Kilicarslan, T.; Nolte, H.; Tyndale, R.F.; Sellers, E.M. Inhibition of Cytochromes P450 by Antifungal Imidazole Derivatives. *Drug Metab. Dispos.* **2002**, 30, 314–318.
76. Kawada, A.; McGhie, A.R.; Labes, M.M. Protonic Conductivity in Imidazole Single Crystal. *J. Chem. Phys.* **1970**, 52, 3121–3125.
77. Sunairi, Y.; Dekura, S.; Ueda, A.; Ida, T.; Mizuno, M.; Mori, H. Anhydrous Purely Organic Solid-State Proton Conductors: Effects of Molecular Dynamics on the Proton Conductivity of Imidazolium Hydrogen Dicarboxylates. *J. Phys. Soc. Japan* **2020**, 89.
78. Sunairi, Y.; Ueda, A.; Yoshida, J.; Suzuki, K.; Mori, H. Anisotropic Proton Conductivity Arising from Hydrogen-Bond Patterns in Anhydrous Organic Single Crystals, Imidazolium Carboxylates. *J. Phys. Chem. C* **2018**, 122, 11623–11632.
79. Trivedi, M.K.; Dahryn Trivedi, A.B.; Gunin Saikia, G.N. Physical and Structural Characterization of Biofield Treated Imidazole Derivatives. *Nat. Prod. Chem. Res.* **2015**, 03, 1000187.

80. Viktorsson, L.; Heinonen, J.T.; Skulason, J.B.; Unnthorsson, R. A Step towards the Hydrogen Economy - A Life Cycle Cost Analysis of a Hydrogen Refueling Station. *Energies* **2017**, *10*, 763.
81. Yoshida, T.; Kojima, K. Toyota MIRAI Fuel Cell Vehicle and Progress toward a Future Hydrogen Society. *Electrochem. Soc. Interface* **2015**, *24*, 45–49.
82. Edwards, P.P.; Kuznetsov, V.L.; David, W.I.F.; Brandon, N.P. Hydrogen and Fuel Cells: Towards a Sustainable Energy Future. *Energy Policy* **2008**, *36*, 4356–4362.
83. Miyatake, K.; Watanabe, M. Novel Proton Conducting Polymer Electrolyte Membranes. *membrane* **2002**, *27*, 131–138.
84. Ke, Y.; Yuan, W.; Zhou, F.; Guo, W.; Li, J.; Zhuang, Z.; Su, X.; Lu, B.; Zhao, Y.; Tang, Y.; et al. A Critical Review on Surface-Pattern Engineering of Nafion Membrane for Fuel Cell Applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2021, *145*.
85. Yang, L.; Tang, B.; Wu, P. A Novel Proton Exchange Membrane Prepared from Imidazole Metal Complex and Nafion for Low Humidity. *J. Memb. Sci.* **2014**, *467*, 236–243.
86. Gierke, T.D.; Munn, G.E.; Wilson, F.C. Morphology in Nafion Perfluorinated Membrane Products, as Determined by Wide-and Small-Angle Xray Studies. *J. Polym. Sci. Part A-2, Polym. Phys.* **1981**, *19*, 1687–1704.
87. Seland, F.; Berning, T.; Børresen, B.; Tunold, R. Improving the Performance of High-Temperature PEM Fuel Cells Based on PBI Electrolyte. *J. Power Sources* **2006**, *160*, 27–36.
88. Hofmann, D.W.M.; Kuleshova, L.; D'Aguanno, B.; Noto, V. Di; Negro, E.; Conti, F.; Vittadello, M. Investigation of Water Structure in Nafion Membranes by Infrared Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulation. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 632–639.
89. Mazzapioda, L.; Panero, S.; Navarra, M.A. Polymer Electrolyte Membranes Based on Nafion and a Superacidic Inorganic Additive for Fuel Cell Applications. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11*.
90. Paddison, S.J.; Paul, R. The Nature of Proton Transport in Fully Hydrated Nafion®. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 1158–1163.
91. Schuster, M.F.H.; Meyer, W.H. Anhydrous Proton-Conducting Polymers. *Annu. Rev. Mater. Res.* 2003, *33*, 233–261.
92. Matsuo, Y.; Tanaka, Y.; Hatori, J.; Ikehata, S. Proton Activity and Spontaneous Strain of Cs₃H(SeO₄)₂ in the Phase Transition at 369 K. *Solid State Commun.* **2005**, *134*, 361–365.

93. Hatori, J.; Matsuo, Y.; Ikehata, S. The Relation between Elasticity and the Superprotonic Phase Transition Temperature for $M_3H(XO_4)_2$. *Solid State Commun.* **2006**, *140*, 452–454.
94. Matsuo, Y.; Tokoyoda, Y.; Hatori, J.; Ikehata, S. Electrical Conductivity and NMR Studies in Paraelastic Phase of Tl_2SeO_4 . *Solid State Ionics* **2006**, *177*, 1883–1886.
95. Matsuo, Y.; Hatori, J.; Yoshida, Y.; Ikehata, S. Rule of Superprotonic Phase Transition in $CsXRb1 - XH_2PO_4$. In Proceedings of the Solid State Ionics; Elsevier, April 16 2012; Vol. 213, pp. 42–44.
96. Matsuo, Y.; Hatori, J.; Yoshida, Y.; Ikedo, Y.; Sugiyama, J.; Ikehata, S. Interrelationship between Superprotonic Conductivity and Strain in $CsHXO_4$. *Phys. Lett. Sect. A Gen. At. Solid State Phys.* **2009**, *373*, 3470–3472.
97. Matsuo, Y.; Hatori, J.; Yoshida, Y.; Saito, K.; Ikehata, S. Proton Conductivity and Spontaneous Strain below Superprotonic Phase Transition in $Rb_3H(SeO_4)_2$. In Proceedings of the Solid State Ionics; Elsevier, October 1 2005; Vol. 176, pp. 2461–2465.
98. Matsuo, Y.; Hatori, J.; Nakashima, Y.; Ikehata, S. Superprotonic and Ferroelastic Phase Transition in $K_3H(SO_4)_2$. *Solid State Commun.* **2004**, *130*, 269–274.
99. Matsuo, Y.; Kumasaka, G.; Saito, K.; Ikehata, S. Fabrication of Solid-State Fuel Cell Based on DNA Film. *Solid State Commun.* **2005**, *133*, 61–64.
100. Matsuo, Y.; Hatori, J.; Yoshida, Y.; Ikehata, S. Humidity Dependence of Proton Conductivity in DNA Film Studied by NMR and AC Conductivity. In Proceedings of the Journal of the Physical Society of Japan; Physical Society of Japan, 2010; Vol. 79, pp. 12–14.
101. Kawabata, T.; Matsuo, Y. Chitin Based Fuel Cell and Its Proton Conductivity. *Mater. Sci. Appl.* **2018**, *09*, 779–789.
102. Furuseki, T.; Matsuo, Y. Fuel Cell Using Squid Axon Electrolyte and Its Proton Conductivity. *J. Funct. Biomater.* **2020**, *11*, 86.
103. Caruso, G.; Floris, R.; Serangeli, C.; Di Paola, L. Fishery Wastes as a Yet Undiscovered Treasure from the Sea: Biomolecules Sources, Extraction Methods and Valorization. *Mar. Drugs* **2020**, *18*.
104. Jung, J.-H.; Lee, J.-J.; Lee, G.-W.; Yoo, K.-S.; Sho, B.-H. Reuse of Waste Shells as a SO_2/NO_x Removal Sorbent. In *Material Recycling - Trends and Perspectives*; 2012.
105. Wu, J.; Kong, L.; Zhang, J.; Chen, W. Extraction and Properties of Acid-Soluble Collagen and Pepsin-Soluble Collagen from Silver Carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) Scales: Prerequisite Information for

- Fishery Processing Waste Reuse. *Polish J. Environ. Stud.* **2019**, *28*, 2923–2930.
106. Kawakami, H.; Matsuo, Y. Beautiful Renewable Energy. *Impact* **2020**, *2019*, 39–41.
107. KAWAKAMI, H.; MATSUO, Y. “Photosynthetic Architecture” Integrated with Photo-Biofuel Cell. *J. Japan Soc. Colour Mater.* **2020**, *93*, 393–398.
108. Iwahashi, A.; Yamada, T.; Matsuo, Y.; Kawakami, H. Novel Biofuel Cell Using Hydrogen Generation of Photosynthesis. *J. Funct. Biomater.* **2020**, *11*.
109. Takahashi, Y.; Iwahashi, A.; Matsuo, Y.; Kawakami, H. Solid-State Hydrogen Fuel by Psii–Chitin Composite and Application to Biofuel Cell. *J. Compos. Sci.* **2021**, *5*.
110. Kim, J.D.; Honma, I. Anhydrous Solid State Proton Conductor Based on Benzimidazole/Monododecyl Phosphate Molecular Hybrids. *Solid State Ionics* **2005**, *176*, 979–984.
111. Furuseki, T.; Matsuo, Y. Anhydrous Proton Conductivity in HAp–Collagen Composite. *J. Compos. Sci.* **2022**, *6*, 236.
112. Furuseki, T.; Teranishi, S.; Matsuo, Y. Study on Anhydrous Proton Conduction in Imidazole–Collagen Composite. *J. Compos. Sci.* **2022**, *6*, 360.
113. Smith, G.W. Proton Magnetic Resonance Studies of Solid Tetramethyls of Silicon, Germanium, Tin, and Lead. *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 4229–4243.
114. Sugiyama, M.; Hayashi, M.; Yamazaki, C.; Hamidon, N.B.; Hirose, Y.; Itagaki, M. Application of Impedance Spectroscopy to Investigate the Electrical Properties around the Pn Interface of Cu(In,Ga)Se₂ Solar Cells. In Proceedings of the Thin Solid Films; 2013; Vol. 535, pp. 287–290.
115. Macdonald, D.D.; Anderson, J. Transient Techniques in Electrochemistry. *J. Electrochem. Soc.* **1979**, *126*, 460–462.
116. Gabrielli, C. Identification of Electrochemical Processes by Frequency Response Analysis. *Monogr. Ref.* **1980**, *4*.
117. Kundu, T.; Chandra Sahoo, S.; Banerjee, R. Alkali Earth Metal (Ca, Sr, Ba) Based Thermostable Metal–Organic Frameworks (MOFs) for Proton Conduction. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4998–5000.
118. Cole, K.S.; Cole, R.H. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics. *J. Chem. Phys.* **1941**, *9*, 341–351.
119. Maturana, M.I.; Meisel, C.; Dell, K.; Karoly, P.J.; D’Souza, W.; Grayden, D.B.; Burkitt, A.N.; Jiruska, P.; Kudlacek, J.; Hlinka, J.; et al. Critical Slowing down as a Biomarker for Seizure Susceptibility. *Nat.*

Commun. **2020**, *11*.

120. Metreveli, N.O.; Jariashvili, K.K.; Namicheishvili, L.O.; Svintradze, D. V; Chikvaidze, E.N.; Sionkowska, A.; Skopinska, J. UV-Vis and FT-IR Spectra of Ultraviolet Irradiated Collagen in the Presence of Antioxidant Ascorbic Acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2010**, *73*, 448–455.
121. Ryl, J.; Burczyk, L.; Bogdanowicz, R.; Sobaszek, M.; Darowicki, K. Study on Surface Termination of Boron-Doped Diamond Electrodes under Anodic Polarization in H₂SO₄ by Means of Dynamic Impedance Technique. *Carbon N. Y.* **2016**, *96*, 1093–1105.
122. Endres, H.E.; Drost, S.; Hutter, F. Impedance Spectroscopy on Dielectric Gas Sensors. *Sensors Actuators B Chem.* **1994**, *22*, 7–11.
123. Nair, A.K.; Gautieri, A.; Chang, S.W.; Buehler, M.J. Molecular Mechanics of Mineralized Collagen Fibrils in Bone. *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1724.

本博士論文の構成

本論文は、下記の投稿論文（査読付き）3編、国際会議発表4件および国内会議・シンポジウム等13件から構成されており、社会的に公表され評価を受けた内容からなっている。

原著論文（査読付き）

1) T, Furuseki and Y, Matsuo.

“Fuel Cell Using Squid Axon Electrolyte and Its Proton Conductivity.”

J. Funct. Biomater. 2020, 11, 86.

<博士論文1, 2-2章>

2) T, Furuseki and Y, Matsuo.

“Anhydrous Proton Conductivity in HAp—Collagen Composite.”

J. Compos. Sci. 2022, 6, 236.

<博士論文 1, 2-1, 2-2, 3-1, 3-3, 4章>

3) T. Furuseki, S. Teranishi and Y. Matsuo.

“Study on Anhydrous Proton Conduction in Imidazole—Collagen Composite.”

J. Compos. Sci. 2022, 6, 236.

<博士論文 1, 2, 3-2, 3-3, 4章>

国際会議

1) Y Matsuo, T Furuseki and H Kawakami,

“Protonics with tissue derived Biomaterials”

World Congress on Chemistry and Medicinal Chemistry, Czech, 2019, May.

<博士論文1章> （招待講演）

2) T Furuseki, T Kawabata and Y Matsuo,
“Novel fuel cell based on tissue-derived protein including ion channel”
International Conference on Solid state Ionics, Korea, 2019, June.
<博士論文 1, 2章>

3) T Furuseki and Y Matsuo,
“Novel fuel cell using ion channel membrane”
2nd Advanced Materials Science World Congress, Online, 2021, June.
<博士論文1, 2章>

4) T Furuseki and Y Matsuo,
“Biomaterial “HAp-collagen complex” of non-humidified proton conductivity”
International Conference on Solid state Ionics, USA, 2022, July.
<博士論文1, 2-1, 2-2, 3-1, 3-3, 4章>

国内会議・シンポジウム等

1) 古関 智樹, 川端 隆, 松尾 康光
生体由来膜タンパク質であるイオンチャネルを用いた新規燃料電池
第44回固体イオニクス討論会, 2018年12月
<博士論文 1, 2章>

2) 古関 智樹, 松尾 康光
イオンチャネルを電解質とした新規バイオ燃料電池
日本物理学会第74回年次大会, 2019年5月
<博士論文 1, 2章>

3) 古関 智樹, 松尾 康光
生体由来イオンチャネルのプロトン輸送
第22回超イオン導電体物性研究会, 2019年5月

<博士論文 1,2章>

4) 古関 智樹, 瀬溝 人生, 松尾 康光

ハイドロキシアパタイト含有生体高分子のプロトン伝導

日本物理学会2019年秋季大会, 2019年9月

<博士論文 1, 2-1, 2-2, 3-1, 3-3, 4章>

5) 古関 智樹, 瀬溝 人生, 松尾 康光

バイオポリマーを利用した電子デバイスの創製

第5回摂南大学融合科学研究所講演会, 2019年10月

<博士論文 1章> (招待講演)

6) 古関 智樹, 瀬溝 人生, 松尾 康光

ハイドロキシアパタイト-コラーゲン複合体の無加湿プロトン伝導

第45回固体イオニクス討論会, 2019年11月

<博士論文 1, 2-1, 2-2, 3-1, 3-3, 4章>

7) 古関 智樹, 瀬溝 人生, 松尾 康光

コラーゲン-HAp複合体のHAp含有量とプロトン伝導性

日本物理学会2020年秋季大会, 2020年9月

<博士論文 1, 2, 3-1, 3-3, 4章>

8) 寺西 翔太郎, 古関 智樹, 松尾 康光

コラーゲン-イミダゾール複合体における無加湿プロトン伝導

日本物理学会第76回年次大会, 2021年3月

<博士論文 1, 2, 3-2, 3-3, 4章>

9) 古関 智樹, 松尾 康光

ハイドロキシアパタイト-コラーゲン複合体を用いた新規無加湿プロトン伝導体

第73回日本生物工学会, 2021年10月

<博士論文 1, 2, 3-1, 3-3, 4章>

10) 古関 智樹, 寺西 翔太郎, 瀬溝 人生, 松尾 康光

バイオマテリアルを利用した新規無加湿プロトン伝導体の創製

第6回摂南大学融合科学研究所講演会, 2017年12月

<博士論文 1, 2, 3, 4章>

11) 古関 智樹, 松尾 康光

無加湿プロトン伝導体HAp-コラーゲン複合体のプロトン伝導とHApの役割

第47回固体イオニクス討論会, 2021年12月

<博士論文 1, 2, 3-1, 3-3, 4章>

12) 寺西 翔太郎, 古関 智樹, 松尾 康光

コラーゲンペプチド-イミダゾール複合体における無加湿プロトン伝導

日本物理学会第77回年次大会, 2022年3月

<博士論文 1, 2, 3-2, 3-3, 4章>

13) 古関 智樹, 寺西 翔太郎, 松尾 康光

コラーゲンのイミダゾール含有量とプロトン伝導の関係

日本物理学会第78回年次大会, 2023年3月

<博士論文 1, 2, 3-2, 3-3, 4章> (予定)

謝辞

学部学生時代から適切なお助言を頂き、また大学院へ進学してからは指導教官として適切な研究計画から研究発表まで懇切丁寧にご指導いただきました 松尾 康光 教授に厚く御礼申し上げます。

また本論文をまとめるにあたって、摂南大学理工学部生命科学科 宮崎 裕明 教授および摂南大学理工学部生命科学科 中嶋 義隆 教授、大学理工学部生命科学科 湯浅 恵造 教授には適切なお指導とお助言を賜りました。

また、イミダゾール-コラーゲン複合体の研究におきましては、卒業生である寺西 祥太郎 君とともに研究を進めることで、多くの刺激や示唆をえることができました。感謝の意を表します。

研究室のメンバーや大学院生、卒業生には常に刺激的な意見を頂き、充実した院生活を送ることができました。本当にありがとうございました。