

Proceedings of the XXXIII International Congress of IULTCS 2015 – Novo Hamburgo (RS) – Brazil

Estructura del colágeno y Resistencia de la piel

Hannah C. Wells¹, Katie H. Sizeland¹, Richard L. Edmonds², Nigel Kirby³, Adrian Hawley³, Stephen Mudie³, Richard G. Haverkamp¹

¹School of Engineering and Advanced Technology, Massey University Private Bag 11222, Palmerston North 4442, New Zealand, Phone +64 3569099, email: r.haverkamp@massey.ac.nz

²Leather and Shoe Research Association, PO Box 8094, Palmerston North 4446, New Zealand

³Australian Synchrotron, 800 Blackburn Road, Clayton, Melbourne, VIC 3168, Australia.

Resumen

La resistencia es una propiedad importante de la piel. Sin embargo, la base estructural de la resistencia en la piel no está bien entendida. Se ha utilizado el sincrotrón basado en el ensayo de dispersión de rayos X a bajos ángulos para investigar la estructura y la resistencia de los materiales colagénicos en diversas condiciones. Esto permite cuantificar los cambios en el grado de orientación de las fibrillas de colágeno y se pueda medir la tensión interna sobre las fibrillas de colágeno individuales. Se ha determinado que la alineación del colágeno en el plano de la piel se correlaciona claramente con la resistencia de la piel de vacuno y ovino y también en las pieles de otros mamíferos. La piel firme es más capaz de distribuir la tensión aplicada en todo el grosor de la piel con respecto a una piel fofa. El diámetro de las fibrillas de colágeno tiene una ligera correlación con la resistencia de la piel bovina. Los cambios en el grosor y la materia seca de la piel durante el proceso afectan a la orientación de las fibrillas. Los engrasantes modifican la estructura del colágeno de una manera sistemática pero lubrican a un nivel estructural por encima del tamaño de la fibrilla. Estos factores proporcionan una mejor comprensión a nivel nano-estructural de la resistencia de la piel.

Palabras clave: Dispersión de rayos X a bajos ángulos, colágeno, orientación fibrilar, diámetro de fibrillas.

1. Introducción

Una gran parte de la piel producida a nivel mundial se utiliza para la producción de calzado, tapicería y confección de prendas de vestir, y muchas de estas aplicaciones requieren piel de buena calidad. Una característica importante de la piel es su resistencia. La resistencia de la piel depende en gran medida de las propiedades y del comportamiento de las fibras que componen el material. La piel está formada por largas fibras de colágeno que se entrelazan para formar una estructura de tipo malla. Las fibras de colágeno se mantienen unidas en la estructura en forma de malla a través de enlaces, ya sean naturales o sintéticos.

Se ha utilizado la dispersión de rayos X a bajos ángulos para determinar las características estructurales de diversos materiales de piel con diferentes resistencias. La manera en que el colágeno proporciona resistencia a la piel y la razón por la que esta propiedad difiere en diversos materiales de piel es el objetivo de este trabajo.

2. Materiales y Métodos

Las pieles ovinas, bovinas y de otros animales se procesan a través de los procesos de ribera y curtición al cromo convencionales.

Se utilizó la técnica de dispersión de rayos X a bajos ángulos basada en el sincrotrón para investigar la reordenación estructural de colágeno (Basil-Jones et al., 2010). Esta técnica permite cuantificar los cambios en el

grado de orientación de las fibrillas de colágeno y medir la tensión interna sobre las fibrillas de colágeno individuales (Basil-Jones et al., 2011). Los patrones de difracción se registraron en el Sincrotrón australiano SAXS/WAXS, utilizando una fuente ondulatoria de alta intensidad. Se obtuvo una resolución de energía de 10^{-4} a partir de un monocromador de cristal doble Si(111) enfriado criogénicamente y el tamaño del haz (FWHM focalizado en la muestra) fue de $250 \times 80 \mu\text{m}$, mediante un flujo total de fotones de aproximadamente $2 \times 10^{12} \text{ ph} \cdot \text{s}^{-1}$. Todos los patrones de difracción se registraron con una energía de rayos X de 11 keV utilizando un detector Pilatus 1M con un área activa de $170 \times 170 \text{ mm}$ y una distancia de muestra a detector de 3371 mm. El tiempo de exposición para los patrones de difracción fue de 1 s y el procesamiento de los datos se llevó a cabo utilizando el software SAXS15ID (Cookson et al., 2006). Las muestras de piel parcialmente procesadas se montaron en una placa de muestreo y se sellaron usando cinta de kapton para evitar el secado durante el análisis de rayos X.

El índice de orientación (OI) se utiliza para medir la propagación de la orientación de las fibrillas de colágeno. Se calcula a partir de la extensión del ángulo azimutal del pico de Bragg más intenso en torno a $0,058\text{-}0,060 \text{ \AA}^{-1}$. OI se define como $(90^\circ - \text{OA}) / 90^\circ$ donde OA es el ángulo azimutal mínimo, centrado en la intensidad máxima de pico, que contiene el 50% de la intensidad de dispersión de las fibrillas. Un valor OI de 1 indica que las fibrillas son completamente paralelas entre sí, mientras que un valor de 0 indica que la orientación de las fibrillas es completamente isotrópica.

Las resistencias al desgarro se determinaron a partir de los métodos estandarizados para pruebas de desgarro de doble agujero (IULTCS 2002, Williams 2000). Las muestras se cortaron y se almacenaron a 20°C y 65% de humedad relativa durante 24 horas antes de medir la resistencia al desgarro usando un dinamómetro Instron 4467. El espesor se midió a través del método estandarizado BS EN ISO 2589: 2002.

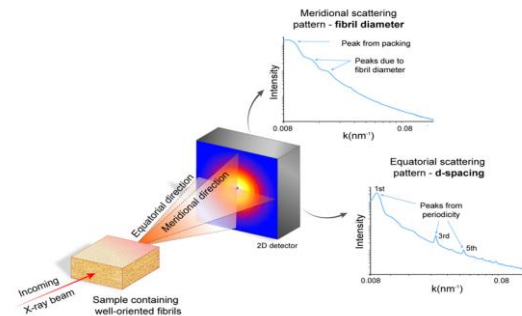
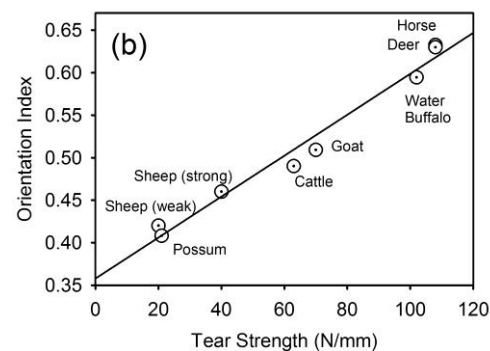


Figura 1. Montaje experimental de la técnica SAXS. Medidas meridional y ecuatorial de una muestra que contiene fibrillas de colágeno bien orientadas.

3. Resultados y Discusión

La alineación del colágeno en el plano de la piel se correlaciona claramente con la resistencia en la piel bovina y ovina (Basil-Jones et al., 2011) y también en las pieles de otros mamíferos. (Sizeland et al., 2013) (Figura 2). Las fibrillas de colágeno son fuertes en la dirección de la longitud de la fibrilla, pero las conexiones entre las fibrillas determinan la resistencia de un material colagénico en la dirección perpendicular a las fibrillas. Estas conexiones son relativamente débiles. Dichas conexiones en la piel fresca son en su mayor parte glicosaminoglicanos, pero éstos se eliminan durante la curtiembre y los enlaces entre las fibrillas son probablemente debidos a los complejos de cromo. La resistencia de estos enlaces es aparentemente mucho menor que la resistencia de las fibrillas de colágeno, y por lo tanto, los



materiales de colágeno son más fuertes en la dirección en la que están orientadas la mayoría de las fibrillas.

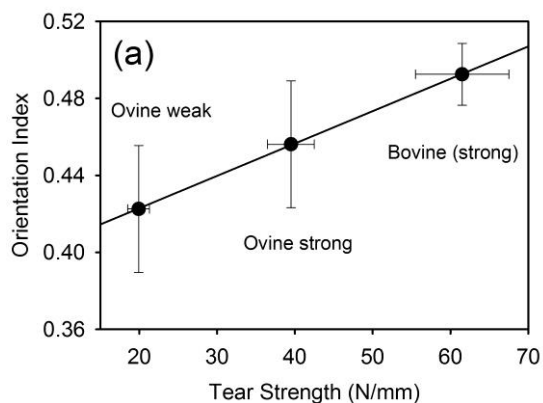


Figura 2. a) Índice de orientación frente a la resistencia al desgarro de los promedios de cada uno de los tipos de piel analizadas en el borde paralelo a la columna vertebral. Barras de error para una desviación estándar.; b) Índice de orientación frente a la resistencia al desgarro para una serie de animales. a) de *J. Agric. Food Chem.* 59 (18) 9972 - 9979 © American Chemical Society; B) de *J. Agric. Food Chem.* 61 (4) 887-892 © American Chemical Society.

Mediante el análisis SAXS es posible tomar puntos a través del espesor de la piel y observar el comportamiento de la orientación y la tensión de la fibrilla de colágeno cuando se somete tensión sobre la piel. Se determina que existe una diferencia en la respuesta de una piel firme o fofa frente a la tensión. La piel firme distribuye mejor la tensión aplicada a través de todo su espesor, y la carga es absorbida uniformemente por las fibrillas de colágeno, mientras que en la piel fofa hay puntos de alta y baja tensión. Por lo tanto, la pérdida de tensión es similar en piel fofa con un menor estrés global, ya que se iniciará en las regiones donde se concentra la tensión (Basil-Jones et al., 2012)./ Failure therefore is likely in weak leather at lower overall stress because it will be initiated at the regions where stress is concentrated (Basil-Jones et al. 2012).

Se ha demostrado que el diámetro de las fibrillas de colágeno tiene alguna influencia sobre la resistencia en los tendones (Parry et al., 1978). Hemos encontrado una correlación del diámetro de las fibrillas de colágeno con la resistencia de la piel bovina, ya que las fibrillas de mayor diámetro están presentes en las pieles más firmes (Wells et al., 2013) aunque la correlación no es muy grande (Figura 3).

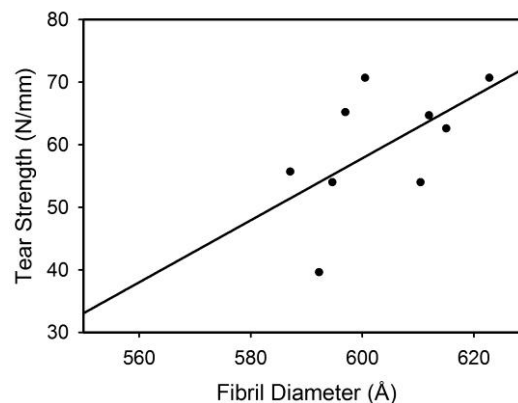


Figura 3. Diámetro de las fibrillas de colágeno frente a la resistencia al desgarro para la piel bovina $r^2 = 0.59$, $t = 3.4$, $P = 0.009$ (para la pendiente). Cada punto es el valor promedio de 12-20 patrones de difracción. De *J. Agric. Food Chem.* 61 (47) 11524-11531 © American Chemical Society.

Se ha demostrado que otros factores influyen en la orientación de las fibrillas de colágeno en la piel. En particular, los cambios en el espesor durante el procesado de la piel dan como resultado un cambio en el índice de orientación medido, con estadios de piel más gruesa que presentan OI más bajo, pero sin alterar fundamentalmente la disposición estructural del colágeno (Sizeland et al., 2015a).

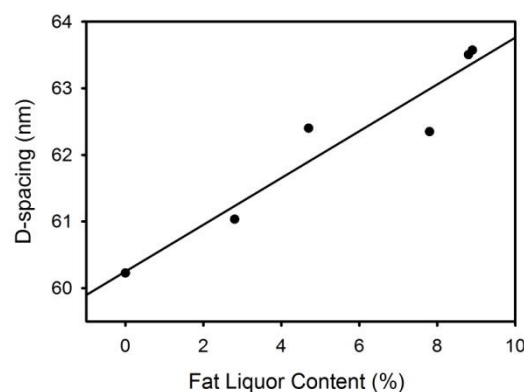


Figura 4. Espaciamento en D de colágeno frente al contenido en engrasantes medido para piel ovina. Cada punto se toma del promedio de unos 20 patrones de dispersión. Adaptado de los datos presentados en *J. Am. Cuero Chem. Assoc.*, 110 (3) 66-71 con la diferencia de que aquí se muestra el contenido en grasa medido en lugar de la oferta de engrasantes.

Una de las etapas finales de la fabricación de cuero es la adición de los productos engrasantes para aumentar la resistencia y dar flexibilidad la piel. Se ha investigado la acción de los engrasantes y se determina que éstos

TOGETHER WE ARE STAHL

Now Clariant's Leather Business is part of Stahl. Together we will offer an increased level of service to the leather and performance coatings industries. As of now Stahl will cover the whole leather processing chain. Our expanded market coverage will result in clear advantages such as more innovation, greater expertise in sustainability and the best in class technical service. Today we combine all our talents, our skills, our ideas and our passion. We are Stahl.



CLARIANT
LEATHER SERVICES

WORLDWIDE COVERAGE

- 1 HQ
- 11 PLANTS
- 42 APPLICATION LABS / SALES OFFICES
- 1800+ EMPLOYEES

HQ Headquarters Stahl
Waalwijk, Netherlands



penetran al nivel de las fibrillas de colágeno; y penetran en las fibrillas para alterar la estructura de las fibrillas individuales. Esto es evidente en el cambio lineal en la separación-D con respecto al contenido en grasa (Figura 4) (Sizeland et al., 2015c). Sin embargo, a pesar de la penetración de estos productos dentro de las fibrillas de colágeno, la acción lubricante de los engrasantes parece aplicarse solamente a un nivel estructural de fibras, no de fibrillas (Sizeland et al., 2015b).

También se ha estudiado la contribución de las propiedades mecánicas de las fibrillas individuales de colágeno en las propiedades mecánicas del tejido que comprenden (Wells et al., 2015), utilizando el pericardio como material de ensayo. Midiendo la relación de los cambios en el diámetro de las fibrillas con respecto a los cambios de espaciamiento-d (elongación) se determinó que las fibrillas de colágeno bajo tensión exhiben un número de Poisson elevado, superior a 0,5. Esto significa que a medida que se estira una fibrilla, el diámetro se contrae a una velocidad inusualmente alta, dando como resultado una disminución del volumen global de la fibrilla. Esto es probable que imparta una resistencia particular a la tensión y podría ser un mecanismo que contribuye a las propiedades de firmeza y elasticidad del colágeno.

4. Conclusiones

Se determina que la orientación de la fibrilla tiene una influencia significativa en la resistencia global de la piel, con una alineación de fibrillas más alta en el plano de la piel que conduce a una mayor resistencia en esa dirección. Existen interacciones débiles entre las fibrillas en ángulo recto con la longitud de las fibrillas. La piel firme, con las fibrillas altamente alineadas en el plano del cuero, distribuye más uniformemente una carga aplicada a través del grosor del material si se compara con una piel fofa. La piel fofa tiende a tener regiones de alta y baja tensión, lo que conduce a un error con cargas menores.

También se demostró que el diámetro de las fibrillas de colágeno tiene una baja influencia sobre la resistencia global en la piel bovina. Cuando se combinaron los diámetros de las fibrillas con los valores de espaciamiento-d para calcular la relación de Poisson, se

determinó que el colágeno exhibe una elevada relación de Poisson bajo tensión, una característica que es diferente a la mayoría de los materiales de ingeniería. Al estudiar los componentes de las fibrillas del colágeno de la piel, incluyendo la orientación de las fibrillas, el diámetro, los cambios con el procesamiento y la química y el comportamiento bajo tensión, se han podido comprender mejor algunas de las propiedades mecánicas y de resistencia de la piel.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Innovación Empresarial y Becas de Empleo LSRX0801 y LSRX1301. Esta investigación se realizó mediante un sistema SAXS/WAXS en el Sincrotrón australiano de Victoria, Australia. El Sincrotrón australiano ayudó con la financiación de los viajes y el alojamiento.

6. Referencias

- Basil-Jones, M.M., Edmonds, R.L., Allsop, T.F., Cooper, S.M., Holmes, G., Norris, G.E., Cookson, D.J., Kirby, N.Haverkamp, R.G., 2010, Leather structure determination by small-angle X-ray scattering (SAXS): Cross sections of ovine and bovine leather, *J. Agric. Food Chem.*, 58(9) 5286-5291p.
- Basil-Jones, M.M., Edmonds, R.L., Cooper, S.M.Haverkamp, R.G., 2011, Collagen fibril orientation in ovine and bovine leather affects strength: A small angle x-ray scattering (SAXS) study, *J. Agric. Food Chem.*, 59(18) 9972-9979p.
- Basil-Jones, M.M., Edmonds, R.L., Norris, G.E.Haverkamp, R.G., 2012, Collagen fibril alignment and deformation during tensile strain of leather: A small-angle X-ray scattering study, *J. Agric. Food Chem.*, 60(5) 1201-1208p.
- Cookson, D., Kirby, N., Knott, R., Lee, M.Schultz, D., 2006, Strategies for data collection and calibration with a pinhole-geometry SAXS instrument on a synchrotron beamline, *J. Synchrotron Radiat.*, 13 440-444p.
- IULTCS 2002, Leather - Physical and mechanical tests - Determination of tear load - Part 2: Double edge tear. Switzerland, ISO. BS EN ISO 3377-2:2002(E).
- Parry, D.A.D., Barnes, G.R.G.Craig, A.S., 1978, Comparison of size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical-properties, *P. Roy. Soc. B-Biol. Sci.*, 203(1152) 305-321p.
- Sizeland, K.H., Basil-Jones, M.M., Edmonds, R.L., Cooper, S.M., Kirby, N., Hawley, A.Haverkamp, R.G., 2013, Collagen Orientation and Leather Strength for Selected Mammals, *J. Agric. Food Chem.*, 61(4) 887-892p.
- Sizeland, K.H., Edmonds, R.L., Basil -Jones, M.M., Kirby, N., Hawley, A., Mudie, S.Haverkamp, R.G., 2015a, Changes to collagen structure during leather processing, *J. Agric. Food Chem.*, 63(9) 2499-2505p.
- Sizeland, K.H., Holmes, G., Edmonds, R.L., Kirby, N., Hawley, A., Mudie, S.T.Haverkamp, R.G., 2015b, Fatliquor Effects on Collagen Fibril Orientation and D-spacing in Leather during Tensile Strain, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 110(11).
- Sizeland, K.H., Wells, H.C., Norris, G.E., Edmonds, R.L., Kirby, N., Hawley, A., Mudie, S.Haverkamp, R.G., 2015c, Collagen D-spacing and the effect of fat liquor addition, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 110(3) 66-71p.
- Wells, H.C., Edmonds, R.L., Kirby, N., Hawley, A., Mudie, S.T.Haverkamp, R.G., 2013, Collagen fibril diameter and leather strength, *J. Agric. Food Chem.*, 61(47) 11524-11531p.
- Wells, H.C., Sizeland, K.H., Kayed, H.R., Kirby, N., Hawley, A., Mudie, S.T.Haverkamp, R.G., 2015, Poisson's ratio of collagen fibrils measured by SAXS of strained bovine pericardium, *J. Appl. Phys.*, 117(4) 044701p.
- Williams, J.M.V., 2000, IULTCS (IUP) test methods - Measurement of tear load-double edge tear, *J. Soc. Leather Tech. Ch.*, 84(7) 327-329p.