

シルクフィルム前駆体溶液の分子量の安定化に関する研究 II

鈴木 卓也*

生糸を溶かして作ったシルクフィルム前駆体溶液の分子量が、既報¹⁾と同じ方法で作製しても異なる値となることがあるため、その原因を検討した。分子量に影響を与えるおそれがあると考えられる要素のうち、一度に溶かす生糸の量、容器容量、振り混ぜ方及び溶解熱の放熱時間を変えて分子量の変化を調べたところ、これらの要素は分子量のばらつきの原因ではないと推察された。

1 はじめに

絹(シルク)は、主にフィブロイン及びセリシンという 2 種類のタンパク質で構成されており、織物の材料としてだけでなく、多様な素材としての活用が研究や実用化されている。フィブロイン、セリシン又はそれら両者がフィルム状になった素材(以下、「フィルム」とする)の作製方法や¹⁾²⁾³⁾⁴⁾、他の物質を混合してフィルム性能が向上するための方法研究も行われている¹⁾²⁾。

既報¹⁾では、フィブロインとセリシンを分離していない生糸を溶かした溶液に、セルロースナノファイバー等を混ぜてフィルムを作製して、引張強度及び伸度を調べている。セルロースナノファイバー等を混ぜて作製したフィルムの引張強度及び伸度は、その前駆体である生糸を溶かした液(以下、「シルク溶液」とする)の重量平均分子量により変動することがわかっていることから²⁾、物性が安定した製品とするために、安定した重量平均分子量のシルク溶液を得ることが重要である。しかし、既報¹⁾で約 20×10^4 の重量平均分子量が得られるとされている方法に従いシルク溶液を作製しても、 14×10^4 等との比較的小さな重量平均分子量が得られ、重量平均分子量がばらついたことから、引張強度及び伸度に影響が出ると考えられた⁵⁾。

本研究では、2022 年度研究⁵⁾に引続き作製手順中の条件を変更し、重量平均分子量を調べることで、ばらつきの原因を探った。

2 材料及び機器

2.1 材料及び試薬

生糸(平均織度 27 デニール)(須藤製糸(株))を材料に用いた。

塩化カルシウム(特級)(富士フィルム和光純薬(株))、エタノール(99.5%、特級)(富士フィルム和光純薬(株))、リン酸二水素ナトリウム(特級)(富士フィルム和光純薬(株))、リン酸水素二ナトリウム(特級)(富士フィルム和光純薬(株))、塩化ナトリウム(特級)(富士フィルム和光純薬(株))、硝酸銀(容量分析用)(片山化学工業(株))を試薬として用いた。

2.2 機器

高速液体クロマトグラフ LC-20A((株)島津製作所(以下、「HPLC」とする))、純水製造装置 Elix Essential UV3(Merck)、紫外可視分光光度計 UV-2450((株)島津製作所)、精密天秤 Cubis MCE125S-2S01-U(Sartorius)、定温乾燥器 DO-600FPA(アズワン(株))、定温乾燥器 STAC-S45M((株)島津理化)、マグネティックスターラー SS-5(東洋科学産業(株))を用いた。

3 方法

3.1 基本となる作製手順

3.1.1 生糸の溶解

モル比が 1:9.5:1.2 となるように、塩化カルシウムに純水、エタノールを順に加えて混合した。そこに浴比が 1:50 となるように生糸 1 g を入れ、約 2 分間室温で浸漬させた後、90 °C に設定した定温乾燥機で 4 時間

* 企画連携課 副主査

加熱することで生糸を溶解させた。加熱中は、生糸が溶け残ることのないよう振とうした。加熱後、紫外可視分光光度計で 600 nm の吸光度を測定し、透明であることをもって溶解を確認した。

3.1.2 溶解液の透析・濃縮

生糸を溶解した液を定量ろ紙 No.5A (アドバンテック東洋(株))でろ過後、透析膜(分画分子量 14,000) (富士フィルム和光純薬(株))に入れ、純水に漬けて透析した。透析外液の純水は攪拌し続け、透析終了までに 15 回以上交換した。透析の終了は分取した透析外液に 0.01 mol/L 硝酸銀水溶液を滴下して白濁しないこと確認し、白濁しなくなった後も 3 回以上透析外液を交換した。

透析終了後、液を入れたまま透析膜を吊るし、扇風機で風を当てながら風乾することで重量が約 25 % に減少するまで濃縮した。濃縮後の液を定量ろ紙 No.5A (アドバンテック東洋(株))でろ過し、溶けていない不純物等を除いてシルク溶液を得た。

3.1.3 分子量の測定

シルク溶液を孔径 0.45 μm のセルロースアセテートメンブレンフィルタ(アドバンテック東洋(株))でろ過したものを試料とし、HPLC で重量平均分子量を測定した。

HPLC での分析条件は表 1 のとおりとした。

3.2 作製手順の変更

3.1 の基本となる作製手順のうち、分子量がばらつく原因になるおそれのある部分を対象として以下(1)～(3)の作製手順の変更を行った。

- (1) 3.1.1 で一度に溶かす生糸の量を変更し、1 g と 4 g の 2 とおりで作製した。浴比は 1:50 から変えなかった。
- (2) 3.1.1 の生糸溶解時の、容器内の気相と液相の比率による容器内圧力やエタノールの揮発量の差の影響を調べるため、50ml、100 ml 及び 250 ml の 3 とおりの容量の容器で作製した。生糸の量はいずれも 1 g とした。

表 1 HPLC での分析条件

カラム	Asahipak GS-520 HQ (昭和電工(株))
ガードカラム	Asahipak GS-2G 7B (昭和電工(株))
検出器	紫外分光光度計 SPD-10Avi (測定波長 210 nm)
カラム温度	40 °C
移動相	50 mmol/L リン酸緩衝液 +0.3 mol/L NaCl(pH7)
流速	0.6 ml/min
検量線	5 種類のタンパク質の混合物 (MW-Marker(HPLC)(オリエンタル酵母工業(株)))で作成
計算ソフト	LC solution GPC

(3) 3.1.1 の振とうする頻度を変更し、溶解開始から 20 分後まで 4 分間毎に振とうして 30 分後から 4 時間後まで 30 分毎に振とうする方法、溶解開始から 4 時間後まで 30 分毎に振とうする方法及び振とうしない方法で溶解した。

(4) 3.1.1 で塩化カルシウムに純水を加えた後、速やかにエタノール及び生糸を加える方法と、溶解熱によって上昇した水温が室温に戻るまで待つてからエタノールを加える方法の 2 とおりで作製した。

4 結果と考察

4.1 結果

一度に溶かす生糸の量を 1 g と 4 g の 2 とおりで作製したところ、得られたシルク溶液の重量平均分子量は表 2 のとおりであり、いずれも既報¹⁾の結果にあった重量平均分子量約 20×10^4 と同程度となった。

生糸の溶解を 50 ml、100 ml、250 ml の 3 とおりの容量の容器で行ったところ、得られたシルク溶液の分子量は表 3 のとおりであり、いずれも既報¹⁾の結果にあった重量平均分子量より大幅に低い値となった。

振とうする頻度を変更したところ、得られたシルク溶液の分子量は表 4 のとおりであり、いずれも既報¹⁾の結果にあった重量平均分子量より大幅に低い値となった。

塩化カルシウムに純水を加えた後、溶解熱を放熱

してからエタノールを加えたところ、得られたシルク溶液の重量平均分子量は、表 5 のとおりであり、既報¹⁾の結果にあった重量平均分子量より大幅に低い値となった。

表 2 生糸の量による重量平均分子量

生糸の量	重量平均分子量
1 g	21×10^4
4 g	21×10^4

表 3 容器の容量による重量平均分子量

容器の容量	重量平均分子量			
50 ml	6.9×10^4	8.5×10^4	8.4×10^4	6.6×10^4
100 ml	7.6×10^4	9.2×10^4	11×10^4	9.0×10^4
250ml	7.5×10^4	10×10^4	11×10^4	9.2×10^4

表 4 振とう頻度による重量平均分子量

振とう方法	重量平均分子量
溶解開始から 20 分後まで 4 分間毎に振とうして、30 分後から 4 時間後まで 30 分毎に振とう	11×10^4
溶解開始から 4 時間後まで 30 分毎に振とう	10×10^4
振とうなし	9.2×10^4

表 5 溶解熱を放熱した場合の重量平均分子量

放熱条件	重量平均分子量
放熱作業なし	12×10^4
放熱作業あり	11×10^4

4.2 考察

一度に溶かす生糸の量を変更した実験では、変更の前後で重量平均分子量の値に影響を与えなかったため、生糸の量はシルク溶液の重量平均分子量のばらつきの原因とは考えにくい。

容器の容量を変更した実験では、2022 年度研究⁵⁾

でのばらつきと比べると重量平均分子量の変化は小さく、容器内圧力やエタノールの揮発量がシルク溶液の重量平均分子量のばらつきの原因とは考えにくい。なお、2022 年度研究⁵⁾で約 20×10^4 の重量平均分子量が得られていた、容量が 50 ml の場合でも低い値となったことから、既報¹⁾の結果より大幅に低い値となった原因とも考えにくい。

溶解時の振とう頻度を変更した実験では、2022 年度研究⁵⁾の際の振り混ぜ方と同様に溶解開始から 20 分後まで 4 分間毎に振とうし、30 分後から 4 時間後まで 30 分毎に振とうする方法としたものも含めて既報¹⁾の重量平均分子量の結果である約 20×10^4 より大幅に低い値となったことから、シルク溶液の重量平均分子量のばらつきの原因とは考えにくい。

塩化カルシウムの溶解熱を放熱した実験では、室温に戻るまで待ったものも低い分子量しか得られず同程度の値となったため、2022 年度研究⁵⁾で見られたシルク溶液の重量平均分子量のばらつきの原因とは考えにくい。

5 まとめ

シルク溶液の重量平均分子量がばらつく原因は、一度に溶かす生糸の量、容器内の気相と液相の比率による容器内圧力やエタノールの揮発量、振とう頻度及び塩化カルシウムの溶解熱の放熱条件のいずれでもないかと推察された。

容器サイズを変更する実験以降、低い分子量しか得られなくなったことから、溶解した生糸の性質が、一続きの糸であっても途中から変わったことが原因の恐れがある。

参考文献

- 1) 河本浩明ほか; シルクフィルムの機能性向上に関する研究(第 2 報),京都府織物・機械金属振興センター研究報告, No.53 (2019), pp.1-5
- 2) 河本浩明ほか; シルクフィルムの機能性向上に関する研究,京都府織物・機械金属振興センター研究報告, No.52 (2018), pp.1-5
- 3) 小林哲, 浅田聡; セリシンフィルムの物性に関する

る研究, 京都府織物指導所研究報告, No.33 (1999), pp.7-11

- 4) Kenjiro Y. et al; Influence of water content on the β -sheet formation, thermal stability, water removal, and mechanical properties of silk materials, *Biomacromolecules*, 17, 2016, pp.1057-1066
- 5) 鈴木卓也; シルクフィルム前駆体溶液の分子量の安定化に関する研究, 京都府織物・機械金属振興センター研究報告, No.57 (2023), pp.1-4