

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

鈴木 卓也*

生糸を溶かして作成したシルクフィルム前駆体溶液の分子量が、既報¹⁾と同じ方法で作成しても異なる値となることがあるため、その原因を調べた。分子量に影響を与えるおそれがあると考えられる作成方法の要素のうち、透析時間、濃縮速度及び加温方法を変えて分子量の変化を調べたところ、分子量は変わらなかったため、この3要素は分子量のばらつきに影響する要素ではないと推察された。

1 はじめに

絹(シルク)は、織物の材料としてだけでなく、多様なかたちでの素材としての活用が研究され、実用化されてきている。絹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、フィブロインあるいはセリシン又はその両者を薄いフィルム状にした素材(以下、「フィルム」とする)を作成¹⁾²⁾³⁾⁴⁾、性能向上のために他の物質を混合してその物性を測る研究も行われている¹⁾²⁾。

当センターの既報¹⁾では、生糸、つまりフィブロインとセリシンを分離していないものを溶かして液状にし、そこにセルロースナノファイバー等を混ぜたものからフィルムを作成し、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成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ため²⁾、物性が安定した製品とする上で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、当センターの既報¹⁾で約 20×10^4 の分子量が得られるとされている方法に従い作成しても、 14×10^4 になるなど、引張強度及び伸度に影響が出ると考えられる程度に重量平均分子量がばらつくことがあった。

本研究では、作成手順の中のいくつかの条件を変更し、重量平均分子量を調べることで、ばらつきの原因を探ることとした。

2 材料及び機器

2.1 材料及び試薬

生糸(平均繊度 27 デニール)(須藤製糸(株))、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))、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 基本となる作成手順

当センターの既報¹⁾の作成手順に従い、以下の3.1.1から3.1.3の手順でシルク溶液を作成した。

3.1.1 生糸の溶解

モル比 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。そこに生糸を

* 企画連携課 副主査

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約 4 時間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り混ぜた。加熱後、紫外可視分光光度計で 600 nm の吸光度を測定し、溶解を確認した¹⁾。

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、純水に漬けて約 3 日間透析した。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で確認し、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約 20 時間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、シルク溶液を得た。

3. 1. 3 分子量の測定

シルク溶液を煮沸水浴中で 1 分間加熱後、流水により約 40 °C まで冷却したものを孔径 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 シルク溶液の分子量のばらつき

当センターの既報¹⁾でシルク溶液の分子量が約 20×10^4 になるとされているところ、今回作成したシルク溶液の重量平均分子量は表 2 のようになった。

3. 3 作成手順の変更

3. 1 の基本となる作成手順のうち、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作成手順の変更を行った。変更内容は、以下(1)~(3)の変更を1つだけ適用した。

- (1) 3. 1. 2のうち、透析にかける時間を既報¹⁾の約 2 倍(134 時間)に変更した。
- (2) 3. 1. 2のうち、濃縮手順の風量を調整してゆるやかに風乾することし濃縮時間を既報¹⁾の約 5 倍(98 時間)に変更した。
- (3) 3. 1. 3のうち、煮沸水浴中での加熱をやめ、約 45 °C で維持するのみとした。

4 結果と考察

4. 1 結果

透析にかける時間を 134 時間と長くして得られたシルク溶液、濃縮時間を 98 時間と長くして得られたシルク溶液、HPLC にかける前の加熱方法を 45 °C で維持するのみに変更した場合のシルク溶液の重量平均分子量を測定したところ、表 3 から 5 のとおりとなった。これらは既報¹⁾の重量平均分子量と同程度だった。

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

表 2 分子量のばらつき

試料番号	重量平均分子量	試料番号	重量平均分子量
1	21×10^4	5	14×10^4
2	20×10^4	6	16×10^4
3	20×10^4	7	14×10^4
4	22×10^4	8	21×10^4

表 3 透析時間を変更した場合の重量平均分子量

透析時間	重量平均分子量
134 時間	21×10 ⁴
69 時間	22×10 ⁴

表 4 濃縮時間を変更した場合の重量平均分子量

濃縮時間	重量平均分子量
98 時間	21×10 ⁴
20 時間	20×10 ⁴

表 5 加温方法を変更した場合の重量平均分子量

加温方法	重量平均分子量
45 °Cで維持	20×10 ⁴
100 °C煮沸水浴後 流水で 40 °Cに急冷	21×10 ⁴

4.2 考察

作成手順の中で、シルク溶液の重量平均分子量に影響を与えるおそれのある要素は図 1 に示したものが考えられる。

重量平均分子量に影響を与えるおそれのある要

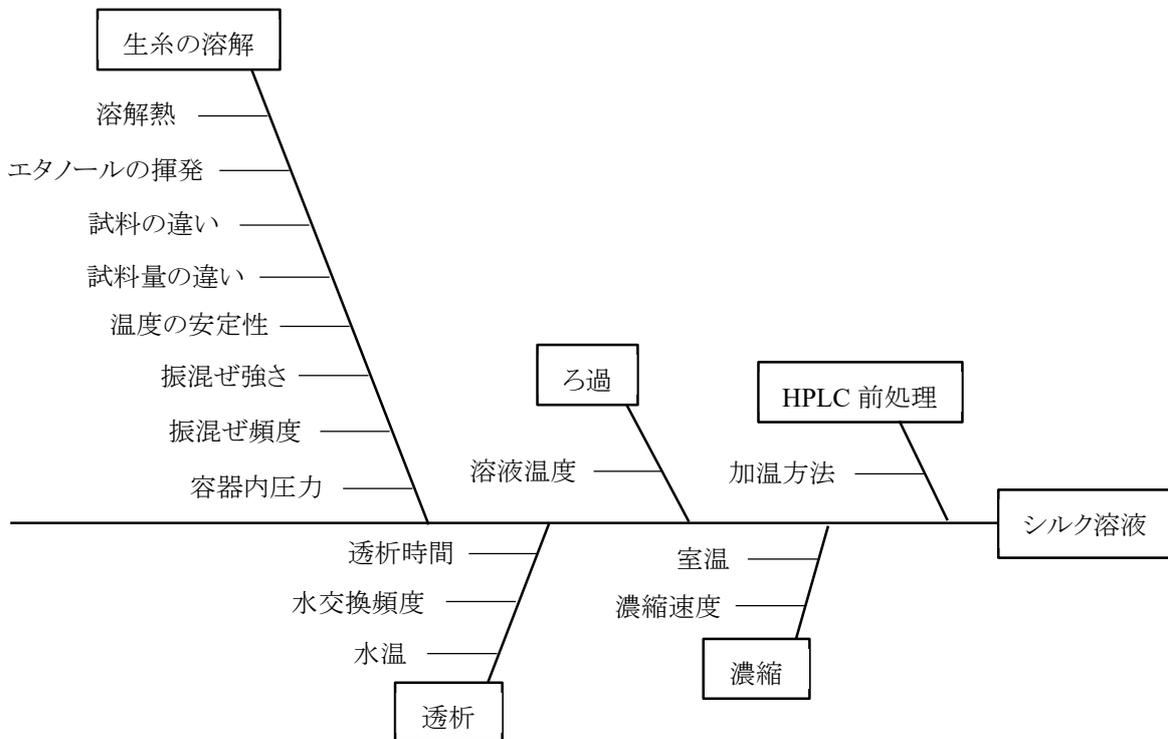


図 1 作成手順の中で、シルク溶液の重量平均分子量に影響を与えるおそれのある要素

素のうち 3 点について、条件を極端に変えることで実際に分子量が変化するか確認したところ、いずれも条件を変えなかった場合と同様の値となったため、これらはシルクフィルム前駆体溶液の分子量のばらつきの原因ではないと推察された。

5 まとめ

今回の研究では、シルクフィルム前駆体溶液の分子量がばらつく原因を調べるために、シルクフィルムの作成手順のうち、透析にかける時間、濃縮速度及び HPLC にかける前の加温方法を変更してシルクフィルム前駆体溶液を作成し、その分子量を測定したが、いずれも変更しなかった場合と同様の値となり、分子量のばらつきの原因ではないと推察された。

ばらつきの原因を特定するためには、生糸溶解時の温度の記録をとりその変動を調べる他、溶解熱の影響がない場合を調べるために生糸を入れる前に塩化カルシウム・水・エタノールの混合溶媒を冷ます工程を加える、振り混ぜる強さ及び頻度を大きく変える等により、他の分子量に影響を与えるおそれのある要素について調べる必要がある。

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研究, 京都府織物指導書研究報告, 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