(昭和43年8月26日受理)

絹フィブロインの延伸にともなう内部微細構造の変化*

信州大学繊維学部 平林 潔・石川 博
大阪大学蛋白質研究所 角戸 正夫CHANGES IN THE INTERNAL FINE STRUCTURE
OF SILK FIBROIN BY DRAWING

By Kiyoshi Hirabayashi**, Hiroshi Ishikawa** and Masao Kakudo***

(**Faculty of Textile Science and Technology, Shinshū University,
Ueda City, Nagano Prefecture, Japan)

(***)Institute of Protein Research, Ōsaka University, Jōan-cho, Kita-ku, Ōsaka, Japan)

Effects of drawing on the α - β transition and the formation of voids in Tussah silk fibroin were studied by means of X-ray diffraction at wide and small angles, polarizing microscopy, and electron microscopy.

1) It is found that the fibroin coagulated in silk gland has a morphology of small spherulitic particles (ca. 240 Å in radius) in which hydrophobic residues in the polypeptide are arranged in the inner part and the hydrophilic residues in the outer part. This structure is destroyed by the drawing of gel. The α -helix form of the molecule changes gradually into the extended β -form as the draw ratio increases; the β -component becomes predominant at the draw ratio higher than 6-8 times. However a small amount of α -conformation still remains even at the highest draw ratio 14. The crystallinity of the specimen (36% at the beginning) decreases at first but turns to increase, having a minimum at the draw ratio of 8. On the other hand, the birefringence increases slowly but monotonously as the draw ratio.

2) The mechanism of the void formation as well as the effects of drawing on their shapes was examined through use of microscopies and a small-angle X-ray method. It is considered that the formation of voids is caused by the emission of water which have been occluded in the gel. Such voids become smaller and longer by drawing the gel and align in the direction of the fiber axis, the ratio of the length to the width of the voids attaining two.

(Received August 26, 1968)

1. 緒 言

熟蚕期にいたると蚕は蛹体保護のため絹糸を吐出し数日にして繭殻を造成する。この紡糸機構に関しては絹フィブロイン溶液にずり応力を加えると繊維化するの、機械的変性作用により絹糸が形成されるものと考えられている¹⁾。

しかし絹糸腺内絹フィブロインがいかなる内部構造上の変化を受けながら繊維化するかは現在のところ明確な実験的根拠がない。

そこでわれわれは構造がかなり明らかにされている柞蚕フィブロイン²⁾を実験に供し延伸にともなう内部微細構造の変化を α - β 転移とボイドの形成に焦点をあて実験を行ない若干の知見を得たので報告する。

2. 実験試料および方法

2.1 実験試料

1966年夏長野県有明高原で飼育した柞蚕の熟蚕絹糸腺内フィブロインを用いた。まず吐糸を始めた頃を見計らって蚕体を解剖し、直ちに1%酢酸溶液に浸せきし所定の倍率に延伸した。最高延伸倍率は14倍であった。家蚕と異なり大変興味深い形態上の差違は家蚕凝固フィブロインは乾燥凝固させるると水に溶解しないが柞蚕凝固

* この報文を「絹フィブロインの微細構造に関する研究 (第10報)」「Studies on the fine structure of silk fibroin (Part 10)」とする。

フィブロインは水によく溶解し分散することである。分散する様子は肉眼で観察できる。

2.2 実験方法

2.2.1 顕微鏡による観察

柞蚕糸の表面構造および延伸にもなう断面の様子を検鏡した。表面構造は光学顕微鏡および電子顕微鏡で調べた。断面の様相は厚さ 24μ の切片とし光学顕微鏡で観察した。

2.2.2 錫増量

50% (比重=1.271) の $\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液を 60°C に保ち1時間絹糸を浸せきしたのち水洗、乾燥し錫増量を行なった、以後同様の処理を繰り返した。

2.2.3 示差熱分析

試料は粉末状とし円筒状石英セルに満し、理学電機製卓上型示差熱分析装置を用い、昇温速度 $5^\circ\text{C}/\text{min}$. chart speed $5\text{ mm}/\text{min}$. DTA 感度 1 mV で自記記録せしめた。

2.2.4 含水量

各試料を常温で室内に放置したのち、 105°C で2時間乾燥したのち秤量し含水量を求めた。

2.2.5 複屈折

ベッケ法により $n_{\parallel}$ 、 $n_{\perp}$ を求め $n_{\parallel}-n_{\perp}$ より複屈折を算出した。光源はナトリウムランプ、浸液はブチルステアレート・トリクレジルホスフェートの混合液を用いた。

2.2.6 結晶化度

理学電機製ガイガーフレックスを用い試料はできるだ

け粉末状にし試料板につめ 35 kV , 15 mA , Ni filter で洩光した $\text{Cu K}\alpha$ 線を用い干渉強度曲線を自記記録させた。非晶部分の散乱強度は非晶性フィブロインフィルムを用いた非晶質フィルムは製膜時 100°C で乾燥したものである。この非晶質フィルムの干渉強度および空気の散乱を差し引き面積比から結晶化度を算出した。

2.2.7 小角散乱像

理学電機製強力X線発生装置を用い 40 kVp . 80 mA . Ni で洩光した $\text{Cu K}\alpha$ 線を用い、写真法の場合は3時間撮影時間をかけた。

コリメーションは第1コリメーターと第2コリメーターは 0.5ϕ , 0.3ϕ のスリットを用い、カウンター法の場合は 0.5 , 0.3 とした。散乱スリットおよび受光スリットは 0.3 , 0.1 を用いた。

3. 結果および考察

3.1 絹糸の外観

絹糸を顕微鏡下で観察すると、柞蚕糸においては無数のたてじまが観察される。第1図(c)は倍率100の場合であり、第1図(b)は400の場合である。明らかに繊維軸方向に沿ってたてじまが存在する。これに反し第1図(a)のように家蚕糸の場合にはこのようなしま模様は見られない(電顕像では認められる)。第2図は柞蚕糸のレプリカ法による電顕像であるが、同様のたてじまが認められる。なお柞蚕糸を微細片とし水中に浸し観察するとしま模様のところが透明に見える。これは水の侵入を示すものである。

Fig. 1. Optical micrographs of silk fibers a : domestic silk ($\times 100$), b : Tussah silk ($\times 400$) c : Tussah silk ($\times 100$)

第3図 (a), (b), (c) はそれぞれ5倍, 12倍延伸テグスおよび単繊維の断面の顕微鏡写真である。延伸倍率の小さいものには大きい, 延伸倍率の大きいものには小さい空隙が観察される。鏡筒を上下すると空隙は消失し他の空隙が現われてくるので, 繊維軸方向にはそれほど長いものでないことがわかる。それゆえたてじまはフィブリルとフィブリルの境界線に相当するものと思われる。

Fig. 2. An electron micrograph of Tussah silk fiber ($\times 12000$)

Fig. 4. Tin weighting of silk fibers as a function of the treating time.

A ; Tussah silk B ; Domestic silk

3.2 錫 増 量

第4図は家蚕糸, 柞蚕糸に対する錫増量の結果であり横軸は処理回数を縦軸は増量率を表わしている。処理回数が増加につれほぼ直線的に増量される。坂口⁹⁾の研究によると塩化錫溶液は繊維の空隙に浸入し, 水洗, 乾燥すると凝縮し酸化錫として空隙内の一部に沈着する。ふたたび酸化錫溶液に浸すと繊維は膨潤し空隙に塩化錫溶液が浸入する。このようなことが処理ごとにおこなわれ, 繊維の空隙に沈着してゆくのである。このような錫増量のおこなわれることから絹糸におけるボイドの存在がうかがわれる。

3.3 含 水 量

第5図は延伸にともなう含水量の変化を示したものである。未延伸凝固フィブロインはわずかながら延伸糸にくらべ水分を吸着している。しかし延伸倍率を変えても

Fig. 3. Optical micrographs of cross sections of Tussah silk guts ($\times 400$)

Draw ratio : a ; $\times 5$, b ; $\times 12$, c ; fiber

Fig. 5. Relation between the water retention and the draw ratio.

Fig. 6. Thermograms for Tussah silk fibroin
A; silk gel, water 50% (w/w)
B; coagulated silk gut, water 30% (w/w)
C; silk fiber

含水量に変化のないことは延伸にともない実質的にはボイドの容積には変化を来さないと思われる。なお繊維形成時に繊維中に含まれた水がボイド形成の原因となることについては後で詳しくのべる。

3.4 凝固フィブロインの構造

柞蚕フィブロインの2次構造についてはそれが絹糸腺内にあるうちは α -helix構造をとり、静かに乾燥凝固すれば α -helix構造を含んだ状態で結晶化することを前報で報告した。それでは絹糸腺内で α -helix構造をとるフィブロイン分子が延伸によりいかなる挙動を示すかX線的に検討を行なった。

まず絹糸腺内凝固フィブロインの形態はそれが水にたやすく溶解することから疎水性の基を内側に親水性の基を外側に向け球状粒子として水分子にとりこまれ結晶化しているものと考えた。このことは小角散乱像からも

支持される。すなわち240 Åに相当する干渉環が凝固フィブロインに存在することである。X線による干渉は電子密度の疎密によりひき起すので240 Åの干渉環はフィブロイン分子を球状粒子と仮定すると粒子間の距離に相当する。絹糸腺内ではこれら粒子が規則的配列をしていないことはX線図が線幅の広い干渉環を示すことから明らかである。

3.5 延伸にともない α - β 転移

吐糸された繊維に存在する空隙は絹糸腺内液状絹の延伸とどのような関係にあるか考察する前に液状絹が延伸作用を受け内部構造上どのように変化するかを調べた。

まず蚕体を解剖し絹糸腺を蒸留水で洗い1%酢酸溶液に1分間浸せしき所定の長さ延伸したのちX線により結晶化度と α - β 転移を、ベッケ法により複屈折(配列度)を測定した。

第7図は延伸にともない干渉強度曲線を赤道線上に沿って自記記録させたものである。延伸倍率の増加につれ α 型から β 型へ転移する様子が明瞭に示されている。すなわち α 型に特有な7.4 Åと3.7 Åのピークは β 型に特有な5.30 Å, 4.30 Åに転移する。4倍延伸ではわずかに β 型への徴候が表われ6~8倍になると、 β -richになり延伸倍率の増加とともに β 化が進む。14倍に延伸してもなお α 型構造の残存が認められる。

さらにこれと並行して測定した結晶化度(第8図)は未延伸凝固フィブロインで36%である延伸にともない結晶化度は減少し、 α 型と β 型の混合比の逆転する6~8倍近辺で最少を示し以後増加の傾向をたどる。

これに反し複屈折(第9図)は延伸にともないじょじょに増加する。延伸倍率が8倍前後になっても結晶化度のように低下しないのは、複屈折が分子の配向に依存しているからと思われる。

3.6 延伸にともない小角散乱像の変化

未延伸凝固フィブロインの小角散乱X線図に表われる特徴は240 Åに相当する干渉環の存在である。広角X線図における強度最大の7.4 Åおよびbroadな3.7 Åの干渉が、poly-L-alanineの α 型結晶の粉末図形に一致すること²⁾、赤外2色性よりアミドIが 1650 cm^{-1} に平行色性を、アミドIIが 1535 cm^{-1} に垂直色性を示すこ

Fig. 7. X-ray diffraction intensity curves of Tussah silk guts drawn at various ratios.

Fig. 8. Effects of drawing on the crystallinity (determined by X-ray method) of Tussah silk gut.

と⁴⁾から未延伸凝固フィブロインにおいては、そのアミノ酸組成において約 50% のアラニン残基を含むこととあわせ考え、 α -helix 構造を持つ poly-L-alanine が含有されていることは明らかである (1 本の分子中に alanine 単位がかなり連続して結合している部分がある)。

小角散乱 X 線図において 240 Å の干渉環の存在は、絹

Fig. 9. Relation between the birefringence and draw ratio.

フィブロイン分子が水に分散することから疎水性の基を持つ α -poly-L-alanine を内側に、他の親水性の基をもつアミノ酸残基は外側に配位した球状粒子として存在しているものと推定される。このことは X 線散乱現象が物質を構成している原子の有する電子密度の差に由来することを考えると、球状粒子と粒子の間には当然電子密度の粗なる部分を想像することができる。

絹糸腺内において絹フィブロイン分子は膨潤した状態で球状構造をとり、水分子によって包含されている。(水は 70% を占める)これが前部糸腺に送りこまれると、フィブロイン分子は random な β 構造をとりながら吐糸部に向う。しかし配向の認められないことは生理的食塩水の中で蚕体を解剖し、絹糸腺内膜より流出するフィブロイン濃厚溶液をクロスニコル下で観察すると視野が暗黒になることから明らかである。配向現象の認められるのは吐糸部を過ぎてからである⁵⁾。このように水分を含んだ状態で吐糸された繊維は当然内蔵する水分を放出する。これがボイドの形成にあずかるのである。そこで延伸にともないこれらボイドがどのように変化するか液状絹より各種倍率のテグスを作製し検討した。

第 10 図に延伸比の異なる小角散乱像を示す。延伸倍率の増加につれ球状構造は破壊せられ、4 倍延伸テグスでは赤道線上にストリークが現われ始める。延伸倍率の増すにつれ広角側へ伸びる。それと同時に子午線上にも

Fig. 10. Small angle X-ray scattering patterns of Tussah silk guts drawn at various ratios.

Fig. 11. Small angle X-ray diffraction curves of original and drawn silkguts. Logarithms of the diffraction intensities are shown against the square of the angle.

同様の傾向が表われる。

種々延伸倍率を変えて測定したフィブロインの散乱強度の対数を散乱角の二乗に対しプロットしたものが第11図である。未延伸凝固フィブロインにおけるピークはブ

Fig. 12. Analysis of equatorial diffuse scattering of Tussah silkgut ($\times 13$)

ラック角より計算すると 240 Å に相当する。延伸倍率の増加につれ散乱強度は増加する。

第 12 図は 13 倍に延伸したテグスの強度分布曲線より Statton⁶⁾ がセルローズ繊維に適用した Fankuchen

Table 1. Distribution of void size in Tussah silk gut

draw ration	void size (A)	%
4	62	20
	194	80
8	42	43
	128	25
	267	32
13	33	70
	130	17
	257	18

Table 2. Length of microvoid

Extension ratio	Equator	Meridian	Ratio of Meridian to Equator
8	316 A	441 A	1.4
13	220 A	441 A	2.0

Fig. 13. Schematic illustration of low angle diffuse scattering of Tussah silk gut.

の方法により void の径を求めたものである。

この方法により void の径を求め比較したものが第 1 表である。延伸倍率の増加に伴ない void の径の小さいものの割合が多くなる。絹糸の形成過程より、はじめ水分を含み球状構造をとっていたフィブロイン分子は水分を放出するため空隙を生ずる。この含有する水は低配向の場合には内部から外部への発散はおそいが、高延伸されると、はじき出される速度もはやく、形成されたフィブリルも接近され易い。すなわち織度が小さくなれば、void も小さくなる。

つぎに延伸に伴ない void の形がどのように変化するかを赤道線上と子午線上のストリーク (第 13 図) の端を基準にして Bragg の法則から void を円柱状と仮定し軸比を算出した。(第 2 表) 8 倍に比し 13 倍では繊維軸方向にのびている。その時の軸比は 2 である。それ故 void はそれほど長いものではなく軸比より考え延伸は void の体積を一定とすれば表面積を最小にする方向に作用するものと思われる。W. M. Kaepfner⁷⁾ のビスコースレーヨンタイヤコードの voids に関する電子顕

微鏡的観察によると、繊維の横断面に見られる voids の形はほとんど楕円形を呈し、長軸は繊維軸方向に存在し、その軸比は 2~3 である。これは上記網の小角散乱像からの voids に関する考察とほぼ一致する結果を得ている。

4. ま と め

柞蚕絹糸腺内液状網を延伸することにより内部構造がどのように変化するかを、 α - β 転移と void の形成に焦点を合せ実験を行なった。

1. 未延伸凝固フィブロインはたやすく水に溶解することから、疎水性の基を内側に、親水性の基を外側に向け球状 (半径 240 Å) に水分子にとりかこまれて結晶化しているものと考え。液状網を延伸すると、 α -helix 構造をもつフィブロイン分子は β 型に転移し始め、6~8 倍に延伸すると β -rich になる。14 倍に延伸してもなお α 型構造の残存が認められる。

結晶化度は未延伸凝固フィブロインでは 36% であるが延伸倍率をあげると減少し 6~8 倍で最小値を示し、以後増加する。これに反し複屈折は延伸に伴い徐々に増加する。

2. フィブロインの延伸に伴う小角散乱像の変化を追跡すると、延伸により球状構造は破壊され、赤道線上にストリークが現われる。なお延伸するとストリークは広角側に伸び、それと同時に子午線上にも現われる。

ボイドを円柱状と仮定すると、延伸にともない void の径の小さいものの割合が増加し、軸比は 2 に近づく。

付記 本論文は 1968 年高分子年次大会で発表した。小角散乱像の解析に当り大阪大学工学部笠井暢民教授にご助言をいただいた、感謝の意を表します。なお終始ご指導をたまわっている愛知県立芸術大学教授呉祐吉博士にお礼申し上げます。

最後にマイクロームをかしていただき試料作成に当りご指導いただいた坂口育三教授にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 呉祐吉; 高分子夏期大学テキスト, 11, 276 (1963)
- 2) 近藤慶之, 平林 潔, 飯塚英策, 呉祐吉; 繊維誌, 23, 311 (1967)
- 3) 坂口育三; 博士論文 (九大), 141 (1968)
- 4) 宮沢辰雄; 化学と工業, 15, 137 (1962)
- 5) 石川 博, 平林 潔, 近田淳雄, 今井信昭; 第 18 回高分子学会年次大会, 講演要旨集, 399 (1969)
- 6) W. O. Statton; *J. Polymer Sci.*, 22, 385 (1956)
- 7) W. M. Kaepfner; *Textile Res. J.*, 38, 662 (1968)