(昭和 53 年 8 月 12 日受理)

絹フィブロインならびに水溶性蛋白質 の界面活性

滋賀県立短期大学工業部 清水 慶 昭
京都工芸繊維大学工学部 木 村 光 雄

SURFACE ACTIVITY OF SILK FIBROIN AND WATER-SOLUBLE PROTEINS

By Yoshiaki Shimizu* and Mitsuo Kimura**

* (Shiga Prefectural Junior College, Hikone City, Shiga
Prefecture, Japan)

** (Kyoto University of Industrial Arts and Textile Fibers,
Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto City, Japan)

Surface activity of silk fibroin and four water-soluble proteins was estimated quantitatively using polarography. Maxima which occur on current-voltage curve of reducible substances like oxygen can be suppressed by the addition of surface-active substances. Surface activity of proteins was estimated by the extent of the suppression of the oxygen maximum.

At the interface mercury-water, the proteins were more surface-active in 0.01M-KCl (pH6) than in 0.01M-(CH₃COOH+CH₃COONa) (pH4) and also at 40°C than at 30°C. The extent of the suppression of the oxygen maximum in 0.01M-KCl at 40°C increased in the following order:

egg albumin > serum albumin > hemoglobin > gelatin > silk fibroin

(Received August 12, 1978)

1. 緒 言

蛋白質が界面活性であることは、既によく知られていることであるが^{1,2)}、界面活性の度合を定量的に表わした報告は主として表面張力の測定によるものであり、例えば、蛋白質などの表面張力と表面粘性・泡沫寿命との関連づけ³⁾、蛋白質水溶液の π -A曲線(π : 表面圧, A: 蛋白質の占める面積)の測定から三次構造の推定^{4,5)}、分子量の決定⁶⁾などがなされている。

ポーログラムには試料の種類や電解条件によって、しばしば極大波が現われるが、これは通常の分析には障害となるので、界面活性物質を添加することにより、極大波を抑制している。そこで著者らは、蛋白質の極大波抑制効果を利用してそれらの界面活性能を評価することを試みた。

本報では、絹フィブロインおよび4種の水溶性蛋白質についての測定結果について報告する。

2. 測 定

2.1 原 理

空気中で調製した電解液中には、通常5~7ppmの酸素が溶存しており、この酸素は電極において2段の還元波を示す。第一波のところに特徴的な極大波が現われるが、界面活性物質を加えることにより、これを抑制することができる。これは界面活性物質が水銀表面に吸着し、酸素の吸着を妨げるからであり、その効果は界面活性物質の吸着力が大きいほど大となる。抑制効果 i_m^0/i_m と界面活性物質濃度Cとの間には次式のような関係が認められており⁷⁾、勾配 k の値が大きいものほど、極大波抑制力が大きいことを示している。

$$\log i_m^0/i_m = k \cdot C + q \quad (1)$$

ここで、 i_m^0 は界面活性物質を加えないときの極大電流、 i_m は界面活性物質を加えたときの極大電流、 k は定数、 C は界面活性物質濃度、 q は実験条件で定まる定数である。

2.2 試料

蛋白質には絹フィブロイン（埼玉県産 20.5d 生糸を精練、練減率 28.9%）、SIGMA 社製卵アルブミン（GRADE V, No. A-5503）、牛血清アルブミン（No. A-4378）、和光純薬製ゼラチンおよびNBC 社製馬ヘモグロビン（Control No. 4152）を用いた。絹フィブロインは精練絹糸を、塩化カルシウム/水/エタノール（1/8/2、モル比）に溶解後、セルロースチューブ中で透析したものを、それ以外の蛋白質は市販品を室温で一ただし、ゼラチンは加温（60～70℃で5 min）して一再蒸留水に溶解したものを原液とした。

2.3 装置

用いた装置は柳本製交直両用ポーラログラフ P-8 型であり、滴下水銀電極特性は次の通りである：水銀柱 79 cm、再蒸留水（30±0.5℃）中、 $m^{2/3} t^{1/6} = 2.046 \text{ mg}^{2/3} \text{ s}^{-1/2}$ （ここで、 m は 1 秒間当りに流出してくる水銀の質量、 t は 1 滴の水銀の滴下時間である）。

2.4 実験方法

蛋白質原液をそれぞれ分取し、支持電解質溶液〔0.03 M-(CH₃COOH+CH₃COONa)、0.03 M-KCl〕10 ml と共に 30 ml に定容した。このように調製した電解液を、恒温槽に 1 hr 浸漬し、恒温（30℃または 40℃）にした後、ポーログラムを記録した。なお、電解液の pH は 0.01 M-(CH₃COOH+CH₃COONa) の場合 4.00、0.01 M-KCl の場合 6.09 であった。

3. 実験結果および考察

牛血清アルブミンの場合（pH 6、30℃）の $\log i_m^0/i_m \sim C$ の関係を図 1 に示した。

牛血清アルブミン濃度が低いときは、直線関係が成立するが、高濃度になると直線からのずれが見られた。この傾向は他の蛋白質においても同様であったので、低濃度における直線部分から、勾配 k を求めた。得られた k の値を表 1 に示した。

これらの結果から分るように、酸素極大波抑制力はいずれも、30℃の場合より、40℃の場合の方が大であった。これは 1 滴の水銀が落下する極めて短い時間（約 6 秒）の間においては、水銀表面に対する蛋白質分子の吸着量は、温度が高いほど多いからである。

また、いずれの蛋白質においても程度の差はあるが、それらの酸素極大波抑制力は pH 6 の場合の方が、pH 4

Fig. 1 Suppressing effect of the concentration of bovine serum albumin on the oxygen maximum in the presence of 0.01M-KCl (pH6) at 40°C.

Table 1 Suppressing effect of proteins on the oxygen maximum.

Protein	$k \text{ (l} \cdot \text{g}^{-1}\text{)}$			
	pH 4		pH 6	
	30℃	40℃	30℃	40℃
silk fibroin	30.0	40.7	34.8	52.0
egg albumin	33.8	87.5	169	262
serum albumin	5.34	15.1	66.8	146
gelatin	46.0	49.7	70.9	91.5
hemoglobin	3.27	14.1	69.4	125

の場合より大であった。これについては次のように推定される。すなわち、一般に、その溶液の電気毛管極大電位 E_m より高い電位ではアニオンが、低い電位ではカチオンが水銀に吸着され易い⁸⁾。0.01 M-KCl 溶液の E_m は -0.485 V⁸⁾ であり、0.01 M-(CH₃COOH+CH₃COONa) 溶液の E_m もそれに近い値と考えられる。一方、酸素極大波の現われる電位は、0.01 M-KCl 溶液の場合、立上り電位 -0.03 V、ピーク電位 -0.38 V であり、0.01 M-(CH₃COOH+CH₃COONa) 溶液の場合、立上り電位 +0.10 V、ピーク電位 -0.54 V である。ところで、本実験で用いた蛋白質の等電点は、pH 4.5～5.0 にあるから⁹⁾、pH 6 においては分子全体として負電荷を帯びている。これに対して、pH 4 は等電点より若干低い pH であるから、蛋白質分子は正に帯電していると考えられる。したがって、pH 6 の場合の方が、pH 4 の場合より蛋白質は水銀に吸着され易い。また、極大波ピークの現われる電位が、0.01 M-KCl 溶液では E_m より明らかに高いのに

対し, 0.01 M-($\text{CH}_3\text{COOH}+\text{CH}_3\text{COONa}$) 溶液のそれは E_m の近傍にある。これらのことから, pH6 の場合の酸素極大波抑制力が, pH4 の場合より大となったものと考えられる。

pH6, 40℃において, k の値の大きい順は

卵アルブミン>牛血清アルブミン>ヘモグロビン>
ゼラチン>絹フィブロイン

であり, 水溶液中においては, 球状蛋白質の方が絹フィブロインのような線状蛋白質より界面活性であると考えられる。しかしながら, 球状蛋白質間の界面活性の違いについては, それらの構造が複雑であり, また, 水銀に対する吸着に関与する力として, 静電的な作用のみならず, 他の効果(疎水性効果など)も考慮しなければならないなどの理由で説明が困難であり, 今後の検討が必要である*。

付記: 本研究に対し, 適切な御助言をいただいた大阪大工学部池田修, 京大農学部垣内隆, 滋賀県立短大並河亮介の各先生方に対し, 深甚の謝意を表する。また, 本研究の一部は昭和52年6月16日第19回染色化学討論会(東京)において発表したものである。

文 献

- 1) 小野宗三郎, 高木正之助; 「有機ポーラログラフ分析」, 共立出版, p.94 (1967)
- 2) 真鍋 敬, 奥山典生; 油化学, **26**, 578 (1977)
- 3) 佐々木垣孝; 工化, **58**, 809 (1955)
- 4) H. B. Bull; *Advanc. Protein Chem.*, **3**, 95 (1948)
- 5) C. W. N. Cumper and A. E. Alexander; *Trans. Faraday Soc.*, **46**, 235 (1950)
- 6) D. F. Cheeseman and J. T. Davies; *Advanc. Protein Chem.*, **9**, 439 (1954)
- 7) 武者宗一郎; 「ポーラログラフィー」, 東京化学同人, p.93 (1966)
- 8) 玉虫伶太; 「電気化学」, 東京化学同人, p.161 (1975)
- 9) 小竹無二雄; 「大有機化学 21 天然高分子化合物 III」, 朝倉書店, p.67 (1965)
- 10) 垣内 隆, 千田 貢; 第23回ポーラログラフィーおよび電気分析討論会要旨集, p.23 (1977)
- 11) 池田 修, 小郷克幸, 田村英雄; *ibid.*, p.23 (1977)
- 12) 沢本博道; *ibid.*, p.25 (1977)
- 13) H. Sawamoto; *Bull. Chem. Soc. Japan*, **43**, 2096 (1970)

* アミノ酸などの簡単な有機化合物については, 吸着のメカニズムがしだいに明らかにされつつある^{10~13)}。