

***Bacillus licheniformis* 蛋白質 分解 酵素에 의한 精練 絹絲의 特性**
I. 精練 絹絲의 理化學的 特性

金榮大 · 南重熙*

農村振興廳 蠶業試驗場, *서울大學校 農業生命科學大學

**Physicochemical Characteristics of Silk Fibroin Degummed by
Protease in *Bacillus licheniformis***

I. Physicochemical Characteristics of Degummed Silk Fiber

Yung Dae Kim and Joong Hee Nahm*

Sericultural Experiment Station, RDA, Suwon, Korea

*College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Suwon, Korea

Abstract

In this thesis, both soap and enzymatic degumming method were adopted and the optimum degumming conditions were obtained. Difference between the two degumming methods in silk fiber state was investigated and analyzed on the basis of the results of physical testings, polarizing microscopy, scanning electron microscopy, viscosity measurement, ($\alpha+\epsilon$) amino group contents measurement, birefringence measurement, amino acid analysis, thermal analysis, infrared spectroscopy and x-ray diffraction analysis.

The results obtained were summarized as follows:

Physical test results of the degummed silk fiber showed that the tenacity and the elongation of enzymatic degummed silk fiber were lower than those of soap degummed fiber. But SEM observation and amino acid analysis showed almost the same tendency in the two degumming methods.

The viscosity of enzymatic degummed silk fiber was lower than that of soap degummed fiber, but ($\alpha+\epsilon$) amino group contents was higher in the enzymatic degummed fiber. It can be suggested that the enzymatic degummed silk fibroin was more degraded than the soap degummed fibroin.

The birefringence, endothermic temperature of DSC spectrum, IR crystallinity and X-ray lateral order factor of enzymatic degummed silk fiber were higher than those of soap degummed fiber. It seems that the enzymatic degummed silk fiber has the higher crystallinity than that of soap degummed one according to the above results.

However, it can be inferred that these differences between soap and enzymatic degummed fiber would be lessened if pretreatment and aftertreatment were included in the enzymatic degumming process.

Keywords : Silk fiber, silk fibroin, silk degumming, crystallinity of silk

緒 論

絹纖維의 主成分은 피브로인 외에 피브로인을 들

러싸고 있는 20~30%의 세리신과 其他 不純物을 포함하고 있기 때문에 生絲는 촉감이 딱딱하고 光澤도 떨어지는 등 絹 본래의 장점이 감추어져 있으므로 絹

特有的 觸感과 光澤을 發揮할 수 있도록 세리신과 不純物을 제거하는 과정을 精練이라고 하며 精練은 실의 收量과 관계가 있을 뿐만 아니라 練斑, 強伸度, 光澤, 觸感 및 染色 等の 품질에도 중요한 관계를 가지고 있다.

精練 方法을 精練 藥劑에 의하여 大別해 보면 藥品과 熱에 의하여 세리신의 溶解 作用을 利用하는 방법과 蛋白質 分解 酵素의 分解 作用을 利用하는 방법으로 크게 나눌 수 있다.

첫째로 藥品과 熱을 利用하는 방법은 오래 전부터 사용되어 오는 방법으로서 藥品으로는 marseilles 비누, sodium carbonate, sodium silicate, sodium bicarbonate, sodium tripolyphosphate 등의 알칼리성 物質과 고급 alcohol 系의 陰이온 界面 活性劑, ether 型 非이온 界面 活性劑 等이 이용되고 피브로인 섬유와 그 外皮의 세리신 단백질과의 알칼리에 대한 溶解度 差異를 이용해서 高溫(高壓) 短時間 處理를 하고 있다. 이 精練法은 조작이 비교적 간단하고 비용이 적게 들며 촉감이 부드러운 絹絲가 얻어지는 잇점이 있지만, 純 蛋白質인 絹纖維는 精練 過程에서 피브로인이 分解되거나 變性を 초래하여 品質의 損傷을 입게 될 뿐만 아니라 처리가 약하면 세리신은 불균일 하게 殘留해서 染色斑을 생기게 하고 과도한 처리에서는 피브로인 纖維를 損傷한다(松本 · 中條 1973). 또 비누는 絹에 대한 吸着이 강하기 때문에 水洗만으로 잘 떨어지지 않아 絹纖維 中에 殘留한 비누는 染斑, 黃變, 脆化 等の 원인이 된다고 한다(加藤 1988).

둘째로 酵素를 이용하는 酵素 精練은 溫和한 조건에서 精練을 하기 때문에 精練 過程에서 피브로인의 損傷을 방지할 수 있는 방법으로 알려져 있다. 이 방법에는 菌類가 生産하는 酵素를 이용하는 醱酵 精練과 酵素를 抽出해서 이용하는 酵素 精練이 있다. 蛋白質 分解 酵素(protease)는 蛋白質이나 peptide에 작용해서 peptide의 結合部의 加水分解를 일으키는 작용을 가지고 있지만 絹이나 羊毛 等の 結晶性이 높은 纖維狀 蛋白質에는 거의 작용하지 않고 세리신 등의 非結晶性의 球狀 蛋白質에 작용하여 이것을 低分子化하고 물에 대한 溶解度를 증가시키므로 비누 또는 알칼리성 鹽 等に 의한 精練 효과를 내는 성질을 가지고 있다(皆川 1981). 酵素 精練 過程은 精練 效率을 높이고 酵素 作用이 쉽도록 세리신을 膨潤 軟化시키는 前處理 과정과 세리신을 分解 除去하는 酵素 處理 과정, 均一한 精練을 하기 위한 後處理 과정으로 되어 있다(加藤 1988). 한편 酵素 精練은 低溫과 中性에 가까운 溶液(pH 6~8)에서 처리가 가능함으로

纖維의 損傷 및 精練斑이 생기지 않는 完璧한 操作으로 絹製品의 품질 향상을 위한 중요한 수단의 하나가 될 것으로 기대 된다고 하였으며(平塚 · 皆川 1962), 酵素 精練은 비누 소오다 精練에 비하여 精練 廢水의 再 利用이 가능하여 環境 汚染 防止 側面과 省 에너지 측면에서 유리하다.

酵素 精練에 관한 研究로 天然 蛋白質 分解 酵素인 papain과 trypsin에 대한 研究 報告는 많이 있으나 生産量이 制限되어 있고 高價인 관계로 많은 연구에도 불구하고 특수한 용도의 絹織物 이외에는 거의 실용화되지 못하였다(皆川 1981; 加藤 1988).

細菌性 酵素 精練의 실용화 연구로 平塚 · 皆川(1962)은 세균 20여 株 中에서 4株를 選拔하여 배지에서 배양한 細菌 protease에 의한 精練 條件, 精練 效果와 精練 絹絲의 表面 觀察과 精練에 따른 脆化 等に 대하여 보고하였다. 土屋 · 渡邊(1964)은 絹紡 工場의 醱酵液 등에서 細菌을 분리하여 실험한 결과 細菌性 酵素에 의한 精練은 低溫菌이 生産하는 酵素에 의해 絹質을 損傷하는 일이 있고 精練 시간도 많이 걸리기 때문에 高溫菌이 生産하는 酵素로서 행하는 것이 좋다고 하였다. 그 후 細菌性 蛋白質 分解 酵素의 多量 生産이 가능하게 됨에 따라 中條(1975, 1977)는 일본에서 시판되고 있는 酵素 精練劑에 대하여 첨가 약제의 영향, 精練의 정도, 수질과의 관계, 精練 絹絲의 물성 등과 habutae 精練에 있어서 精練 처리법의 간소화, 精練 絹布의 物性 등에 대하여 보고하였고, 小松(1978)은 絹과 acetate 交織 生織物의 精練에 알칼리를 이용하면 acetate 絲가 비누화되어 본래의 光澤을 잃어 버리기 때문에 acetate 絲와의 交織物에 대하여 蛋白質 分解 酵素인 protease A-120을 利用한 精練 조건을 보고하였다. 皆川(1981)은 各種 protease의 基質 特異性이 精練 效果에 미치는 영향에 대하여 보고하였는데 사용한 각종 protease 간에는 세리신에 대한 酵素 작용에 차이가 있는데 絹 精練에 적당한 protease는 여러 종류의 peptide 결합을 無差別하게 또 強力하게 加水分解하는 基質 特異性이 넓은 酵素가 필요하다고 하였다. 또 李等(1986a, b, 1987)은 生絲와 絹織物에 대한 細菌性 蛋白質 分解 酵素의 精練 條件과 精練 效率에 관한 研究에서 精練 效率과 酵素 精練 絹織物에 대한 物性에 대하여 보고와 酵素 精練의 경우 粗練 程度에 따른 絹織物의 物性을 보고하였는데 酵素 精練은 精練 效果가 優秀하고 絹織物의 品質도 양호할 뿐만 아니라 酵素 精練은 價格도 비교적 低廉하다고 하였다. 본 실험에서 사용한 *Bacillus licheniformis*로부터 분리한 細菌性 蛋白質 分解 酵素는 serine type의 protease인데 觸媒

殘基로서 serine, histidine, aspartic acid에 관여하는 酵素이고 diisopropyl phosphorofluoridate 및 類似의 유기 인산 化合物을 가하면 serine 잔기는 失活하는 特性을 가지고 있고 thiol基를 함유하는 시약이나 金屬毒의 영향을 받지 않으며 endopeptidase이므로 내부의 peptide 결합에 작용하여 結合을 分解하는 것으로 알려져 있다. 비누 精練과 酵素 精練이 絹絲의 물성에 미치는 영향을 精練 機構에서 볼 때 두 가지 점에서 차이가 있다고 생각할 수 있는데, 첫째는 비누와 酵素의 絹絲에 대한 직접적인 영향으로 비누 精練은 세리신의 解膠作用에 의하여 주로 精練되는데 비하여 酵素 精練은 polypeptide의 절단에 의하여 精練이 행하여 진다는 점이며, 둘째는 간접적인 영향으로 비누 精練은 고온(98°C 이상)에서 처리하는데 비하여 酵素 精練은 비교적 溫和한 온도(55°C)에서 처리함으로써 처리 온도가 絹絲에 미치는 영향이 차이가 있을 것으로 생각할 수 있으나 이에 대한 상세한 보고가 없으므로 酵素 精練 絹絲의 理化學的 性質을 비누 精練 絹絲와 비교 검토하였다.

材料 및 方法

1. 實驗 材料

電子 顯微鏡 觀察用 試料과 屈折率 測定用 試料로 一粒 線絲 繭絲을 이용한 것을 제외하고는 21 denier 200回 纖維絲를 이용하였다. 供試 藥劑는 비누 精練用으로는 marseilles 비누를 사용하였고 酵素 精練用으로는 *Bacillus licheniformis*로부터 分離한 蛋白質 分解 酵素로서 市販品인 Alcalase 2.5 L (serine type)의 endoproteinase로서 주성분은 *subtilisin carlsberg*이고 activity는 2.5 μ g/g과 浸透劑로는 polyethyleneoxide 系 비이온 界面 活性劑인 Monopol NX(東南 合成(株))을 사용하였으며 그 외 試藥은 特級을 사용하였다.

2. 精練 方法

비누 精練은 繭層 無水量에 대하여 浴比 1:50, marseilles 비누 0.5% 溶液, 溫度는 沸騰點에서 30分間 精練한 後에 脫水하고 다시 1回 精練한 뒤에 sodium carbonate 0.06%와 0.04%의 溫湯中에서 各各 1回씩과 蒸溜水에서 여러번 水洗하여 脫水 風乾하였다. 酵素 精練은 練減率이 비누 精練과 같게 되도록 精練 條件을 設定하였는데 精練 浴比를 1:50으로 하였고 sodium bicarbonate 1g/l, Monopol NX(東南 合成, 비이온 活性劑) 1ml/l와 蛋白質 分解 酵素 1ml/l의 混合浴에서 減壓 滲透機를 이용하여 용액을 흡수시킨 다음 55°C에서 100분 동안 精練한 뒤 여러번

水洗하여 風乾하였다.

3. 피브로인의 精製

精練해서 얻은 피브로인은 wax 등 不純物을 제거하기 위하여 soxhlet 裝置을 이용하여 diethylether에서 24 시간, ethanol에서 48 시간 각각 처리하여 精製하였다.

4. 分析 方法

精練 絹絲의 強伸度는 serigraph(試料 길이 10 cm, 引張 速度 15 cm/min)로 調査하였고, Young 率의 測定은 引張 強度 試驗機(DY-21B, Adamel Lhomargy, 試料길이 10 cm, 引張 速度 10 cm/min)로 각각 標準 溫濕度室에서 조사하였으며 Young 率은 伸張 變化에 대한 荷重 變化의 最大點에서 初期 引張 抵抗力을 구하고 여기에 纖維의 比重을 곱하여 계산하였다.

電子顯微鏡 觀察은 一粒 線絲한 繭絲를 精練하여 試料臺 위에 놓고 ion coater로 gold coating한 다음 絹絲의 表面을 走査 電子 顯微鏡(Hitachi S-570)으로 觀察하였다.

粘度은 飽和 lithium bromide 10 ml에 fibroin 0.2 g을 60°C에서 30 分間 處理한 다음 glycerin 5 ml와 蒸溜水 5 ml를 添加하여 60°C에서 흔들어 주면서 3 時間 反應시켰다. 粘度 測定은 20°C의 精密 恒溫 水槽에서 Cannon-fensks 粘度計에 試料을 넣고 25분 후에 측정하였고 粘度의 계산은 다음과 같이 하였다.

specific viscosity η_{sp} =

$$\frac{\text{試料의 通過時間} - \text{blank의 通過時間}}{\text{Blank의 通過 時間}}$$

viscosity η =

$$\frac{\eta_{sp}}{1 + 0.5 \times \eta_{sp}}$$

($\alpha + \epsilon$) amino group의 측정은 Knott & Rossbach (1980)와 Knott et al.(1983)의 방법에 따라 다음과 같이 하였다.

分析液 調劑 pyridine-water(10-90, v/v)
isopropanol-water(10-90, v/v)
ethanol-water(50-50, v/v)
ninhydrin solution ;
sodium propionate 20.18g
propionic acid 9.3 ml
methyl cellosolve 50 ml
ninhydrin 2g

分析方法으로는 20 mg의 試料에 isopropanol-water 1 ml, pyridine-water 1 ml와 ninhydrin solution 2 ml을 넣은 뒤 뚜껑을 막고 60분 동안 끓인 다음 ethanol-water 溶液을 20 ml 添加한 뒤 약 15분 동안 식힌다. 이 溶液에 蒸溜水를 加해 100 ml로 한 뒤 UV/VIS spectrophotometer (Stasar-III)로 570 nm에서 optical density(O.D.)을 측정하였다. 이때 blank는 絹 fibroin을 넣지 않은 것으로 하였고 standard reference로는 ϵ -aminocaproic acid을 사용하였으며 fibroin의 amino group 함량은 아래와 같이 계산하였다.

$\text{NH}_2(\mu\text{mole/g}) =$

$$\frac{\text{qt. of } \epsilon\text{-aminocaproic acid}}{\text{Mass of dried fibroin}} \times \frac{\text{O.D. of fibroin}}{\text{O.D. of standard solution}}$$

複屈折率은 絹絲을 Labolux(Leitz 12 pol)에서 negative와 positive 角度를 구하고 두 각도를 합한 값에 compensator constant을 더하여 간이표에서 phase difference를 구하였다. 또 複屈折은 phase difference를 絹絲의 두께(nm)로 나눈값으로 산출하였는데 여기서 絹絲의 두께는 편의상 다음과 같이 하였다(崔等 1986). 즉 $R=14\sqrt{D}$, 여기서 R은 絹絲의 지름(μm), D은 絹絲의 纖度(d)이다.

아미노산 분석은 試料를 6N HCl, 110°C에서 處理한 후 眞空 pump로 HCl을 除去한 다음 自動 아미노酸 分析機(Hitachi 835)로 분석하였다.

熱 分析은 精練 絹絲를 가위로 짧게 자른 뒤 示差 走査 熱量 分析器(DSC-4, Perkin-Elmer)로 분석하였다. 測定條件은 질소 gas 분위기에서 昇溫 速度 10 °C/min로 하였다.

IR spectrum 分析은 精練 絹絲를 짧게 자른 다음 KBr法에 의하여 赤外線 分光 光度計(FT-IR, Hitachi 270-50형)로 1800~800 cm^{-1} 의 범위에서 IR spectrum을 얻었고 IR crystallinity는 Bhat *et al.*(1980)의 방법에 의하여 D1265/D1235 band을 比較하여 算出하였다.

X-ray 回折 分析은 精練 絹絲를 가위로 짧게 잘라서 x-ray diffractometer (Rigaku, RTP 300 RC)으로 30 kV 20 mA, Cu-K radiation에서 回折角度 $2\theta=4\sim 35$

°에서 測定한 다음 lateral order factor는 Manjunath *et al.*(1973)의 방법에 의하여 산출하였다.

結果 및 考察

1. 精練 絹絲의 物性

精練 絹絲의 物성을 보면 표 1과 같으며 練減率은 비누 精練 絹絲는 21.3%, 酵素 精練 絹絲는 21.4%로서 비슷하였다. 한편 強力은 비누 精練 絹絲는 3.84 g/d, 酵素 精練 絹絲는 3.76 g/d이었고, 伸度는 비누 精練 絹絲는 18.0%, 酵素 精練 絹絲는 17.2%이었으며, Young's modulus는 비누 精練 絹絲는 522 kg/mm^2 , 酵素 精練 絹絲는 481 kg/mm^2 이었다. 李等(1986a)은 Alcalase 酵素 精練 絹絲의 強伸度를 비누 精練 絹絲와 比較하면 精練 시간 1 시간에서는 큰 차이가 없으나 精練 시간이 길어 질수록 酵素 精練 絹絲가 비누 精練 絹絲에 비하여 強伸度の 低下 정도가 적은데 酵素 精練은 저온(55°C) 및 약 알카리 浴에서 행하여지므로 고온(95°C) 및 알카리 浴에서 행하여지는 비누 精練에 비하여 精練 과정중 絹纖維質에 損傷을 적게 주는 것으로 추측하였다. 그러나 본 시험 결과 強力과 伸度는 통계적인 유의차는 없었으나 酵素 精練 絹絲가 비누 精練 絹絲보다 약간 감소하였는데, 위의 실험 결과는 酵素 濃度 0.6 g/l에서 60분간 처리와 精練 前後 처리를 한 반면, 본 실험에서는 精練 前後 처리 없이 1.0 ml/l에서 100분간 처리로 精練 조건이 상이 한데서 기인한 것으로 생각되며, 이와 같이 효소 정련에서 強伸도가 감소하고 Young's modulus가 낮은 값을 갖는 원인은 본 실험에서 사용된 protease는 강한 endopeptidase力을 가지고 있으므로 精練 과정중 피브로인도 어느 정도 손상을 받은 것으로 생각된다(皆川 1981).

2. 電子 顯微鏡 觀察

精練 絹絲의 表面을 走査 電子 顯微鏡으로 관찰한 결과를 그림 1과 그림 2에 제시하였다. 비누 精練 絹絲는 纖維 길이 방향으로 작은 골이 보일 뿐 깨끗 하였으나(그림 1), 酵素 精練한 絹絲는 不純物이 纖維

Table 1. Tenacity, elongation and Young's modulus of degummed silk fibroin fiber

Degumming method	Degumming degree(%)	Tenacity(gf/d)	Elongation(%)	Young's modulus(kgf/mm ²)
Soap degumming	21.3	3.84(0.16)	18.0(1.53)	522(50.9)
Enzymatic degumming	21.4	3.76(0.16)	17.5(1.32)	481(51.5)
L.S.D.* at 0.05		N.S.**	N.S.	N.S.

(); standard deviation, *least significant difference, **non-significant

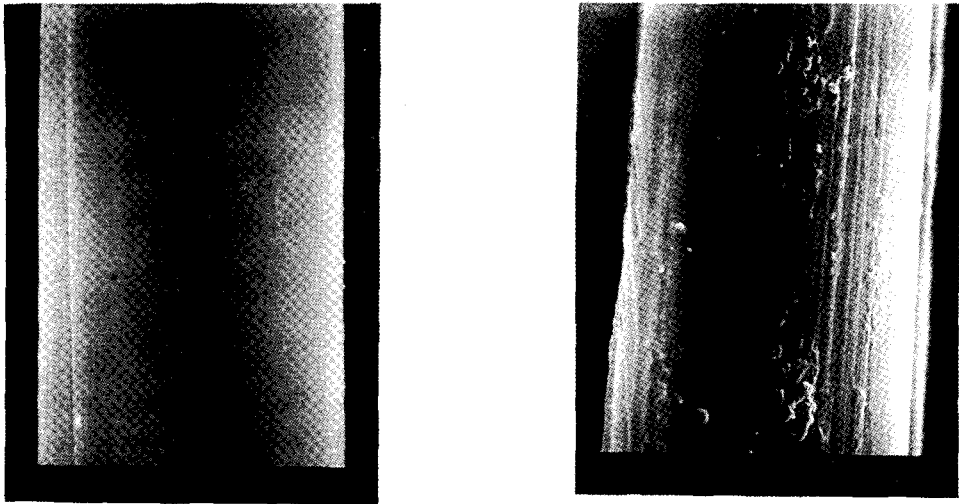


Fig. 1. Scanning electron microscopic feature of silk fiber degummed by soap.

表面에 부착되어 있었으며(그림 2(a)), 酵素精練 絹絲을 diethylether에 24 시간, ethanol에 48 시간 각각 精製함으로써 不純物이 없어지고 깨끗하게 되었으므로(그림 2(b)), 이 찌거기는 세리신 일부와 wax 物質 등 인 것으로 推定되며 비누精練은 세리신 뿐만 아니라 비누 자체가 洗淨力이 있기 때문에 不純物도 제거되는 것이라고 생각된다. 따라서 酵素精練은 酵素精練만으로 精練을 끝내기 보다는 後處理를 병행하여야 할 것으로 생각된다. 皆川(1959)은 細菌酵素로 精練한 피브로인 纖維의 표면은 직경 약 400~500 Å의 fibril이 螺旋狀으로 서로 꼬여서 細波狀의 凹凸을 이루어 纖維의 길이 방향으로 배열한 구조와 纖維의 길이 방향으로 주행한 條線(crack)을 가진 구조가 있다고 하였다. Lee et al.(1987)은 精練藥劑別로 精練한 絹絲의 表面構造는 큰 差異가 없으나 異常部位가 여러곳 觀察되었으며 비누精練 絹絲가 가장 깨끗하다고 하였다. 즉 酵素精練은 비누精練에 비하여 纖維表面에 불순물이 소량 존재하는 것으로 사료된다.

3. 精練 絹絲의 粘度

精練 絹絲의 粘度를 精練 絹絲을 精製하여 측정된 결과 표 2 와 같이 비누精練 絹絲의 粘度는 0.59이었고 酵素精練 絹絲는 0.56이었다.

Knott et al.(1983)은 精練 絹絲와 絹織物에 대한 粘度 측정 결과 비누精練 絹織物은 0.57이었으나 120 °C로 1 시간 精練하면 0.47로 감소하는데 이와같은

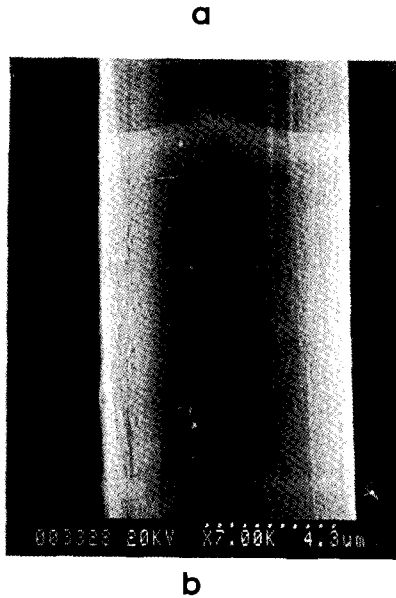


Fig. 2. SEM micrographs of silk fiber degummed by enzyme (a) and purified with diethylether and ethanol (b).

원인은 絹 피브로인의 degradation에 기인한다고 하였으며, 粘度와 $(\alpha+\epsilon)$ amino group content와는 밀접한 관계가 있는데 粘度가 적어 질수록 $(\alpha+\epsilon)$ amino group content는 높아진다고 하였다. Lee et al.(1987)은 精練 絹織物에 대하여 粘度를 측정된 결과 비누精練 견직물의 粘度는 0.66이었고 界面活性劑에 의한 精練 絹織物은 0.44~0.48이었는데 粘度와 $(\alpha+\epsilon)$ amino group content와는 否의 相關이 있고 粘度는 分子量과 關係가 있는데 degradation된 蛋白質에서는

Table 2. Viscosity, ($\alpha + \epsilon$) amino group content and birefringence of degummed silk fibroin fiber

Degumming method	Viscosity	($\alpha + \epsilon$) amino group content* ($\mu\text{mol/g}$)	Birefringence
Soap degumming	0.59	49.5	0.033
Enzymatic degumming	0.56	53.6	0.036

*Total amino group content of fibroin was 19.1×10^{-5} eq/g(Kato 1988)

粘度가 낮은 傾向이라고 하였다. 본 실험에서 酵素精練 絹絲가 비누 精練 絹絲보다 粘度가 약간 낮게 나타났는데 이것은 酵素精練 絹絲의 경우 精練 조건의 차이에 의해서 degradation이 일어 남으로써 粘度가 약간 낮은 값을 보였으며 다음에 관찰할 ($\alpha + \epsilon$) amino group content가 酵素精練의 경우 높은 값을 나타내 주는것이 이를 뒷받침하여 준다고 할수 있다.

4. ($\alpha + \epsilon$) amino group content

精製한 精練 絹絲로 ($\alpha + \epsilon$) amino group content을 측정한 결과는 표 2와 같으며 비누 精練 絹絲의 경우는 $49.5 \mu\text{mol/g}$, 酵素精練 絹絲는 $53.6 \mu\text{mol/g}$ 이었다. Knott *et al.*(1983)은 ninhydrin과 아미노산과의 반응에서 Ruhmann purple로 알려진 blue water-soluble compound가 합성되는데 絹 피브로인과 ninhydrin과의 反應 機構을 아미노산 분석으로 확인한 결과 ninhydrin은 lysine과는 ($\alpha + \epsilon$) amino group 모두 반응하나 arginine은 primary amino group만 작용한다고 하였다. 한편 Knott *et al.*(1980, 1981, 1983)은 ninhydrin 定量 方法으로 polyamide와 wool에 대한 ($\alpha + \epsilon$) amino group의 定量 方法에서 ninhydrin과 amino compound와의 반응식을 추정하고 insulin, polyamide, wool 등의 ($\alpha + \epsilon$) amino group을 이 방법으로 정량한 결과 다른 방법으로 定量한 것과 동일한 결과를 얻었다고 하였다. 이 방법을 生絲에 適用하여 生絲의 精練 程度와 degradation 정도를 알고져 하였는데 표 3에서 보는 바와 같이 생사는 精練 絹絲인 피브로인보다 세리신에 의한 lysine 함량이 많기 때문에 精練하기 전에 ($\alpha + \epsilon$) amino group의 량이 가장 많고 비누 精練의 경우 精練이 진행되어 weight loss가 증가할수록 ($\alpha - \epsilon$) amino group의 량은 감소하다가 약 30분 후에는 일정하게 되는데 精練 시간이 길어지거나 가압 精練에서 過精練으로 hydro-

lytic degradation이 일어나면 다시 증가하므로 ($\alpha + \epsilon$) amino group content 분석으로 피브로인에 대한 degradation의 기준이 될 수 있을 것이라고 하였다. 또 Knott *et al.*(1983)은 ($\alpha + \epsilon$) amino group content는 비누 精練 絹絲物은 $51.72 \mu\text{mol/g}$ 이었으나 120°C 로 1 시간 가압 精練하면 $58.31 \mu\text{mol/g}$ 로 증가하는데 이와같은 원인은 加壓 精練에 의하여 絹 피브로인의 degradation 때문이라고 하였으며 Lee *et al.*(1987)은 精練 絹絲物에 대하여 ($\alpha + \epsilon$) amino group content을 조사한 결과 비누 精練 絹絲物은 $47.4 \mu\text{mol/g}$, 界面 活性劑에 의한 精練에서는 $51.5 \mu\text{mol/g}$ 내외이었으며, 粘度와 ($\alpha + \epsilon$) amino group과는 否의 相關이 있다고 하였다. 본 실험에서 酵素精練 絹絲의 ($\alpha + \epsilon$) amino group content는 비누 精練 絹絲보다 많았는데 앞에서 調査한 酵素精練 絹絲의 強伸度와 粘度 測定 결과를 본 실험과 관련하여 종합적으로 考察하면 endopeptidase 型 細菌性 protease는 높은 정련 효과를 가지는 동시에 基質에 따라서는 peptide 결합의 가수분해력에 차이가 있다는 보고(皆川 1981)와 絹絲腺 피브로인에 단백질 분해 酵素를 작용시킨 결과 피브로인의 H鎖와 L鎖의 분해를 일으킨다는 결과(森 1989)로 미루어, 이 실험에서도 피브로인의 主鎖에 있는 peptide bond의 가수분해에 의하여 degradation이 일어나 強伸度, 粘度, ($\alpha + \epsilon$) amino group content에 차이가 생긴 것으로 추측될 수 있으며 또한 현미경 사진에 의하면 섬유 표면에 세리신이 소량 남은 것으로 추측되어지므로 酵素精練 絹絲의 세리신 불순물의 ϵ -amino group content도 total amino group content의 증가에 기여하는 것으로 추측 된다.

5. 精練 絹絲의 複屈折度

精練 絹絲의 複屈折度는 표 2에서 보는 바와 같이 비누 精練 絹絲의 複屈折度는 0.033이었고 酵素精練 絹絲의 複屈折度는 0.036이었다.

石川·窪田(1955), 石川等(1956)은 Becke法에 의하여 纖維의 軸方向과 纖維軸에 직각 방향의 屈折率을 각각 구하고 두 屈折率의 차이를 複屈折로 하였는데 蠶品種과 繭層 部位와 관계없이 精練 絹絲의 複屈折은 약 0.051이었지만 세리신 除去率 60%까지는 精練 程度를 增加할수록 纖維軸 方向의 屈折率은 증가하고 纖維軸에 직각 방향의 屈折率은 저하하여 複屈折은 향상된다고 하였다. 또 石川等(1960)은 絹絲를 5% 염산 加水分解하여 얻은 殘渣로 結晶 領域量이 다른 시료에 대하여 X-線 結晶化도와 複屈折도를 측정하고 밀접한 상관이 있는 것을 알았다. 祖父江等(1961)도

위와 같은 방법으로 絹絲腺의 延伸에 따른 複屈折을 조사한 결과 延伸比가 증가할수록 複屈折도 함께 증가한다고 하였는데 이와 같은 원인은 延伸에 따라서 配向性和 結晶性이 증가하기 때문이라고 하였다. 또 桑原(1967)은 Becke법에 의한 絹絲의 複屈折은 0.026인데 濕熱을 8 시간 처리할때 複屈折은 100°C에서는 0.033, 120°C에서는 0.037, 140°C에서는 0.038로 보고하고 있다. 본 실험에서 精練 絹絲의 複屈折도의 값이 酵素 精練 絹絲의 경우가 비누 精練 絹絲보다 약간 높게 나온 것을 정련 기구의 차이와 종합하여 고찰하면 生絲는 製絲 過程中 緊張 상태에서 고온으로 건조하게 되면 配向된 구조 또는 compact한 구조로 되는데 비누 精練은 精練 過程中 고온에서 장 시간 처리함으로써 피브로인의 compact한 구조가 팽윤되어 건조 과정에서 loose하게 되거나 配向性이 감소하여 結晶性이 낮아지는데 비하여 酵素 精練은 저온 처리이므로 配向된 구조 또는 compact한 구조가 그대로 남아 있기 때문에 結晶性이 높은 것으로 추측된다. 이와같은 추측의 근거로는 生谷(1987)은 生絲의 結晶性에 관하여 生絲는 繰絲 工程에서 濕潤 狀態에서 길이 방향으로 張力을 받으면서 건조 되는데 繰絲 速度가 빠를수록 또 건조 온도가 높을수록 結晶化도가 진진되어 生絲는 粗硬하게 되며 이렇게 길이 방향으로 張力을 받으면 섬유가 신장되고 섬유내의 結晶 構造도 변화하여 염색성과 물성의 변화를 일어난다고 보고한바 있다.

또 精練 絹絲의 複屈折도의 값이 酵素 精練 絹絲의 경우가 비누 精練 絹絲보다 약간 높게 나온 것은 degradation이 非結晶 領域에서 일어 나므로써 전체 영역에 대한 結晶 領域의 비율이 상대적으로 높아지고 따라서 섬유축 방향의 配向性 및 結晶化도의 상대적 증가에 기인한다고 할 수 있다.

6. 아미노酸 分析

精練 條件을 달리하여 얻은 비누 精練 絹絲와 酵素 精練 絹絲의 아미노산 組成을 보면 표 3과 같으며 酸性 염료의 染着 坐席인 염기성 아미노산(His., Lys., Arg.)은 전체 아미노산 함량중 비누 精練 絹絲는 0.72%, 酵素 精練 絹絲는 0.73%로 나타났으며 염기성 염료의 染着 坐席인 산성 아미노산(Asp., Glu.)은 전체 아미노산중 비누 精練 絹絲는 2.90%, 酵素 精練 絹絲는 3.08%로 精練 조건에 따른 아미노산 組成의 큰 차이는 없었다. 또 桐村(1962)과 山田(1976)가 보고한 피브로인의 아미노산 組成과 비교해 보아도 비누 精練 絹絲와 酵素 精練 絹絲의 아미노산 組成에 큰 차이가 없었다. 絹 피브로인의 아미노산 組成에 관한 연구로 Lucas *et al.*(1960)은 節足 動物이 生産하는 74種類의 絹物質 피브로인(silk-like fibroin)에 대하여 아미노酸 定性 分析을 하고 이중 26種에 대해서는 定量 分析을 한 결과 아미노酸 組成에 큰 차이가 있지만 glycine, alanine, serine을 공통적으로 많이 함유하고 있다고 하였다. 桐村(1962)은 繭層을 50 倍量의 0.5% marsei-

Table 3. The amino acid compositions of silk fibroin fiber degummed by soap and enzyme

Amino acid	Soap degumming	Enzymatic degumming	Kirimura (1962)	Yamada (1976)	Sericin*
Glycine	44.74	44.04	46.11	45.00	13.55
Alanine	30.04	29.94	29.41	29.18	5.19
Serine	10.46	10.79	11.31	10.71	33.09
Tyrosine	5.14	5.16	5.27	4.97	3.12
Aspartic acid	1.59	1.75	1.05	1.84	14.58
Glutamic acid	1.31	1.33	0.96	1.23	7.93
Threonine	0.88	0.98	0.78	1.04	8.84
Proline	0.50	0.51	0.44	0.42	0.50
Valine	2.45	2.49	2.09	2.20	3.06
Methionine	0.13	0.13	0.05	0.09	0.08
Iso-leucine	0.67	0.70	0.54	0.75	0.53
Leucine	0.52	0.55	0.42	0.52	0.79
Phenylalanine	0.69	0.72	0.56	0.68	0.42
Histidine	0.09	0.10	0.17	0.29	1.04
Lysine	0.25	0.27	0.25	0.36	4.35
Arginine	0.38	0.36	0.42	0.47	2.79
Cystine	0.16	0.18	0.02	0.26	0.14

Data are expressed as mole percents, *Kirimura(1962)

lles soap 용액에서 1 시간씩 2회 精練하여 微生物 定量法으로 분석하였고 또 定量的 대상이 되는 아미노산에 적당한 4 가지의 加水分解 조건 및 tyrosine을 대상으로 하는 알카리 加水分解 조건을 제시했다. 鹽崎·村瀬(1969)은 生絲를 marseilles 비누로 精練한 絹絲를 稀酸 및 稀알카리로 部分 加水分解한 結晶性 및 非結晶性 絹 피브로인에 대하여 아미노酸 분석을 한 결과 glycine과 alanine 등은 結晶性 部分에 많은 등 結晶성에 따라서 아미노酸 組成에 차이가 있다고 하였으며, Shimura *et al.*(1976)은 후부 絹絲腺에서 얻은 凝固 絹 피브로인에 대하여 fraction을 행하고 이들 fraction에 대하여 아미노산 분석 결과를 보고한 바 있다. Nadiger *et al.*(1985)도 印度産 4種에 대한 hydrofibroin(鹽酸 加水分解 殘渣)에 대하여 아미노酸 분석 결과를 보고한 바 있으며 志村·片方(1980), 石川·奈倉(1983)은 絹 피브로인의 아미노酸 組成은 발포자에 따라 약간씩 差異가 있는데 試料의 調製 방법이 다르기 때문이라고 보고하였다.

본 실험 결과에서 비누 精練 絹絲와 酵素 精練 絹絲의 物性에는 차이가 있으나 아미노산 組成에서는 차이가 없었는데 이러한 결과는 세리신을 제거할 목적으로 실시하는 精練 처리는 피브로인의 아미노산 組成 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 고찰된다.

7. 絹絲의 熱的 舉動

精練 絹絲의 DSC thermograms은 그림 3과 같으며 비누 精練 絹絲의 熱 分解에 따른 吸熱 peak 溫度는 307.2°C 이며 peak 溫度의 범위는 252.8°C 에서 346.4°C 까지 인데 비하여 酵素 精練 絹絲의 吸熱 peak

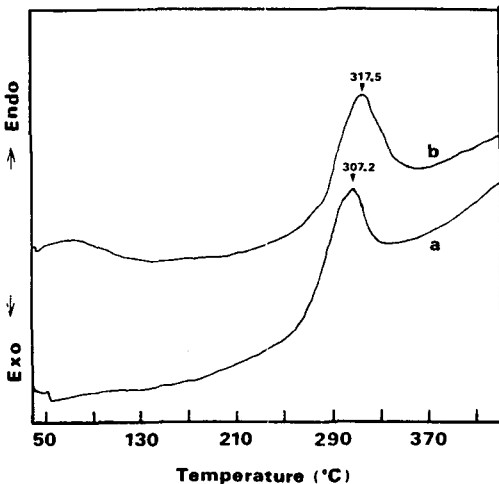


Fig. 3. DSC thermograms of silk fiber degummed by soap (a) and enzyme (b).

溫度는 317.5°C 이고 吸熱 peak 溫度 범위는 267.2°C 에서 360.9°C 까지로서 비누 精練 絹絲보다 約 10°C 정도 높았다. 石川等(1969)은 絹纖維는 100°C 부근에서 水分의 發散에 起因한 吸熱 peak와 305°C 附近의 纖維의 分解에 따른 吸熱 peak이 觀察된다고 하였고 絹絲를 160~180°C의 熱湯에서 처리하면 305°C 부근의 吸熱 peak은 高溫側으로 이동하는데 이와 같은 원인은 非結晶 領域이 流失됨에 따라 結晶 領域이 증가한 때문이라고 하였다. 石川等(1972)은 여러 가지 絹纖維에 대한 DSC를 시험한 결과 吸熱 peak은 測定 條件에 따라서 移動하는데 昇溫 速度가 느릴 경우 絹 피브로인의 熱分解는 低溫側에서 서서히 일어나고 特定 peak의 出現이 불명확한데 昇溫 速度가 빠를수록 peak은 sharp 하여지고 高溫側으로 이동한다고 하며 $\alpha \rightarrow \beta$ 轉移 溫度는 240~250°C 이고 β 型的 分解 온도는 290~300°C 라고 하였다. 또 6N HCl의 酸 加水分解에 의하여 얻은 殘渣의 DSC thermogram은 酸 加水分解 시간이 길어짐에 따라 低溫側의 曲線은 서서히 감소하고 高溫側의 銳利한 peak의 곡선으로 변화하는데 非結晶의 流失로 인한 結晶 領域이 증가하기 때문이라고 하였다. 片岡(1974)은 液狀絹 피브로인의 轉移 溫度는 177°C 이고 224°C 에서 random coil $\rightarrow \beta$ 型的 發熱 peak이 나타난다고 하였고, Magoishi & Nakamura(1975)는 random coil 구조를 가진 絹絲腺 피브로인은 轉移 溫度 175°C, 結晶化 溫度 212°C, 分解 溫度 280°C 로 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 轉移 온도와 結晶化 온도에 따른 peak은 관찰할 수 없었고 다만 絹 피브로인의 分解 溫度만을 관찰할 수 있었는데 酵素 精練 絹絲가 비누 精練 絹絲보다 絹 피브로인의 分解 온도가 10°C 높은 것은 酵素 精練 絹絲의 配向性 및 結晶化度가 비누 精練 絹絲보다 약간 높기 때문이며 이것은 複屈折度 測定 결과와 유사한 경향으로 설명되어 질 수 있다.

8. IR spectrum에 의한 分析

生絲의 精練 방법에 따른 精練 絹絲의 IR 分析을 한 결과는 그림 4와 같다. 비누 精練 絹絲나 酵素 精練 絹絲 모두 amide I, II, III의 band의 위치나 強度가 비슷하였는데, 1660, 1540, 1235 cm^{-1} 의 amide I, II, III band는 random coil 특유의 peak이고, 1630 cm^{-1} 의 peak와 1530, 1265 cm^{-1} 의 약한 peak은 β 型的 peak이다. 絹 피브로인의 赤外線 吸收帶에 관해서는 많은 연구 보고가 있다. 宮澤(1964)은 polypeptide 蛋白質과 赤外線 吸收 領域에 대한 검토에서 amide I 吸收는 α -helix에서는 1650 cm^{-1} , β 型에서는 1630 cm^{-1} 附近에서 강한 吸收帶가 나타나고, amide II

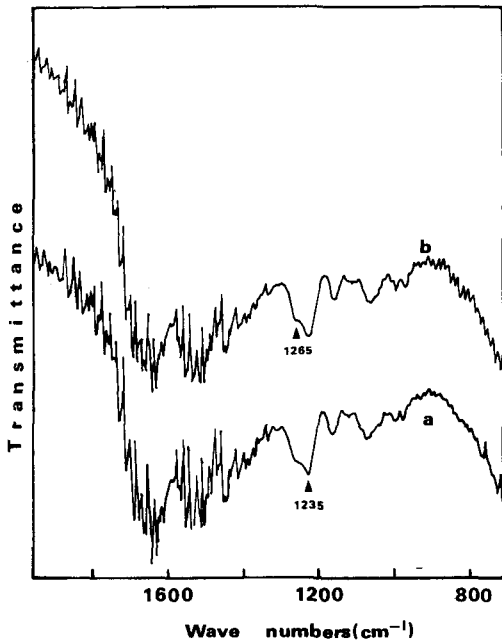


Fig. 4. Infrared spectra of silk fiber degummed by soap (a) and enzyme (b).

흡수는 α -helix에서는 1550 cm^{-1} 附近的 강한 垂直成分과 1520 cm^{-1} 附近的 약한 平衡成分으로 나누어 지지만, β 型에서는 1530 cm^{-1} 附近的 강한 平衡成分과 1550 cm^{-1} 附近的 垂直成分으로 나누어 진다고 하였다. 또 random coil의 polypeptide에서는 폭 넓은 amide 吸收帶가 1655 cm^{-1} 에서 나타나는데 이것은 α -helix의 amide I 吸收帶와 판별하기 어렵지만, α -helix의 amide II 吸收帶는 2 가닥으로 나누어 지는데 반하여 random coil에서는 폭 넓은 amide II 吸收帶가 1535 cm^{-1} 附近에 나타난다고 하였다. 또 Bhat *et al.* (1980)은 IR crystallinity는 amide I, II, III, V의 어느 두 band에서나 決定할 수 있으나 amide III band가 가장 잘 발달되어 있으므로 D1265/D1235 band를 비교하여 산출할 수 있다고 하였으며 絹絲에 대한 IR crystallinity는 0.66이라고 보고 하였다. Bae & Tak (1988)도 絹絲에 대한 IR 분석에서 IR crystallinity를 1265 cm^{-1} 와 1235 cm^{-1} 에서의 optical density를 비교하여 계산한 결과 絹絲의 IR crystallinity는 0.7616이라고 하였다.

본 실험 결과 Bhat *et al.*(1980)의 방법에 의한 IR crystallinity는 비누 精練 絹絲는 0.67, 酵素 精練 絹絲는 0.70으로서 Bae & Tak(1988)의 0.7616에 비하여 적었는데, 이와 같은 원인은 위 실험에서 시료의 練

減率は 24.8%인데 비하여 본 실험에서는 21.4%로 차이가 있었기 때문이라고 생각되며, 酵素 精練 絹絲가 비누 精練 絹絲 보다 IR crystallinity에서 약간 높았는데 이와 같은 원인은 複屈折도와 DSC 분석 결과와 같은 이유로 설명되어 질수 있다.

9. 絹絲의 X-線 回折

精練 絹絲에 대한 X-線 回折 分析은 그림 5와 같이 精練 방법에 따른 pattern은 차이가 없었다.

X-線 回折에 의한 結晶化度の 측정 방법에 대하여 石川等(1960)과 祖父江等(1961)은 $2\theta=5\sim 40^\circ$ 에 있어서 結晶性 干涉部分과 非結晶性 干涉部分을 分離하고 面積比에서 結晶化度を 구한 결과 비누 精練 絹絲의 結晶化도는 Hermans법에서는 22.5%이었고, 櫻田·溫品法에서는 42%였다. Bae & Tak(1988)은 結晶 領域量의 비율로 구한 結晶化도는 絹絲 0.54이고 絹 피브로인 膜은 0.44라고 하였다. Manjunath *et al.* (1973)은 cellulose에 대한 diagram에서 baseline을 $2\theta=8\sim 28^\circ$ 에서 그리고 (101)과 (002)면에 해당하는 peak 의 높이 h_1, h_2 , 두 peak 사이의 minimum의 높이 m_1 에서 resolution R은

$$R = \frac{2m_1}{h_1 + h_2}$$

polymer인 경우 peak이 두개 이상일 때 baseline은 위와 동일하게 그리고 모든 peak와 peak 사이의 minimum을 측정하여 resolution factor R과 lateral order factor Lo은 다음 공식과 같이 계산할 수 있다고 하였다.

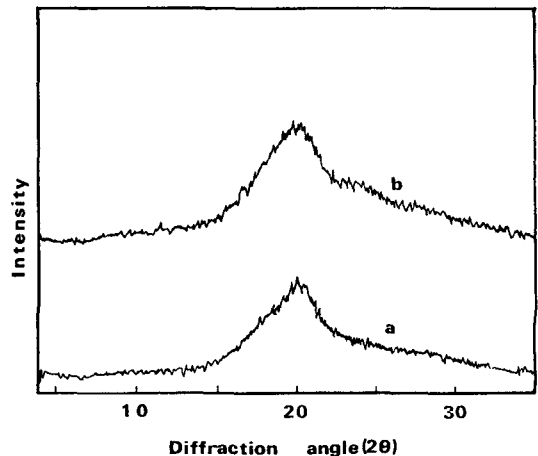


Fig. 5. X-ray diffraction curves of silk fiber degummed by soap (a) and enzyme (b).

$$R = \frac{m_1 + m_2 \cdots \cdots + m_{n-1}}{h_1 + h_2 \cdots \cdots + h_n}$$

R : The resolution factor

$m_1, m_2, \cdots \cdots m_{n-1}$: The respective heights of minima between the two peaks representing amorphous contribution

$h_1, h_2, \cdots \cdots h_n$: The respective peak heights

$$L_0 = 1 - R$$

L_0 : The lateral order factor

또 Bhat & Nadiger(1980)은 精練 絹絲의 X-ray 분석에 관한 보고에서 (002), (201), (300), (003)面に 해당하는 面間 距離는 각각 4.70, 4.35, 3.28, 3.18 Å에서 나타난다고 하였으며 위와 같이 구한 印度産 4종류(mulberry, tasar, eri, muga)의 lateral order factor은 0.42~0.44라고 하였다.

본 시험 결과 lateral order factor는 비누 精練 絹絲의 0.50에 비하여 酵素 精練 絹絲는 0.53으로서 酵素 精練 絹絲가 약간 높았는데 酵素 精練 絹絲의 結晶性이 비누 精練 絹絲보다 높았기 때문에 생각되며 이러한 원인은 復屈折度, DSC 분석과 IR 분석 결과와 같은 이유로 설명되어 질 수 있다.

摘 要

絹絲의 精練 방법으로는 알카리 溶液에서 熱을 이용하는 방법과 蛋白質 分解 酵素를 이용하는 방법으로 크게 나눌 수 있는데 본 실험은 *Bacillus licheniformis* 蛋白質 分解 酵素로 精練한 絹絲의 이화학적 특성과 열 처리 영향 및 酵素 精練 絹 피브로인 水溶液의 특성을 비누 精練 絹絲와 비교하여 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 精練 絹絲의 표면을 走査 電子 顯微鏡으로 관찰한 결과 精練 방법에 따른 뚜렷한 차이가 없었으며 精練 絹絲의 아미노산 조성을 분석한 결과에서도 精練 방법에 따른 큰 차이가 없었다.

2. 酵素 精練 絹絲는 비누 精練 絹絲에 비하여 強力和 伸度가 약간 저하되었고 粘度도 비누 精練 絹絲의 0.59에 비하여 酵素 精練 絹絲는 0.56으로서 저하된 반면 ($\alpha + \epsilon$) amino group content는 비누 精練 絹絲의 49.5 $\mu\text{mol/g}$ 보다 酵素 精練 絹絲는 53.6 $\mu\text{mol/g}$ 로서 증가되었으므로 酵素 精練 絹絲는 비누 精練 絹絲보다 degradation이 더 일어난 것으로 추측된다.

3. 酵素 精練 絹絲는 비누 精練 絹絲에 비하여 復屈折도가 높았으며 DSC thermogram에서 熱 分解

온도도 약 10°C 높았다. 또 酵素 精練 絹絲의 IR 및 X-ray crystallinity도 각각 0.70과 0.53으로서 비누 精練 絹絲의 0.67과 0.50에 비하여 약간 높았으므로 酵素 精練 絹絲의 경우 結晶性 및 配向性이 비누 精練 絹絲보다 높은 것으로 판단된다.

引 用 文 獻

- Bae, D.G. and Tak, T.M (1988) Studies on the sorption and permeation of acid dyes through silk fibroin membrane.(I) The structure of silk fiber and fibroin membrane. Korean J.Seric.Sci. 30(2) 105-111.
- Bhat, N.V. and Nadiger, G.S. (1980) Crystallinity in silk fibers : partial acid hydrolysis and related studies. J. Appl. Polym. Sci. 25, 921-932.
- 崔炳熙 (1986) 製絲學 p.45-64 郷文社 서울.
- 中條紀三 (1975) 알카리프로테아제による絹の精練. 第1報 生絲の精練. 蠶研彙 24, 49-60.
- 中條紀三 (1977) 알카리프로테아제による絹の精練. 第2報 羽二重の精練. 蠶研彙 26, 29-38.
- 平塚英吉 · 皆川基 (1962) 細菌프로테아제による絹絲布の精練に関する研究. 蠶研彙 10, 99-135.
- 生谷吉男 (1987) 絹纖維의 성능とその取扱いの要點. 京染誌 38(4), 119-130.
- 石川博 · 窪田潤 (1955) 絹絲의 屈折率に関する研究. (II) 牽引凝固絹의 屈折率と之に及ぼす溫度の影響. 信大織學報 5, 97-101.
- 石川博 · 大平昭人 · 窪田潤 (1956) 絹絲의 屈折率に関する研究. (III) 精練處理による絹纖維의 屈折率および復屈折의變化. 信大織學報 6, 104-108.
- 石川博 · 祖父江寬 · 松崎啓 (1960) 絹絲의 屈折率に関する研究. (V) 絹纖維의 結晶性, 配向性と機械的性質. 信大織學報 10, 176-183.
- 石川博 · 平林潔 · 早川忠男 (1969) 絹의 示差熱分析. 織學誌 25(9), 425-431.
- 石川博 · 塚田益裕 · 土井詰功 · 近田淳雄 · 平林潔 (1972) 絹纖維의 DSC曲線. 織學誌 28(4,5), 91-98.
- 石川博 · 奈倉正宣 (1983) 絹纖維의 構造와 物性. 纖維と工業 39(10), 353-363.
- 片岡紘三 (1974) 液狀絹의 加壓變形. 高分子論文集 31(8), 484-488.
- 加藤弘 (1988) 絹纖維의 加工技術とその應用 p.3-78 纖維研究社 東京.
- 桐村二郎 (1962) 微生物定量法による絹絲蛋白質의 아미노酸組成と化學構造に関する研究. 蠶試報 17(4), 447-522.
- Knott, J. and Rossbach, V. (1980) Determination of the amino end groups in polyamide 6 and 6,6 with ninhydrin. Angew.Makromol.Chem. 86, 203-213.
- Knott, J. Grandmaire, M. and Thelen, J. (1981) 3-determination of the ($\alpha + \epsilon$) amino-group content of wool by reaction with ninhydrin. J. Text. Inst. (1) 19-24.
- Knott, J. Freddi, G. and Belly, M. (1983) Preliminary

- study concerning the degumming and degradation of *Bombyx mori* silk. *Melliand textilberichte* 7, 481-483.
- 小松計一 (1978) 蛋白質分解酵素による絹.アセテトの精練. *日蠶雜* 47(1), 139-149.
- 桑原昂 (1967) 絹絲の脆化に関する電子顕微鏡的研究. 第2報 濕熱による脆化作用について. *織學誌* 23(10), 484-489.
- 李龍雨・宋基彦・鄭仁模 (1986a) 絹의 酵素精練에 관한 研究. *韓蠶誌* 28(1), 66-71.
- 李龍雨・金仲泰・宋基彦・李光培・鄭仁模 (1986b) 酵素精練絹의 태에 관한 研究. -비누-소다 精練 絹織物 태와의 比較- *韓蠶誌* 28(2), 52-60.
- Lee, Y.W. Sviolokos, A.B. and Freddi, G. (1987) Comparative degumming effect of detergents on silk twill. *Korewn J. Seric. Sci.* 29(1), 57-63.
- 李龍雨・金仲泰・宋基彦・李光培・鄭仁模・金鐘鎭 (1987) 酵素精練絹의 태에 관한 研究(II). 粗練程度가 酵素精練 絹織物의 태에 미치는 影響. *韓蠶誌* 29(2), 67-72.
- Lucas, F. Shaw, J.T.B. and Smith, S.G. (1960) Comparative studies of fibroins. . The amino acid composition of various fibroins and its significance in relation to their crystal structure and taxonomy. *J. Mol. Biol.* 2, 339- 349.
- Magoshi, J. and Nakamura, S. (1975) Studies on physical properties and structure of silk. Glass transition and crystallization of silk fibroin. *J. Appl. Polym. Sci.* 19, 1013-1015
- Manjunath, B.R. Venkataraman, A. and Stephen, T. (1973) The effect of moisture present in polymers on their X-ray diffraction patterns. *J. Appl. Polym. Sci.* 17, 1091-1099.
- 松本介・中條紀三 (1973) 絹精練用酵素による連續精練の研究. *蠶研彙* 22, 77-88.
- 皆川基 (1959) 絹絲の構造に関する電子顕微鏡的研究.(II) フィブロイン纖維の表面構造について. *日蠶雜* 28(1), 47-51.
- 皆川基 (1981) 絹の科學 p.9-105 關西依生活研究會 大阪.
- 宮澤辰雄 (1964) ポリペプチドおよびタンパク質の赤外吸收. 蛋白質核酸酵素 9(11), 975-980.
- 森肇・角田素行・松原藤好 (1989) 絹の酵素精練方法の確立. アパレル科學研究センター-研究報告 8, 15-18.
- Nadiger, G.S. Bhat, N.V. and Padhye, M.R. (1985) Investigation of amino acid composition in the crystalline region of silk fibroin. *J. Appl. Polym. Sci.* 30, 221-225.
- Shimura, K. Kikuchi, A. Ohtomo, K. Katagata, Y. and Hyodo, A. (1976) Studies on silk fibroin of *Bombyx mori*. I. Fractionation of fibroin prepared from the posterior silk gland. *J. Biochem* 80, 693-702.
- 志村憲助・片方陽太郎 (1980) 續 絹絲の構造(北條舒正編) p.335-352. 信州大學纖維學部 上田
- 鹽崎英樹・村瀬良一 (1969) フィブロイン纖維のアミノ酸分布について. *日蠶雜* 38(3), 230-236.
- 祖父江寛・石川博・松崎啓 (1961) 絹纖維の結晶性. *工化誌* 64(4), 706-710.
- 土屋幾雄・渡邊良三 (1964) 絹の酵素精練に関する研究. *絲絹研集* 14, 118-121.
- 山田政枝 (1976) アミノ酸自動分析計による絹フィブロインの アミノ酸定量における酸加水分解條件. *蠶絲研究* 98, 74-83.