

## 18. Viskositätsmessungen an Lösungen von Seidenfibroin

von R. Signer und R. Strässle.

(17. VIII. 46.)

Den Aufbau des schwerlöslichen, kristallinen Anteils der Naturseide, des Seidenfibroins, aus parallel liegenden Peptidketten hat die Strukturanalyse mit Röntgenstrahlen<sup>1)</sup> sichergestellt. Der Frage der Länge der Peptidketten in der Faser wurde unseres Wissens noch wenig Beachtung geschenkt. Die vorliegende Arbeit liefert einen experimentellen Beitrag hiezu. Es wurde die von *Staudinger* in die chemische Forschung hochmolekularer Stoffe eingeführte Methode angewendet, welche darin besteht, die Molekel schonend, d. h. ohne Abbau, in Lösung zu bringen und an verdünnten Lösungen geeignete Messungen auszuführen, welche über Grösse und eventuell Gestalt der Molekel Aufschluss geben können. Gewisse wissenschaftliche sowie technische Entwicklungen der letzten Zeit<sup>2)</sup> lassen vermuten, dass einer Molekulargewichtsabschätzung des Seidenfibroins heute Interesse entgegengebracht wird.

Von den sehr verschiedenartigen Lösungsmitteln für Seidenfibroin<sup>3)</sup>, die in wissenschaftlichen Arbeiten und Patentschriften erwähnt sind, schieden bei unserer Arbeit alle aus, welche die Proteinmolekel abbauen konnten, sei es durch Hydrolyse oder thermische Beanspruchung<sup>4)</sup>. Besonders geeignet schienen für unsern Zweck die konzentrierten wässrigen Lösungen stark hydratisierter anorganischer Salze wie Lithiumjodid, -bromid und -rhodanid, welche nach *P. P. v. Weimarn*<sup>5)</sup> das Fibroin schon bei Zimmertemperatur rasch

<sup>1)</sup> *R. Brill*, A. **434**, 204 (1923); Z. physikal. Ch. [B] **53**, 61 (1943). *K. H. Meyer* und *H. Mark*, Die hochpolymeren Verbindungen, Leipzig 1940.

<sup>2)</sup> Es sei an die Molekulargewichtsbestimmungen der wasserlöslichen, mehr oder minder kugelförmigen Proteine mit der Ultrazentrifuge erinnert, sowie an die Herstellung vollsynthetischer Polyamidkunstfasern.

<sup>3)</sup> Kupfertetrammin(II)-oxydlösung und ähnliche Kupfer(II)-oxydkomplexe in Wasser; hochkonzentrierte wässrige Salzlösungen; wässrige Lösungen von Harnstoff und Thioharnstoff; flüssige Säureamide, wie Formamid usw.; Phenole, wie meta-Kresol, Resorcin usw. 5-proz. Lösungen des Seidenfibroins in Kupfer-di-äthylendiamin(II)-oxyd-Lösung, neutralisiert mit Essigsäure, wurden von *Ch. H. Garrett*, *F. O. Howitt*, *Ch. J. Cadwallader* und *St. G. Smith* auf Fluidität untersucht. Die Fluiditätsveränderung zeigt den Abbau der Molekel durch Belichten der Fasern oder durch Behandlung mit Säuren und Basen an. Vgl. *Shirley Institute Memoirs* **17**, 103 und 114 (1939—40).

<sup>4)</sup> Vgl. die kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmungen an Seidenfibroin in Phenolen durch *R. O. Herzog*, Z. physiol. Ch. **134**, 296 (1924) und *Helv.* **11**, 529 (1928) sowie die Kritik an diesen Bestimmungen durch *E. Abderhalden*, B. **63**, 1945 (1930).

<sup>5)</sup> *Koll. Z.* **40**, 120 (1926); **41**, 148 (1926); **44**, 39 (1928).

auflösen<sup>1</sup>). Eigene Versuche bestätigen diese Angaben. 1 cm<sup>3</sup> Lithiumjodidlösung (Konzentration 51 g Salz in 100 cm<sup>3</sup> Lösung) dispergierte bei dauerndem Rühren 10 mg Seidenfibroin in etwa 10 Minuten. Mit Lithiumrhodanidlösung (Konzentration 48 g Salz in 100 cm<sup>3</sup> Lösung) erfolgte die Auflösung noch rascher. Die beiden Lösungen verhalten sich beim Aufbewahren verschieden. Die fibroinhaltige Lithiumjodidlösung verfärbt sich (auch im Dunkeln) in einigen Tagen über gelb nach braun und die Viskosität sinkt dauernd. Die fibroinhaltige Lithiumrhodanidlösung zeigt keine sichtbare Veränderung; ihre Viskosität ist nach einem schwachen anfänglichen Absinken über lange Zeit nahezu konstant. Fig. 1 zeigt die spezifischen Viskositäten, welche derartige Lösungen nach verschieden langem Aufbewahren bei 20° C aufweisen.

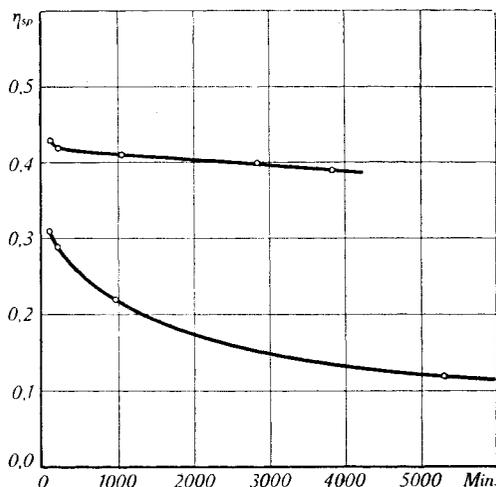


Fig. 1.

Änderung der spezifischen Viskosität einer Seidenfibroinlösung in Lithiumjodid (untere Kurve) und Lithiumrhodanid (obere Kurve) mit der Zeit. Temperatur 20,0° C.

Viskosimeter: Nach Ostwald, Kapillarlänge 7,4 cm, Volumen zwischen den Marken 0,6 cm<sup>3</sup>, Auslaufszeit für Wasser (20°) 70,4 Sekunden.

Seidenfibroin<sup>2</sup>): Die Entbastung der Rohseide erfolgte durch dreimaliges Erhitzen mit 5-proz. Seifenlösung bei Wasserbadtemperatur während je 20 Minuten.

Lithiumjodidlösung: Fibroinkonzentration: 0,292 g in 100 cm<sup>3</sup> Lösung, Lithiumjodidkonzentration: 51 g in 100 cm<sup>3</sup> Lösung, Auslaufszeit der Salzlösung ohne Seidenfibroin: 79,8 Sekunden.

Lithiumrhodanidlösung: Fibroinkonzentration: 0,315 g in 100 cm<sup>3</sup> Lösung, Lithiumrhodanidkonzentration: 48,6 g in 100 cm<sup>3</sup> Lösung, Auslaufszeit der Salzlösung ohne Seidenfibroin: 396,3 Sekunden.

<sup>1</sup>) Zur Theorie der lösenden Wirkung dieser Salze vgl. K. H. Meyer, Z. physikal. Ch., Bodenstein-Festband, 553 (1931).

<sup>2</sup>) Die Rohseide (italienische Webgrège) wurde uns von der Fa. Abegg & Co., Zürich, in verdankenswerter Weise überlassen.

Die Fig. 1 zeigt, dass in der Lithiumrhodanidlösung das Seidenfibroin rasch bis zu einem Zustand dispergiert wird, der über lange Zeit nahezu konstant bleibt. Im Gegensatz dazu geht in der Lithiumjodidlösung über lange Zeit eine Veränderung vor sich, die mit einem Viskositätsabfall verknüpft ist. Eine naheliegende Deutung für diesen Befund ist folgende. In der Rhodanidlösung wird das Seidenfibroin rasch bis zu den Molekeln, den Peptidketten, dispergiert, und diese Molekel werden nur sehr langsam abgebaut<sup>1)</sup>. In der Lithiumjodidlösung findet dagegen ein fortschreitender Molekelabbau statt.

Es wurde nun versucht, die Frage experimentell weiter abzuklären, ob in der Lithiumrhodanidlösung eine molekulare Dispersion des Seidenfibroins vorliege. Hiezu wurde die Viskosität bei variabler Fibroinkonzentration und bei variabler Salzkonzentration geprüft. Über den Einfluss der Fibroinkonzentration auf die Viskosität gibt die Tab. 1 Aufschluss.

Das Seidenfibroin war 60 Minuten entbastet, die Lithiumrhodanidwassermischung enthielt auf 100 g 53,88 g Salz und wies die Dichte 1,23 auf.

Tabelle 1.

Viskosität von Seidenfibroin-Lithiumrhodanidwassermischungen variabler Seidenfibroinkonzentration.

c = g Fibroin in 100 cm <sup>3</sup> Lösung	$\eta_{sp}$	$\frac{\eta_{sp}}{c}$
1,625	1,76	1,08
0,658	0,60	0,91
0,264	0,21	0,80

Bei einer Konzentrationsvariation des Fibroins von 1:6 ändert sich der Quotient aus spezifischer Viskosität und Konzentration nur um ca. 30 %. Ein solcher fast linearer Viskositätsanstieg wird bei Lösungen angetroffen, welche isolierte Makromolekel aufweisen. Treten die Teilchen in höheren Konzentrationen zu grösseren Einheiten zusammen, so ist der Viskositätsanstieg ein stärkerer.

Bei der Variation der Salzkonzentration war folgender Gedanke wegleitend. Da bei einer geringen Salzkonzentration (unter etwa 40 g Lithiumrhodanid pro 100 g Lösung) das Fibroin überhaupt nicht dispergiert wird und mit steigendem Salzgehalt die Auflösungs geschwindigkeit steigt, darf man den Salzlösungen mit über 40 g pro 100 g eine mit der Konzentration steigende Dispergierfähigkeit zuschreiben. Wenn beispielsweise mit etwa 45 g in 100 g Lösung nur eine Aufteilung in Molekelaggregate zustande kommt, dürfte bei höherer Konzentration an Salz die Zerteilung weiter gehen, bei niedriger

<sup>1)</sup> Bei dem geringen Abfall der Viskosität mit der Zeit kann man durch Extrapolation den Viskositätswert im Zeitpunkt 0 recht genau bestimmen. Im folgenden wird bei den Seidenfibroinlösungen in Lithiumrhodanid entweder die ganze Viskositätszeitkurve angegeben, oder dann der auf die Zeit 0 extrapolierte Anfangswert.

Konzentration aber weniger weit. Eine solche Verschiedenheit im Dispersitätsgrad sollte sich in der Viskosität der Lösungen zeigen, mindestens dann, wenn die längliche Form der Faserbausteine auch in der Lösung noch einigermassen erhalten bleibt<sup>1)</sup>. Tabelle 2 enthält die Viskositäten von drei Seidenfibroinlösungen ähnlichen Seidengehalten, aber verschiedener Salzkonzentration. Das Seidenfibroin war 60 Minuten entbastet.

Tabelle 2.

Viskosität von Seidenfibroin-Lithiumrhodanidwassermischungen variabler Lithiumrhodanidkonzentration.

c = g Fibroin in 100 cm <sup>3</sup> Lösung	g Lithium- rhodanid auf 100 g Lösung	Dichte der Salz- Wassermischung	$\eta_{sp}$	$\frac{\eta_{sp}}{c}$
0,253	53,94	1,232	0,379	1,50
0,270	48,36	1,207	0,378	1,40
0,259	44,33	1,189	0,352	1,36

Tab. 2 zeigt, dass bei einer Variation der Salzkonzentration nahezu über den ganzen möglichen Bereich (von dem Minimalwert für die Auflösbarkeit des Proteins bis zur Sättigung mit Salz) die  $\eta_{sp}/c$ -Werte nahezu konstant bleiben. Wir schliessen auch hieraus, dass der Lösungszustand des Fibroins bei der Variation der Salzkonzentration gleich bleibt und dass eine molekulare Dispersion der Peptidketten vorliegt.

Von zwei Seidenfibroinen, die verschieden lange entbastet wurden, zeigte das kurzzeitig behandelte einen merklich höheren  $\eta_{sp}/c$ -Wert. Die Entbastung schien die Molekel abzubauen. Es wurden hierauf Fibroine viskosimetrisch untersucht, die sehr verschieden lange mit 5-proz. Seifenlösung bei Wasserbadtemperatur behandelt waren. Die Ergebnisse zeigt Fig. 2.

Von jedem Fibroin wurde eine Lösung mit etwa 0,35 g Protein in 100 cm<sup>3</sup> hergestellt (Salzkonzentration 44,88 g in 100 g Lösung) und die Viskosität über längere Zeit gemessen.

Die Kurven haben denselben Charakter wie diejenige der Lithiumrhodanidlösung in Fig. 1. Man kann also den Anfangsviskositätswert ermitteln. Je länger die Entbastung dauert, umso niedriger ist die Viskosität der Fibroinlösung. Trägt man die Anfangsviskositäten gegen die Entbastungsdauer auf, so ergibt sich die Kurve der Fig. 3.

<sup>1)</sup> Diese Prüfung auf makromolekulare oder micellare Aufteilung hat eine gewisse Analogie zur Bestimmung der Viskosität bei verschiedenen Temperaturen. Vgl. die Arbeiten von H. Staudinger und seinen Schülern.

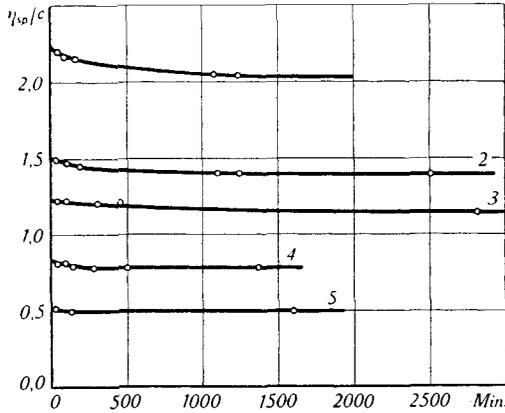


Fig. 2.

Zeitlicher Gang der Viskosität von verschieden lange entbasteten Seidenfibroinen.

Abszisse: Zeit nach Herstellung der Lösung in Lithiumrhodanid.

Ordinate:  $\eta_{sp}/c$ -Werte der verschieden lange entbasteten Fibroine.

Kurve 1: Entbastung 5 Minuten

„ 2: „ 30 „

„ 3: „ 60 „

„ 4: „ 120 „

„ 5: „ 540 „

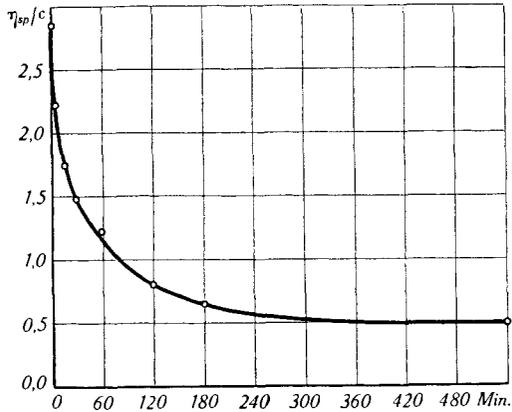


Fig. 3.

Abfall der Viskosität von Seidenfibroin mit der Entbastungsdauer.

Auch diese Kurve kann zum Zeitpunkt 0 extrapoliert werden. Wenn es gelänge, die Seide in unendlich kurzer Zeit zu entbasten, würde dieses Fibroin einen  $\eta_{sp}/c$ -Wert von  $2,7 \pm 0,2$  aufweisen. Von diesem Wert wird weiter unten bei der Abschätzung der Molekelgrösse Gebrauch gemacht.

Wenn man vermutet, in den Lithiumrhodanidlösungen des Seidenfibroins seien isolierte Peptidketten dispergiert, muss der Vis-

kositätsabfall bei der Entbastung als Molekelabbau gedeutet werden. Diese Auffassung liess sich stützen durch Viskositätsmessungen an Seidenfibroin, das verschieden intensiv mit Natronlauge behandelt wurde.

Je 100 mg eines entbasteten Fibroins wurden mit 50 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natronlauge 10, 100 und 1000 Minuten bei 20° C aufbewahrt, das Fibroin gewaschen, getrocknet und viskosimetriert. Drei weitere Quantitäten von 100 mg wurden mit n. Natronlauge, ebenfalls während 10, 100 und 1000 Minuten, behandelt. Die Ergebnisse der Viskositätsmessungen enthält Fig. 4.

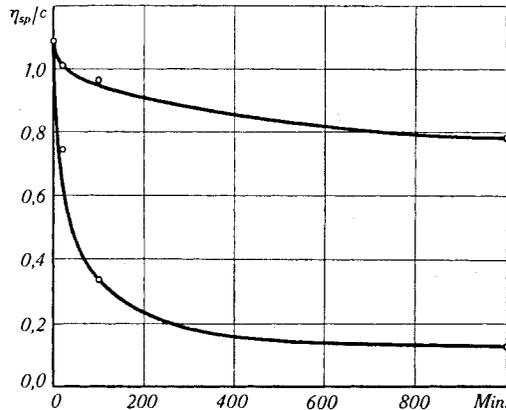


Fig. 4.

Viskositätsabfall des Seidenfibroins durch verschieden langes Behandeln mit 0,1-n. Natronlauge (obere Kurve) und n. Natronlauge (untere Kurve).

Bei der intensivsten Behandlung (n. Natronlauge während 1000 Minuten) ging bereits 20% des Fibroinstickstoffs in die Lauge über und das restliche Fasermaterial war spröde geworden. Auch bei den weniger intensiv behandelten Fibroinen konnte eine Veränderung, nämlich eine Zunahme der Säurebindung, beobachtet werden, wie Fig. 5 zeigt.

Durch mässige Laugenbehandlung werden die Peptidketten hydrolytisch gespalten, ohne sich aus dem Faserverband herauszulösen; erst bei intensiverem Angriff treten lösliche Spaltstücke auf. Der leichte Abbau der Fibroinmolekel durch Natronlauge bei 20° C legt sehr nahe, dass der in Fig. 3 gezeigte Viskositätsabfall bei der Entbastung (Temp. ca. 90° C, 5-proz. Seifenlösung) ebenfalls und wohl ausschliesslich auf einer Hydrolyse der Eiweissmolekel beruhe.

Auch eine kurzzeitige Entbastung verursacht nach Fig. 3 schon eine merkliche Spaltung der Proteinmolekel. Es wurde geprüft, ob hiemit bereits eine Einbusse an Faserfestigkeit verbunden sei: Zwei Fibroine, das eine 15 Minuten entbastet ( $\eta_{sp}/c = 1,78$ ), das andere 180 Minuten ( $\eta_{sp}/c = 0,66$ ), zeigten jedoch im trockenen Zustand gleiche Reissfestigkeit; im nassen Zustand war das 180 Minuten ent-

bastete noch einige Prozente fester als das 15 Minuten entbastete. Hieraus ersieht man, welche Bedeutung die zwischenmolekularen Kräfte für die Faserfestigkeit besitzen. Die Länge der Peptidketten darf wohl bis zu einem kritischen Wert absinken, der einem  $\eta_{sp}/c$  unter 0,6 und über 0,2 entspricht, ehe die Faser in der Reissfestigkeit fällt.

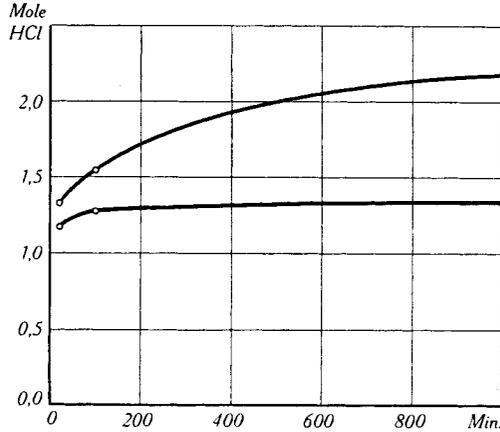


Fig. 5.

Säurebindung von Seidenfibroinen, die verschieden lange mit Natronlauge behandelt wurden.

Ordinate: Äquivalente gebundener Salzsäure pro 1000 g Fibroin.

Obere Kurve: Behandlung mit n. Lauge.

Untere Kurve: Behandlung mit 0,1-n. Lauge.

Im folgenden werden noch zwei Abschätzungen der Molekeldimensionen des Seidenfibroins in Lösung vorgenommen. Wenn native Cellulose schonend nitriert wird, so weisen die verdünnten Lösungen dieser Nitrats in geeigneten Lösungsmitteln, etwa in Butylacetat,  $\eta_{sp}/c$ -Werte auf, die mindestens eine Zehnerpotenz grösser sind als die von Seidenfibroin in Lithiumrhodanid. Man wird nicht fehl gehen, wenn man hieraus schliesst, die Peptidketten seien in der Seidenfaser viel kürzer als die Cellulosemolekel in der Baumwollfaser. Das Seidenfibroin hat also nicht ein Molekulargewicht von mehreren 100 000 wie die Cellulose, sondern ein viel niedrigeres, ähnlich wie die synthetischen Polyamide, die zum Nylon versponnen werden (Molekulargewicht ca. 10 000—20 000).

Die Daten über Viskosität und Strömungsdoppelbrechung von Lösungen hochmolekularer Stoffe werden heute in verschiedener Weise theoretisch ausgewertet. Eine Behandlungsart ist die, den Kolloidteilchen möglichst einfache geometrische Formen zuzuschreiben, etwa die Gestalten von langen Kreiszyllindern oder Rotationsellipsoiden. Es lässt sich dann nach den Gesetzen der Hydrodynamik berechnen, welche Dimensionen derartige Teilchen haben müssten, um die beobachteten Viskositäten und Orientierungswinkel bei der

Strömungsdoppelbrechung zu ergeben<sup>1)</sup>. In neuerer Zeit wird auch der Versuch gemacht, auf die Dimensionen komplizierter gebauter Teilchen zu schliessen, nämlich auf lockere Knäuel, die bei der Bewegung der Lösung mehr oder weniger durchspült werden<sup>2)</sup>. Nimmt man bei dem in Lithiumrhodanid gelösten Seidenfibroin gestreckte rotationselliptische Teilchen an, so kann man nach den ersterwähnten Autoren folgende Rechnungen durchführen. Aus dem  $\eta_{sp}/c$ -Wert 1,02 eines 75 Minuten entbasteten Fibroins berechnet sich nach *Burgers*<sup>3)</sup> das Verhältnis  $a/b$  ( $a$  = grosse Halbachse,  $b$  = kleine Halbachse der gestreckten rotationselliptischen Teilchen) zu 79<sup>4)</sup>. Hiemit ist die Schlankheit der Ellipsoide, aber noch nicht ihre Grösse festgelegt. Das Volumen der Teilchen kann aus der Strömungsdoppelbrechung ermittelt werden, und zwar aus dem Gang des Orientierungswinkels mit dem Strömungsgradienten.

Das Fibroin mit dem  $\eta_{sp}/c$ -Wert 1,02 wurde in Lithiumrhodanidlösung mit 53,88 g Salz pro 100 g zu der Konzentration 1,616 g pro 100 cm<sup>3</sup> gelöst. Die relative Viskosität der Lösung war 2,65, der absolute Wert 0,293 Poise. Den Orientierungswinkel zeigt Fig. 6.

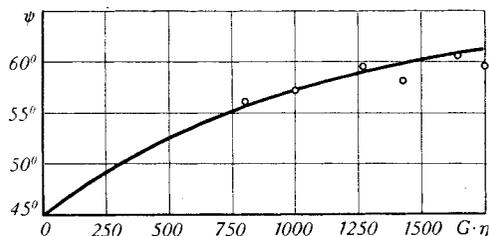


Fig. 6.

Orientierungswinkel  $\Psi$  von Seidenfibroin in Lithiumrhodanidlösung.  
Abszisse: Produkt aus Strömungsgradient  $G$  und absoluter Viskosität  $\eta$ .

Aus der Tangente der Kurve im Nullpunkt berechnet man nach *Sadron*<sup>5)</sup> das Volumen der Rotationsellipsoide zu 65 000 Kubik-Ångström. Unter Verwendung von  $a/b = 79$  ergibt sich  $a = 460$  Å und  $b = 6$  Å. Diese Berechnungsweise ergibt schlanke Teilchen, unter denen man sich isolierte Peptidketten vorstellen kann. Ihre Länge ist aber viel geringer als die von intakten Cellulosemolekeln.

Die hier kurz mitgeteilten Beobachtungen sind in ausführlicherer Form in der Diss. von *R. Strässle*<sup>6)</sup> beschrieben.

Universität Bern, Institut für allgemeine  
und spezielle organische Chemie.

<sup>1)</sup> Vgl. die Arbeiten von *Boeder*, *Burgers*, *Sadron*, *Peterlin* und *Stuart* usw.

<sup>2)</sup> Vgl. die Arbeiten von *W. Kuhn* aus den Jahren 1945 und 1946.

<sup>3)</sup> *J. M. Burgers*, Second Report on Viscosity and Plasticity, Amsterdam, 1938.

<sup>4)</sup> Die Berechnung setzt die Kenntnis des Volumens voraus, das 1 g Seide in der Lithiumrhodanidlösung einnimmt. Bei sehr vielen hochmolekularen Stoffen ist dieses partielle spezifische Volumen  $v$  gleich wie das Volumen von 1 g Substanz im festen Zustand. Bei der Berechnung von  $a/b$  wurde von dieser Regel Gebrauch gemacht und aus dem spezifischen Gewicht des Seidenfibroins (1,425)  $v$  zu 0,702 berechnet.

<sup>5)</sup> *J. Chim. phys.* **36**, 78 (1939).

<sup>6)</sup> Bern, 1946.