

작잠견피브로인 분말의 제조와 그 특성

권해용 · 이광길 · 이용우
농업과학기술원 잠사곤충부

Characterization of Tussah (*Antheraea pernyi*) Silk Fibroin Powder Prepared by HCl and NaOH

Hae Yong Kweon, Kwang Gill Lee and Yong Woo Lee
Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agriculture and Technology, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Antheraea pernyi silk powder was prepared by treatment with HCl and NaOH. The degree of hydrolysis of *Antheraea pernyi* silk fiber was examined. The morphology and structural characteristics of *Antheraea pernyi* silk powder were investigated by using SEM, FTIR and X-ray diffractometer. As the concentration of HCl and NaOH and treatment temperature increased, in general, the degree of hydrolysis of *Antheraea pernyi* silk fiber increased. On the other hand, the degree of hydrolysis of *Antheraea pernyi* treated with 3 N NaOH at 120°C for 24 hr was 70 wt%, which was lower than that of 90°C (83 wt%). The morphology of acid/alkali resistance fraction of *Antheraea pernyi* silk fibroin was transformed from fiber form to powdered one with an increase of hydrolysis. The conformation of *Antheraea pernyi* silk powder characterized by FT-IR spectrometer and X-ray diffractometer β -sheet and α -helix structure.

Key words : *Antheraea pernyi*, Silk powder, Morphology, Conformation

서 언

작잠 견사는 가잠 견사와 더불어 의류용 소재로 사용되어온 대표적인 곤충 유래 천연고분자이다. 작잠 견사와 가잠견사는 아미노산 조성 및 함량에 다소 차이가 있으며(Fraser & MacRae 1973, Kweon & Park 1994) 특히 결정구조를 이루고 있는 아미노산의 sequence가 작잠피브로인의 경우에는 ala-ala sequence로 이루어져 있으나(Shaw & Smith 1961) 가잠견피브로인의 경우에는 gly-ala sequence인 것으로 알려져 있다(Lucas et al. 1958). 이러한 아미노산 조성상의 차이에 의하여 작잠견피브로인은 가잠견피브로인에 비하여 산, 알칼리를 비롯한 화학약품에 대한 안정성이 뛰어나며 물리적 성질도 가잠견사와는 상이하다.

한편, 작잠견피브로인의 40% 이상을 차지하는 알라닌은 알콜대사를 촉진시켜 숙취를 해소시키며 알콜로 인한 간의 손상을 예방하는 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며(文 1987) 글라이신은 혈중 콜레

스테롤치를 낮추는 효과가 있고(Sugiyama et al. 1985) 타이로신은 치매증상의 치료 및 예방효과(岸本 1973)가 있는 것으로 알려져 있으므로 작잠견피브로인은 기능성 식음료 소재, 의약품 소재, 향장첨가소재 등으로 활용될 수 있는 가능성이 매우 높은 것으로 기대된다.

가잠견피브로인분말은 산가수분해법과 알칼리가수분해법으로 제조할 수 있으며 특히 산가수분해 분말은 기능성 식음료 또는 의약품 등의 소재로의 응용이 검토되고 있다(Chen et al. 1991, Lu et al. 1994, Choi & Nahm 1995, Kim & Bae 1997). 글라이신, 알라닌, 타이로신 등 기능성 아미노산이 풍부한 작잠견피브로인에서도 알콜대사 촉진, 혈중 콜레스테롤치 저하, 혈당강하, 치매 예방 및 치료 등의 효과가 있을 것으로 기대된다. 최근에 작잠견사를 염산으로 가수분해 후 유리아미노산 조성의 변화와 분자량분포(Lu et al. 1996) 및 산 가수분해반응의 활성화에너지 등에 대한 보고(Kweon et al. 1998)가 있으나

작잠견피브로인 분말의 conformation, morphology 등 기초적인 구조 특성에 대한 연구결과는 보고된 바 없다.

따라서, 본 실험에서는 작잠견피브로인의 응용 범위를 넓히기 위한 기초연구의 일환으로 염산 및 수산화나트륨의 농도, 온도, 시간 등의 처리조건에 따른 작잠견사의 가수분해율을 살펴보았으며, 산 및 알칼리 처리결과 얻어진 작잠견피브로인 분말의 구조 및 형태적 특성을 파악하기 위하여 적외선 분광분석, X-선 회절 분석, 주사전자현미경 관찰 등을 행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

단백질 분해효소(Alcalase 2.5L Novo Industri Co.)를 사용하여 효소정련법으로 작잠견사를 정련하여 염감이 13%인 정련견사를 실험재료로 사용하였다.

2. 가수분해

작잠견피브로인 분말을 얻기 위하여 염산과 수산화나트륨의 처리조건을 변화시켜가면서 작잠견피브로인의 가수분해율을 측정하였다. 처리조건에 따른 작잠견피브로인의 가수분해율은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{가수분해율(wt\%)} = \frac{\text{처리전후 작잠사의 건조 무게 변화}}{\text{처리전 작잠사의 건조 무게}} \times 100 \quad (1)$$

3. 표면형태 관찰

작잠견피브로인 분말의 형태를 관찰하기 위하여 시료를 금으로 코팅한 후 일본 Jeol사의 JSM 5410LV 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope)으로 관찰하였다.

4. 구조분석

산 및 알칼리 처리에 따른 작잠 분말의 구조 특성의 변화를 관찰하기 위하여 적외선 분광분석기(FTIR spectrometer M series, Midac Co., USA)와 X-선 회절 분석기(D-MAX-3 Diffractometer, Rigaku Co., Japan)을 이용하였다. X-선 회절분석은 30 kV, 20 mA의 조건하에서 Cu K α 단색광을 이용하여 0.5°/min의 속도로 2 θ =5~35°의 범위에서 측정하였으며 적외선 분광분석은 KBr pellet 법으로 행하였다.

결과 및 고찰

1. 작잠견사의 가수분해 곡선

견사단백질의 가수분해반응은 단백질 주쇄의 절단에 의하여 나타나며 산 또는 알칼리의 처리농도, 온도, 시간 등 처리조건에 의하여 가수분해 반응정도가 결정된다. 그림 1은 염산 및 수산화나트륨 수용액 처리 농도에 따른 작잠견사의 가수분해율을 나타낸 것이다. 1 M 농도의 염산으로 90°C에서 24시간 처리할 경우 작잠견사는 56 wt%의 가수분해율을 나타내었으며 염산 처리농도를 6 M로 높일 경우에는 78 wt%의 가수분해율을 보였다. 수산화나트륨으로 처리할 경우에도 가수분해율은 농도의존성을 나타내어 1 M 농도에서는 71 wt%의 가수분해율을 나타내었으나 6 M 농도에서는 88 wt%의 가수분해율을 보였다.

Kweon *et al.* (1998)의 보고에 의하면 작잠견사에 대한 염산 처리농도가 증가하면 작잠견사의 활성화 에너지값이 74.0 kJ/mol에서 62.0 kJ/mol로 감소한다고 보고하였다. 따라서 작잠견사에 대한 염산 및 수산화나트륨의 처리농도가 증가함에 따라 가수분해율이 증가하는 경향을 보인 것은 염산 및 수산화나트륨 수용액의 농도증가에 따른 작잠견사의 가수분해에 대한 활성화에너지가 감소함에 기인하는 것으로 생각된다.

그림 2는 3 M 염산 및 수산화나트륨 수용액을 실온에서 120°C까지 처리온도를 변화시켰을 때 가수분

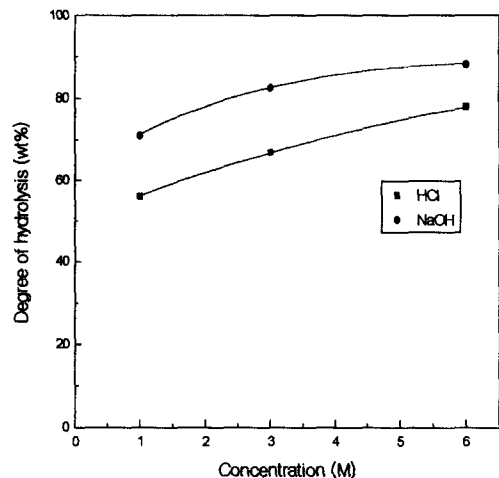


Fig. 1. Effect of concentration on the degree of hydrolysis of *Antheraea pernyi* silk fiber at 90°C for 24 hrs.

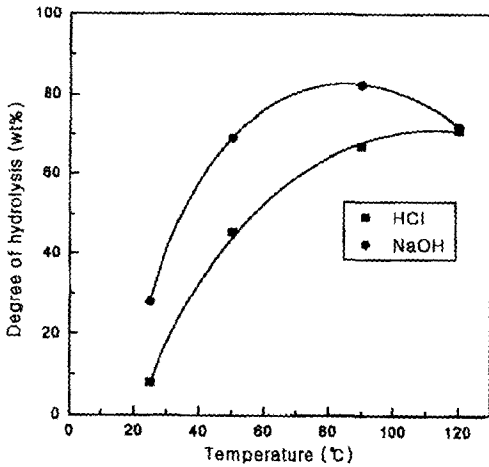


Fig. 2. Effect of temperature on the degree of hydrolysis of *Antheraea pernyi* silk fiber at 3 N for 24 hrs.

해율을 도실했 것이다. 실온(25°C)에서 산 또는 알칼리로 작잠견사를 처리하면 작잠견사는 거의 용해가 되지 않는 것으로 나타났으나 염산의 처리온도를 90°C로 높이면 작잠견사의 가수분해율은 67 wt%로 크게 증가하였으며 수산화나트륨의 경우에도 83 wt% 이상의 가수분해율을 나타내었다. 특이한 현상은 고온(120°C)에서 작잠견사를 3 N 수산화나트륨 수용액에 24시간 동안 침지하였을 경우에는 가수분해율이 70 wt% 정도로 떨어졌으며 이는 90°C에서의 가수분해율(83 wt%) 보다 낮은 값이다.

단백질을 알칼리로 처리할 경우 lysinoalanine, ornithinoalanine 등 가교성 아미노산잔기가 생성되는 것으로 알려져 있다(Bohak 1964, Mellet & Louw 1965, Robson & Zaidi 1967, Ziegler 1967). Lysinoalanine 잔기는 cystine 잔기나 serine 잔기에서 β-elimination 반응에 의하여 -OH 기가 탈락하면서 생성된 dehydroalanine 잔기가 부근의 lysine 잔기와 결합하여 생성되며, ornithinoalanine 잔기는 arginine의 분해산물인 ornithine과 dehydroalanine의 결합에 의하여 생성된다. 따라서 고온에서 고농도의 수산화나트륨 수용액으로 처리할 경우 작잠견사의 가수분해율이 다소 떨어지는 값을 나타낸 것은 알칼리처리에 의하여 lysinoalanine 또는 ornithinoalanine 가교의 생성에 기인하는 현상으로 간주된다.

그림 3은 여러 농도의 염산수용액 처리시간에 따른 작잠견사의 가수분해율을 도실했 것이다. 염산으로 5시간 동안 처리할 경우에 가수분해율은 거의 평

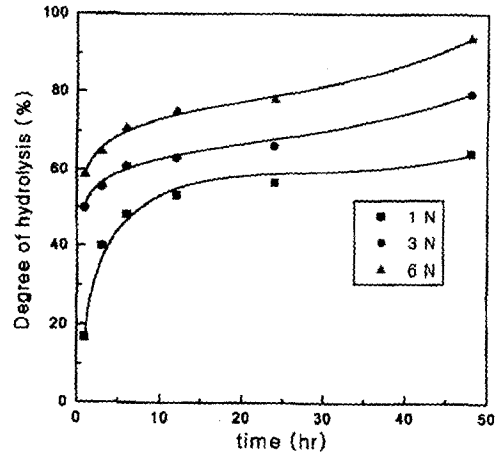


Fig. 3. Hydrolysis curve of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with various concentrations of HCl at 90°C.

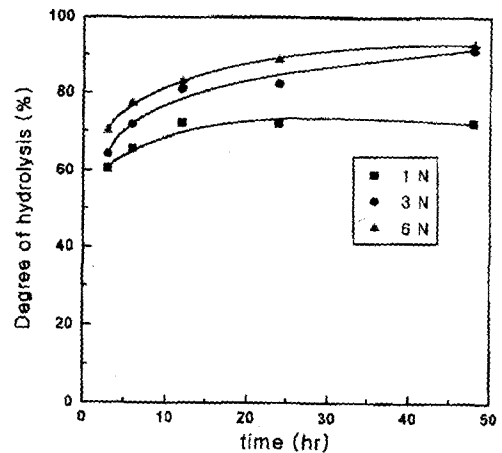


Fig. 4. Hydrolysis curve of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with various concentrations of NaOH at 90°C.

형에 도달하여 1 M인 경우에는 48 wt%의 가수분해율을 보였으며 3 M인 경우에는 60 wt%, 6 M인 경우에는 72 wt%의 가수분해율을 보였다. 수산화나트륨으로 처리한 경우(그림 4)에는 처리시간 1시간이내에 대부분 용해된 후 완만하게 가수분해율이 증가하다가 평형에 도달하였다.

염산 또는 수산화나트륨 수용액으로 작잠견사를 처리할 경우 작잠견사의 가수분해율은 산 및 알칼리의 농도, 온도 및 시간에 대한 의존성을 나타내었으며 특히 고온, 고농도의 처리조건에서 수산화나트륨을 처리할 경우 가교성 아미노산 잔기의 생성으로 인한 가수분해율의 감소를 수반하였다. 전반적으로 작잠견

사의 산에 대한 저항성이 알칼리에 대한 저항성보다 강한 결과를 보여주었다.

2. 작잠분말의 형태

작잠견사를 염산으로 처리한 후 작잠견피브로인의 형태를 육안으로 관찰한 결과 가수분해율이 증가함에 따라 작잠견사는 섬유상에서 분말상으로 변하는 것을 알 수 있었으므로 가수분해율이 작잠견사의 표면형태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 주사전자현미경 관찰을 행하여 그 결과를 그림 5에 나타내었다. 가수분해율이 20 wt% 미만의 경우에는(그림 5(a)) 섬유가닥이 부분적으로 깨어지기는 하지만 섬유상의 형태

를 유지하였으나 가수분해율이 50 wt% 이상일 경우에는 육안으로 관찰할 경우 작잠견사의 형태는 섬유상에서 분말상으로 바뀌었으며 이를 주사전자현미경으로 관찰한 결과 산가수분해 반응에 의하여 섬유축에 수직인 방향으로 섬유가닥이 깨어져 섬유축방향의 길이가 10 μm 내외인 작고 미세한 조각의 집합체로 이루어져 있었으며 가수분해율이 증가할수록 조각난 작잠견사의 섬유축방향으로의 길이가 짧았다.

작잠견사를 수산화나트륨으로 처리하여 얻은 알칼리처리 분말은 산처리 분말과는 달리 분말간의 뭉침성, 분말의 딱딱한 정도 등에 차이가 있었으며 주사전자현미경으로 분말의 표면형태를 관찰하여 그림 6



Fig. 5. SEM photographs of HCl treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 17.7 wt%, (b) 49.5 wt%, and (c) 78 wt%.

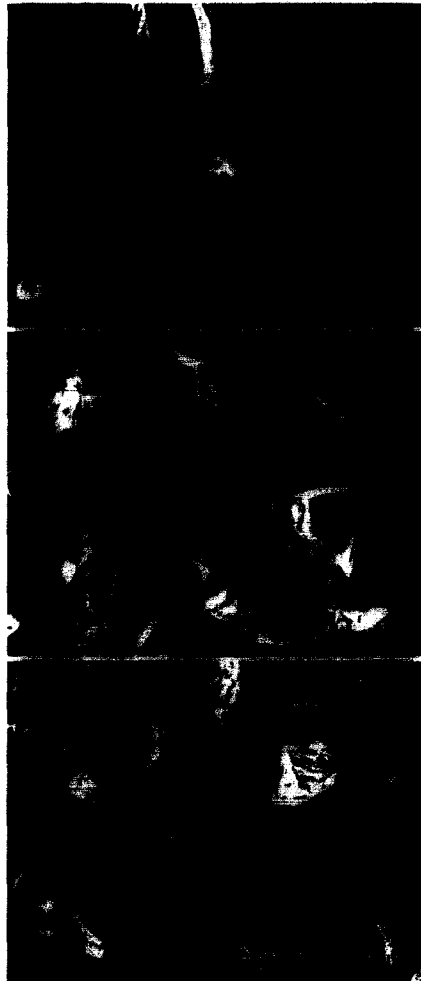


Fig. 6. SEM photographs of NaOH treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 40.1 wt%, (b) 49 wt %, and (c) 69.4 wt%.

에 나타내었다. 가수분해율이 40 wt% 정도인 작잠견사는 200 μm 정도의 미세한 짧은 섬유들의 집합체 형태를 띄고 있었으나 가수분해율이 50 wt% 이상으로 증가하면 부정형의 입자형태로 나타났다.

산처리 작잠분말은 섬유축과 수직인 방향으로 전사가 절단되면서 축방향의 길이가 짧고 미세한 입자상으로 나타났으나 알칼리처리 작잠분말의 경우에는 가수분해율이 증가하면 섬유축 방향으로 절단되다가 부정형의 입자형태로 바뀌었다. 수산화나트륨 수용액 처리에 의하여 얻어진 작잠분말의 형태가 부정형 입자상을 띄는 현상은 알칼리처리에 의하여 lysinoalanine 또는 ornithinoalanine 가교의 형성에 기인하는 것으로 생각된다. 산처리 분말 및 알칼리처리 분말간의 형태적 차이는 X선 회절 등 구조특성에 영향을 미칠 것으로 추정되며 작잠분말의 보습성, 뭉침성 등 분말 특성에 영향을 미칠 것으로 생각되므로 비섬유용 소재로 작잠견피브로인 분말을 응용하고자 할 경우에는 분말의 제조방법을 충분히 고려하여야 할 것이다.

3. 작잠분말의 구조 특성

단백질의 아마이드기(amide group)와 관계되는 적외선 분광흡수대는 단백질의 고차구조를 반영하는 것으로 알려져 있으므로 폴리펩타이드의 구조특성을 구명하는 연구 기법의 하나로 적외선분광분석법이 널리 이용되고 있다. 따라서 염산 또는 수산화나트륨 처리 작잠견피브로인의 구조특성을 살펴보기 위하여 KBr pellet법에 의하여 작잠분말의 적외선 분광분석을 행하였으며 그림 7과 8은 염산 처리 작잠견피브로인과 수산화나트륨 처리 작잠견피브로인의 적외선 분광곡선을 나타낸 것이다.

그림 7에서 보는 바와같이 염산처리 작잠분말은 β -sheet 구조의 특성을 반영하는 것으로 알려져 있는 1635 cm^{-1} (amide I), 1532 cm^{-1} (amide II), 1226 cm^{-1} (amide III) 및 700 cm^{-1} (amide V)의 흡수대와 β -sheet 구조와 연관된 작잠견피브로인의 ala-ala sequence에 기인하는 960 cm^{-1} 의 흡수대가 뚜렷하게 나타났으며 α -helix 구조에 기인하는 616 cm^{-1} (amide V)의 흡수대도 뚜렷하게 나타나고 있음을 알 수 있다(Miyazawa & Blout 1961). 가수분해율이 증가함에 따라 적외선 분광곡선상의 β -sheet 구조와 α -helix 구조에 기인하는 아마이드기의 흡수대가 매우 날카로워졌으나 가수분해율의 변화에 따른 적외선 분광곡선상의 큰 차이는 발견되지 않았다. 또한 수산화나트륨으로 처리하여 얻은 분말의 적외선 분광곡선의 경우(그림

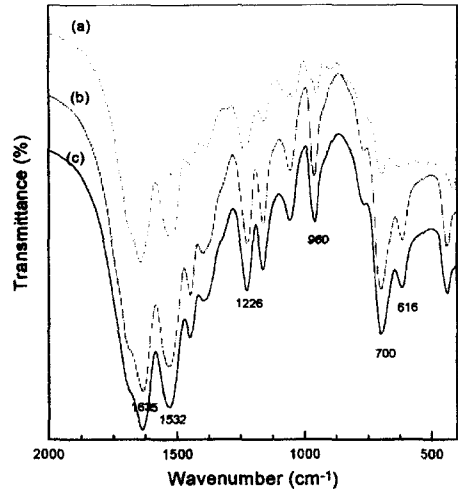


Fig. 7. IR spectra of HCl treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 35 wt%, (b) 51.5 wt%, and (c) 82.6 wt%.

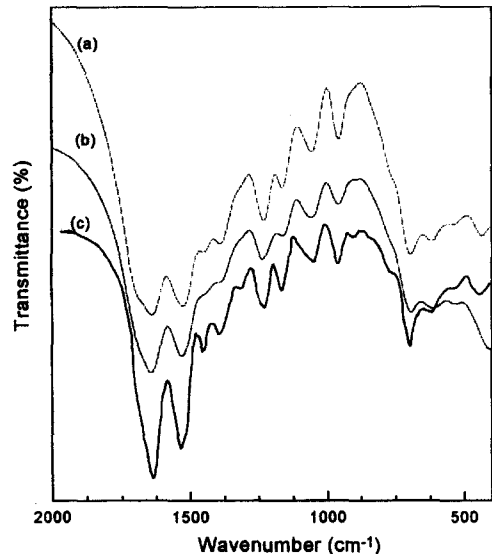


Fig. 8. IR spectra of NaOH treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 30.6 wt%, (b) 60 wt%, and (c) 64.7 wt%.

8)에도 산처리 작잠분말의 적외선 분광곡선과 유사하게 나타났으며 산 및 알칼리 처리 작잠분말의 주요 conformation은 β -sheet 구조와 α -helix 구조인 것으로 확인되었다.

염산처리 작잠분말의 X선 회절곡선은 그림 9와 같다. 가수분해율이 35%인 작잠분말은(그림 9(a))

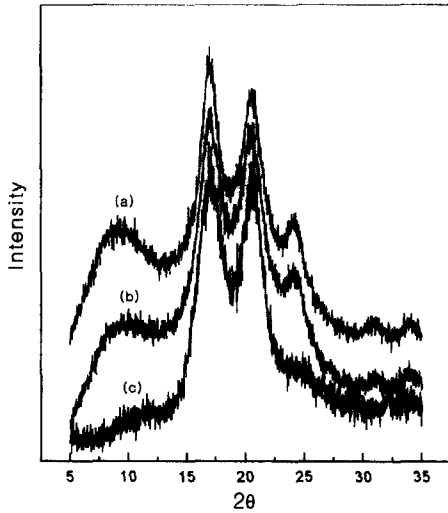


Fig. 9. X-ray diffractograms of HCl treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 35 wt%, (b) 51.5 wt%, and (c) 82.6 wt%.

3.69 Å에서 α -helix 구조에 기인하는 회절피크와 9.66, 5.23, 4.32, 2.89 Å에서 β -sheet 구조에 기인하는 회절 피크가 뚜렷하게 나타났으나 가수분해율이 80 wt% 이상으로(그림 9(c)) 증가하면 β -sheet 구조에 기인하는 5.19 Å와 4.30 Å의 회절피크만 나타났다. 이러한 경향은 알칼리처리 작잠 분말(그림 10)의 X-선 회절곡선에서도 관찰되었다. 작잠견사의 주요 아미노산인 알라닌과 글라이신은 α -helix 구조와 β -sheet 구조를 형성하려는 성질이 강하므로 이는 작잠 분말의 적외선 분광분석과 X-선 회절분석의 결과와 잘 부합하는 결과를 보였다.

염산 또는 수산화나트륨 처리에 의하여 작잠견사는 비결정영역부터 먼저 가수분해될 것으로 생각되므로 가수분해율이 30 wt% 부근에서는 배향성과 결정성이 강한 부분만 남아있게 되므로 그림 9와 10에서 보는 바와같이 날카로운 X-선 회절피크를 나타내고 있다. 가수분해율이 높을 경우에는 5.23 Å와 4.32 Å에서 β -sheet 구조에 기인한 특성 피크가 뚜렷하게 나타났으나 α -helix 구조를 반영하는 3.69 Å의 회절 피크는 약화되어 사라지고 있다. 산처리 작잠 분말의 sheet간 면간격은 5.20 Å 부근의 값을 나타내어 알칼리처리 작잠분말(5.13 Å) 보다 다소 sheet간 면간격이 넓은 것으로 나타났으나 폴리알라닌(5.27 Å), native 작잠필름(5.30 Å), [Ala-Gly]_n에서 알라닌간의 sheet간 면간격(5.17 Å)과 유사한 값을 나타내었다

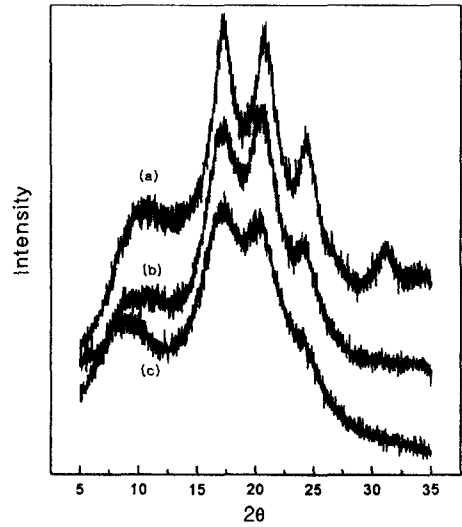


Fig. 10. X-ray diffractograms of NaOH treated *Antheraea pernyi* silk powder according to the degree of hydrolysis. (a) 30.6 wt%, (b) 60 wt%, and (c) 64.7 wt%.

(Arnott *et al.* 1967, Tsukada 1986, 馬越 等 1973). 특히 가수분해율이 높을 경우 알칼리처리 작잠분말의 X-선 회절곡선(그림 10(c))이 산처리 작잠분말(그림 9(c))에 비하여 회절 피크의 형태가 둔한 것은 작잠 분말의 주사전자현미경 관찰 결과(그림 5와 6) 즉, 알칼리처리 작잠분말은 일정한 배향성이 없는 부정형 분말이지만 산처리 분말은 섬유축 방향으로의 배향이 뚜렷하게 나타나는 현상이 반영된 것으로 생각된다.

적 요

염산 또는 수산화나트륨 수용액의 농도, 온도, 시간 등 처리조건에 따른 작잠견사의 가수분해율을 측정하였으며 산처리 작잠분말과 알칼리처리 작잠분말의 형태 및 구조특성을 주사전자현미경, 적외선 분광 분석, X-선 회절분석 등의 방법으로 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 작잠견사에 대한 염산 및 수산화나트륨의 처리 농도와 온도가 높을수록 또한 처리시간이 길어질수록 작잠견사의 가수분해율은 증가하는 경향을 나타내었으나 고온, 고농도의 조건하에서 수산화나트륨을 작잠견사에 처리하는 경우 작잠견사의 가수분해율이 오히려 떨어지는 경향을 보였다.

2. 산 및 알칼리 처리에 의하여 제조된 작잠분말의 형태는 용해도가 30 wt% 부근에서는 섬유상의 형태

를 유지하였으며 산처리 분말의 경우 용해도가 증가함에 따라 섬유축 방향으로 조각난 미세한 입자형태를 나타내었으나 알칼리처리 분말의 경우에는 부정형의 입자형태를 나타내었다.

3. 적외선 분광분석 결과 작잠분말은 처리조건과 무관하게 β -sheet 구조의 특성을 반영하는 1635, 1532, 1226, 960, 700 cm^{-1} 흡수대와 α -helix 구조의 특성을 반영하는 616 cm^{-1} 흡수대가 뚜렷하게 나타나 작잠분말의 주요 conformation은 β -sheet 구조와 α -helix 구조임을 확인하였다.

4. X-선 회절분석 결과 가수분해율이 낮은 경우 (35 wt%)에는 β -sheet 구조와 α -helix 구조에 기인하는 회절 피크가 뚜렷하게 나타났으나 가수분해율이 80 wt% 이상으로 증가하면 $2\theta=17.1^\circ$ 및 20.0° 의 회절피크만 강하게 나타났다.

감사의 글

본 논문은 '98 농촌진흥청 박사후 연수과정 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Amott, S., S. D. Dover, A. Elliot (1967) *J. Mol. Biol.*, **30**: 201.
- Bhat, N. V. and G. S. Nadiger (1980) Crystallinity in Silk Fibers: Partial Acid Hydrolysis and Related Studies. *J. Appl. Polym. Sci.*, **25**: 921-932.
- 文 豊 (1987) 마우스의 급성알코올성간장애에對するアラニンとオルニチン投與による保護作用の機序. 慈惠醫大誌, **102**: 1231-1241.
- Chen, K., R. Takano, K. Hirabayashi (1991) Production of soluble fibroin powder by hydrolysis with hydrochloric acid and physical properties. *J. Seric. Sci., Jpn.*, **60**(5): 358-362.
- Choi, H. K. and J. H. Nahm (1995) Preparation and Structural Characterization of Silk Fibroin Powder and Film. *Korean J. Seric. Sci.*, **37**: 142-153.
- Egashira, T., Y. Wada, F. Takayama, Y. Kudo, T. Kono, S. Goto, and Y. Yamanaka (1992) Effects of Gomisho and Shosaikoto on lipid peroxidation of rat brain. *Folia Pharmacol. Japan*, **100**: 345.
- Fraser, R.D.B. and T.P. MacRae (1973) "Conformation in Fibrous Proteins", Academic Press, New York and London, p 301.
- 岸本 康 (1973) "生命を作る物質", 講談社, 東京. pp 220-226.
- Kim, N. J. and D. G. Bae (1997) Hydrolysis of Silk Fibroin on Alkali Conditions. *Korean J. Seric. Sci.*, **39**: 197-202.
- Kweon, H. and Y. H. Park (1994) Structural Characteristics and Physical Properties of Wild Silk Fibers; *Antheraea pernyi* and *Antheraea yamamai*. *Korean J. Seric. Sci.*, **36**: 138-146.
- Kweon, H., K. G. Lee, Y. W. Lee, J. H. Yeo, and I. C. Um (1998) Hydrolysis behaviour of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with HCl. *Korean J. Seric. Sci.*, **40**: 163-168.
- Lu, X., D. Akiyama, and K. Hirabayashi (1994) Production of silk powder and properties. *J. Seric. Sci., Jpn.*, **63**(1): 21-27.
- Lu, A., M. Arai, and K. Hirabayashi (1996) Production of tussah silk powder by hydrochloric acid hydrolysis. *J. Seric. Sci. Jpn.*, **65**: 392-394.
- Lucas, F., J.T.B. Show, and S. G. Smith (1958) *Adv. Protein Chem.*, **13**: 107.
- 馬越 淳, 笠井暢民, 角戸正夫 (1973) 高分子化學, **30**: 649.
- Mead, J. (1976) "The Unsaturated and Polyunsaturated fatty acid in Health and Disease", Thomas, p 154.
- Mellet, P. and D. F. Louw (1965) *Chem. Commun.*, **17**: 396.
- Miyazawa, T. and E. R. Blout (1961) The Infrared Spectra of Polypeptides in Various Conformations: Amide I and II Bands. *J. Am. Chem. Soc.*, **83**: 712-719.
- Otterburn, M. S. (1977) "The Chemistry and Reactivity of Silkv" in "Chemistry of Natural Protein Fibers" (R. S. Asquith ed.) Plenum Press, pp. 53-80.
- Robson, R. M. and Z. H. Zaidi (1967) *J. Textile Inst. Trans.*, **58**: 267.
- Shaw, J. T. B. and S. G. Smith (1961) Comparative Studies of Fibroins IV. The Composition and Structure of Chemically Resistant Fractions from some Silk Fibroins. *Biochim. Biophys. Acta*, **52**: 305-318.
- Sugiyama, K., Y. Kushima, and K. Muramasu (1985) Effect of sulfur-containing amino acid and glycine on plasma cholesterol level in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.*, **49**: 3455-3461.
- Tsukada, M. (1986) Structural Changes Induced in Tussah Silk (*Antheraea pernyi*) Fibroin Films by Immersion in Methanol. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **24**: 1227-1232.
- Zigler, K. (1967) *Nature(Lond.)* **214**: 404.