

解 説

解説

熱処理による多糖水溶液の会合状態変化と それに基づく物性発現

高橋正人, 滝沢辰洋, 畠山立子, 畠山兵衛

(受取日: 2003年5月23日, 受理日: 2003年5月30日)

Changes of the Structure and Physical Properties of Polysaccharide Aqueous Solutions by Annealing

Masato Takahashi, Tokihiro Takizawa, Tatsuko Hatakeyama, and Hyoe Hatakeyama

(Received May 23, 2003; Accepted May 30, 2003)

Changes of the structure and physical properties of polysaccharide aqueous solutions by annealing are discussed based on the experimental results of viscoelastic measurements and thermal analysis. In the annealing process of polysaccharide aqueous solutions, dynamic modulus increased as functions of annealing time and temperature suggesting the change of molecular association. It was found that the solution annealed in the sol state tends to form hydrogels. Furthermore it was shown that the amount of non-freezing water in the system is closely related to the molecular association of polysaccharides and gelation characteristics. In this study, the structural change of polysaccharides, such as xanthan gum and hyaluronan, in the annealing process is discussed based on the experimental results.

1. はじめに

生体高分子の多くは高分子電解質であり、イオン間で静電的に相互作用する。さらに、生体高分子は水素結合の形成、疎水性相互作用などによりヘリックスなど様々な高次構造を形成し多様な機能を発現する。しかもそれらは生体高分子間の様々な相互作用の微妙なバランスの結果として生じるため、構造的にわずかの差しかなくても、正反対ともいえる性質を示すことがあるばかりか、同じ物質であっても熱履歴の相違により全く異なる性質を示すことが知られている。^{1,2)}

従って、生体高分子の物性を研究する上では、熱履歴の相違によりそれらがどのような物性を示すかを明らかにするとともに、その物性が生体高分子の構造とどのように関

連しているかを明らかにする必要がある。

これまで我々は、多糖/水系の物性と構造の関係について調べてきた。その結果、我々は水溶液をゾル状態で熱処理した後冷却することにより、これまで単独ではゲル化しないとされてきたザンタンガム水溶液がゲル化することを見出した。³⁻¹⁰⁾ ザンタンガムは微生物が生産する多糖の一種であり、単独ではゲル化しない多糖であると考えられてきたため、主に食品の増粘剤として利用されてきた。¹⁾ 応用上の見地からも我々の発見は、多糖の利用範囲を広げるものと考えられる。その後我々は、他の多糖についても同様な実験を行い、従来単独ではゲル化しないと考えられてきたヒアルロンタンなどでも、溶液を熱処理することによりゲル化することを見出した。¹¹⁾ このことは我々の発見が特定の多糖に限らず、普遍的な現象であることを示していると考え

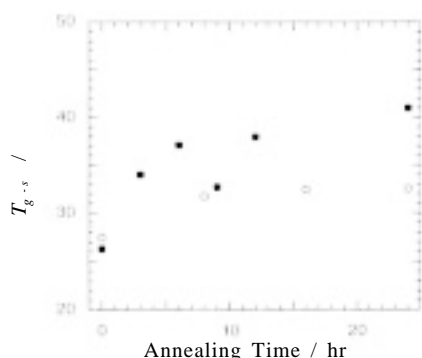


Fig.1 Relationship between gel-sol transition temperature T_{g-s} and annealing time at 40 °C for 1 wt% (○) and 2 wt% (●) xanthan/water systems.

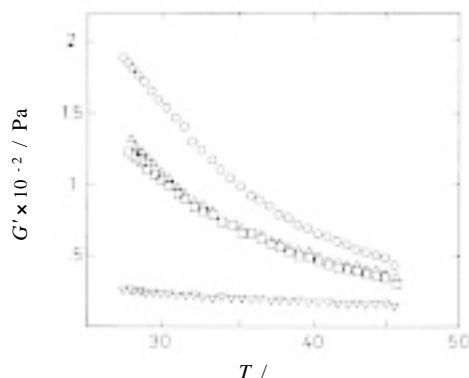


Fig.2 Temperature dependence of storage modulus G' at 0.5 Hz for the non-annealing aqueous solution (○) and the gels obtained by gelation at 5 (●), 6 (○), 9 (●) and 24 (○) h measured at heating process from room temperature to 46 °C.

られる。

本稿では、主としてゼランタンとヒアルロナンに関する我々のこれまでの研究結果を解説し、それにより多糖水溶液の構造が熱履歴によってどのように変化するか、また、溶液構造の変化にともなって多糖水溶液の物性がどのように変化するかを明らかにすることを目的とする。

2. 多糖水溶液の熱処理によるゲル化

水溶液を 40 °C で一定時間熱処理した後 5 °C で 24 時間冷却することによりゲルを調製し、得られたゲルの温度を一定速度で昇温させながらゲル中に埋め込んだ重さ約 0.5 mg のスチール球の高さを測定してゲルからゾルへ移行する温度、

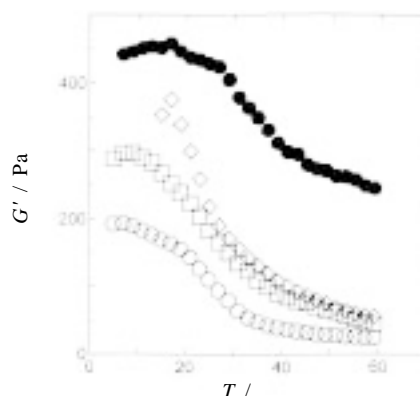


Fig.3 Temperature dependence of G' of 1 wt% hydrogels obtained from the solutions annealed at 40 (○), 50 (●) and 60 (○) °C for 24 h and 2 wt% hydrogel obtained from the solution annealed at 40 °C for 24 h (●) measured in heating process from 5 to 60 °C.

すなわちゲル - ゾル転移温度を測定した。Fig.1に落球法で測定したゼランタン水溶液のゲル - ゾル転移温度の熱処理時間依存性を示す。^{4,10)} 熱処理時間が增加するにつれてゲル - ゾル転移温度が高くなっていることが分かる。

Fig.2, Fig.3は熱処理条件の異なる溶液から得られたゲルの粘弾性を示す。^{8,9)} Fig.2は 40 °C で熱処理した熱処理時間の異なるゼランタン水溶液を 5 °C で 24 時間冷却することにより得られたゲルの粘弾性を示す。Fig.3は、濃度、熱処理温度の異なるゼランタン水溶液を 24 時間熱処理した後 5 °C で 24 時間冷却することにより得られたゲルの粘弾性を示す。Fig.2, Fig.3より熱処理時間、熱処理温度の増加と共にゲルの粘弾性が高くなり強固なゲルが得られることが分かる。

これらのことは水溶液をゲル化することによりゲル化可能な構造変化が溶液中で起こり、熱処理時間、熱処理温度の増加に伴って熱力学的に安定なゲルを形成するようになることを示している。

3. 熱処理による溶液の粘弾性変化

熱処理により多糖水溶液のゲル化能を変える溶液の構造変化が起こっていることが分かった。この変化がどのようなものであるかを明らかにするため、溶液の粘弾性変化を測定した。Fig.4に熱処理過程における水溶液の粘弾性変化を示す。⁹⁾ 熱処理の過程において徐々に溶液の粘弾性が増加していることが分かった。このことは多糖分子鎖どうしの絡み合いの増加や、多糖分子鎖間での 2 重ヘリックスの形成による架橋点形成など、溶液の粘弾性を増加させるような構造変化が起こっていることを示している。本測定を行

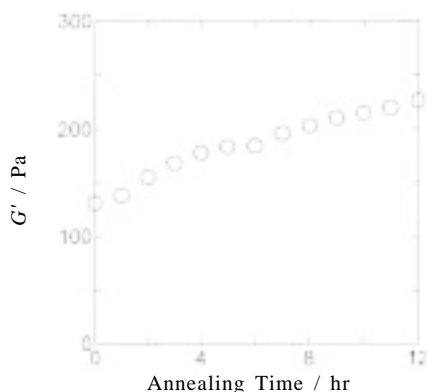


Fig.4 Annealing time dependence of G' of a 2 wt% xanthan aqueous solution in the annealing process at 40 .

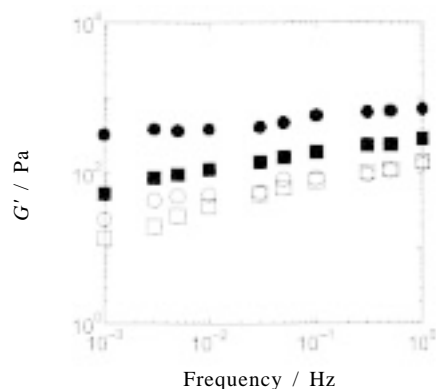


Fig.6 Frequency dependence of G' of 2 wt% non-annealed solution (), () and 2 wt% solution annealed at 40 for 24 h (), () measured at $T = 40$ and 5 , respectively.

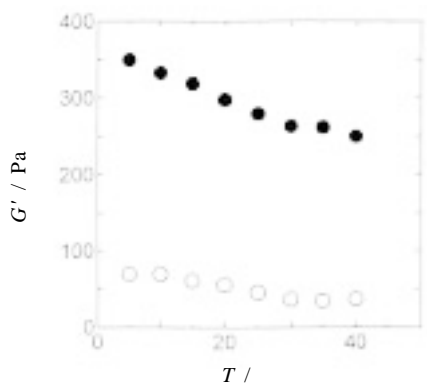


Fig.5 Temperature dependence of G' of 2 wt% non-annealed solution () and 2 wt% solution annealed at 40 for 24 h () measured in cooling process from the annealing temperature $T = 40$ to the gelation temperature $T = 5$.

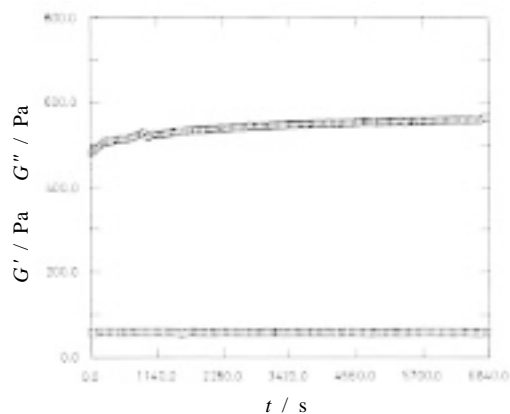


Fig.7 Time evolution of G' () and G'' () of xanthan aqueous solution annealed at 40 for 48 h during gelation process at 5 .

った温度は40 という低温であり、ヘリックスコイル転移温度よりも低いことから、新たなヘリックス形成は無いと考えられ、新たなからみ合い相互作用の増加による粘弾性変化である可能性が示唆された。その後、熱処理温度からゲル化温度である5 まで、試料温度を降温させる過程で測定した溶液の粘弾性をFig.5に示す。⁹⁾ 熱処理していない試料に対して行った全く同じ降温過程での粘弾性変化に比べ、熱処理した試料の方がはるかに大きな粘弾性値を示し、しかも降温に伴う粘弾性の増加値も大きい。最終的には、5 に達した時点でほぼゲル状態の粘弾性値に近い値を示した。Fig.6に40 と5 における熱処理前後の水溶液の粘弾性を示す。⁹⁾ 熱処理試料の5 におけるゲル化過程での粘弾

性変化をFig.7に示す。⁸⁾ ゲル化の初期にわずかな粘弾性増加が観測された。

4. 熱処理過程における不凍水の挙動

水溶液を熱処理することによって得られたゲルに対してDSC測定を行って、ゲル-ゾル転移温度を測定しようと試みたが、高感度型(セイコーDSC6200)、超高感度型(セイコーDSC120)いずれのDSC測定でもDSC曲線上にゲル-ゾル転移に相当する変化を見出すことは出来なかった。それどころか、水溶液の熱処理によって得られたゲルに限らず、ジェランガムのように特別な処理を施さことなくゲル化するとされている多糖であっても、昇温過程における

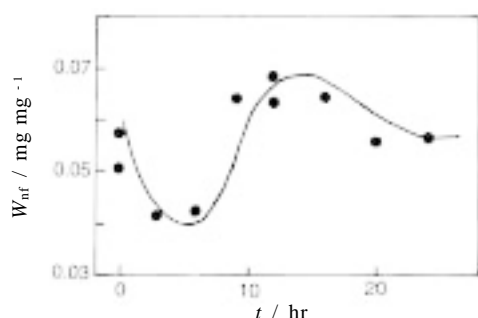


Fig. 8 Relationship between the amount of non-freezing water W_{nf} and annealing time at 40 for a 1 wt% xanthan aqueous solution.

DSC 測定を行ってゲル - ゾル転移温度を測定してみると、落球法測定で得られたゲル - ゾル転移温度を過ぎても何も観測されないことが多い。このことは多糖のゲルが多くの場合、水素結合のような弱い結合によって架橋点形成がなされていることを示唆している。そこで我々は、熱分析を行って水溶液中に含まれる水の状態を調べることにより、溶液の構造変化を調べる手がかりとした。多糖分子鎖間の相互作用には水が重要な役割を果たすと考えられている。¹²⁻¹⁵⁾ 多糖水溶液中に含まれる水は主として3種類の水に分類できることが知られている。すなわち、多糖分子鎖に強く結合し、結晶化することのない不凍水、多糖分子鎖との相互作用により多糖分子鎖に束縛されており、結晶化するが、通常の水に比べて結晶化温度が低い凍結束縛水、通常の水と同様、多糖分子鎖の影響をほとんど受けていない自由水である。ザンタンやヒアルロンンについて水溶液のDSC測定を行った結果、系内に凍結束縛水の存在は確認できなかった。^{4,11)} そこで、系内に存在する水の内、不凍水の割合を調べることにより構造変化に関する手がかりを得ることにした。測定および解析手順は以下のとおりである。水溶液を10 min⁻¹で-70まで冷却し、系内の水を凍らせた後、同様に10 min⁻¹で昇温しながら水の融解ピークを測定した。融解ピークの面積の測定から、系内に含まれる水1g当たりの融解エンタルピーを測定した。得られた融解エンタルピーは、1gの水が全て結晶化したとしたときの値333 J g⁻¹よりも低いものであった。これは系内の一部の水が不凍水として存在し、結晶化していないためと解釈できる。そこで、融解エンタルピーの測定値を ΔH_m として、系内の水1gあたりに含まれる不凍水の量を、

$$\text{不凍水量 (g/g)} = (333 - \Delta H_m) / 333 \quad (1)$$

により求めた。熱処理の途中、熱処理を中断して測定した不凍水量の熱処理時間依存性をFig.8に示す。^{4,7,10)} 熱処理の

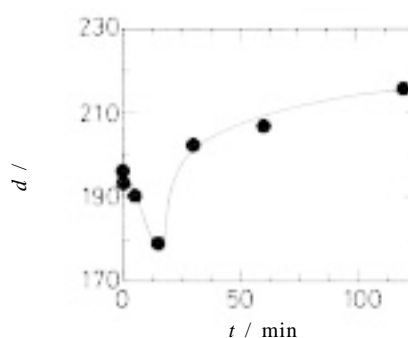


Fig. 9 The long period d obtained from SAXS scattering peaks as a function of annealing time at 92 for 2 wt% xanthan hydrogel.

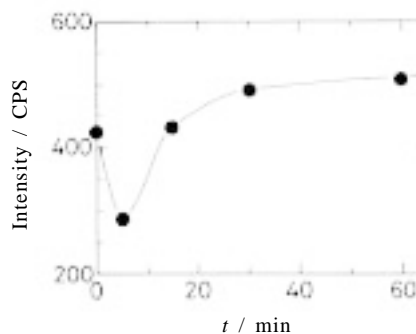


Fig. 10 The variation in the intensity of the SAXS scattering peak as a function of annealing time at annealing temperature of 92 .

初期に系内の不凍水量が一時的に大きく減少した後、減衰振動的に変化しながら一定値へと近づくことがわかった。不凍水が多糖分子鎖の構造形成に関わって、多糖分子鎖が形成する構造中に取り込まれた水であるとするなら、熱処理の初期における不凍水の減少は、熱処理の初期において何らかの構造破壊が起こっていることを意味する。実際、小角X線散乱による測定では、Fig.9, Fig.10に示すように散乱ピークから求めた長周期の値が熱処理の初期に一度減少し、それと共に、散乱強度の値も低下した。⁵⁾ その後両方の値は共に増加に転じたが、これらのことは先の解釈とも符合していると考えられる。

5. 熱処理過程における水溶液の構造変化

実験的に得られた以上の知見から、我々は、熱処理過程における水溶液の構造変化を以下のように推定した。すなわち、溶液調製を行った直後の水溶液内では、多糖分子鎖

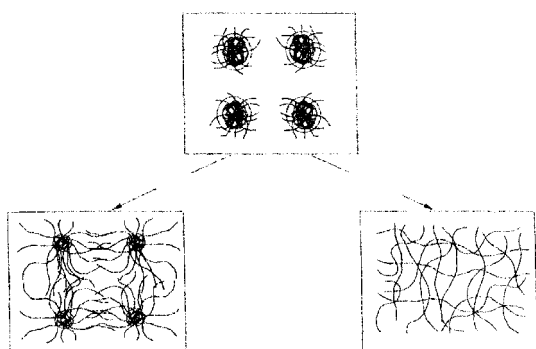


Fig.11 Schematic diagram showing the structural change during the annealing the solution in sol state.

が会合体形成をして、それら会合体が独立して懸濁した状態にあり、系全体に及ぶ架橋構造の形成は起こっていないと考えられる。ところがこのような状態にある水溶液を穏やかに熱処理してやることにより徐々にではあるが、会合体の解離が進む。会合体に取り込まれていた多糖分子鎖が会合体から離れて一度自由になれば、水溶液中での拡散により水溶液の均一化が起こる。こうして水溶液の均一化が実現された後に多糖分子鎖同士の新たなからみ合いの形成が起こり、これが水溶液の粘弾性の増加を引き起こしたと考えられる。水溶液の均一化によって系全体にわたるからみ合い構造が実現するとその後の冷却過程により、熱処理前に会合体を形成していたのと同じ、何らかの相互作用によりゲル化が起こったものと考えられる。熱処理温度が異なると、ゲルの粘弾性も変化する理由は、熱処理温度によって、会合体の解離のし易さが異なるために、最終的に達成される系の均一度に差が生じるためと考えられる。会合体の解離と均一化の様子を模式的にFig.11に示す。⁹⁾ 会合体の形成や、ゲル化の際に架橋点の形成を引き起こす相互作用としては、熱分析で捕らえることの出来ない弱いものであって、しかも、比較的低い温度で切断の起こるものでなければならない。このような相互作用として水素結合の形成が最も相応しいように思われる。

上記の解釈を採用することにより、熱処理の初期に起こっている構造の破壊は理解できる。しかし、熱処理の過程で起こっている不凍水量の減衰振動的な変化はどのように理解したら良いのか。このような問に答えるために、我々は、現象論的な議論を行って、多糖分子鎖に吸着している不凍水量 n を記述する現象論的方程式を導いた。⁷⁾ 方程式を導くに当たって以下の仮定を置いた。

多糖分子鎖による構造形成は、多糖分子鎖の密度がある程度高いところでのみ可能であると考えられるので、多糖分子鎖には不凍水の吸着が、可能な繰り返し単位

とそうでない繰り返し単位がある。不凍水の吸着が可能な繰り返し単位とは、多糖分子の繰り返し単位密度が高く、不凍水を吸着して構造形成しやすい場所にある繰り返し単位であり、吸着不可能な繰り返し単位とは、多糖分子の繰り返し単位密度が低く、したがって構造形成し難い場所にある繰り返し単位のことである。吸着可能な繰り返し単位では、速度定数 k_1 および k_2 で水の吸脱着を繰り返している。

吸着可能な繰り返し単位の数は、熱処理による水溶液の均一化に伴って、その数を変化させている。水溶液の均一化は、熱処理による会合体の解離によって起こるので、会合体形成に関与している不凍水の量 n が、熱処理温度における平衡値 n_{eq} からずれている場合に起こると考えられる。したがって、吸着可能な繰り返し単位の数は、多糖分子鎖に吸着された不凍水量 n の平衡値 n_{eq} からのずれに比例して変化すると仮定した。このときの比例定数 α には、会合体から離れた多糖分子鎖が水溶液内での拡散によって溶液を均一化させる速度が含まれていると考えられる。

以上の仮定に基づいて、熱処理過程における不凍水量 n の変化を表す方程式

$$\frac{d^2N}{dt^2} + 2\gamma \frac{dN}{dt} + \omega_0^2 N = 0, \quad N = n - n_{eq} \quad (2)$$

が導かれた。ここで、 γ は k_1 と k_2 の平均値を表し、会合状態変化の速度に対応していると考えられる。一方 ω_0 は k_1 と α の積に比例する定数で、会合状態変化の速度と拡散に基づく水溶液の均一化の速度に関係した定数であると解釈できる。(2)式を解いて、

$$n = n_{eq} + C \exp(-\gamma t) \cos(\omega t + \delta), \quad \omega = \sqrt{\omega_0^2 - \gamma^2} \quad (3)$$

が得られる。Fig.8 に示した実線は、実験データに(3)式をフィッティングさせて得られた結果を示している。

以上の議論から、熱処理過程における不凍水量の減衰振動的な変化は、会合体の解離の速度とその後の拡散による均一化の速度の兼ね合いによって生じていることがわかった。

多糖は、生体適合性、生分解性に優れた環境適応型の高分子として食品分野から材料分野にいたるまで、将来様々な利用法が開発されると思われる。多糖の会合状態を制御することにより、様々な物性を持った材料を得るために、多糖の相互作用とそれに基づく会合体形成の機構を研究することは基礎科学的な見地ばかりでなく応用上の観点からも重要であると考えられる。

謝 辞

本解説の内容の一部は文部科学省科学研究費補助金 (COE 形成基礎研究費; 10CE2003) の補助を受けて行われた研究成果である。

文 献

- 1) 長田義仁, 梶原莞爾編, "ゲルハンドブック", 株式会社エヌ・ティー・エス (1997).
- 2) K. Nishinari Ed., "Hydrocolloids Part 1 and Part 2", Elsevier (2000).
- 3) F. X. Quinn, T. Hatakeyama, M. Takahashi, and H. Hatakeyama, *Polymer* **35**, 1248 (1994).
- 4) T. Yoshida, M. Takahashi, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Polymer* **39**, 1119 (1998).
- 5) 高橋正人, 畠山立子, 畠山兵衛, 高分子論文集 **55**, 760 (1998).
- 6) M. Tokuyama and I. Oppenheim Ed., "STATISTICAL PHYSICS Experiments, Theories and Computer Simulations", World Scientific, 61 (1998).
- 7) M. Takahashi, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Carbohydrate Polymers* **41**, 91 (2000).
- 8) J. Fujiwara, T. Iwanami, M. Takahashi, R. Tanaka, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *thermochimica acta* **352-353**, 241 (2000).
- 9) T. Iseki, M. Takahashi, H. Hattori, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Food Hydrocolloids* **15**, 503 (2001).
- 10) J. F. Kennedy, G. O. Phillips, P. A. Williams, and H. Hatakeyama Ed., "Recent Advances in Environmentally Compatible Polymers", Woodhead Publishing Limited, 145 (2001).
- 11) J. Fujiwara, M. Takahashi, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Polym. Int.* **49**, 1604 (2000).
- 12) 畠山立子, 中村邦雄, 畠山兵衛, 熱測定 **6**, 50 (1979).
- 13) K. Nakamura, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Textile Research Journal* **51**, 607 (1981).
- 14) 中村邦雄, 畠山立子, 畠山兵衛, 高分子論文集 **39**, 55 (1982).
- 15) 中村邦雄, 畠山立子, 畠山兵衛, 繊維学会誌 **41**, 369 (1985).

要 旨

熱処理による多糖水溶液の構造変化とそれに基づく物性の変化を, DSC, 粘弾性などによって調べた。多糖水溶液をゾル状態で熱処理することにより, 溶液の粘弾性が増加

した。熱処理した水溶液を冷却することにより水溶液のゲル化能が向上した。これは, 熱処理による水溶液中の多糖の会合状態変化によるものである。現象論的な議論を行って, 熱処理過程における不凍水の挙動を記述する方程式を導くことに成功し, 実験結果との半定量的な一致を得ることに成功した。



高橋正人 Masato Takahashi
信州大学繊維学部, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu Univ., TEL. 0268-21-5461, FAX. 0268-21-5461, e-mail: mhataka@giptc.shinshu-u.ac.jp



滝沢辰洋 Tokihiro Takizawa
信州大学繊維学部, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu Univ., TEL. 0268-21-5467, FAX. 0268-21-5496, e-mail: ttakiz1@giptc.shinshu-u.ac.jp



畠山立子 Tatsuko Hatakeyama
大妻女子大学家政学部, Faculty of Home Economics, Otsuma Womens' Univ., TEL. 03-5275-6029, FAX. 03-5275-6029, e-mail: hatakeyama@otsuma.ac.jp



畠山兵衛 Hyoe Hatakeyama
福井工業大学工学部, Faculty of Engineering, Fukui Institute of Technology, TEL. 0776-22-8111, FAX. 0776-29-7891, e-mail: h-hatake@ccmails.fukui-ut.ac.jp
研究テーマ: 環境適合性高分子の合成と物性
趣味: テニス, ガーデニング