

熱不可逆性多糖ヒドロゲルの熱的性質

飯島美夏, 高橋正人, 畠山立子, 畠山兵衛

(受取日:2007年11月1日,受理日:2007年12月13日)

Thermal Properties of Thermo-Irreversible Polysaccharide Hydrogels

Mika Iijima, Masato Takahashi, Tatsuko Hatakeyama, and Hyoe Hatakeyama

(Received November 1, 2007; Accepted December 13, 2007)

Recent studies on thermal properties of thermo-irreversible polysaccharide hydrogels formed by physical and chemical cross-linking are reviewed. Aqueous solution of polysaccharides forms thermo-irreversible hydrogels via ionic linkage, hydrogen bonding formed by freezingthawing and chemical linkage. Polysaccharide electrolyte solutions, such as low-methoxyl pectin and sodium alginate, form various kinds of hydrogels when divalent cations are added. Polysaccharide molecules wrap divalent cations and an unique cross-linking zone known as egg-box structure is formed. Viscoelastic properties of Ca-pectin and Ca-alginate hydrogels are measured by thermomechanical analysis (TMA) in water. Dynamic modulus of hydrogels increases with increasing the cross-linking zone. Locust bean gum (LBG), which has been accepted as a non-gelling polysaccharide, is found to form soft gel by freezing-thawing. DSC studies on water restrained by LBG hydrogels are briefly presented. Thermal characteristic of new type polysaccharide hydrogels obtained by chemically linking in water are also introduced. The above rigid and soft hydrogels are thermally stable regardless of preparation method.

Keywords: polysaccharide; hydrogel; thermo-irreversible gel; water

1. 緒言

ゲルは代表的なソフトマターの一つである。地球上に広 く存在する天然高分子である多糖類の多くは種々の条件下 でヒドロゲルを形成する。ゲル化の方式は多様である。即 ち,冷却や昇温と温度変化で物理ゲルを形成する,イオン 架橋によりゲル化する,複数の多糖を混合することにより 相互作用が生じ,相乗効果で物理ゲルを形成する,凍結-解凍により物理ゲルを形成することなどが知られている。 また,従来,単独ではゲル化しないと報告されていた多糖 を,ゾル状態で熱処理することにより,物理ゲルを形成で きることを我々は見いだした。) 多糖を化学架橋によりゲル を形成することもできる。これら多糖ヒドロゲルは種類に より熱的性質が異なる。Fig.1に本稿で述べる多糖の化学構 造を示す。既報では熱可逆性多糖ヒドロゲルを熱的性質に 注目して分類し、冷却や昇温によりゲル化するヒドロゲル のゲルーゾル転移と特徴について述べた。²⁾本稿では、イオ ン架橋、凍結-解凍法、化学架橋などにより形成する熱不 可逆性多糖ヒドロゲルの熱的性質について述べる。

2. イオン架橋型ヒドロゲルの熱的性質

アルギン酸,低メトキシルペクチン (LM ペクチン)の ような多糖電解質溶液に金属イオンを添加すると、イオン 結合を形成してゲル化する。



Fig.1 Chemical structure of polysaccharides.

2.1 カルシウム架橋型ペクチン

ペクチンは果実など植物組織中に広く存在する多糖類で ある。構造はFig.1に示すようにガラクツロン酸の一部が メチルエステル化しており、メチルエステル化度 (DE) に よりゲル形成能が異なる。3-6) メチルエステル化度42.9% 以下のものを低メトキシルペクチン (LM ペクチン), それ 以上のものを高メトキシルペクチン(HM ペクチン)とよ んでいる。7.8) 低メトキシルペクチンはカルシウムのような 2価カチオンとイオン結合を形成してゲル化する。9-12) この ジャンクションゾーンは非常に密であり、その構造が卵の パックに似ていることから, "egg box model" と呼ばれて いる。13-15) 一方, 高メトキシルペクチンは酸性下で糖の存 在によりゲル化する。16,17)

ペクチン水溶液をゾル状態で25℃、50℃、80℃、98℃で 熱処理して、塩化カルシウム水溶液を混合してゲル化させ、 流水中で脱塩すると、熱処理温度によりCa置換度(DS) の異なるCa-ペクチンヒドロゲルが得られる。Ca-ペクチン ヒドロゲル中のCa 置換度を原子吸光分析で定量するとDS は0.423 (熱処理温度25℃), 0.381 (50℃), 0.355 (80℃), 0.311 (98℃)となった。18) 熱機械分析装置 (TMA) のプ ローブ先端部を水中に浸漬し, 圧縮振動モードで水中での ヒドロゲルの弾性率を測定することができる。このとき, 液中測定用の加熱炉を用い,循環式恒温槽を装着すること により試料浸漬部の水温を一定にコントロールすることが できる。Fig.2に示すように測定結果(Fig.2上)を用いて リサージュ図形 (Fig.2下)を描き,弾性率を計算する。弾 性率は次式で求める。

$$|E^*| = (l/A) (F_1/L_1)$$
(1)



Schematic TMA curves of hydrogel applied Fig.2 sinusoidal oscillation in water (the upper figure) and Lissajous diagram (the lower figure). Load and compressed length are constant.

E''	$= (l/A) (F_2/L_1)$	(2)
sin	$\delta = F_2/F_1$	(3)

- $E' = |E^*| \cos \delta$ (4)
- $\tan \delta = E''/E'$ (5)



Fig.3 Three dimensional relationship between *E*', temperature and degree of substitution of calcium pectin hydrogels.

これらの式で,1はサンプルの長さ(ゲルの厚さ),Aはプ ローブの断面積,Fは応力,Lはひずみである。さらに, IE*Iは複素弾性率,E'は貯蔵弾性率,E''は損失弾性率であ る。

Fig.3 に水中でのTMA 測定で得られた貯蔵弾性率(E') とDS と測定温度の関係を示す。E'は測定温度の増加ととも に低下し, DS の増加とともに増加する。これは測定温度の 増加とともに分子鎖が広がるためE'は低下すると考えられ る。また, DS の増加とともに架橋点が増加するため, E'は 増加すると考えられる。^{19,20)}

2.2 カルシウム架橋型アルギン酸

アルギン酸は褐藻類の一種である*Macrocystis pyrifera* から抽出される多糖類である。Fig.1に示すようなフラット な構造のマンニュロン酸(M成分)とジグザグ構造のグル ロン酸(G成分)から成るブロック共重合体である。^{21,22)} M/G比によりゲルの性質が異なる。²³⁾アルギン酸のグルロ ン酸部はカルシウムイオン介在して, egg box modelとよ ばれる密なジャンクションゾーンを形成する。²⁴⁻²⁶⁾アルギ ン酸のグルロン酸とペクチンのガラクツロン酸はC-3を除 いて鏡面対称構造をしており,カルシウムを介在した架橋 構造が類似している。^{27,28)}

TMAを用いてCa-アルギン酸ゲル膜の膨潤挙動を測定す ることが可能である。膨潤測定用に改造した特殊なTMA 用セルを用い、サンプル下部を水に浸漬しサンプル長の変 化をTMAプローブで測定する。TMAを用いて動的膨潤挙 動と膨潤時間との関係を検討できる。さまざまな荷重下で の膨潤率を測定し、膨潤時間ごとの膨潤率を読み取る。こ の膨潤率を荷重に対してプロットし、荷重0に外挿したと きの膨潤率を読む。この膨潤率と時間の関係をプロットし



Fig.4 Relationship between E' and immersion time of alginate spherical hydrogel in CaCl₂ aqueous solution. E' was measured by TMA in water.
●; 500 M (Manuronic acid component rich). ○; 500 G (Gluronic acid component rich).

マスターカーブを作成すると,飽和状態に達した際の値は 静的な膨潤率と一致する。²⁹⁾

アルギン酸ゾルを塩化カルシウム水溶液中にシリンジで 滴下すると、球状ゲルが得られる。この球状ゲルは、塩化 カルシウム水溶液中での置換時間により、ゲルの水分率な どが変化する。Fig.4に水中TMAで測定したCa架橋型ア ルギン酸球状ゲルの、E'とCa置換時間の関係を示す。E'は、 G 成分が多いアルギン酸では置換時間の増加とともに増加 しているが、M 成分が多いアルギン酸では、置換時間約5 分までは置換時間の増加とともに増加するが、それ以上で はほぼ一定値になる。これは、アルギン酸のG 成分が強固 な架橋構造を形成するため、G 成分が多いアルギン酸は置 換時間の増加とともに、架橋領域が増加するが、M 成分が 多いアルギン酸は置換時間5分で、架橋領域の形成が飽和 に達することを示唆している。³⁰⁾

3. 凍結解凍法による ローカストビーンガムヒドロゲルの熱的性質

マメ科植物に含まれるガラクトマンナン多糖はβ-1,4結 合したβ-D-マンノース主鎖にα-1,6結合したα-D-ガラクト ース側鎖が結合した構造をしている。³¹⁾ 側鎖の頻度により グアーガム (ガラクトース:マンノース=1:2), タラガム (1:3), ローカストビーンガム (1:4) などがある。ローカ ストビーンガムはキャロブ樹から抽出されるガラクトマン ナン多糖類である。ローカストビーンガムは従来,単独で はゲル化しないと報告されており,カラギーナンやザンタ ンガムと混合すると相乗効果でゲル化すると報告されてき た。³²⁾しかし,我々の研究で,ローカストビーンガム水溶 液を凍結-解凍を繰り返すことにより,ゲル化することを 報告した。³³⁻³⁷⁾これは水溶性合成高分子のポリビニルアル コール(PVA)凍結-解凍ゲルと同様の方法である。³⁸⁾し かし,同じガラクトマンナン多糖であるグアーガムやタラ ガムは凍結-解凍法によりゲル化しないことから,側鎖の 頻度が、ゲル形成に寄与していると考えられている。

ローカストビーンガム凍結-解凍ゲルは,凍結-解凍サ イクル (n)の増加とともに硬いゲルを形成する。Fig.5 に DSC で測定したローカストビーンガムヒドロゲルのゲル中 の水の融解ピーク温度 (T_m)と凍結-解凍サイクル数 (n) の関係を示す。この図に示すようにT_mはnの増加とともに 低温側へ移動している。本測定条件での純水のT_mは16℃で あった。このことは,nの増加とともに不定形の氷が多数形 成されていることを示唆している。また,冷却速度が遅い ほど,その変化は顕著である。これはnの増加とともに網 目に束縛される水分子が増加し,不定形な氷が増加するこ とを示している。

DSCや目視でローカストビーンガム凍結-解凍ゲルのゲ ルーゾル転移温度を測定すると、ゲルーゾル転移は観測さ れない。PVA凍結-解凍ゲルは熱可逆性ゲルであるのに対 し、ローカストビーンガム凍結-解凍ゲルは熱不可逆性ゲ ルである。

4. 化学架橋した多糖ヒドロゲルの熱的性質

ヒアルロン酸ナトリウムや各種のセルロース誘導体、メ チルセルロース、硫酸セルロースナトリウム塩(NaCS)、 カルボキシメチルセルロースナトリウム塩(NaCMC)、メ チルセルロース(MC)などの水溶性多糖を、水中でウレタ ン架橋にすることより、化学架橋ヒドロゲルを調製できる ことを報告してきた。³⁹⁻⁴¹⁾これら各種化学架橋多糖ヒドロ ゲルに束縛された水の相転移現象の変化を測定することに より、ゲルの編み目の構造を調べるとともに、原子間力顕 微鏡(AFM)を用いて、ナノレヴェル構造の観測を行い、 熱的に得られた情報との相関性を見いだすことができる。

Fig.6に一例としてウレタン結合により架橋したNaCS ヒ ドロゲルの模式的な化学構造を示す。反応条件を変えるこ とにより,架橋度を変えることが出来る。これらの化学ゲ ルを低温から測定すると,ガラス転移,冷結晶化による発 熱,ゲル中の水の融解による二つ吸熱ピークが観測される。 ガラス転移温度 (T_g) ,冷結晶化温度 (T_{cc}) ,高温側 (T_{mh}) 及び低温側 (T_{ml}) 融解ピーク温度と,水分率との関係から, ゲル中の水の相図を作製することができる。化学架橋ゲル においても,他の水溶性多糖と同じように,⁴²⁾ Fig.7 に模式



Fig.5 Relationship between melting temperature of sorbed water and freezing and thawing cycle (n) of locust beangum hydrogels. ●; Cooling rate = 2 °C min⁻¹. ○; 50 °C min⁻¹ (Heating rate is 10 °C min⁻¹). Graph in the figure shows DSC heating curves.

的に示すような相図を得ることが出来る。Fig.7に示したゲ ルの水分率 (= $W_c = W_{water}/W_{dry gel}$) は0から3.0である。 T_g は水の存在によって, 急激に低下し最小値を得て, 緩やか に上昇し一定値になる。Tgの初期の低下は、少量の水分子 が多糖分子鎖の分子間相互作用を切断し、分子鎖のモビリ ティーが増加するため、T_gの再上昇は系中に氷の結晶が生 成し、高分子鎖の動きに抑制されるためと考えられる。43) 化学ゲルでは、ガラス転移、冷結晶化及び融解挙動は架橋 度と水分率により系統的に変化する。最も顕著な例をFig.8 に示す。図中のNCO/OH比はNaCS の水酸基に、架橋反応 した割合を示している。NaCS ゲルにおいては、架橋度が 増加するにつれて、Fig.7に示した T_g の最小値が高温側に 移行している。このことは、分子間架橋により、高分子鎖 の動きが抑制され,NCO/OH比の上昇と共に抑制が強くな りTgが上昇すると考えられる。さらに、架橋により、冷結 晶化が発現する温度領域が狭くなり、編み目に拘束された 水分子が不規則な結晶を形成することなどが、明らかにさ れつつある。AFM の観察からは、多糖の分子鎖はひも状の 構造が束ねられたようになっており、それぞれのひもの幅 は分子4~10本、高さは1分子2分子が重なっていること が分かった。ゲルは希薄溶液中では、架橋点からリング状



Fig.6 Schematic chemical structure of chemically cross-linked sodium cellulose sulfate.



Fig.7 Schematic phase diagram of hydrogel. T_g ; glass transition temperature. T_{cc} ; cold crystallization temperature. T_{ml} ; low temperature side melting peak temperature. T_{mh} ; high temperature side melting peak temperature. W_c : water content.

に広がり,次の架橋点で他の分子束と合流した構造をとっている。これらの構造は,既報²⁾で述べたザンタンガム AFM のゾル状態の熱処理による変化と相まって,興味ある ものと考えられる。⁴⁴⁾

5. 結言

イオン架橋,凍結-解凍法,化学架橋によりゲル化する 各種多糖の熱的性質をDSC,TMAなどを用いて検討した



Fig.8 Relationship between T_g showed the minimum value in phase diagram and NCO/OH ratio of chemically crosslinked sodium cellulose sulfate.

我々の最近の研究を中心に紹介した。多糖ヒドロゲルは熱 処理,熱履歴などにより異なったジャンクションゾーンを 形成するため,熱分析は物性測定として非常に有用な方法 である。

本研究の一部は平成18年度~19年度科学研究費補助金 若手研究(B)課題番号18700574によって行なわれた。

文 献

1) 高橋正人, 畠山立子, 畠山兵衛, Netsu Sokutei 30,

131 (2003).

- 2) 飯島美夏, 高橋正人, 畠山立子, 畠山兵衛, Netsu Sokutei 34, 104 (2007).
- J. P. V. Buren, *The Chemistry and Technology of Pectin*, (R. H. Walter ed.), Academic Press, California, p.1 (1991).
- R. C. Jordan and D. A. Brant, *Biopolymers* 17, 2885 (1978).
- A. H. Clark and S. B. Ross-Murphy, Adv. Polym. Sci. 83, 57 (1987).
- M. Iijima, K. Nakamura, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Carbohydr. Polym.* 41, 101 (2000).
- M. A. V. Axelos and J.-F. Thibault, *The Chemistry* and *Technology of Pectin*, (R. H. Walter ed.), Academic Press, California, p.109 (1991).
- B. R. Thakur, R. K. Singh, and A. K. Handa, Critical Reviews in Food Science and Nutrition 37, 47 (1997).
- 9) R. Kohn and O. Luknár, *Collection Czechoslov*. *Chem. Commun.* **42**, 731 (1977).
- M. J. Gidley, E. R. Morris, E. J. Murray, D. A. Powell, and D. A. Rees, J. C. S. Chem. Comm., 990 (1979).
- D. Thom, G. T. Grant, E. R. Morris, and D. A. Rees, *Carbohydr. Res.* **100**, 29 (1982).
- G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith, and D. Thom, *FEBS Lett.* 32, 195 (1973).
- 13) G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith, and D. Thom, *FEBS Lett.* **32**, 195 (1973).
- 14) E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, and J. Boyd, *Carbohydr. Res.* 66, 145 (1978).
- 15) E. D. Morris, British Polym. J. 18, 14 (1986).
- D. G. Oakenfull, *The Chemistry and Technology* of *Pectin*, (R. H. Walter ed.), Academic Press Inc., San Diego, p.87 (1991).
- D. Oakenfull and A. Scott, J. Food Science 49, 1093 (1984).
- 18) M. Iijima, T. Hatakeyama, K. Nakamura, and H. Hatakeyama, J. Therm. Anal. Cal. 70, 815 (2002).
- M. Iijima, T. Hatakeyama, M. Takahashi, and H. Hatakeyama, J. Therm. Anal. Cal. 64, 617 (2001).
- 20) 飯島美夏, 畠山立子, Netsu Sokutei 29, 226 (2002).
- E. D. T. Atkins, I. A. Nieduszynski, W. Mackie,
 K. D. Parker, and E. E. Smolko, *Biopolymers* 12, 1865 (1973).
- 22) R. Kohn, I. Furda, A. Haug, and O. Smidsrød, Acta Chemica Scandinavica 22, 3098 (1968).
- 23) O. Smidsrød, Faraday Discussions of the Chemical Society 57, 263 (1974).
- 24) E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, and J. Boyd, *Carbohydr. Res.* 66, 145 (1978).

- K. Nakamura, Y. Nishimura, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Thermochim. Acta* 267, 343 (1995).
- 26) M. Takahashi, Y. Kawasaki, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Recent Advances in Environmentally Compatible Polymers*, (J. F. Kennedy, G. O. Phillips, P. A. Williams, and H. Hatakeyama eds.), Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, p.321 (2001).
- A. Haug and O. Smidsrød, Acta Chemica Scandinavica 24, 843 (1970).
- R. Kohn and B. Larsen, *Acta Chemica Scandinavica* 26, 2455 (1972).
- 29) K. Nakamura, E. Kinoshita, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Thermochim. Acta* 352-353, 171 (2000).
- M. Iijima, T. Hatakeyama, K. Nakamura, and H. Hatakeyama, J. Therm. Anal. Cal. 70, 807 (2002).
- V. J. Morris, Food Science and Technology 67, 341 (1995).
- 32) I. C. M. Dea, E. R. Morris, D. A. Rees, E. J. Welsh,
 H. A. Barnes, and J. Price, *Carbohydr. Res.* 57, 249 (1977).
- 33) R. Tanaka, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Polym. Int.* 45, 118 (1998).
- 34) S. Naoi, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, J. Therm. Anal. Cal. 70, 841 (2002).
- 35) T. Hatakeyama, S. Naoi, and H. Hatakeyama, *Thermochim. Acta* 416, 121 (2004).
- 36) T. Hatakeyama, S. Naoi, M. Iijima, and H. Hatakeyama, *Macromol Symp.* 224, 251 (2005).
- 37) J. Pl. Doyl, P. Giannouli, E. J. Martin, M. Brokks, and E. R. Morris, *Carbohydr. Polym.* 64, 391 (2006).
- 38) T. Hatakeyama, J. Uno, C. Yamada, A. Kishi, and H. Hatakeyama, *Thermochim. Acta* 431, 144 (2005).
- 39) H. Hatakeyama, Y. Asano, T. Hatakeyama, and J. F. Kennedy, *Hyaluronan, vol 1 Chemical, Biochemical and Biological Aspects*, (J. F. Kennedy, G. O. Phillips, P. A. Williams, and V.C. Hascall eds.), Woodhead, Cambridge, p.313 (2002).
- 40) T. Hatakeyama and H. Hatakeyama, *Hyaluronan*, vol 1 Chemical, Biochemical and Biological Aspects, (J. F. Kennedy, G. O. Phillips, P. A. Williams, and V. C. Hascall eds.), Woodhead, Cambridge, p.323 (2002).
- 41) H. Hatakeyama, T Onishi, T. Endo, and T. Hatakeyama, *Carbohydr. Polym.* **69**, 792 (2007).
- 42) H. Hatakeyama and T. Hatakeyama, *Thermochm.* Acta 308, 3 (1998).
- 43) H. Yoshida, T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, ACS Symposium Series 489, 217 (1992).

44) M. Iijima, M. Shinozaki, T. Hatakeyama, M. Takahashi, and H. Hatakeyama, *Carbohydr. Polym.* 68, 701 (2007).

要 旨

物理的会合や化学架橋によって形成する多糖ヒドロゲル の熱的性質に関する最近の研究について解説する。多糖水 溶液はイオン架橋,凍結-解凍法,化学架橋などによって 熱不可逆性ヒドロゲルを形成する。低メトキシルペクチン やアルギン酸ナトリウムのような多糖電解質はカルシウム のような2価カチオンを添加するとヒドロゲルを形成する。 多糖分子は2価カチオンを介在してegg box 構造と呼ばれ る特徴的な架橋領域が形成される。カルシウム架橋型ペク チンやカルシウム架橋型アルギン酸ヒドロゲルの粘弾性的 性質は水中での熱機械分析(TMA)で測定することができ る。ヒドロゲルの動的弾性率は、架橋領域の増加とともに 増加する。従来単独ではゲル化しないと報告されていたロ ーカストビーンガム水溶液を凍結-解凍を繰返すと柔らか いゲルを形成する。DSCによる研究では、ローカストビー ンガムに束縛された水が存在することが明らかである。水 中で化学架橋することで得られる、新しいタイプの多糖ヒ ドロゲルについても述べる。化学架橋ヒドロゲルは調製方 法により柔軟性の異なるゲルが得られるが、調製方法にか かわらず,熱的に安定である。



飯島美夏 Mika Iijima 長崎大学教育学部, Faculty of Education, Nagasaki Univ., TEL. 095-819-2371, FAX. 095-819-2265, e-mail: miijima@nagasaki-u.ac.jp 研究テーマ:多糖ゲルの物性 趣味:手芸



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.shinshuu.ac.jp



畠山立子 Tatsuko Hatakeyama リグノセルリサーチ, Lignocel Research, TEL. 0776-89-2885, FAX. 0776-89-2884, e-mail: lignocel@mx3.fctv.ne.jp 研究テーマ:高分子と水の相互作用 趣味:油絵



畠山兵衛 Hyoe Hatakeyama 福井工業大学工学部, Faculty of Engineering, Fukui Univ. of Technology, TEL. 0776-22-8111, FAX. 0776-29-7891, e-mail: h-hatake@ccmails.fukuiut.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