

解 説

電解質多糖ジェランガム水溶液のゲル化機構

小川 悦代

(受取日：2012年7月20日，受理日：2012年9月18日)

**Gelation Mechanism of Polysaccharide Gellan Gum  
in Aqueous Solutions**

Etsuyo Ogawa

(Received July 20, 2012; Accepted Sep. 18, 2012)

Polysaccharide gellan gum forms transparent, heat, and acid resistant gels. In the present paper, recent studies on gelation mechanism for gellan gum aqueous solution are reviewed. Using sodium, lithium, potassium, and tetramethyl-type gellan gums as samples, viscometry, osmometry, and differential scanning calorimetry, and light scattering and circular dichroism measurements were carried out in aqueous solutions with and without salts. On lowering temperature, gellan gums undergo a coil to double-helix conformational transition in aqueous solutions with and without salts and a sol to gel transition took place by aggregation of double-helical gellan gum molecules. Attention is especially paid to the effects of molar masses of gellan gum molecules on the coil to double-helix transition and the sol-gel transitions in aqueous solutions. Effects of cations on these transitions of gellan gums in aqueous solutions are also mentioned.

Keywords: gellan gum; aqueous solution; coil-doublehelix transition; sol-gel transition; molar mass; metal ion



小川 悦代  
Etsuyo Ogawa

昭和学院短期大学 名誉教授  
略歴：1989-1996年 昭和学院短期大学助教授  
1996-2011年 昭和学院短期大学教授  
理学博士  
E-mail: QYK04426@nifty.ne.jp  
研究テーマ：多糖ゲルの物性  
趣味：ハイキング，卓球，読書

## 1. はじめに

ジェランガムはエロディア科の水草から分離された *Pseudomonas elodea* により細胞外で多量に生産される微生物多糖である。その化学構造を Fig.1 に示したが、β-D-グルコース、β-D-グルクロン酸、β-D-グルコース、α-L-ラムノースを繰り返し単位とする直鎖状分子であり、単位中のグルクロン酸に1個の解離基（カルボキシル基）を持つことが特徴となっている。<sup>1,2)</sup> ジェランガムは Na, K, Ca, Mg 等のカチオンとの共存により、透明性、耐酸性、耐熱性の高いゲルを形成することが知られ、食品工業やバイオテクノロジーなどに多方面に使われている。<sup>3)</sup>

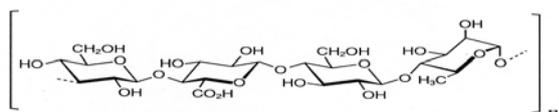


Fig.1 Repeating units of a gellan gum molecule.

ゲルの物理的性質は架橋構造により左右され、架橋構造はゲル化過程に関係する。生体高分子、例えばジェランガムをはじめ、κ-カラギーナン、アガロース、ゼラチン等は水溶液中でゲルを形成する。これら生体高分子には共通の特徴があり、いずれも水溶液中でヘリックス構造を形成する。ヘリックス構造はゲル化（ゾルーゲル転移）に重要な役割を担っているのである。即ち、水溶液中で分子鎖はコイル状態からヘリックスの状態に転移し（コイル→ヘリックス転移）、ヘリックス構造の分子間に架橋構造が形成されゲルとなると考えられている。<sup>4)</sup> 従って、分子鎖の形態転移はゲル化の初期段階として重要である。それにもかかわらず、その精確な姿は未だ明確ではない。例えば、現在まで非常に多くの研究がなされている κ-カラギーナンでも、2つのゲル化機構（コイル→ダブルヘリックス転移<sup>5)</sup> とコイル→シングルヘリックス転移<sup>6,7)</sup> が報告されており、未だ結論には至らず議論が続いている。<sup>8)</sup>

ジェランガムは単純な直鎖構造を持ち、K や Ca 等の金属イオンの添加により強固なゲルを形成する。ジェランガムは微生物により生産されるため、動植物から採取されるカラギーナンなどに比べ、一定の性質を持つ試料をある程度多量に入手することが可能である。これらから、ジェランガムは「ゲル形成能を持つ電解質高分子の標準試料」として、ゲル化機構の解明に、合成高分子物性研究に「ポリスチレン標準試料」が果たした役割と類似の働きが期待できよう。即ち、ジェランガムのゲル化機構の解明は他の多くの電解質高分子のゲル化の理解に寄与すると思われる。ジェランガムは、工業的のみならず、科学的な見地からも興味深い電解質天然高分子なのである。

本稿では、ジェランガム水溶液の浸透圧、光散乱、粘性、円偏光二色性 (CD)、動的粘弾性及び DSC 測定による研究結果を基に、ゲル化（コイル→ヘリックス転移とゾルーゲル転移）について記述する。

## 2. コイル→ヘリックス転移の温度依存性

ジェランガムは水溶液中高温ではコイル状態を取るが、ゲル化の初期段階として温度低下に伴い 30 °C 付近からヘリックス状態に変化することが知られていた。<sup>9)</sup>

ヘリックス→コイル転移について検討するために、水溶液用に改良した高速膜浸透圧計により浸透圧測定を行っ

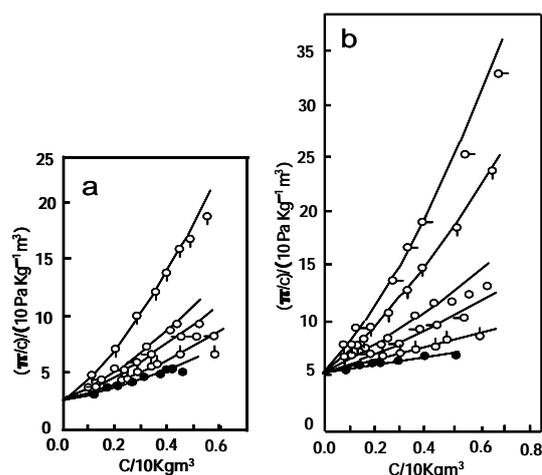


Fig.2 Plots of  $\pi/c$  vs.  $c$  for the TMA-gellan solutions at 28 °C (a) and 40 °C (b): TMACI concentration  $C_s$ ,  $C_s = 12.5$  mM (○),  $C_s = 20$  mM (◻),  $C_s = 50$  mM (○),  $C_s = 75$  mM (◻),  $C_s = 200$  mM (○),  $C_s = 500$  mM (●). The solid lines denote the values calculated from eq.1 using the experimental values of  $M_n$  and  $A_2$ .

た。<sup>10)</sup> 試料にはカルボキシル基の H をテトラメチルアンモニウムクロライド (TMACI) で置換した TMA 型のジェランガム (TMA-ジェラン) を使い、6 種の TMACI 濃度 ( $C_s = 12.5, 20, 50, 75, 200, 500$  ミリモル (mM)) 水溶液中 28 °C と 40 °C で測定を行った (Fig.2)。溶液の浸透圧 ( $\pi$ )、数平均分子量 ( $M_n$ ) と浸透圧第二ビリアル係数 ( $A_2$ ) は次式の関係にある。 $c$  はポリマー濃度。

$$\pi/c = (RT/M_n)[1 + A_2 M_n c + 1/4(A_2 M_n)^2 c^2] \quad (1)$$

Fig.2 に見られるように  $\pi/c$  は  $c$  に対してほぼ直線的に増加した。切片より得られる  $M_n$  は各温度とも全水溶液中で大体一致し、28 °C と 40 °C ではそれぞれ  $9.8 \times 10^4$  と  $5.0 \times 10^4$  であった。28 °C の  $M_n$  は 40 °C のほぼ 2 倍であり、温度低下に伴い、ジェランガム 2 分子間に会合が起きていることが示唆された。Donnan & Guggenheim<sup>11,12)</sup> によれば  $Z$  の電荷を持つマクロイオンの  $A_2$  と水溶液塩濃度  $C_s$  の関係は次式で表わされる。

$$A_2 = 10^3 Z^2 / 4 M^2 C_s \quad (2)$$

Donnan 効果の影響が排除体積効果より大きい globular protein では  $A_2$  が  $1/C_s$  に比例する結果が報告されている。<sup>13,14)</sup> 一方、鎖状高分子イオンの場合は複雑であり、添加塩濃度が低い溶液中ではイオン間の静電的反発相互作用により伸びた形態をとるが、塩濃度が高くなるにつれ対イオンが鎖付近に凝縮（イオン凝縮）して、見かけ上、高分子鎖のイオンの減少が起こる（有効電荷が減少）ためにイオン間の反発相互作用が弱まり、高分子は中性の高分子と同様に、糸まり状に縮んだ形態を取ることが知られている。<sup>13,14)</sup> TMA-ジェランの  $A_2$  のイオン強度（塩濃度）依存性結果を Fig.3 に示した。両温度とも  $A_2$  は塩濃度増加に伴い減少するが、28 °C では  $A_2$  と  $1/C_s$  に比例関係が保たれる一方、40 °C では  $C_s$  の高い領域では  $A_2$  の急激に低下する鎖状高分子イオンに特有な結果が得られた。

表面に一樣に電荷が存在する直径  $d$  の棒状分子の  $A_2$  のイオン強度依存性については次式が提案されている。<sup>15)</sup>

$$A_2 = (\pi N_A / 4 M_L^2) [d + \kappa^{-1} (\ln Y + 0.7703)] \quad (3)$$

ここで、 $M_L (=M/L)$  はモル質量と経路長  $L$  の比、 $\kappa$  はデバイ長で  $C_s$  に関係し、 $Y$  は有効電荷に関係する値である。

Fig.4 に(3)式からの計算値を記したが、40 °C に比べ、28 °C では実験値と良い一致を示す結果が得られ、低温では、TMA-ジェランは棒状の分子形態にあることが示唆された。

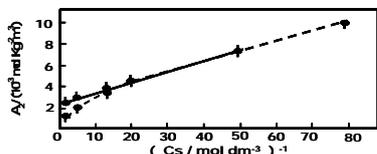


Fig.3 Plots of  $A_2$  vs.  $C_s$  for the TMA-gellan in TMACl solutions at 28 °C (●) and 40 °C (○).

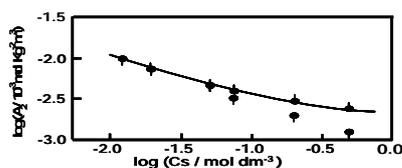


Fig.4 Plots of  $A_2$  vs.  $C_s$  for the TMA-gellan in TMACl solutions at 28 °C (●) and 40 °C (○). The solid line denotes the values calculated from eq.3 with  $M_L = 725 \text{ nm}^{-1}$  and  $d = 2.4 \text{ nm}$ .

次に、ナトリウム型のジェランガム (Na-ジェラン) の NaCl 水溶液 ( $C_s = 25, 50, 75 \text{ mM}$ ) について 6 温度 (25, 28, 32, 36, 40, 45 °C) で浸透圧測定を行った。<sup>16)</sup> Fig.5 に見られるように、25, 28, 36, 40 °C 及び 45 °C で塩濃度の異なる 3 溶液の曲線の切片はほぼ一致し、得られた  $M_n$  の平均値は、 $9.4 \times 10^4$  (25 °C)、 $9.5 \times 10^4$  (28 °C)、 $4.5 \times 10^4$  (36 °C)、 $4.6 \times 10^4$  (40 °C) 及び  $4.5 \times 10^4$  (45 °C) であった。28 °C 以下の低温での  $M_n$  は 36, 40, 45 °C のほぼ 2 倍であり、TMA-ジェランと同様、温度低下に伴い、2 分子のジェランガム間に会合が起きていることが確認された。32 °C では  $C_s = 25 \text{ mM}$  の溶液から  $M_n = 5.0 \times 10^4$  と 36 °C 以上よりやや高い  $M_n$  が得られ、2 個会合した分子 (ユニマー  $M_{II}$ ) と

未会合の分子 (モノマー  $M_I$ ) の 2 種が混在していることが推測された。一方、 $C_s = 50$  と  $75 \text{ mM}$  の溶液では(1)式が成立せず  $M_n$  は得られなかった。

$A_2$  は塩濃度が等しい溶液については 25, 28, 36, 40, 45 °C で同様な値を示したが、その値は  $C_s$  が低下するに従い大きくなった。 $C_s = 75, 50, 25 \text{ mM}$  溶液の平均値は、それぞれ  $A_2 = 4.1 \times 10^{-3}$ ,  $5.7 \times 10^{-3}$ ,  $8.0 \times 10^{-3}$  であった。上記 4 温度で同様な  $A_2$  を示したことは、温度低下に伴いコイル状態からヘリックス状態への転移が起きてはいるが、分子鎖はコイル状態にあっても、 $C_s = 25\text{--}75 \text{ mM}$  の塩濃度領域では、静電的反発相互作用により極度に広がった状態にあり、見かけ上ヘリックスの棒状と区別が付きにくいと考えられる。前記の TMA-ジェラン溶液の場合、 $C_s$  の範囲は 12.5–500 mM と広範囲であり、その場合  $C_s$  が高い領域 ( $C_s = 200\text{--}500 \text{ mM}$ ) ではイオン凝縮が起こり、その結果カルボキシルイオン間の静電的反発相互作用が弱まり分子鎖の拡がりが小さくなったためと解釈された。一方、32 °C では 25 mM 溶液については  $A_2 = 7.8 \times 10^{-3}$  と他の温度とほぼ同様な値であったが、50 と 75 mM 溶液では  $M_n$  と同様  $A_2$  も求められなかった。

次に 32 °C の浸透圧結果について検討した。32 °C ではモノマーとユニマーの混在が推測されている。 $M_I$  と  $M_{II}$  が平衡状態  $M_I + M_I \rightleftharpoons M_{II}$  にあり、 $M_I$ ,  $M_{II}$  のモル濃度をそれぞれ  $[M_I]$ ,  $[M_{II}]$  とすると次式が成立する。

$$\pi/c = (RT/M_{\text{napp}}) [1 + A_2 M_{\text{napp}} c + 1/4 (A_2 M_{\text{napp}})^2 c^2] \quad (4)$$

ここで  $M_{\text{napp}}$  は  $M_{\text{napp}} = c / \{ [M_I] + [M_{II}] \}$  で表わされる見かけのモル質量である。さらに会合の平衡定数  $K$  と Gibbs 自由エネルギー  $\Delta G$  は次式で与えられる。

$$K = [M_{II}] / [M_I]^2 \quad (5)$$

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (6)$$

$K$  に適宜な値を仮定し、 $[M_I]$  に 40 °C での値  $M_n = 4.6 \times 10^4$  を用いて (4)式から各濃度  $c$  における  $\pi/c$  を計算した。 $A_2$  には上記の実験値を用いた。結果を Fig.6 に示す。 $C_s = 25, 50, 280 \text{ mM}$  の溶液についてそれぞれ  $K = 35, 65, 280 \text{ kJ mol}^{-1}$  を用いた  $\pi/c$  の計算値 (図中の実線) は実験データと良い

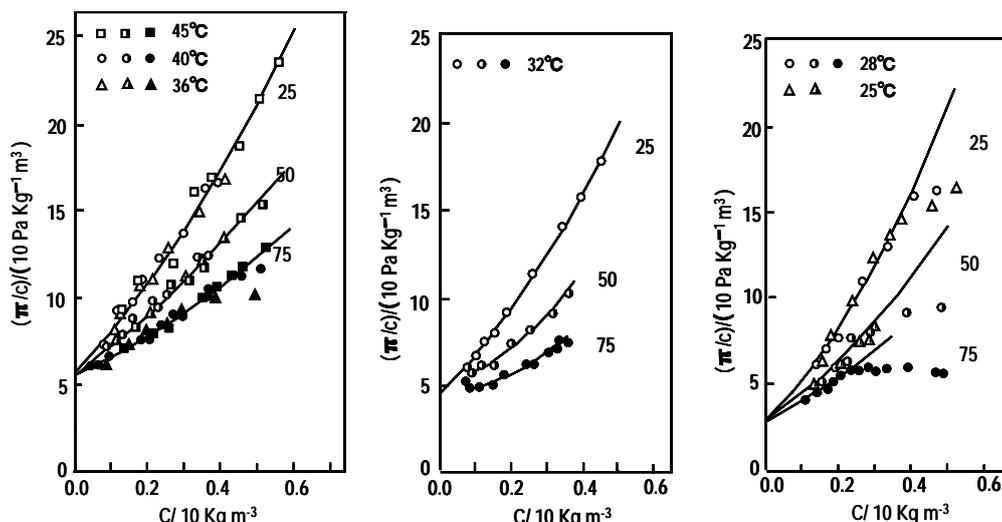
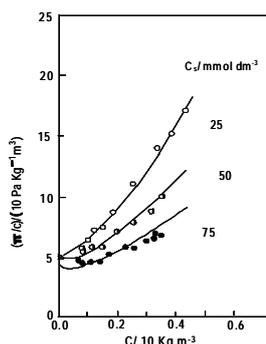


Fig.5 (a) Plots of  $\pi/c$  vs.  $c$  for NaCl solutions of Na-gellan at 45, 40, and 36 °C. The solid lines denote the values calculated from eq.1 using the experimental values of  $M_n$  and  $A_2$  at 40 °C. (b) Plots of  $\pi/c$  vs.  $c$  for NaCl solutions of Na-gellan at 32 °C. The solid lines denote the values calculated from eq.1 using the experimental values of  $M_n$  and  $A_2$  at 32 °C (25 mM) and an empirical fit to the data (50 and 75 mM). (c) Plots of  $\pi/c$  vs.  $c$  for NaCl solutions of Na-gellan at 28 and 25 °C. The solid lines denote the values calculated from eq.1 using the experimental values of  $M_n$  and  $A_2$  at 28 °C.

一致を示した。さらに Gibbs 自由エネルギー $\Delta G$ は  $C_s = 25, 50, 280 \text{ mM}$  の溶液中で負の値を示し、それぞれモルあたり  $-19, -21, -24 \text{ kJ}$ であった。これらの結果から、 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ の温度では、2分子の会合が起きており、会合は  $C_s$ の増加とともに促進し会合体の数も増加していることが知られた。この事は、塩濃度の増加に伴うイオン凝縮により静電的反発相互作用が弱まり2分子間の会合が起りやすくなったため説明される。

以上の TMA-ジェランと Na-ジェラン溶液の浸透圧測定結果から、コイル状態のジェラン分子が、温度低下に伴い、 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 付近を境に、2分子間で会合し棒状の会合体分子へと変化すること、そして、その転移は溶液中の塩濃度が高いほど促進されることが明らかになった。



**Fig.6** Plots of  $\pi/c$  vs.  $c$  for the Na-gellan at  $32 \text{ }^\circ\text{C}$  in NaCl solutions. The solid lines are calculated from eq.4 using  $K = 30, 65, 280 \text{ mM}$  for the solutions of  $C_s = 25, 50,$  and  $75 \text{ kJ mol}^{-1}$ , respectively.

### 3. コイル-ヘリックス転移のモル質量依存性

ゲル化は温度や添加塩濃度のみならず、ジェランガム分子のモル質量にも影響されると考えられる。しかしながら、コイル-ダブルヘリックス転移とモル質量の関係については解明されていない。K型のジェランガム分子はゲル中 $3_1$ 螺旋のダブルヘリックス構造をとっていることがX線測定結果から報告されているが、<sup>17,18)</sup> 素朴な疑問、どの位のモル質量のジェランガム分子からダブルヘリックス構造を形成できるのだろうか。ダブルヘリックス形成に必要な最小のモル質量は？ヘリックス構造とモル質量との関係についてはスターチのモデル物質としての $\alpha$ -D-グルカンオリゴマーでは繰返し単位10個が最小との報告<sup>19)</sup>があるが、全体的には試料作製が困難な為もあり殆ど研究されていない。また、ゲル化の初期段階としてコイル-ヘリックス転移は必須であるが、コイルから直接的にダブルヘリックスに進むのか、もしくはコイルからシングルヘリックスを経由してダブルヘリックス形成に到達するのかなど、転移の正確な姿も不明である。

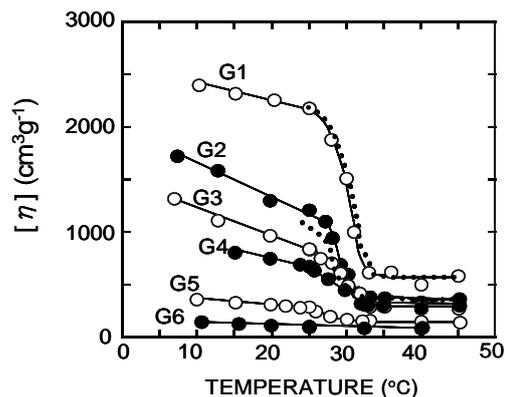
以上の疑問を踏まえ、本章ではNa型ジェランガム(Na-ジェラン)のコイル-ヘリックス転移とモル質量の関係について記述する。

$-60 \text{ }^\circ\text{C}$ の低温で振動粉碎後精製することによりモル質量の異なる6種のNa-ジェランを作製した。<sup>20-23)</sup>これらの試料について  $25 \text{ mM NaCl}$  水溶液中3温度( $15, 25$ 及び $40 \text{ }^\circ\text{C}$ )で光散乱測定を行い、重量平均モル質量  $M_w$  を求めた。結果を **Table 1** に示す。但し、 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ と $15 \text{ }^\circ\text{C}$ では  $M_w$  は  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  の  $M_w$  の比として記した。 $(M_w$  の上付き数字は測定温度を示す。)

**Table 1** Weight-Average Molar Masses of Na-Gellans Samples.

Sample	$10^{-3}M_w^{40}$	$M_w^{25}/M_w^{40}$	$M_w^{25}/M_w^{40*}$	$M_w^{15}/M_w^{40}$
G1	120	2.0	2.0	2.2
G2	71	2.1	1.9	3.3
G3	62	1.7	1.7	
G4	57	1.5	1.6	1.8
G5	32	1.3	1.3	1.7
G6	17	1.0		1.3

\*Calculated values from eq.8. Details are shown in the text.



**Fig.7** Temperature dependence of intrinsic viscosity for Na-gellan aqueous solutions with  $25 \text{ mM NaCl}$ . Experimental fit of the data(---); estimated values using eq.9. Details are shown in the text.

G1,G2 では  $M_w^{25}/M_w^{40}$  はほぼ2であり、 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ では2分子間に会合が起きダブルヘリックスが形成されていることは明らかである。G3~G5では  $M_w^{25}/M_w^{40}$  は1.7-1.3であり、これらの試料は  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ では部分的に2分子間の会合が起りダブルヘリックスとシングルコイルが混在していることが示唆された。一方、G6の  $M_w^{25}/M_w^{40}$  は1であり、G6の溶液中ではダブルヘリックスは形成されずにシングルコイルとして存在していることを示唆された。G1~G5で  $M_w^{15}/M_w^{40}$  は  $M_w^{25}/M_w^{40}$  より大きな値が得られており、温度の低下に伴いG1,G2ではダブルヘリックス間の会合が進み、また、G3~G5でもダブルヘリックス形成が進みダブルヘリックス含量が増えたと解釈される。G6の  $M_w^{15}/M_w^{40}$  は1より大きく、このことはG6でも  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ の低温では部分的にダブルヘリックス形成が起していることが推定される。

$25 \text{ mM NaCl}$  水溶液中における6種のNa-ジェランについて極限粘度 $[\eta]$ の温度依存性を測定した。G1~G5では高温領域では $[\eta]$ は殆ど一定であるが、 $32-25 \text{ }^\circ\text{C}$ の領域で $[\eta]$ の急激な増大が認められ、増加の速度はモル質量が大きいほど大きくなり、 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 以下は $[\eta]$ の増加は緩やかであった。この結果はG1~G5では温度低下に伴い、 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 付近以下でダブルヘリックスが少なくとも部分的には形成され、 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 付近以下ではダブルヘリックスの凝集が起しているものと解釈された。一方、G6の $[\eta]$ は $40-10 \text{ }^\circ\text{C}$ で直線的に微増を示すが、急激な変化は認められず、コイル-ダブルヘリックス転移は起していない様に取れる結果であった。しかしながら、G6の  $M_w^{15}/M_w^{40}$  は1より大きく、 $15 \text{ }^\circ\text{C}$ では少なくとも部分的にはダブルヘリックス間の凝集が起していることが分かっている。 $[\eta]$ のモル質量依存性の研究から、G6程度の低いモル質量分子の場合、コイルとダブルヘリックス

間の $[\eta]$ の差は小さいことが報告されており、<sup>24)</sup> Fig.7 で G6 の $[\eta]$ の値に部分的なダブルヘリックス形成が反映されないのはそのためと解釈される。

Na-ジェランについて 25 mM NaCl 水溶液中 7 温度 (10, 15, 20, 25, 30, 40, 60 °C) での CD 測定結果の一部を Fig.8 に示した。ポリマー濃度は 0.5 % である。G1~G5 では波長 201 nm 付近の吸収ピークが温度低下に伴い低波長側にシフトしているのが認められる。一方、G6 ではシフトは殆ど認められない。201 nm 付近の吸収ピーク光学活性な化学構造を持つグルクロン酸のランダムコイル状態に起因することが知られており、<sup>25,26)</sup> 従って、201 nm 付近の吸収ピークの変化はコイル-ヘリックス転移に対応する。201 nm におけるモル楕円率 $[\theta]_{201}$ の温度依存性の一例を Fig.9 に示す。

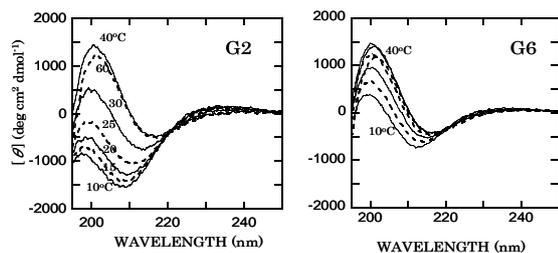


Fig.8 CD spectra of Na-gellan aqueous solutions with 25 mM NaCl ( $c = 0.5\%$ ). (a) G2, (d) G6.

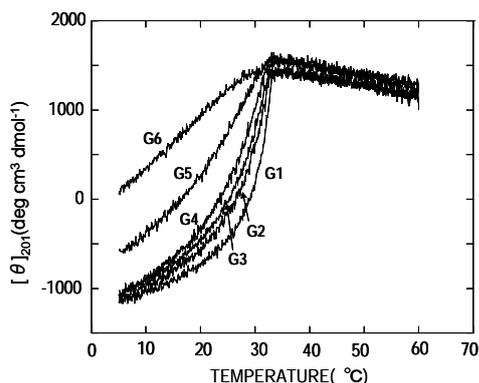


Fig.9 Temperature dependence of molar ellipticity at 201 nm,  $[\theta]_{201}$ , for Na-gellan aqueous solutions with 25 mM NaCl ( $c = 0.5\%$ ).

温度低下に伴い $[\theta]_{201}$ は、G1~G6 何れも、60 °Cからコイル-ダブルヘリックス転移温度  $T_{ch}$  (34-32 °C) まで少し増大を示した。その後、G1~G5 ではほぼ同じ転移温度  $T_{ch}$  を境に急激な減少を示し、その減少度はモル質量が大きいほど急激であった。 $T_{ch}$ より低温ではダブルヘリックスが形成され、部分的にはダブルヘリックス間の会合も起きているものと考えられる。一方、G6 では急激な減少は見られず、ゆっくりとした $[\theta]_{201}$ の低下が認められた。測定温度を 5 °Cから再度昇温しヒステリシスのチェックを試みたが、 $T_{ch}$ と  $T_{hc}$ 間に明らかな差が認められたG1~G5とは異なり、G6 では  $T_{ch}$ と  $T_{hc}$ は一致した。<sup>20-22)</sup> (図は示さず)

DSC 測定の結果を Fig.10 に示した。G1~G5 ではシングル発熱ピークが認められ、ピーク幅はモル質量の低下に伴い広がった。このピークはコイル-ダブルヘリックス転移に対応することが報告されている。<sup>27)</sup> G6 ではピークは認められなかった。粘性、CD、DSC 測定から得られた  $T_{ch}$

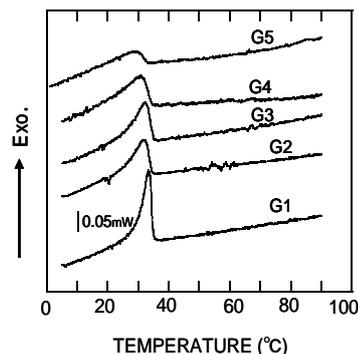


Fig.10 Cooling DSC curves of Na-gellan aqueous solutions with 25 mM NaCl ( $c = 1\%$ ).

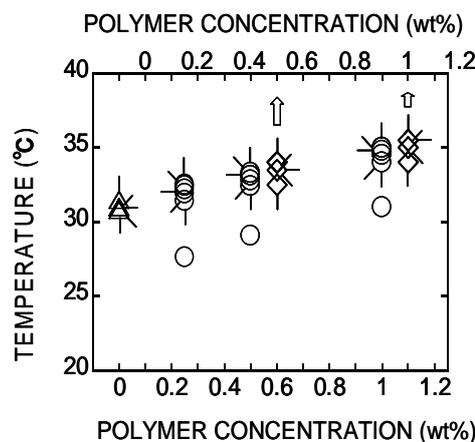


Fig.11 Polymer concentration dependence of coil-double helix transition temperature  $T_{ch}$ , for Na-gellan aqueous solutions with 25 mM NaCl.  $T_{ch}$  obtained from CD data; G1( $\circ$ ), G2( $\odot$ ), G3( $\ominus$ ), G4( $\oslash$ ), G5( $\oplus$ ), G6( $\ominus$ )  $T_{ch}$  obtained from DSC data; G1( $\diamond$ ), G2( $\diamond$ ), G3( $\diamond$ ), G4( $\diamond$ ), G5( $\diamond$ ).  $T_{ch}$  obtained from viscosity data; G1( $\triangle$ ), G2( $\triangle$ ), G3( $\triangleright$ ), G4( $\triangle$ ), G5( $\nabla$ ).

のポリマー濃度依存性を Fig.11 に纏めた。図に見られるように、CD、DSC 及び粘性から得られた  $T_{ch}$  はほぼ一致し、ポリマー濃度増加とともに高温側に移動した。コイル-ダブルヘリックス転移は  $M_w$  増加に伴い促進されることは既に示したが、 $M_w = 32 \times 10^3$  以上では、 $T_{ch}$ は  $M_w$ には依存しないことが明らかになった。即ち、転移は  $M_w = 32 \times 10^3$  以上ではほぼ同温度で起こるが、 $M_w$ の増加に伴いダブルヘリックス形成が促進されるため転移温度幅が狭くなると解釈される。一方、G6 ではコイル-ダブルヘリックス転移は粘性と DSC では観測されず CD にのみ G1~G5 に比べずっと低温に認められた。

Na-ジェラン溶液中にシングルコイルとダブルヘリックスが共存していると仮定すると、液中のダブルヘリックス含量  $f$ は次式で表わされる。<sup>28)</sup>

$$[\theta]_{201} = f[\theta]_{201h} + (1 - f)[\theta]_{201c} \quad (7)$$

$[\theta]_{201h}$ と  $[\theta]_{201c}$ はそれぞれダブルヘリックス状態とコイル状態の $[\theta]_{201}$ である。 $M_w$ と  $[\eta]$ は次式で書ける。<sup>28)</sup>

$$M_w = fM_h + (1 - f)M_c \quad (8)$$

$$[\eta] = f[\eta]_h + (1-f)[\eta]_c \quad (9)$$

ここで下付きの  $h, c$  はそれぞれダブルヘリックスとシングルコイルの対応する値を示す。0.25% の CD 測定から求めた  $f$  を用いて(7), (8)式を計算した。 $M_w^{25}$  は実験値とほぼ同値が得られ (Table 1),  $[\eta]$  も実験値とよく一致した (Fig.7 に破線で記入)。これらの結果から, Na-ジェランのコイル-ダブルヘリックス転移は, シングルヘリックスを経ずに直接ダブルヘリックスに転移する, いわゆる all-or-none 型の過程<sup>21,23)</sup> を取っていると推定された。

Na-ジェランについてコイルとダブルヘリックス間の平衡を仮定すると, 温度  $T$  における平衡定数  $K$  と van't Hoff 転移エンタルピー  $\Delta H_{vH}$  は次式で表わされる。

$$K(T) = f / (1-f)^2 \quad (10)$$

$$d \ln K / (d(1/T)) = -\Delta H_{vH} / R \quad (11)$$

$R$  は気体定数。Fig.12 に見られるように  $\Delta H_{vH}$  はポリマー濃度増加により微増の傾向にあるが,  $M_w$  の増加に対しては顕著な増大を示した。これは  $M_w$  の増大に伴いダブルヘリックス形成が促進されるとの実験結果を裏付けるものといえる。一方 G6 は G1~G5 とは明らかに異なる小さな  $\Delta H_{vH}$  を示した。G6 は今回の実験条件では,  $M_w$  と  $[\eta]$  の結果からはダブルヘリックス形成は観測されなかったが, CD 結果ではごく部分的にダブルヘリックス形成が認められた。この差は  $c$  が増すに従いダブルヘリックス形成が促進されることに起因すると思われる。即ち  $c \rightarrow 0$  への外挿値の  $M_w$  と  $[\eta]$  に対し, CD は  $c = 0.25-1\%$  での測定となるためである。G6 の CD 結果は明らかに G1~G5 とは異なっており, LS や粘性から得られた結論, G6 は 25 mM NaCl 溶液中で 25 °C ではダブルヘリックスを形成していない, と矛盾しないと考えられる。

今回の実験条件下では, G6 ( $M_w^{40} = 17 \times 10^3$ ) はダブルヘリックスを形成せず, 一方, G5 ( $M_w^{40} = 32 \times 10^3$ ) は形成する。従って, ダブルヘリックス形成可能な最小の  $M_w$  は  $17 \times 10^3$  と  $32 \times 10^3$  の間ということになる。

Chandrasekaran らは X 線結果から配向した K 型ジェランガム鎖は左回り 2 重の  $3_1$  らせんを取ることを報告しており,<sup>17,18)</sup> この結果を Na-ジェランに適用し G5 と G6 の分子構造について解析を試みた。40 °C で Na-ジェランの分子量の分布についての値<sup>29)</sup> ( $M_w/M_n = 2.2$ ) を仮定し, ジェランの繰り返し単位分子量を 668 とすると, G5 分子鎖のらせんは約 7 巻きであるが, G5 では 3-4 巻きということになる。G6 では  $M_w$  が小さいためダブルヘリックス形成に必要な巻き数に達していないことが考えられる。ダブルヘリックスを形成するか否かの境界はらせんの巻き数が 7 と 3-4 の間にあると言える。必要な巻き数のらせんが形成可能な長さを持つ分子鎖間で, シングルコイルからダブルヘリックスへの直接的な転移 (all-or-none 型) がほぼ一定の温度で起こる。ダブルヘリックス形成速度は分子鎖が長いほど速く, 塩濃度が高いほど促進される。コイル-ダブルヘリックス転移について, このような picture を描くことができる。

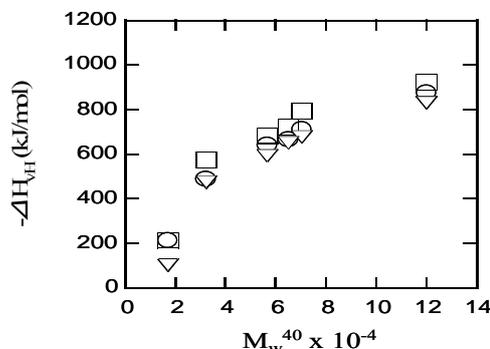


Fig.12 Dependence of van't Hoff enthalpy,  $\Delta H_{vH}$ , of Na-gellan aqueous solutions with 25 mM NaCl on weight-average molar mass,  $M_w$ . The values of  $M_w^{40}$  are determined at 40 °C.  $C = 0.25t\%$  ( $\nabla$ ),  $c = 0.5t\%$  ( $\circ$ ),  $c = 1.0t\%$  ( $\square$ ).

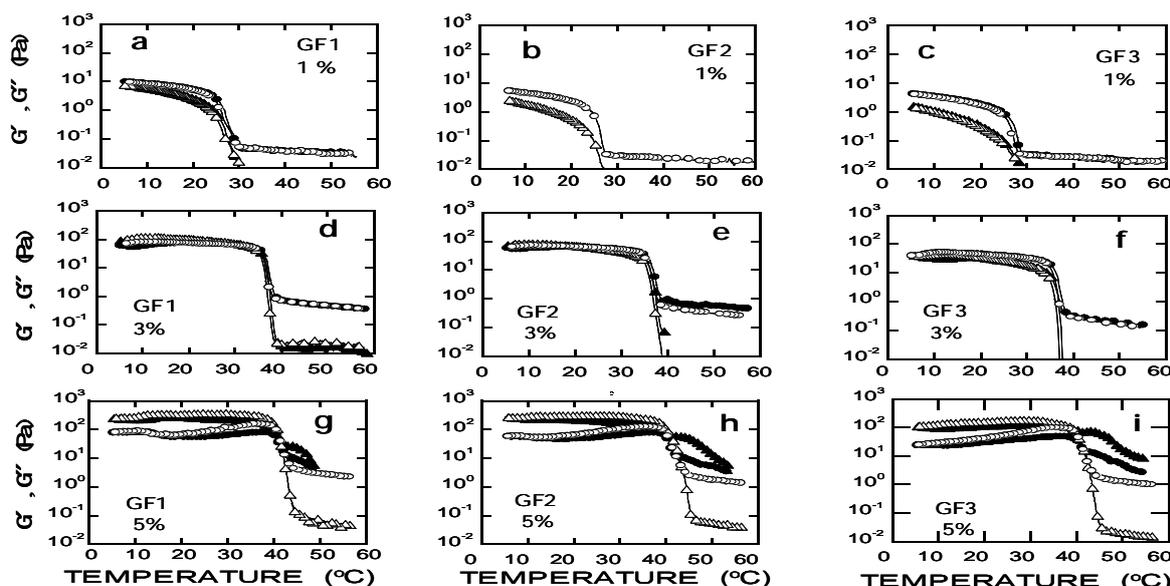


Fig.13 Temperature dependence of the storage modulus,  $G'$ , and the loss modulus,  $G''$ , during the cooling and heating processes for the Na-gellan (GF1, GF2, and GF3) aqueous solutions. cooling; ( $\triangle$ )  $G'$ , ( $\circ$ )  $G''$ , heating; ( $\blacktriangle$ )  $G'$ , ( $\bullet$ )  $G''$ . (a) GF1, 1% (b) GF2, 1% (c) GF3, 1% (d) GF1, 3% (e) GF2, 3% (f) GF3, 3% (g) GF1, 5% (h) GF2, 5% (i) GF3, 5%.

#### 4. ゴルーゲル転移のモル質量依存性

初期段階の形態転移の次に来るゲル化(ゴルーゲル転移)とモル質量との関係はどうであろうか。この点について、ダブルヘリックスが形成可能なモル質量を持つ3種のNa-ジェラン(GF1,  $M_w = 125 \times 10^3$ ; GF2,  $M_w = 95.3 \times 10^3$ ; GF3,  $M_w = 73.8 \times 10^3$ )を用いて検討した。<sup>30-32)</sup> 試料は水溶液中超音波粉碎後精製し作製したものであり、25 mM NaCl 水溶液中におけるCD測定からは $T_{ch}$ に関し前記のG1, G2と同様の結果が得られている。

GF1, GF2, GF3 試料について、水溶液中でポリマー濃度1-5%, 温度5-60°Cの範囲で動的粘弾性測定を行った。<sup>30-32)</sup> 代表例をFig.13に示した。Fig.13には降温後続けて測定した昇温測定の結果も合わせて示した。

さらに貯蔵弾性率( $G'$ )と損失弾性率( $G''$ )の周波数依存性測定も行い、その一部、3%水溶液についての結果をFig.14に示した。

$G'$ 及び $G''$ の温度依存性について、低濃度溶液(GF1は1%, GF2は1%と1.5%, GF3は1-2.5%以下)の場合、全温度領域で高分子希薄溶液型の力学スペクトル(全周波数範囲において $G'' > G'$ であり、強い周波数依存性をもつ)を示し、温度低下に従い $G''$ は急増するがその温度はCDの温度依存性から得られた $T_{ch}$ とよい対応が認められた。一方、より高濃度(GF1, GF2, GF3 それぞれ1.5, 2, 3%以上)の溶液の場合、 $G''$ の急増後は濃厚溶液型の力学スペクトル(低周波数側で $G'' > G'$ , 高周波数側では $G' > G''$ となる)を示した。さらに温度が低下すると $G'$ と $G''$ は交差し、交差点以下ではスペクトルは弱いゲル挙動(全周波数領域において $G' > G''$ であり、周波数依存性は殆ど認められない)に変化した。従って、Na-ジェラン水溶液の場合、 $G''$ の急増温度を $T_{ch}$ また $G'$ と $G''$ は交差温度をゴルーゲル転移温度 $T_{sg}$ と帰属することができる。<sup>33)</sup>

Fig.15にGF1~GF3について $T_{ch}$ と $T_{sg}$ のポリマー濃度依存性を示した。CD測定から求めた $T_{ch}$ と動的粘弾性 $T_{ch}$ は3試料とも良く一致した。GF1, GF2, GF3の $T_{ch}$ はポリマー濃度増加に伴い何れも上昇するが、前記のCD測定からのG1~G5同様、3試料間に差は認められなかった。GF1~GF3の3試料とも $T_{sg}$ はポリマー濃度の増加とともに急激に上昇した。また、 $T_{sg}$ は低ポリマー濃度領域では明らかなモル質量依存性が認められるが、試料間の差はポリマー濃度上昇とともに小さくなり、5%濃度の溶液ではGF1, GF2, GF3の3試料の $T_{sg}$ はほぼ一致した。4-5%の高濃度溶液中では低温でのゲル形成後、昇温してもゲルの一部がゾルに戻らない、ヒステリシス現象も観測されている(Fig.13)。ジェランガム水溶液のゲル化については、温度低下に伴いコイルからダブルヘリックス構造へと転移し、さらにこれらが会合して架橋領域を作り、三次元的な網目構造が形成されると考えている。 $T_{sg}$ がモル質量依存性を示した結果は、ゲルの架橋領域形成には分子鎖長が関係し、長い分子鎖の方が三次元的な網目構造が形成されやすいためと解釈される。一方、ダブルヘリックス構造形成後ゲル化に至らない領域(例えばGF1の1.5%溶液では10-32°C, GF2の2%領域では5-35°C, GF3の3%領域では7-38°Cの領域)も存在する。これらの領域では、水溶液中に形成されたダブルヘリックスの量が三次元的な網目構造を形成するには不足していると考えられる。 $T_{sg}$ が $T_{ch}$ と殆ど一致した5%濃度の溶液では、溶液中に十分な量のダブルヘリックスが存在した結果、ダブルヘリックス形成とほぼ同時にゲルの架橋が起こったと解釈される。

Fig.16にゲル強度に関する $G'$ とポリマー濃度及びNa-ジェランモル質量との関係を示した。 $G'$ はポリマー濃度増大に伴い増加し、またモル質量増加とともに大きくなる。この結果からも、ポリマー濃度とモル質量がゲルの架橋の数と架橋の長さに関係しゲルの強度に影響を与えていることは明らかである。

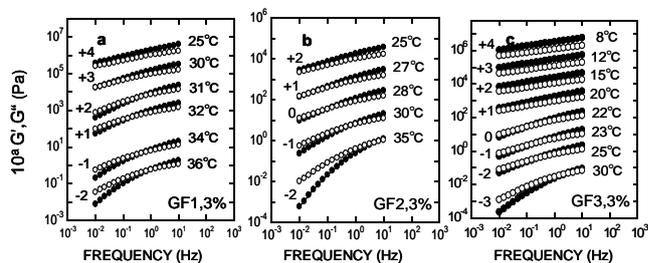


Fig.14 Frequency dependence of  $G'$ (○) and  $G''$ (●) for the Na-gellan (GF1, GF2, and GF3) in aqueous solutions without salts ( $c = 3\%$ ). The data are shifted along the vertical axes by shift factor  $a$  to avoid overlapping. (a) GF1, (b) GF2, (c) GF3.

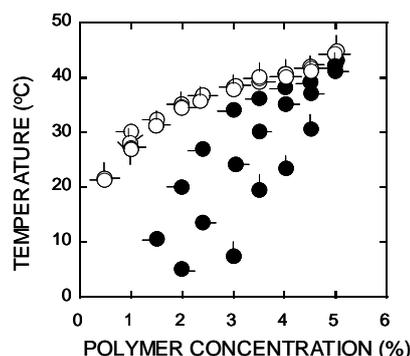


Fig.15 Polymer concentration dependence of  $T_{ch}$  and  $T_{sg}$  for Na-gellan (GF1, GF2, and GF3) in aqueous solutions without salts.  $T_{ch}$  obtained from rheological data: GF1(○), GF2(□), GF3(△).  $T_{ch}$  obtained from CD data: GF1(◇), GF2(◇), GF3(◇).  $T_{sg}$  obtained from rheological data: GF1(●), GF2(●), GF3(●).

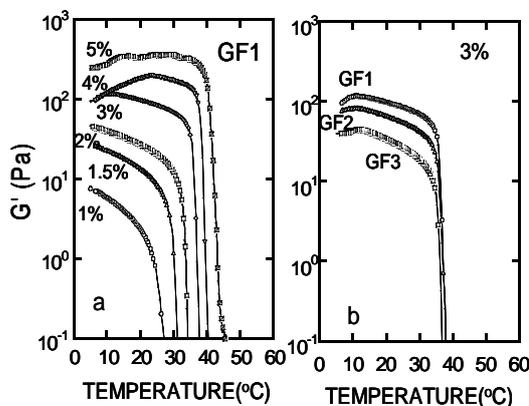
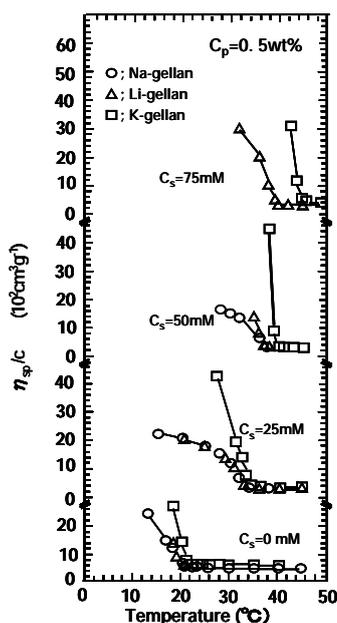


Fig.16 Temperature dependence of  $G'$  for Na-gellan in aqueous solutions without salts.

### 5. Li, Na, K イオンのコイルーヘリックス転移とゾルゲル転移への影響

金属カチオンはジェランガム分子のカルボキシル基間の静電的な反発相互作用を遮蔽することにより、ジェランガム水溶液の物性に影響を与えることが知られている。<sup>34)</sup> ジェランガムのコイルーダブルヘリックス転移に及ぼす金属イオン種の影響を調べるため、カルボキシル基の H を Li, Na, K で置換した Li-ジェラン ( $M_n = 4.3 \times 10^4$ ), Na-ジェラン ( $M_n = 4.8 \times 10^4$ ), K-ジェラン ( $M_n = 4.9 \times 10^4$ ) を作製し、それぞれ純水及び LiCl, NaCl, KCl の塩水溶液中で、粘性 $\eta_{sp}/c$ と CD の測定を行った。<sup>35-37)</sup> 塩濃度は 0, 25, 50 及び

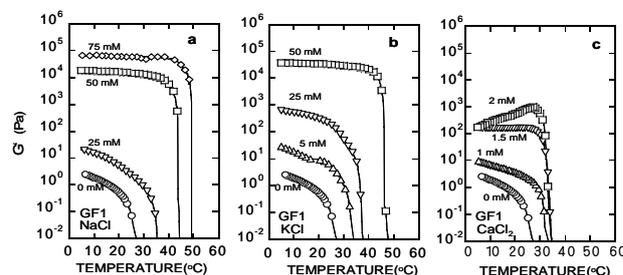


**Fig.17** Temperature dependence of  $\eta_{sp}/c$  for the Li, Na, and K-gellan aqueous solutions with and without salts.  $c = 0.5\%$ .

75 mM である。**Fig.17**に見られるように、K, Li, Na-ジェランの塩水溶液の比粘度  $\eta_{sp}/c (= (\eta_s - \eta_0)/\eta_0 c)$  は温度低下に伴い、コイルーダブルヘリックス転移温度  $T_{ch}$  以下で急激に増大した。 $(\eta_s$  と  $\eta_0$  はそれぞれ溶液と溶媒の粘度)。各溶液の粘度測定から得られた  $T_{ch}$  は CD 測定からの  $T_{ch}$  と一致し、塩濃度の増加に伴い高温側に移行することも確認された。イオン種による差は Na-ジェラン/NaCl 系と Li-ジェラン/LiCl 系間では認められなかったが、K-ジェラン/KCl 系では、Na, Li 系に比べ、塩濃度が高くなるに従い  $T_{ch}$  も高温側に移行する傾向があり転移後の  $\eta_{sp}/c_p$  の増加もより急激であった。Li, Na イオンと K イオンの差については、水分子とイオン間の相互作用が強く水分子がイオンの周りに配列する構造形成イオン (Li, Na) と反対に水分子の配列が乱される構造破壊イオン (K) の違いによると考えられる。<sup>38)</sup>

ゲル形成に及ぼす金属イオン種の影響をさらに調べるため、Na-ジェラン (GF1, GF2, GF3) の 1% 水溶液に種々の濃度 (1-75 mM) の NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub> を添加した系について動的粘弾性の測定を行った。 $T_{ch}$  は GF1~GF3 ではほぼ一致し、Na-ジェラン/NaCl 系と Na-ジェラン/KCl 系, Na-ジェラン/CaCl<sub>2</sub> 何れも  $T_{ch}$  は塩濃度の増加に従い高温側に移行することが確認された。粘性、動的粘弾性、及び CD の  $T_{ch}$  と塩濃度に関するこれらの結果は、電解質高分子のジェランガム

分子は、塩濃度の増加により分子鎖の膨張が抑制されダブルヘリックスを形成し易くなったためと解釈される。1% 溶液の場合、水溶液中では 3 試料ともゲル化しないが、塩水溶液中ではゲル化が認められた。ゲル化はモル質量の高いほど起こり易く、添加塩種では CaCl<sub>2</sub> > KCl > NaCl の順に高温から起る。そして、同じ塩では濃度の高いほど高温から起こった。即ち、NaCl 溶液中では GF1 は 25 mM から、GF2 と GF3 では 50 mM から、KCl 水溶液では GF1 は 5 mM から GF2 と GF3 は 25 mM から、何れもコイルーダブルヘリックス転移と同時にゾルゲル転移が起きていることが観察された。さらに CaCl<sub>2</sub> 溶液の場合、1 mM もしくは 2 mM とごく僅かな量の CaCl<sub>2</sub> を添加することにより、 $T_{ch}$  は大幅に高温側に移行し、同時にゲル化も起きている。CaCl<sub>2</sub> の  $T_{ch}$  ( $T_{sg}$ ) は NaCl や KCl 添加の場合より高温になる傾向であった。これらから、二価カチオン Ca は一価カチオン Na や K に比べ、極めて少ない添加量であってもゲル形成に顕著な影響を与えることが確認された。



**Fig.18** Temperature dependence of  $G'$  for the Na-gellan aqueous solutions with salts.  $c = 1\%$  salts; (a) NaCl, (b) KCl, (c) CaCl<sub>2</sub>.

**Fig.18** にゲル強度に関する  $G'$  と添加塩濃度との関係を示した。 $G'$  は NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub> の 3 溶液中で水溶液に比べて高い値を示し、何れも塩濃度の増加に伴い上昇した。一価の塩である NaCl と KCl の溶液を比較すると、Na<sup>+</sup> に比べ K<sup>+</sup> の効果は大きい。二価のカチオンを持つ CaCl<sub>2</sub> 溶液中では 1.5-2 mM 添加することにより、KCl 25 mM 溶液と同程度の  $G'$  を示した。金属イオン添加の影響については走査型トンネル顕微鏡 STM<sup>39)</sup> や wet-SEM<sup>40)</sup> により、添加する塩の種類によって形成されるジェランガムのゲル構造が異なることが直接観察されている。STM<sup>39)</sup> において、ジェランガムに種々の金属塩を添加すると、ゲルの架橋点間の長さは、Ca > K > Na > 無添加の順になる、と報告されており、今回のレオロジー的性質に及ぼすカチオンの影響の強さと一致している。金属カチオンが転移やゲル形成に与える効果の差はジェランガムの工業的な利用にも影響するため特に重要である。

### 6. 結 論

ジェランガム水溶液のゲル化、コイルーヘリックス転移とゾルゲル転移について、Na-ジェラン、Li-ジェラン、K-ジェラン試料の浸透圧、光散乱、粘性、CD、動的粘弾性及び DSC 測定から検討した。ジェランガムのゲル化は溶液中温度低下の伴いコイル状態からダブルヘリックス状態に転移し (コイルーダブルヘリックス転移) さらにダブルヘリックスが凝集してゲルの架橋領域を形成しゲル化に至る (ゾルゲル転移)。コイルーダブルヘリックス転移はシングルヘリックスから直接ダブルヘリックスを形成する all-or-none 型であり、転移が起こるか否かの境界は、今回

の実験条件では、 $M_w = 17 \times 10^3$  と  $M_w = 32 \times 10^3$  の間にある。コイル-ダブルヘリックス転移温度  $T_{ch}$  は  $M_w = 32 \times 10^3$  以上では試料のモル質量に関係せずほぼ一定であるが、ダブルヘリックス形成速度はモル質量が高いほど増加する。 $T_{ch}$  はポリマー濃度と塩濃度にも関係し、ポリマー濃度や塩濃度の増加に伴い高くなる。ゾルーゲル転移温度  $T_{sg}$  はモル質量の増加に伴い高温側に移行し、高濃度溶液中では  $T_{ch}$  と  $T_{sg}$  は一致しダブルヘリックス形成と同時にゲル化が起きる。ゲル強度はモル質量の増加に伴い増大する。コイル-ダブルヘリックス転移及びゾルーゲル転移に対する添加塩の効果は  $\text{CaCl}_2 > \text{KCl} > \text{NaCl}$ ,  $\text{LiCl} > \text{無添加}$  の順であった。

ジェランガムに関する以上の知見が、他の電解質多糖のゲル化機構の解明に少しでも役立てば幸いと思う。

## 文 献

- 1) M. A. O'Neill, R. R. Selvendran, and V. J. Morris, *Carbohydr. Res.* **24**, 123 (1983).
- 2) P. Jansson, B. Lindberg, and P. A. Sandford, *Carbohydr. Res.* **124**, 135 (1983).
- 3) G. R. Sanderson, In *Food Gels*; P. Harris, Ed.; Elsevier Applied Science: London, 201(1990).
- 4) C. Viebke, L. Piculell, and S. Nilsson, *Macromolecules* **27**, 4160 (1994).
- 5) E. R. Morris, D. A. Rees, and C. Robinson, *J. Mol. Biol.* **138**, 349 (1980).
- 6) H. Grasdalen and O. Smidsrød, *Macromolecules* **14**, 1845 (1981).
- 7) O. Smidsrød and H. Grasdalen, *Carbohydr. Polym.* **2**, 270 (1982).
- 8) K. te. Nijenhuis, In *Thermoreversible Networks*; Springer, Berlin, Chapter 12 (1997).
- 9) M. Milas, X. Shi, and M. Rinaudo, *Biopolymers* **30**, 451 (1990).
- 10) E. Ogawa, *Polym. J.* **27**, 567 (1995).
- 11) F. G. Donnan and E. A. Guggenheim, *Z. Physik. Chem.* **162**, 346 (1932).
- 12) F. G. Donnan, *Z. Physik. Chem.* **168**, 369 (1934).
- 13) M. Nagasawa and A. Takahashi, In *Light Scattering from Polymer Solutions*, M. B. Huglin, Ed., Academic Press, London & New York, Chapter 16 (1972).
- 14) E. G. Richards, In *An Introduction to Physical Properties of Large Molecules in Solution*, Cambridge Univ. Press. XXI Chapter 9 (1980).
- 15) T. Nicolai and M. Mandel, *Macromolecules* **22**, 438 (1989).
- 16) E. Ogawa, *Macromolecules* **29**, 5178 (1996).
- 17) R. Chandrasekaran, R. P. Millane, S. Arnott, and E. D. T. Atkins, *Carbohydr. Res.* **175**, 1 (1988).
- 18) R. Chandrasekaran, L. C. Puigjaner, K. L. Joyce, and S. Arnott, *Carbohydr. Res.* **181**, 23(1988).
- 19) M. Gidley and P. V. Bulpin, *Carbohydr. Res.* **161**, 291 (1987).
- 20) E. Ogawa, R. Takahashi, H. Yajima, and K. Nishinari, *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* **3**, 953 (2003).
- 21) E. Ogawa, In *Biopolymer Research Trends*, Tamas S. Nemeth, Ed., Nova, Chapter 6 (2007).
- 22) E. Ogawa, R. Takahashi, H. Yajima, and K. Nishinari, *Food Hydrocolloids* **20**, 378 (2006).
- 23) E. Ogawa, R. Takahashi, H. Yajima, and K. Nishinari, *Biopolymers* **79**, 207 (2005).
- 24) R. Takahashi, H. Tokunou, K. Kubota, E. Ogawa, T. Oida, T. Kawase, and K. Nishinari, *Biomacromolecules* **5**, 516 (2004).
- 25) E. Ogawa, H. Matsuzawa, and M. Iwahashi, *Food Hydrocolloids* **16**, 1 (2002).
- 26) S. Matsukawa, Z. Tang, and T. Watanabe, *Prog. Colloid Polym. Sci.* **114**, 15 (1999).
- 27) K. Nishinari, *Colloid Polym. Sci.* **275**, 1093 (1997).
- 28) T. Nakanishi and T. Norisuye, *Biomacromolecules* **4**, 736 (2003).
- 29) T. Okamoto, K. Kubota, and N. Kuwahara, *Food Hydrocolloids* **5**, 363 (1993).
- 30) E. Ogawa, K. Yamazaki, S. Sugimoto, R. Takahashi, K. Kubota, H. Yajima, and K. Nishinari, *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* **34**, 481 (2009).
- 31) E. Ogawa, K. Sugimoto, R. Takahashi, H. Yajima, K. Kubota, and K. Nishinari, *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* **31**, 731 (2006).
- 32) 小川悦代, 平成 18,19 年度新生科学財団研究助成成果報告書 101 (2009).
- 33) E. Miyoshi and K. Nishinari, 高分子論文集 **55**, 10, 567 (1998).
- 34) E. Miyoshi, T. Takaya, and K. Nishinari, *Food Hydrocolloids* **8**, 505 (1994).
- 35) E. Ogawa, H. Matuzawa, and M. Iwahashi, *Food Hydrocolloids* **16**, 1 (2002).
- 36) E. Ogawa, H. Matsuzawa, and M. Iwahashi, *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* **26**, 613 (2001).
- 37) E. Ogawa, *Progr. Colloid Polym. Sci.* **114**, 8 (1999).
- 38) 上平恒, 逢坂昭, 生体系の水, 3 章, 講談社サイエンスティフィック.
- 39) 渡邊徳子, 第 49 回コロイド及び界面化学討論会講演要旨集, 71 (1996)
- 40) K. Nakajima, T. Ikehara, and T. Nishi, *Carbohydr. Polym.* **37**, 77 (1996).

## 要 旨

水溶液中におけるジェランガムのゲル化, コイル-ヘリックス転移とゾルーゲル転移について検討するため, Na-ジェラン, Li-ジェラン, K-ジェランを試料に用い, 浸透圧, 光散乱, 粘性, CD, 動的粘弾性及び DSC の測定を行った。ジェランガム水溶液のゲル化は, 溶液温度低下に伴いコイル状態からダブルヘリックス状態に転移し (コイル-ダブルヘリックス転移), さらにダブルヘリックス間で凝集が起こりゲルの架橋領域を形成しゲル化に到る (ゾルーゲル転移) ことが明らかになった。コイル-ダブルヘリックス転移とゾルーゲル転移に及ぼすジェランガム分子のモル質量の影響及びこれらの転移に対する金属イオンの効果についても記した。