# 応用化学科特別講演会

#### 高分子集合体の構造・機能解析 -木も見て森も見て考えよう-





身の回りの高分子

#### 我々の身の回りは高分子であふれていて、高分子なしの生 活はあり得ない!



金属

高分子

セラミッ クス

複合 材料

研究室の基本姿勢

既存の高分子の構造・物性を詳細に調べる。

高分子の概念ができてからまだ100年。既存の高分子でも、まだ まだ明らかにしないといけない構造・物性が沢山あり、それを解決 することで用途が広がる。(高分子合成を否定している訳ではあり ません。単に自分ができないだけ)

① テーマに基づいて、高分子を多角的に測定



- ② (従来の文献も参考にしつつ) データを解析して結果を分析
- ③仮説を立てて、結果の説明を試みる

※ ①~③を繰り返し



高分子鎖が何本か集まることで何らかの役割を演じる ▶ 高分子の集まり方で物性・機能がどのように変わるかを明らか にする



### 増粘多糖類の役割

増粘多糖類---粘度を上げる目的で食品に添加される多糖類 具体的な用途:ドレッシング、たれ、ゼリーなど

食品に絡んで味をつける (化学的な味)、適度な食感を与える (物理的な味)



キサンタンとは?

- キサンタンは微生物が生産する2重らせん多糖類で食品、化粧品などの増粘 剤「キサンタンガム」として使用されている。
- 2重らせんによってキサンタンは非常に剛直となり、高い増粘作用をもたらす。
- ② 2重らせんは低イオン強度下で加熱すると解け (変性)、高イオン強度・低温に
   すると巻き戻す (再性)。
- ← それに伴い粘度も変化するので実用上重要



### キサンタンの構造・物性解析

- ◆ キサンタンは多くの身近な製品に利用されている。
- 実際にキサンタンを扱っている企業の研究者から、キサンタンの分析方法、 管理方法などに関して相談を受け、共同研究に発展した例もあり、産業界からも興味を持ってもらえる。
- 今後は、基礎的な研究に留まらず、実用面を重視した研究(溶解時間の短縮、溶解過程での物性変化、長期保管時の安定性、ロットごとの物性の不安定性の回避など)にも広げていきたい。



### (非変性) キサンタンに対する静的光散乱測定



みみず鎖

剛直な高分子 (主鎖にベンゼン環・共役系・らせん 構造を持つ) では回転角の自由度は制約される

- ▶ 高分子鎖を一定の堅さを持ったワイヤーのように 捉える
- 自由回転鎖を結合長bを1/2倍にして、結合数nを2 倍に、(1+cosθ)を1/2倍にする
- ② b→0, n→∞, 1+cosq→0の極限を取る
- ③ ただし、nb (= 高分子鎖の全長, L)とb/(1+cosq) (= 持続長, q)は一定と言う制約を設ける
- な
  gとM
  L
  (
  = M/L
  )
  を
  与
  え
  れば、
  <S<sup>2</sup>
  >を
  計算で
  きる
- ▶ 幅広い分子量でMと<S<sup>2</sup>>を測り、実測値を再現す るようにqとM を決める。

$$\langle S^2 \rangle = \frac{qL}{3} - q^2 + \frac{2q^3}{L} - \frac{2q^4}{L^2} \left(1 - e^{-L/q}\right)$$



### Q. 体重40 kgの人は痩せているか?

- A どちらとも言えない。(身長160 cmの大人な ら痩せ過ぎ、110 cmの子供なら太り過ぎ)
- 体重だけではなく身長も測ることで初めて痩 せているかどうか分かる。
- 高分子の広がりの分子量依存性を測ると、 高分子鎖の剛直性など、分岐の有無分かる。

(自由連結鎖なら両末端間距離は分子量の 0.5乗、棒状なら1乗に比例)

- ポリスチレン (屈曲性鎖)
   良溶媒 (トルエン) 中の方がθ溶媒 (シクロへ キサン) 中より広がっており、勾配も大きい
- ↓ キサンタン (剛直性高分子)

低分子量では勾配がきつい (棒状に近い) が、高分子量では緩やか (自由連結鎖に近 づく) になる



- 1. Sato et al. *Macromolecules* **1984**, *17*, 2696.
- 2. Fetters et al. J. Phys. Chem. Ref. Data 1994, 23, 619.

### (非変性) キサンタンに対する静的光散乱測定



### 再性条件の比較



 Kawakami et al. *Carbohydr. Polym.* 1991, *14*, 189.
 再性によってモル質量分布が広

がり、1-3量体が共存

2. Oviatt & Brant *Macromolecules*, **1994**, *27*, 2402.

再性によってキサンタン溶液の粘 度が上昇 (会合体の形成を強く示 唆)

3. Capron et al. *Polymer*, **1997**, *38*, 5289.

再性によって2本のヘアピン鎖に なる

再性挙動が定まらないのはキサ ンタンの濃度・モル質量によって 異なるからでは?

### 円偏光二色性 (CD) 測定

右円偏光と左円偏光の紫外・ 可視吸光スペクトルの差 (円偏 光二色性)を測定する。

- ◆ キラリティーを持つと (キサンタンの場合、二重らせんを巻くと)
  円偏光二色性が現れる。
- キサンタンを含む水溶液のCD スペクトルを測定することで、ど の程度らせんを巻いているか、 ランダムな構造になったかが分 かる。





キサンタンの局所的な構造 (木を見る) <sup>13</sup>



- ◆ 変性に伴って円偏光二色性スペクトルは変化したが、再性時に は元に戻った。
- ◆ キサンタンの局所的構造 (2重らせん構造) は非変性体と再性 体でほぼ等しい。

Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.

### SEC-MALS測定

普通のSECで用いている検出器は溶出する 高分子の濃度だけを検出

↓ 検出器に多角度で測定できる静的光散乱計 (multi-angle light scattering meter, MALS) を追加する

SECは十分に希薄な溶液で測定するので、

$$\frac{Kc}{R_{\theta}} = \frac{1}{M_{w}} \left( 1 + \frac{1}{3} \left\langle S^{2} \right\rangle_{z} q^{2} + \cdots \right)$$





a: 溶離液, b: ポンプ, c: 溶離液 フィルター, d: インジェクター, e: SECカラム, f: 多角度光散乱 計, g: 屈折率計, h: 廃液溜め, 矢印: 溶離液が流れる方向, 太線: ステンレスチューブ

### SEC-MALS測定の利点と欠点

#### 利点

- 今子量分別された各成分ご との絶対分子量、回転半径 が一遍に求められる。(分別 された非変性キサンタンでも 再性後に分布が狭いとは限 らない)
- \* 光学精製が容易 (通常の GPC程度)



欠点

- ② 測定に適した角度、濃度で測 れるとは限らない。(散乱角度 は固定、ピークの端では強度 が弱い)
- テーリング (高粘度試料では カラムで十分に分別できない) の影響で正しい平均分子量、 回転半径が求まらないことが ある。(キサンタンは増粘剤な ので影響大)

#### キサンタンの分子鎖全体 (森を見る)

### SEC-MALSによる再性体のモル質量分布

◆ 希薄溶液の変性・再性 (キサンタン0.1 g L<sup>-1</sup>, NaCI 0.01M):

モル質量がほぼ半減した。

 濃厚溶液の変性・再性 再性(キサンタン5.0g L<sup>-1</sup>, NaCI 0.1M):
 モル質量が増加し、分 布が広がり、会合体が 形成された。



Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.

### SEC-MALSによる再性体の回転半径

- ◆ 希薄溶液の変性・再性: *M<sub>w</sub>*も<*S*<sup>2</sup>><sub>z</sub><sup>1/2</sup>も減少して いるが、基本的に非変 性 (実線)と同じ*M<sub>w</sub>*依存 性を示す。
- ② 濃厚溶液の変性・再性:  $M_w < S^2 >_z^{1/2} < b = 100 \text{ multiple set}
  </p>

  <math>M_w < S^2 >_z^{1/2} < b = 100 \text{ multiple set}
  </p>

  <math>M_w < S^2 >_z^{1/2} < b = 100 \text{ multiple set}
  </p>

  <math>S^2 >_z^{1/2} < S^2 <_z^{1/2} < b = 100 \text{ multiple set}
  </p>$
- ▶ 分岐構造を持った再性 体の形成を示唆

renatured in concentrated solution
 renatured in dilute solution
 native



Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.

### 高濃度の変性・再性







提案された変性・再性モデル



変性したキサンタンは 再性で元通り



高キサンタン濃度では 大きな会合体、低濃度 ではモル質量半減

両方を説明できるモデルが必要 (Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.)



### 原子間力顕微鏡による観察









- < 低モル質量で分子量分布の狭い試料で測定
  </p>

  (非変性時の経路長151 nm)
- モデルと矛盾しない画像が得られた
   Matsuda et al. Polym. J. 2015, 47, 282.



### 高モル質量キサンタンの再性

- 前述の測定は全て、超音波 照射でモル質量を下げ、分 別で分布を狭めた試料を使 用している。
- ・ 光散乱測定: 散乱強度の角度依存性がより低角度で直線から逸脱
- 固有粘度測定:ずり速度依 存性が現れる

- 低モル質量化→増粘作用が 低下
- 狭いモル質量分布→手間が かかるが増粘剤として得ら れる利点がない
- ▶ 実用的なキサンタンではわ ざわざ低モル質量化・分布 低下させない

低モル質量化・分布低下さ せないキサンタンの変性・再 性挙動を調べたい。

高濃度で再性した場合のモル質量依存性



Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.



### 未分別 (高モル質量) 試料の粘度測定



キサンタンの分子鎖 全体 (森を見る)

- 高モル質量試料では ずり速度の影響を受 ける。
- 4球蛇管式粘度計で 測定。
  - 毛細管を長くして ずり速度を下げ る。
  - 4つの液溜めで ずり速度依存性 を測定する。

hpga  $2\eta I$ 





### <S<sup>2</sup>>と[η]のモル質量依存性



- ◆非変性試料はほぼ実線上に乗っている。
- ◆ 再性試料はM<sub>w</sub>が増加している が同じM<sub>w</sub>の非変性試料よりは <S<sup>2</sup>><sub>z</sub>と[η]が小さい。
- ◆非変性時のM<sub>w</sub>が小さい方がM<sub>w</sub> 、<S<sup>2</sup>><sub>z</sub>、[η]の増加が著しい。

実線:非変性試料に対する文献値 (Sato et al. *Polym. J.* **1984**, *16*, 341.)



- ◆非変性時のM<sub>w</sub>が小さい方 が*M*<sub>w</sub>、<*S*<sup>2</sup>><sub>7</sub>、[η]の増加が 著しい。
- ◆モル質量分布の影響は大き くない。

na: 非変性試料 re: 再性試料

モル質量と再性の関係(予想)



- 再性」が優先
- ▶ M<sub>w</sub>、<S<sup>2</sup>><sub>z</sub>、[η]の増加が鈍い

### 低濃度で再性した場合のモル質量依存性



Matsuda et al. Polym. J. 2009, 41, 526.

#### SEC 測定 と解析



 静的光散乱でM<sub>w</sub>を求め た非変性キサンタンで、 GPCと静的光散乱でM<sub>w</sub> が同じになるように較正 曲線を決定

- ② 再性キサンタンでも同じ
   較正曲線を用いてモル質
   量を決定
- ◆ 静的光散乱でM<sub>w</sub>を求め た試料を使うことで「換算 分子量」ではなく真のモル 質量が得られる。

ただし、分岐の影響を無視している。

(分岐高分子の較正曲線は同種の分岐がない高分子とは異なる)

⇐ 変性・再性によってM<sub>w</sub>は減少するかあまり変わらなかったので、分岐会合体の割合は十分に小さいと考えた。

### SECから求めたモル質量分布





非変性時のM<sub>w</sub>が100万程度でM<sub>w</sub>の減少が顕著で、それより大き いM<sub>w</sub>でも小さいM<sub>w</sub>でも減少幅が小さい。

⇐ 少しでも (CDで検知できない程でも) 二重らせんが残っていれば バラバラの2本鎖にならないので、M<sub>w</sub>が高い方がM<sub>w</sub>の減少幅が 小さい。



二重らせんを巻けない部分に全くひずみをかけないためには半径21 nm以 上の円になる必要がある。(コイル状態で9.90万、二重らせんで19.8万以上) この部分の長さは全長に依存しない→全長が短い程二重らせんを巻きにく い部分の割合が高まり、ヘアピン構造が安定しない

 $f_{dis} \equiv \frac{2\pi \times 21 \text{nm}}{M_w(\text{single})/M_L(\text{single})}$ 

## 実用的な使用環境下における変性・再性

♦ 熱変性・再製したキサンタンの構造は濃度、分子量によって変わる。

