

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05876

研究課題名(和文)糖やアミノ酸の迅速で微量な水和パラメータの算出と水和に寄与する分子構造の解明

研究課題名(英文)A new rapid measurement of the hydration parameter with a small volume of sample and involvement of molecular structure in hydration

研究代表者

佐藤 之紀 (Sato, Yukinori)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：50226015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アインシュタイン博士の理論に基礎をおいた水和パラメータ h を微量なサンプル量でしかも迅速で低コストで行う系を確立しようとした。磁気的な性質をローターに組み込んだ粘度計を導入して微量で迅速な粘度測定を試みたが、データのバラツキの点で検討の余地が残された。急遽、試料の量は少なくできないが、測定時間を短くする方法を考案した。その結果、いくつかの問題点は今後解決しなければならないが、糖や糖アルコールなどの分子種の水和パラメータ h と、水分活性とモル分率から求められた水和パラメータの関係は、尿素やメタノールなどのそれらの関係と同様に分子種を問わず $\ln a_w = -h$ の関係にあることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命の起源は水であり、水が溶質と相互作用する現象である水和は皮膚などの生体の機能や食品の機能に関与しているといわれている。しかし、それらの機能に関与する水についても特に水溶液中で溶質と相互作用している水の機能を解明するために迅速で比較的安価で手軽な方法の開発が必要不可欠である。そこで、アインシュタイン博士の理論に基礎をおいた迅速で低コストな水和パラメータ h を提唱してきている。しかし、現在のところ、パラメータ h を算出する方法に必要な試料溶液の量を減らし、微量なサンプル量で行う必要が出てきて今回の申請に至った。

研究成果の概要(英文)：To establish a rapid measurement of hydration parameter h which was proposed by Dr. Einstein, we attempted to use a lately-developed viscometer with magnetism in the rotor. However, a wide variation of viscosity could not be improved. Immediately, a new idea which can get shortly measurement time but need the same volume of sample liquid, was carried out. As a result, the relationship between the hydration parameter h and the parameter which measured with water activity and molar fraction of solute, could be clarified for sugars and their related sugar alcohols in water, resulting in the same as the relationship between these parameters for urea or other alcohols in water.

研究分野：食品工学

キーワード：水 水和 粘度 モル体積

1. 研究開始当初の背景

溶質と水との相互作用を示す水和は、生体機能の発現(村勢, 2014), 食品機能の発現(Reid and Fennema, 2008), 皮膚の機能(Berkey et al., 2021)に関与している。しかし、プロトン NMR(Sato and Miyawaki, 2000)や近赤外分光法を駆使した食品中の水の動態追跡(佐藤と野口, 1996)をはじめとして数多くの研究者がこれまで水に焦点を当てて研究を進めてきているものの、食品中の水自体の構造解析は極めて難しいと考えられる。水以外の分子由来のプロトンの寄与を完全に除去できないことや、他の物質由来の反射スペクトルが寄与する場合など、ある一定の仮定や阻害物質などの関与がネックとなっている。このように水の構造そのものの水和に関する研究には、高価で操作が煩雑である機器測定が必要であることが水和研究の門戸を狭めている一つの大きな要因である。そこで、可能な限り簡易で安価な方法であるが迅速な測定という面でよい方法を見出そうとした。

2. 研究の目的

食品中の水に関する研究を初めて行う者にとってはコストと操作の煩雑さの点を考慮して、比較的安価ではあるが微量な粘度測定器を用いた迅速な水和パラメータ h の算出方法を考えようとした。これまで、簡易な方法として、ガラスのキャピラリーでできている粘度計であるキャノンフェンスケ粘度計を駆使して水溶液構造を解析する方法を提唱してきている。この方法であると、目視でストップウォッチを压す能力があればデータを出すことができる。しかし、この方法を用いるには、密度測定に必要な試料の量や必要量を分取するときに生じるデッドボリュームを含めると1サンプルの測定に20 ml ほどが必要となる。一方、糖の構造と水和の関係を精査する場合においては純度の高い試薬の調達が不可欠である。単糖、2糖くらいまでなら多量の試料調製が可能な予算範囲であるが、これまでの理論を3糖、4糖まで適用可能かを調べる際には試料作製時のコストの問題に直面し、迅速で簡易であり、さらに微量で粘度測定が可能な方法を見出していく必要性が出てきて、糖の構造と水和の問題を突き進める上で大きなネックとなっている。そこで、1サンプルの測定に100 μ l 以下で算出可能な系を提示したい。その後、この迅速な測定法で確立された方法で求められたパラメータ h を水分活性とモル分率から導かれるパラメータ など他の水和パラメータと比較することが目的である。

3. 研究の方法

(1) 微量粘度計を用いた糖や糖アルコールの水和数を示すパラメータ h の迅速算出; 微量粘度計の精度を確認するために、すでに密度と粘度のデータが公表されているスクロースを用いて、この粘度計の精度を確かめた。

1) 糖や糖アルコールの水和パラメータ h ; 微量粘度計を用いて算出された密度と粘度から糖アルコールのパラメータ h を算出した。

2) 糖や糖アルコールのパラメータ h と溶質-溶媒間分子間相互作用を示すパラメータ の関係; 溶質-溶媒間分子間相互作用の指標であるパラメータ (Miyawaki et al., 1997) は、溶質のモル分率 (X_s) と水分活性 (A_w) の関係式中の指数 n を示す ($A_w = (1 - X_s) \exp(-X_s^n)$)。すなわち、パラメータ n は A_w と X_s の関係の理想状態からのずれの度合を示し、絶対値の数値が大きいパラメータ n ほど、同一 X_s での A_w は低くなることを意味している。糖や糖アルコールを含めたパラメータ h とパラメータ n の関係を考察し、今までの理論上に乗っているか否かを考察する。最近、Miyawaki(2018)により、理論上、パラメータ h とパラメータ n は互いに変換可能である($n = -h$)ことが示されているが、実測値でそれを比較する。

4. 研究成果

微量粘度計には、磁石を内蔵したローターがサンプル水溶液中に浮かんで、磁力によって回転が遅くなることを利用して算出されるようになっており、ストップウォッチ、恒温槽、ガラスキャピラリーを必要としないことがコンセプトである。また、手動の細管式粘度計と比較して溶媒使用量の75%を削減することを実現するとされている。本申請課題ではこの微量で測定可能な粘度計を導入して、水溶液中に溶けていて目には見えない溶質と相互作用(水和)している水の量を迅速に求めようと試みた。

(1) 温度制御可能な上記の原理の微量粘度計を導入し、基本の糖としてスクロースの粘度による水和パラメータ h の迅速測定を試みた。水和パラメータ h は粘度測定による B 係数の項と密度測定による分子体積 V_2 を求める項に分かれるが、 B 係数測定の項が水和パラメータ h 算出の律速段階である。新規の微量粘度計を用いてスクロースの25%の B 係数を求めたところ、キャピラリー粘度計を用いる従来法とほぼ同じ B 係数が得られた。これにより、約7倍程度の時間短縮と試料半量に制限できることになった。しかし、 B 係数を求める際に濃度の2次関数にフィッティングさせる際にプロットのバラツキが従来法に比べて大きかった。また、予算上、測定温度範囲が15-40℃であり、従来法のように5%からの測定ができないなどの欠点が明らかとなった。さらに、水和パラメータ h が知られていないフラクトースの迅速な水和パラメータ h の算出を試みたところ、スクロースの場合と同様に時間短縮と試料量の減量は可能であったものの、 B 係数算出の際のプロットのバラツキが問題と思われた。したがって、水和パラメータ h の迅速測定には、従来法にみられる高い精度を維持しつつも、迅速に処理できるシステムを考える必要ありとの結論に至った。しかし、25%での数種の糖アルコールのパラメータ h や新規な6炭糖のパラメータ h を試料の量が多く測定時間が長くなる従来法を用いて算出し、それらの水和パラメータ h と水分活性から求められるパラメータ α の関係を見出すことができた。その結果、糖アルコールの水和パラメータ h とパラメータ α の関係は、糖のそれらの関係式上にきわめて一致していることを見出した。

(2) 単糖の代表であるグルコースを試料に用いて実験しても、 B 係数に大きなバラツキがみられたことから、パラメータ h を算出するための粘度測定には導入した微量粘度計は不適であると判断された。

(3) そこで、急遽、従来のキャピラリー粘度計と精密密度計を用いる方法を改良して、迅速にパラメータ h が求められる系を考えることになった。従来法は液体の落下時間の相対的な関係からでも粘度を求められるように同一のキャピラリー粘度計を用いてすべてのサンプルを測定していた。代案とされた方法では、複数のキャピラリー粘度計をそれぞれ個別の濃度のサンプルに適用することで粘度計ごとのバラツキは寄与することになるが、測定時間の短縮に貢献できると考えた。研究開始当初は導入した微量粘度計に能率のよい粘度測定による迅速なパラメータ h の算出を計画していたが、上記のように研究の計画を変更せざるを得なくなり、糖と糖アルコールのパラメータ h と水分活性とモル分率の関係から求められるパラメータ α の関係を絞ることにした。

(4) 上記の(3)で示した実験系で、水和に寄与する特定の分子構造を明らかにするために、糖とその糖に対応する糖アルコール7種類(D-キシロース、キシリトール、D-グルコース、D-グルシトール、D-マンノース、D-マンニトール、D-フラクトース)のパラメータ h を求めた。その結果、水和パラメータ h と粘度 B 係数の関係をプロットしたところ、 $R^2=0.992$ で示された。一方、水和パラメータ h と V_2 の関係をプロットしたところ、 $R^2=0.606$ であったことから、

主に B 係数によってパラメータ h が決まると考えられた。しかし, B 係数は, 分子サイズによる寄与 (B_{size}) と分子の構造によるこの粘度寄与 ($B_{structure}$) に分けることができ, 粘度 B 係数からこのサイズ効果を除去して求められた $B_{structure}$ を比較したところ, D-グルコースがここで比較した 7 種類の糖や糖アルコールの中で一番大きかった。すなわち, 2 位の OH の向きが粘度 B 係数に反映され, 水和に大きく寄与する可能性が出てきた。しかし, B 係数を求める際に分母となる溶媒の粘度がわずかに異なると B 係数に大きな影響を与えることを, 水の粘度に実測値を入れて B 係数を求めた場合と文献値の水の粘度のデータを入れて求めた場合で比較したところ判明した。

(5) 従来から用いていたキャピラリー粘度計と密度計を用いているが, 5 本同時に粘度を測定できる系を急遽構築し, そのシステムで糖や糖アルコールのパラメータ h を求めたところ, 溶媒の水の粘度の値により大きくパラメータ h は変動するが, これまでのホルムアミド, 尿素, 各種のアルコールのパラメータ h と水分活性とモル分率の関係から求めたパラメータ h の関係に, あらたに糖と糖アルコールのそれらの関係を上にプロットしたところ, きれいに直線上にのり, $\ln a_w = -h$ の理論を証明することができると思われた。

(6) 今後は, やはり, 粘度 B 係数やパラメータ h 算出に有効な迅速で微量な粘度測定方法を開発し, 微量で迅速な方法でパラメータ h を算出できるようになると, 水和と分子の構造の関係が一挙に明らかになっているものと思われた。

引用文献

Berkey, C., Biniek, K., and Dauskardt, R. H. (2021). Predicting hydration and moisturizer ingredient effects on mechanical behavior of human stratum corneum. *Extreme Mechanics Letters*, 46, 101327.

Miyawaki, O. (2018). Water and freezing in food, *Food Sci Technol Res*, 24, 1-21.

Miyawaki, O., Saito, A., Matsuo, T., and Nakamura, K. (1997). Activity and activity coefficient of water in aqueous solutions and their relationship with solution structure parameters. *Biosci. Biothech. Biochem.*, 61, 466-469.

村勢則郎 (2014). 研究小集会「食品と水」開催の趣旨, *食科工*, 61, 314-315.

Reid, D. S. and Fennema, O. R. (2008). Water and ice, In *Fennema's Food Chemistry*, (ed.) by Damodaran, s., Parkin, K. L., and Fennema, O. R., CRC press, FL, USA, 18-82.

Sato, Y. and Miyawaki, O. (2000). Relationship between proton NMR relaxation time and viscosity of saccharide solutions, *Food Sci Tech Res*, 6, 136-139.

佐藤之紀, 野口 駿 (1996). 近赤外分光法による食物繊維の水分含量と単分子層吸着水量, *家政誌*, 47, 5-11.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤之紀・宮脇長人
2. 発表標題 水分活性のパラメータ と粘性の水和パラメータhを指標とした糖水と構造の解析
3. 学会等名 日本食品工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤之紀, 宮脇長人
2. 発表標題 キャピラリー粘度計と精密密度計を用いた糖アルコールの水和パラメータh .
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------