

2018 年度

修士論文

サクシノグリカン-卵白たんぱく質複合体の
レオロジー特性及びナノ構造解析

柴田章吾

酪農学園大学大学院酪農学研究科

食品栄養科学専攻

食物物性学研究室

目 次

1. 緒言	1
2. 材料および方法	5
2-1. 材料	
2-2. SCG の精製	
2-3. EWP 溶液の調製方法	
2-4. SCG-EWP 共存系の調製	
2-5. レオロジー測定	
2-6. weak gel model によるデータ解析法	
2-7. X 線小角散乱測定	
2-7-1. 装置について	
2-7-2. 測定試料・測定条件	
2-7-3. 散乱強度の検出	
3. 結果	12
3-1. 加熱処理によるレオロジー変化(EWP 濃度依存性)	
3-2. 加熱処理によるレオロジー変化(SCG 濃度依存性)	
3-3. SAXS 測定	
3-3-1. SCG 水溶液	
3-3-2. EWP 水溶液	
3-3-3. 非加熱 SCG-EWP 共存系	
3-3-4. 加熱処理 SCG-EWP 共存系	
4. 考察	17
5. 結語	19
6.Summary	20

謝辭	21
引用文獻	22

略語一覧

EWP	．．．	卵白タンパク質 (egg white protein)
G'	．．．	貯蔵弾性率
G''	．．．	損失弾性率
G^*	．．．	複素弾性率
SAXS	．．．	小角 X 線散乱 (small angle X-ray scattering)
SCG	．．．	サクシノグリカン (succinoglycan)
SE _{x_y}	．．．	SCG-EWP 共存系. x は SCG 濃度, y は EWP 濃度を示す.

1. 緒言

サクシノグリカンとは *Agrobacterium tumefaciens* が産生する細胞外水溶性多糖類である。その繰り返し単位は、グルコース、ガラクトース、ピルビン酸及びコハク酸残基からなる。その構造を図 1 に示す¹⁾。本多糖は水溶液中で高い増粘効果を示し、耐酸性・耐塩性に優れる。サクシノグリカン水溶液は 65℃付近でその粘度が急激に低下する。このレオロジー特性はサクシノグリカンの構造転移によるものだと考えられている。サクシノグリカンは 25℃では水溶液中で二重らせん構造をとり、65℃以上では二重らせんが解離し半屈曲性の 1 本鎖になる。そして、この熱変性状態から 25℃に冷却するとサクシノグリカンはその濃度に応じて二重らせん構造を再構築すると考えられている。希薄溶液では同一分子内でらせんを形成し、準濃厚溶液以上では分子間で二重らせんを形成する。さらに分子間での二重らせん形成がランダムに起こるため加熱冷却後のサクシノグリカンはミクロゲル様の会合体を形成すると考えられている。このようなサクシノグリカンの熱変性機構のモデルを図 2 に示す²⁾。

サクシノグリカンは石油回収用増粘剤³⁾や洗剤⁴⁾、化粧品⁵⁾などに応用され、さらに食品用増粘安定剤としての研究開発が進められている。サクシノグリカンの食品への添加例としては乳製品やドレッシング、ジャムなどが挙げられる。デュポン社によってサクシノグリカンを用いることで乳製品やフルーツ製品の離しょう防止効果が高まることが報告されている⁶⁾。

食品は水、タンパク質、脂質、多糖類、ミネラルなどといった多成分からなる不均質構造を持っており、その中でも、タンパク質、多糖類、脂質は多くの場合、食品構造を形成する本体であり食品のテクスチャーに直接関与している^{7,8)}。このため、食品分野では多糖類とタンパク質の相互作用に関する研究が進められている。多糖類やタンパク質は加工食品においてテクスチャーや安定性をコントロールするために使われる。多糖類は主に増粘安定剤およびゲル化剤といった食品添加物として用いられ、タンパク質は主に食品としての組織化特性の発現に寄与する原料として食品加工に用いられる。これらは同時

に使用されることもある。したがって、多糖類とタンパク質の相互作用を理解することが製品品質のコントロールや製品設計において重要となってくる。また、食品分野だけではなく化粧品や薬学、生体工学などの分野でも多糖類とタンパク質の相互作用を利用したソフトマテリアルの開発も行われている⁹⁾。

我々は卵白タンパク質を変性温度未満で加熱処理した場合でもゲル化が起こるのか、またゲル化したときのタンパク質の変性状態がどのようなものであるかといった系統的な研究を進めている。これまで、卵白タンパク質分子の凝集挙動について形態学的手法を用いた研究¹⁰⁾や乾燥卵白タンパク質水溶液の熱変性温度近傍でのゲル化挙動に関する研究¹¹⁾を行ってきた。これらの研究から特定条件での加熱によって卵白タンパク質が繊維状凝集体を形成することや卵白タンパク質は変性温度以下でも長時間の加熱によってゲルを形成することが明らかになっている。

Le らによってキサントガムと β -ラクトグロブリンが pH を下げることによって静電引力相互作用によって複合体を形成することが報告されている¹²⁾。また、このような軟らかいゲルは、その軟らかさのためや構造スケールの多様性といった理由で基礎的な力学物性の研究をすることが難しい^{9, 13)}。そのため軟らかいゲルの力学物性研究には新しい手法が必要である。

多糖類やタンパク質からなるゲルの力学物性を評価するために動的弾性率の周波数依存性(いわゆる力学スペクトル)を測定したとき、測定周波数範囲で貯蔵弾性率(G') > 損失弾性率(G'')となり、 G' と G'' が周波数に依存的に増加する「弱いゲル型 (指数則ゲル, 構造化された液体)」の力学スペクトルになるケースがある。このような力学スペクトルのとき、通常の線形粘弾性理論では解析することができない。しかしながら、2001年にそのような複雑流体を解析するモデルとして weak gel model という理論モデルが提案された¹⁴⁾。Weak gel model は Bohlin の協同性流動理論¹⁵⁾と Winter らのゾル-ゲル転移理論¹⁶⁾から成り立っている。協同性流動理論では流体が仮想的な流動単位格子から成ると仮定した統計力学的な理論モデルを提案している。その概念図を図3に示す。流動単位格子はスト

レスのかかっている状態とリラックスした状態という2つの状態を取ると仮定し、最近接する格子間のエネルギーを計算することにより配位数 z というパラメータを導出した。 z は1つの流動単位格子に着目したとき隣接する流動単位格子同士に力学的相互作用がどのくらい働いているかを表している。このモデルでは z を用いて緩和弾性率 $G(t)$ と観測時間 t が式(1.1)に従うことを導出した。

$$G(t) \propto t^{-\frac{1}{z}} \cdots (1.1)$$

これを動的弾性率 $G(\omega)$ で置き換えると式(1.2)になる。

$$G(\omega) \propto \omega^{-\frac{1}{z}} \cdots (1.2)$$

一方で, Winter らはゾル-ゲル点移転近傍で式(1.3)に従うような臨界ゲルが生成するとしている。

$$G(\omega) = A\omega^n \cdots (1.3)$$

ここで, A はゲル強度を表す。式(1.2)(1.3)から Gabriele らは式(1.4)を導出し、指数側に従う複雑流体を解析する weak gel model を提案している¹⁴⁾。

$$G^*(\omega) = A_f \omega^{\frac{1}{z}} \cdots (1.4)$$

A_f は単位格子同士の相互作用の強さ、すなわちゲル強度を表す。 A_f と z は現象論的なレオロジー測定結果から分子論的な構造に関する情報を得ることができるため、weak gel model は「弱いゲル」の力学特性解析に有用である。

「弱いゲル」の力学特性を分子論的に説明することを直接サポートするデータが必要となる。そのためには「弱いゲル」の微細構造に関する情報が必要である。微細構造を調べる方法として電子顕微鏡や原子間力顕微鏡といった実空間観察が考えられるが、これらの手法ではサンプル調製の段階で様々な処理が加わりサンプル構造が変化してしまうという欠点がある。一方で、光散乱やX線小角散乱といった逆空間観察は「その場(in situ)」観察ができるという強みがある。X線小角散乱(SAXS)とは散乱角がおおよそ3度以下の散

乱 X 線を測定する手法である¹⁷⁾. SAXS では高分子などのソフトマテリアルや合金などの金属まで広範囲にわたるサンプルのナノ構造解析を行うことが可能である. SAXS で測定されるサイズは 1~100nm くらいであり, 散乱体の大きさやサイズ分布, 形状, 界面構造の情報が得られる^{18, 19)}. SAXS の長所は平均粒経や平均粒子間隔などの平均スケール情報を高精度で得ることができることや数 10~数 100 μm 厚の試料を非破壊で測定できることが挙げられる¹⁸⁾. また, 可視光による光散乱と比べて SAXS は量子ビームを使用するため測定サンプルが不透明でも測定を行うことが出来るため, 多相共存系でかつ複雑な食品の構造科学研究に適している.

本研究は, サクシノグリカンに卵白タンパク質を共存させ加熱冷却を行った際のレオロジー特性について調べることで, および SAXS によるサクシノグリカン-卵白タンパク質共存系のナノ構造解析を行うことを目的とした. このような目的とした理由は, サクシノグリカンとタンパク質の相互作用についてはあまり研究が進められておらず, これらの相互作用について研究することはサクシノグリカンの食品への応用において重要であるからである.

2. 材料および方法

2-1. 材料

サクシノグリカン(以下, SCG)はダニスコジャパン株式会社の SUCCINOGLYCAN J を使用した. 卵白タンパク質 (以下, EWP) は, 和光純薬工業株式会社のアルブミン, 卵由来を使用した. 塩化ナトリウムは和光純薬工業株式会社のものを使用した.

2-2. SCG の精製

工業用原料レベルの SCG は製造工程で産生菌の滅却のため加熱処理がなされており, この加熱処理のため図 2 右下に示すようなミクロゲルを形成していると考えられている^{2, 20)}. 従って, ミクロゲルを含まない線状のポリマーサンプルを得るために超音波処理とフィルター処理による SCG の精製を行った.

SCG3.0g を 1L の蒸留水に加え, 2 時間攪拌溶解させた. 攪拌後, 超音波発生装置 (hielscher, UP200S) を用いて, 超音波発生条件を出力 75・Cycle 0.5 とし, 氷冷下で 60~75 分間攪拌しながら超音波処理を行った. 超音波処理中に溶液の一部をサンプリングして, B 型粘度計を用いてその粘度をモニターし, 粘度が 100 mPas になるまで超音波処理を行った. 超音波処理後, 3.0 μm ・0.8 μm ・0.45 μm フィルター (MILLIPORE) と徐々に細孔径を変え加圧濾過を行った. 濾過後, ロータリーエバポレータ (N-N 型, EYELA) を用いて溶液を約 1/2 に濃縮し, サンプルをフリーザーバッグに入れて -40°C で凍結した. その後, 凍結乾燥を行い, SCG の精製サンプルを得た. 本研究では精製工程を 3 回行った. その収率を表 1 に示す. 各精製工程で得られた SCG を合わせて 1 ロットとし合計 4.893 g(1.758+1.555+1.553)の精製 SCG サンプルを得た.

2-3. EWP 溶液の調製方法

ビーカーに蒸留水と EWP を入れ, 氷冷下で Multi blender (DK-5033, 貝印) を用いて, 1 分間攪拌, 30 秒休止するという工程を 3 回行った. 次に, R14A (日立工機, ローター:

No.29) を用いて 10000 rpm, 60 分, 10℃の条件で遠心分離を行った。遠心分離後, 上清を抽出し, EWP 水溶液とした。EWP の濃度はブラッドフォード法でタンパク質定量を行った。すなわち, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml の Bovine serum albumin (BSA) 水溶液を調製し, 試験管にそれぞれの溶液 60 μ l と 5 倍希釈したプロテインアッセイ染色液 (Bio-Red) 3.0 ml を入れ, ボルテックスミキサーで攪拌後, 15 分間静置した。その後, レシオビーム分光光度計(株式会社 日立ハイテクサイエンス U-5100)を用いて, 595 nm の波長で吸光度を測定し, BSA 濃度に対応する吸光度から検量線を作成し, 回帰式を導いた。500 倍希釈した EWP 水溶液 60 μ l とプロテインアッセイ染色液を用いて, 上記と同様の方法で吸光度を求め, 回帰式に代入することで EWP 濃度を定量した。

2-4. SCG-EWP 共存系の調製

SCG-EWP 共存系は, SCG 濃度を 0.5 wt%に固定し, EWP 濃度が 0, 0.1, 0.3, 1.0 wt%となるような系列と EWP 濃度を 1.0 wt%に固定し, SCG 濃度が 0.75, 1.0 wt%となるような系列のサンプル群を調製した。この時, EWP は単独ではゲル化しない濃度とした。溶媒は全て 0.1 M NaCl 溶液を用いた。SCG-EWP 共存系は SCG 溶液と EWP 溶液を混合しペンシルミキサーで攪拌して調製した。そして, 脱泡のため日立小型遠心機(日立)で 3000 rpm, 5 分の条件で遠心分離を行った。サンプル溶液の加熱冷却処理は以下に述べる手順で行った。すなわち, サンプル溶液の加熱は 80℃で 30 分間加熱処理を行い, 加熱後, 0.5℃/min の冷却速度で 30℃になるまで冷却した。加熱冷却はウォーターバスを用いて行った。サンプルコードは SE x _ y とした。 x は SCG 濃度を表し, y は EWP 濃度を示す。例えば SE0.5_1.0 というサンプルならば SCG 濃度が 0.5 wt%で EWP 濃度が 1.0 wt%である系であることを示す。

2-5. レオロジー測定

ONRH 型回転式レオメータ(大栄技研)を用いて, 加熱冷却処理前後における SCG-EWP

共存系の動的弾性率の周波数依存性(力学スペクトル)を測定した. ONRH 型レオメータは測定フィクスチャーに 2 重円筒を採用しており, 外筒回転内筒検出方式のひずみ制御型レオメータである. 内筒の直径は 19.36mm, 長さ 29.04mm で外筒の直径は 21.34mm のものを使用した. 測定条件は周波数範囲 0.13 rad/s ~ 50 rad/s, 歪は 0.1, 測定温度は 30°C とした. サンプルは密閉状態で充填されているので, サンプルからの水分からの揮発が最小限に抑えられるという特徴がある.

一般的に, 力学スペクトルから系の状態を判断することが出来る. 図 4 に力学スペクトルを 3 種類に大別したパターンを示す. a のようなパターンの場合, 絡み合い高分子溶液であることを示す. c のようなパターンの場合, 典型的なゲルであることを示す. b のようなパターンの場合, 「弱いゲル」であることを示す. これは特定の緩和時間が見られず, 特徴的な長さをもつ緩和機構がないことを意味している²¹⁾. 実験で得られた結果に対してこのようなパターン分類を行った.

2-6. weak gel model によるデータ解析法

「弱いゲル」の力学スペクトルを示した系について weak gel model による解析を行った.

Weak gel model は式(1.4)で表される. A_f はゲル強度を表す. z は配位数, すなわち系内の応力伝播構造の幾何学的なパラメータを定量的に表すパラメータである. Weak gel model のデータ解析法について述べる. 式(1.4)の両辺に対数を取って整理すると,

$$\log G^*(\omega) = \frac{1}{z} \log \omega + \log A_f \quad \cdots (2.1)$$

式(2.1)となり, weak gel model は両対数グラフ上で直線となる. また, 動的弾性率測定から得られた貯蔵弾性率(G')と損失弾性率(G'')から複素弾性率(G^*)を式(2.2)を用いて求めることが出来る.

$$G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad \cdots (2.2)$$

複素弾性率(G^*)の周波数依存性を両対数グラフでプロットを行い、線形フィットを行うと傾き a と $\omega=10^0$ における切片 b を求めることが出来る。従って式(2.1)から A_f と z はそれぞれ式(2.3)と式(2.4)で求めることができる。

$$A_f = 10^b \quad \dots (2.3)$$

$$z = \frac{1}{a} \quad \dots (2.4)$$

フィッティングには Origin8.5J(ライトストーン社)を用いた。

2-7. X 線小角散乱測定

2-7-1. 装置について

X 線小角散乱測定は北海道大学工学部にある Rigaku Nano-Viewer に集光ミラーと検出器を設置した装置を用いて行った。図 5 に X 線散乱装置の全体写真、図 6 に X 線散乱測定を行う体系を示す。体系は X 線源、モノクロメータ、コリメータ、試料、検出器で構成される。

本実験では X 線源に Mo を用いている。Mo の特性 X 線波長は 0.7093 \AA 、エネルギーは 147.4798 eV である。モノクロメータは広範囲の波長からある領域の波長を取り出す分光器である。X 線源から発生する X 線は特性 X 線の他にも白色 X 線を含み、それがバックグラウンドを上昇させるためモノクロメータを用いて特定の波長を取り出す必要がある。本実験ではモノクロメータとして 2 次元集光ミラーを用いた。コリメータは X 線源から発生した X 線の広がりを抑えるために用いられる。本実験では 3 つのコリメータを用いた。第 1, 2 コリメータは X 線を集光し、第 3 コリメータでは第 1, 2 コリメータの端で散乱された X 線である寄生散乱を遮断する。散乱せずに透過してくる X 線を検出器に直接当てると、ビーム強度が高すぎるため検出器に損害を与えてしまう。よってビームストッパーを用いてビームの遮断を行った。しかし、透過率測定を行う場合ダイレクトビームが必要になるため、その際には X 線の吸収体である Cu の導板(0.1 mm)を光学系に

挿入し、強度を減衰させて測定を行う。検出器には PILATUS100K(Rigaku)を用いた。これはピクセル型のセンサーとピクセル型の読み出しを組み合わせたハイブリットピクセル検出器である。検出器の検出面積は $33.5 \times 83.8 \text{ mm}^2$ 、ピクセルサイズは $172 \times 172 \text{ }\mu\text{m}^2$ である。

2-7-2. 測定試料・測定条件

測定試料は 0.1 M NaCl 溶液, 1.0wt% SCG 溶液, 1.0wt% EWP 溶液および SE1.0_1.0 を用いた。SCG 溶液及び EWP 溶液の溶媒は 0.1 M NaCl 溶液を用いた。測定条件は測定時間 3600 s, 試料厚さ 1.5 mm, 測定温度は室温とした。

試料は自作の液体用セルを用いて測定を行った。この液体用セルの構造はアクリル板の上にスライドガラスを乗せ、その上に O-ring を乗せる。この O-ring の中に気泡が入らないように試料をホールピペットで滴下し、2 枚目のスライドガラスでふたをしてねじで閉めることで試料を圧迫し固定した。また、測定前には一度真空状態でセルの様子を観察し中の液体が漏れていないかどうかを確認した。

2-7-3. 散乱強度の検出

散乱画像のセンターから距離が同じピクセルの強度を足して円周長で割るという操作で散乱角 θ 、散乱ベクトル q に対する散乱強度 $I(q)$ を求めることが出来る。散乱画像から散乱プロファイルを得るデータリダクションは Igor ソフトの Nika を用いた²²⁾。データリダクションは行う際に様々な補正を行う必要がある。散乱のみによる強度のプロファイル I_{scat} は式(2.5)で表される。

$$I_{\text{scat}} = \frac{C}{\Delta\Omega D} \left[\frac{(I_{\text{sample}} - \frac{t_s}{t_d} I_{\text{dark}})}{T_r} - \frac{t_s}{t_d} (I_{\text{BG}} - \frac{t_e}{t_d} I_{\text{dark}}) \right] \cdots (2.5)$$

ここで、C は試料のコレクションファクター、 $\Delta\Omega$ はピクセルの立体角補正項、D は試料

厚さ, T_r は透過率, I_{sample} は試料からの散乱強度, I_{dark} はダークカレントの散乱強度, t_s は試料の測定時間, t_d はダークカレントの測定時間, I_{BG} は試料なしのバックグラウンドの散乱強度, t_e は試料なしのバックグラウンドの測定時間である.

X 線小角散乱装置では, 測定光学系からの寄生散乱, 宇宙線や機器自体からのノイズといった外的要因による散乱を検出してしまう. 試料の正確な散乱強度を得るためには, これらの外的要因による散乱を差し引かなければならない. 外的要因による散乱は式(2.6)で表される.

$$\frac{t_{\text{sample}} \times (I_{\text{BG}} - (\frac{t_{\text{BG}}}{t_{\text{Noise}}}) \times I_{\text{Noise}})}{t_{\text{BG}}} \dots (2.6)$$

t_{sample} は試料の測定時間, I_{BG} はバックグラウンド強度, t_{BG} はバックグラウンド測定時間, t_{Noise} はノイズ測定時間, I_{Noise} はノイズ強度を表している.

データリダクションは, 正確なカメラ長およびビームセンターの位置が必要になる. これらの情報を得るために, 標準試料であるベヘン酸銀を測定し, ブラッグピークを解析することでカメラ長とビームセンター位置を決定した. 今回の測定におけるカメラ長は 1355.1 mm だった.

試料の散乱強度の絶対強度化は超小角 X 線散乱(USAXS)による Glassy Carbon(以下, GC)の測定データと本実験に用いた SAXS 装置で得られた GC の測定データを比較することで得られるコレクションファクターを用いて行う. GC のコレクションファクターを C , USAXS で得られた散乱強度を I_{USAXS} , SAXS で得られた散乱強度を I_{SAXS} とすると C は式(2.7)で表される.

$$C = I_{\text{USAXS}} / I_{\text{SAXS}} \dots (2.7)$$

そして, C から試料のコレクションファクターを式(2.8)で求める.

$$C_{\text{sample}} = \frac{C \times t_{\text{GC}}}{t_{\text{sample}}} \dots (2.8)$$

ここで, t_{GC} は SAXS による GC の観測時間, t_{sample} は試料の観測時間である. 今回測定した

試料のコレクションファクターを表 2 に示す.

試料によってビームを透過する確立が変わるため, 各試料の透過率を求める必要がある. 透過率 T_r は式(2.9)で表される.

$$T_r = I_{direct} / I_{empty} \quad \dots (2.9)$$

ここで, I_{direct} は試料有りのダイレクトビームの散乱強度, I_{empty} は試料なしのダイレクトビームの散乱強度である. 今回測定した試料の透過率を表 2 に示す.

装置の検出器を移動して散乱角を大きくしたり小さくしたりするが, それに伴い 1 ピクセルあたりで観測する立体角が変化する. そこで立体角補正を行う. 立体角は式(2.10)で表される.

$$\Delta\Omega = \frac{\Delta S(\cos 2\theta)^3}{L^2} \quad \dots (2.10)$$

ここで, ΔS はピクセルの面積, L は試料とピクセルまでの距離, θ はピクセルまでの角度である.

3. 結果

3-1. 加熱処理によるレオロジー変化(EWP 濃度依存性)

非加熱 SE0.5_0, SE0.5_0.1, SE0.5_0.3, SE0.5_0.6, および SE0.5_1.0 における動的弾性率の周波数依存性のグラフをそれぞれ図 7~11 に示す. これらのサンプルはいずれも測定周波数範囲内で G' と G'' が交差し, 低周波数側で $G' < G''$, 高周波数側で $G' > G''$ となる絡み合い高分子の力学スペクトルを示した. すなわち, このポリマー濃度では SCG は十分に絡み合っていると考えられる. G' と G'' が交差する, すなわち $G' = G''$ となる角速度は緩和速度であり, その逆数は緩和時間という重要な力学特性値である. SE0.5_0 と SE0.5_1.0 の力学スペクトルを比べてみると測定周波数範囲において G' および G'' にあまり変化が見られず, 緩和時間もあまり変化が見られなかった. よって, 非加熱の共存系においては 0.5wt% SCG 溶液の力学物性が支配的であり, SCG と EWP の相互作用はほとんどないと考えられる. 次に加熱冷却後 SE0.5_0, SE0.5_0.1, SE0.5_0.3, SE0.5_0.6, および SE0.5_1.0 における動的弾性率の周波数依存性のグラフをそれぞれ図 12~16 に示す. SE0.5_0 は非加熱のとき同様, 絡み合い高分子の力学スペクトルを示した. しかし, それ以外の共存系サンプルはいずれも測定周波数範囲で $G' > G''$ となり G' および G'' にわずかな周波数依存性を持つような弱いゲルの力学スペクトルを示した. 加熱冷却処理によって SCG-EWP 共存系の力学スペクトルが絡み合い高分子溶液から弱いゲルに変化したことより系の構造が変化したと考えられる. 添加している EWP の濃度は EWP 自体がゲル化する濃度よりもはるかに低い濃度であることから, この力学特性の変化は SCG の絡み合い点に何らかの変化が生じたと考えられた.

加熱冷却後の SCG-EWP 共存系における複素弾性率の周波数依存性について weak gel model 式(1.4)で解析し, A_f と z を求めた. SE0.5_0.1, SE0.5_0.3, SE0.5_0.6, および SE0.5_1.0 の複素弾性率の周波数依存性と weak gel model によるフィッティング結果を図 17 に示す. 図から測定データは式(1.4)でよくフィッティングできていることがわかる. また, 解析で求めた A_f 値および z 値を表 3 に示し, A_f 値および z 値の EWP 濃度

依存性のグラフを図 18 に示す。 z 値は EWP 濃度に対してあまり変化が見られなかった。よって EWP 濃度が上昇しても、SCG-EWP 複合体の応力伝播構造は大きく変化しないと考えられた。一方で、 A_f 値は EWP 濃度に依存して増加した。SE0.5_1.0 における A_f 値は SE0.5_0 の約 4 倍上昇した。よって EWP は複合体の力学的強度を上昇させると考えられた。

3-2 加熱処理によるレオロジー変化(SCG 濃度依存性)

非加熱 SE0.5_1.0, SE0.75_1.0 および SE1.0_1.0 における動的弾性率の周波数依存性のグラフをそれぞれ図 11, 図 19, 図 20 に示す。これらは絡み合い高分子溶液の力学スペクトルを示した。SCG の濃度が上昇すると緩和時間が遅くなるように変化することが分かった。これは SCG の絡み合いが増えているためであると考えられる。よって、SCG-EWP 共存系における力学緩和機構は SCG の絡み合いによるものだと考えられた。一方で、加熱冷却後 SE0.5_1.0, SE0.75_1.0 および SE1.0_1.0 における動的弾性率の周波数依存性のグラフをそれぞれ図 16, 図 21, 図 22 に示す。これらは図 13~16 と同様に弱いゲルの力学スペクトルを示した。

加熱冷却後の SCG-EWP 共存系における複素弾性率の周波数依存性について weak gel model で解析し、 A_f と z を求めた。SE0.5_1.0, SE0.75_1.0 および SE1.0_1.0 における複素弾性率の周波数依存性のグラフと weak gel model によるフィッティング結果を図 23 に示す。図から測定データは式(1.4)でよくフィッティングできていることがわかる。また、解析で求めた A_f 値および z 値を表 4 に示す。 A_f 値および z 値の SCG 濃度依存性のグラフを図 24 に示す。 A_f 値と z 値はともに SCG 濃度に依存して増加した。SE1.0_1.0 における A_f 値は SE0.5_1.0 の約 7 倍上昇し、 z 値は約 2 倍上昇した。SCG 濃度に依存して z 値が増加したことは SCG 濃度が上昇し SCG の絡み合い点が増え、その絡み合い点に凝集 EWP が相互作用しているためであると考えられた。また、SCG 濃度に依存して A_f 値が増加したことは、SCG の絡み合い点が増えたことに応じて応力を伝える構造が増

えたため複合体の力学的強度が上昇したと考えられた。

3-3. SAXS 測定

3-3-1. SCG 水溶液

SAXS 測定によって得られた非加熱および加熱冷却後における SCG 溶液の散乱プロファイルそれぞれ図 25, 26 に示す。非加熱および加熱冷却後の散乱プロファイルから両者とも形状を示す散乱領域で傾きが $\cdot 1$ 乗となり円柱の特徴が見られた。そこでモデルフィッティングを行うことでサイズ情報を求めた。フィッティングについて述べる。フィッティングには粒子モデル式(3.1)を使用した。

$$I(q) = w_0 f(r) V^2(r) F^2(q, r) + w_3 q^{-4} + w_4 \quad \dots (3.1)$$

$$f(r) = \frac{1}{w_2 r \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(\ln r - \ln w_1)^2}{2w_2^2}\right) \quad \dots (3.2)$$

ここで、 $f(r)$ は分布関数(対数正規分布)、 $V(r)$ は粒子の体積、 $F(q, r)$ は粒子の形状因子、 w_0 はスケールリングファクターの調製、 w_1 は $f(r)$ の中心値、 w_2 は $f(r)$ の分散、 w_3 は q^{-4} の傾き、 w_4 はバックグラウンドの影響を表す。また、散乱強度 $I(q)$ は形状因子 $F(q)$ の自乗で表される。そして形状因子は粒子の形状に依存する。したがって適切な形状因子を選択してフィッティングを行う必要がある。SCG 溶液では円柱の特徴が見られたため、円柱の形状因子を用いてフィッティングを行った。慣性半径 r 、長さ L の円柱の形状因子を式(3.3)に示す。

$$F^2(q, r, \varepsilon) = \int_0^{\frac{\pi}{2}} \left[\frac{2B_1(qr \sin \alpha)}{qr \sin \alpha} \frac{\sin\left(\frac{qL \cos \alpha}{2}\right)}{\frac{qL \cos \alpha}{2}} \right]^2 \sin \alpha d\alpha \quad \dots (3.3)$$

ここで B_1 は 1 次のベッセル関数である。式(3.1)および式(3.2)における w_1 から w_4 の値を設定しプログラムで計算することでフィッティングを行った。フィッティングには Igor Pro(WaveMetrics 社)を使用した。

フィッティングの結果、非加熱 SCG および加熱冷却後 SCG とともに慣性半径が 0.63 nm であることが分かった。先行研究によると、みみず鎖円筒モデルにおける SCG の慣性半径は 2 nm である²³⁾。みみず鎖モデルとは高分子鎖を表す流体力学的なモデルであり、経路長と持続長という 2 つのパラメータで特徴付けられる。みみず鎖円筒モデルはその中でも高分子鎖を直径 d の円筒とみなすモデルである。みみず鎖円筒モデルは流体力学的モデルなので SAXS による慣性半径の方が小さい値となったのは妥当であると考えられた。

3-3-2. EWP 水溶液

非加熱および加熱冷却後における EWP 溶液の散乱プロファイルをそれぞれ図 27, 28 に示す。また、EWP の主成分であるオボアルブミンは球状タンパク質であること²⁴⁾から粒子モデル式(3.1)および球の形状因子を用いてフィッティングを行った。半径 r である球の形状因子は式(3.4)で表される。

$$F(q) = \rho V_r \frac{3[\sin(qr) - qr \cos(qr)]}{(qr)^3} \quad \dots (3.4)$$

非加熱 EWP の体積重み付き頻度分布および加熱冷却後 EWP の体積重み付き頻度分布を図 29 に示す。この結果から非加熱 EWP における半径のピーク値は 1.9nm だった。動的光散乱によってオボアルブミンの直径が 5.6nm であるという先行研究があり²⁵⁾、その値に近い結果が得られた。加熱冷却後 EWP における半径のピーク値は非加熱 EWP とあまり変わらなかったが半径が大きい側に分布が広がっていることが分かった。このことから、加熱によって EWP が様々なサイズの凝集体を形成していると考えられた。

3-3-3. 非加熱 SCG-EWP 共存系

非加熱 SCG-EWP 共存系の散乱プロファイルを図 30 に示す。図 30 には非加熱 SCG 溶液の散乱プロファイルもプロットしている。高 q 側で SCG-EWP 共存系と SCG の散

乱プロファイルが重なっていることが見て取れた。これは SCG が元の特性を維持していることを示唆している。そこで、SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差をとった。さらに、非加熱 EWP におけるバックグラウンドを引いたフィッティング結果を SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差に重ねた。すると SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差と非加熱 EWP のフィッティング結果が概ね一致するような結果となった。このことから EWP も元の特性のまま存在しているだろうと考えられた。

3-3-4. 加熱処理 SCG-EWP 共存系

加熱冷却後 SCG-EWP 共存系の散乱プロファイルを図 31 に示す。図 31 には加熱冷却後 SCG 溶液の散乱プロファイルもプロットしている。非加熱のとき同様、高 q 側で SCG-EWP 共存系と SCG の散乱プロファイルが重なっていることが見て取れた。そこで非加熱の時同様、SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差を取ってプロットを行った。そして、加熱冷却後 EWP におけるバックグラウンドを引いたフィッティング結果を SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差に重ねた。すると SCG-EWP 共存系と SCG の散乱強度の差と加熱冷却後 EWP のフィッティング結果が概ね一致する結果となった。したがって、SCG-EWP 共存系の散乱強度は SCG 単独と EWP 単独の散乱強度の重ね合わせであることが分かった。もし SCG と EWP が互いの形状を変えるような相互作用をしているならば SCG-EWP 共存形の散乱プロファイルはそれぞれの成分の重ね合わせではなく違う形になると考えられる。よって、このことから凝集 EWP と SCG はお互いの形状にほとんど影響を与えていないことが分かった。

4. 考察

4-1. レオロジー特性から予想される SCG-EWP 複合体の構造

レオロジー測定から SCG は 0.5~1.0 wt% の濃度範囲で十分に絡み合い点を形成していることが分かった。そしてそこに EWP を加えて加熱冷却処理をした系の力学スペクトルの変化から SCG の絡み合い点に EWP が何らかの相互作用をして複合体を形成したと考えられた。Weak gel model による解析結果から z 値は EWP 濃度には依存せず SCG 濃度にも依存することが分かった。この結果は SCG-EWP 複合体の応力伝播構造を形成しているのは SCG であるとの上述の仮定をサポートするものである。一方で、 A_f 値は EWP 濃度および SCG 濃度に依存することが分かった。 A_f 値が SCG 濃度に依存して増加することは SCG の絡み合いによるものであると考えられた。SCG 濃度が上昇するにつれて SCG 分子鎖の絡み合い点が増加する。よって、SCG-EWP 複合体の応力伝播構造が増加し、その分 SCG-EWP 複合体の力学的強度も増加すると考えられた。また、 A_f 値が EWP 濃度に依存して増加することから EWP は複合体の力学的強度を上昇させていると考えられた。これは EWP が SCG の絡み合い点を補強する役割をしているためではないかと考えられた。したがって、以上のレオロジーの結果から、図 32 の概念図に示すように SCG-EWP 複合体は SCG の絡み合い点に EWP が凝集することで複合体を形成すると結論付けられた。

4-2. レオロジー測定および SAXS 測定結果双方を踏まえた SCG-EWP 複合体形成機序とその構造

非加熱における SCG 溶液、EWP 溶液および SCG-EWP 共存系の散乱プロファイルから、非加熱では円柱状の SCG と球状の EWP がそれぞれ独立して分散していると考えられた。この結果はレオロジー測定結果とも矛盾しない。加熱冷却後における SCG 溶液、EWP 溶液および SCG-EWP 共存系の散乱プロファイルから、加熱冷却後では円柱状の SCG と凝集 EWP がお互いの形状を変化させることなくそれぞれ独立して分散していると考えら

れた。しかし、加熱冷却後の力学スペクトルから SCG と EWP は複合体を形成すると考えられた。これらのことを組み合わせて考えると、SCG と EWP は加熱冷却処理をすることによってお互いの形状は変えることなく複合体を形成すると考えられた。したがって、レオロジー測定から導かれた SCG-EWP 複合体の概念図(図 32)は SAXS 測定結果からも妥当である。

ここで、SCG と EWP がどのように複合体を形成するのかを考える。SCG-EWP 共存系を 80℃に加熱する際、65℃付近になると、SCG は二重らせん構造から半屈曲性の 1 本鎖に構造転移する。そして 80℃になると EWP は EWP 同士で凝集体を形成する。80℃の段階で SCG と EWP が複合体を形成するかどうかは今回の実験データからは議論できないが、一本鎖状態の SCG と凝集 EWP が相互作用している可能性があると考えられる。冷却によって SCG が二重らせん構造を再形成する際には SCG 鎖上にくっついた凝集タンパク質がネットワークを形成することで二重らせん構造の SCG と凝集 EWP が複合体を形成するのではないかと考えられた。すなわち、SCG 分子間での二重らせん構造再形成による絡み合い点が 凝集 EWP にトラップされるように複合体を形成するのではないかと考えられた。

この仮説を説明するために、今後の課題として加熱冷却過程における SCG-EWP 共存系の SAXS 測定を行うことが必要であると考えられる。特に EWP が凝集する 80℃と SCG の構造転移が起こる 65℃付近で SCG と EWP がどのような状態であるか興味深い。また、今回の研究では逆空間観察を行ったが透過型電子顕微鏡や原子間力顕微鏡での実空間観察も行う必要があると考える。

5. 結語

- SCG-EWP 共存系における加熱冷却処理前後の力学スペクトルの変化より, SCG と EWP は加熱冷却処理によって複合体を形成すると考えられた。
- Af 値, z 値の SCG および EWP 濃度依存性から, SCG-EWP 複合体においてその応力伝播構造は SCG によって形成され, EWP はその力学的強度を増加させると考えられた。
- SCG-EWP 共存系の SAXS プロファイルとレオロジー測定結果から, 非加熱では SCG と EWP は独立して分散し, 加熱冷却後では凝集 EWP に SCG の絡み合い点がトラップされるような形で複合体を形成するだろうと考えられた。

6. Summary

The rheological properties and nanostructures of succinoglycan(SCG) / egg white protein(EWP) mixed system before and after the heat treatment was investigated. Two groups of SCG / EWP mixed systems were prepared. One is the polymer concentration fixed system, which contains 0.5 wt% SCG and 0, 0.1, 0.3, 0.6, 1.0wt% EWP in 0.1M NaCl aqueous solution. Another one is the protein concentration fixed system, which contains 1.0wt% EWP and 0.5, 0.75, 1.0wt% SCG in 0.1M NaCl solution. Although the mechanical spectrum of non-heated systems showed entangling polymer solutions like behavior, they turned to a weak-gel like behavior after the heat-cool treatment. This weak-gel like mechanical spectrums were analyzed using a weak-gel model and the characteristic parameters, A_f and z , were obtained. A_f increased with EWP concentrations, however, z almost unchanged. This result means that “weak network structure” would be mainly constructed with the entanglements of SCG and heat denatured EWP would support the structure mechanically. To confirm this hypothesis, small angle X-ray scattering (SAXS) measurements were performed. Analysis of SAXS profiles revealed that SCG maintained their rod like structure after the heat-cool treatment and EWP molecules made aggregation after the treatment. These results supported the hypothesis without contradictions.

謝辞

本研究を行うにあたり，酪農学園大学大学院酪農学研究科食品栄養化学専攻食品物性学研究室の金田勇教授には，研究の進め方，レオロジーや高分子の基礎知識，研究結果の議論などで多大なるご指導，ご教授をいただき，大変お世話になりました．厚く御礼申し上げます．

酪農学園大学農食環境学群食と健康学類応用生化学研究室の岩崎智仁教授には大学院合同セミナーなどにおいて研究に関する多くのご助言をいただきました．深く感謝申し上げます．

北海道大学大学院工学研究院量子理工学部門応用量子ビーム工学分野量子ビーム材料工学研究室の大沼正人教授には，小角散乱測定や基礎知識のご指導，研究に関する多くのご助言をいただきました．深く感謝申し上げます．

北海道大学大学院工学研究院量子理工学部門応用量子ビーム工学分野量子ビーム材料工学研究室的那須田祐子様には，小角散乱測定において多くのご協力をいただきました．深く感謝申し上げます．

引用文献

- 1) Kaneda I, Onodera Y (2009)Nihon Reorji Gakkaishi 37, 3:167-172
- 2) 金田勇, 梁木利男 (2002)高分子論文集 59, 1:8-14
- 3) Jones A T, Dogle M (1996)SPE Production&Facilities 11, 3:145-149
- 4) 特表 2013-540857
- 5) 特開 2004-91415
- 6) デュポン株式会社, グリンステッド サクシノグリカン J (技術資料)
- 7) 服部誠(2015) 「食品ハイドロコロイドの開発と応用Ⅱ」:西成勝好監修 シーエムシー出版, 東京, pp220-223.
- 8) 付惟, 中村卓(2015) 「食品ハイドロコロイドの開発と応用Ⅱ」:西成勝好監修 シーエムシー出版, 東京, pp224-230.
- 9) 長崎幸大(2010) 「食品・化粧品・医療分野へのゲルの応用」:西成勝好, 梶原莞爾, 長崎幸大, 金田勇監修 シーエムシー出版, 東京, pp161-164.
- 10) 関川あき(2016) 乾燥卵白希薄水溶液中に形成されるタンパク質凝集体.卒業論文, 酪農学園大学
- 11) 佐藤かな子(2017) 乾燥卵白水溶液の低音ゲル化挙動に関する研究.修士論文, 酪農学園大学院
- 12) Le X T, Turgeon S L. (2013)Soft Matter 9:3063-3073
- 13) 土井正男 (2007)学術の動向 12, 7:56-57
- 14) Gabriele D, Cindio B D, et al. (2001)Rheol Acta 40:120-127
- 15) Bohlin L (1980)Journal of Colloid and interface Science 74, 2:423-434
- 16) Winter H H, Chambon F (1986)Journal of Rheology 30, 2:367-382
- 17) 大沼正人(2006) 「金属ナノ組織解析法」:宝野和博, 弘津禎彦編 アグネ技術センター, 東京, pp297-340.
- 18) 雨宮慶幸, 篠原佑也 (2006.11)放射光 19, 6:338-348
- 19) 松岡秀樹 (1999)日本結晶学会誌 41, 4:213-226
- 20) 茶木美柚(2017) サクシノグリカンの会合体形成に関する研究.修士論文, 酪農学園大学院
- 21) 金田勇(2009) 「高分子ゲルの動向-つくる・つかう・みる-」:柴山充弘, 梶原莞爾監修 シーエムシー出版, 東京, pp216-225.
- 22) Ilavsky J (2012)Journal of Applied Crystallography 45, 2:324-328
- 23) Kaneda I, Kobayashi A, et al. (2002)Polymer 43:1301-1305
- 24) 中村良(1998) 「卵の科学」 朝倉書店, 東京, pp80-81.
- 25) Nemoto N, Koike A, et al. (1993)Biopolymers 33, 4:551-559

表 1 SCG の精製収率

	Unpurified SCG (g)	Purified SCG (g)	Yield (%)
First time	3.021	1.758	58.2
Second time	3.017	1.555	51.5
Third time	3.009	1.553	51.6

表 2 測定試料のコレクションファクターと透過率

	sample	C Factor	Transmission
unheated	SCG	7.31×10^5	0.490885319
	EWP	7.31×10^5	0.499556664
	SE1.0_1.0	7.31×10^5	0.498985588
heated	SCG	7.31×10^5	0.500217911
	EWP	7.31×10^5	0.489006778
	SE1.0_1.0	7.31×10^5	0.483521438

表 3 加熱冷却後 SCG-EWP 共存系(SCG0.5wt%)における複素弾性率の周波数依存性を weak gel model(1.4)式でフィッティングして求めたパラメータ

EWP conc. (wt%)	$Af \text{ (Pas}^{1/z}\text{)}$	z
0	1.10 ± 0.28	1.90 ± 0.12
0.1	1.30 ± 0.16	2.09 ± 0.12
0.3	1.42 ± 0.39	2.07 ± 0.2
0.6	2.20 ± 0.69	2.27 ± 0.22
1	4.33 ± 0.82	2.67 ± 0.23

表 4 加熱冷却後 SCG-EWP 共存系(EWP1.0wt%)における複素弾性率の周波数依存性を weak gel model(1.4)式でフィッティングして求めたパラメータ

SCG conc. (wt%)	Af (Pas ^{1/z})	z
0.5	4.33±0.82	2.67±0.23
0.75	15.2±3.71	4.02±0.41
1	29.5±5.58	4.96±0.55

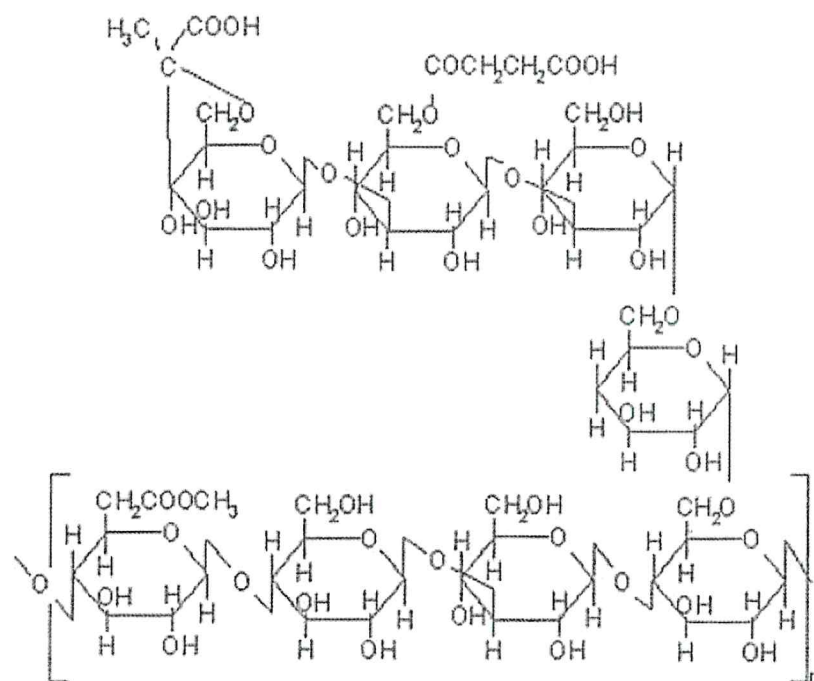


図1 サクシノグリカンの化学構造（文献1より引用）

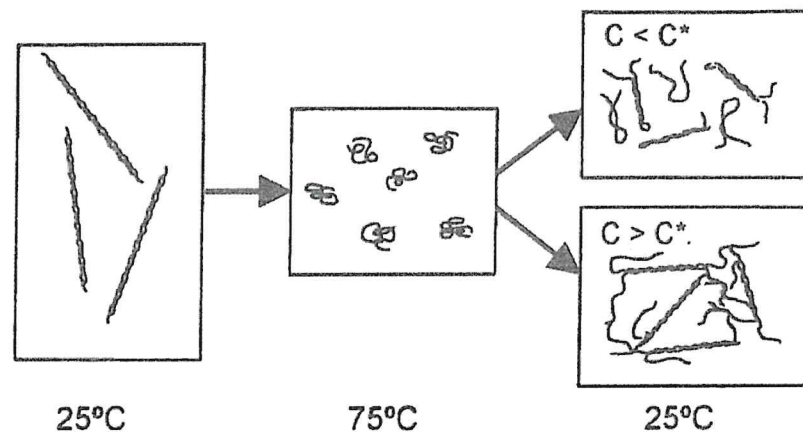


Fig. 9. Schematic illustration for the mechanism of heat-induced gel-forming nature for succinoglycan.

図2 サクシノグリカンの熱変性挙動の概念図：サクシノグリカン²は25℃では水溶液中で二重らせん構造をとり、75℃では二重らせんが解離し、半屈曲性の1本鎖となる。この熱変性状態から25℃に冷却するとサクシノグリカンはその濃度に応じて二重らせんを再構築する。図中 C はサクシノグリカン濃度、 C^* は重なり合い濃度を示す。重なり合い濃度とは高分子鎖同士が接触し始める時の濃度である。 C^* 以下の濃度では同一分子内でらせんを形成し、 C^* 以上の濃度では分子間でらせんを形成する。さらに分子間でのらせん構築がランダムに起こるため加熱冷却後のサクシノグリカンはマイクロゲル様の会合体を形成すると考えられている。（文献2より引用）

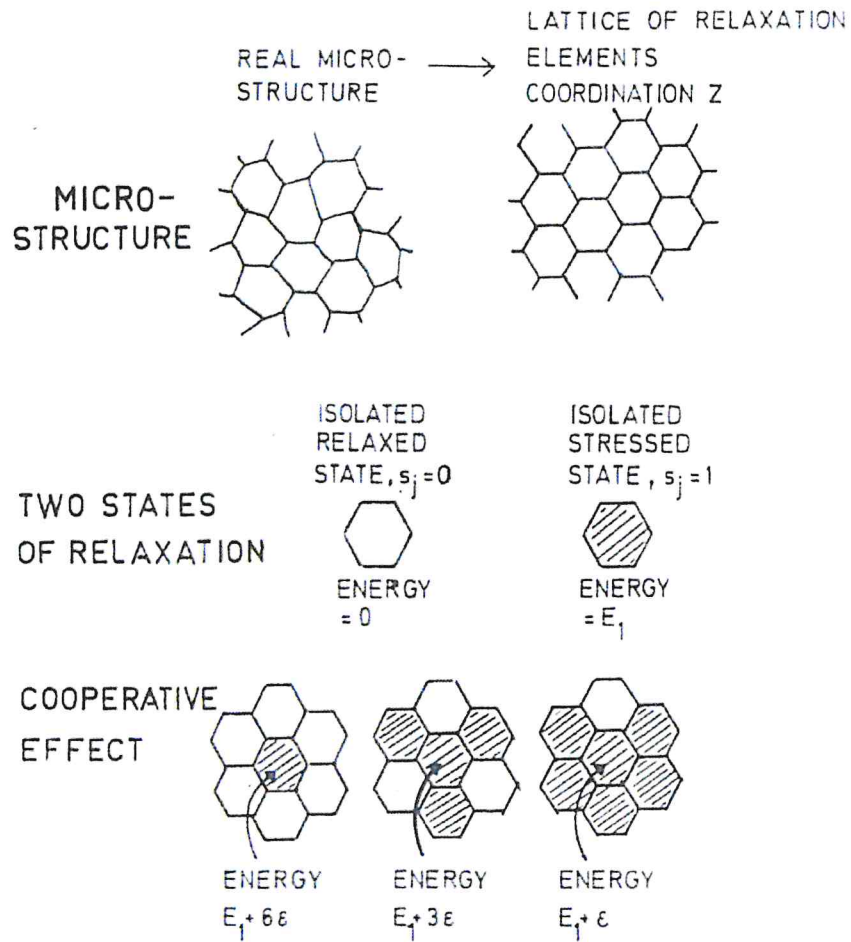


FIG. 1. Schematic illustration of the features of the model for a honeycomb structure.

図 3 協同性流動理論のモデルにおいて流体は仮想的な流動単位格子で構成されていると仮定する。さらに、この流動単位格子はストレスのかかっている状態とリラックスした状態という 2 つの状態を取ると仮定し、最近接する格子間のエネルギーを計算することにより配位数 z というパラメータを導出している。 z は 1 つの流動単位格子に着目したとき隣接する流動単位格子同士に力学的相互作用がどのくらい働いているかを表している。

(文献 14 より引用)

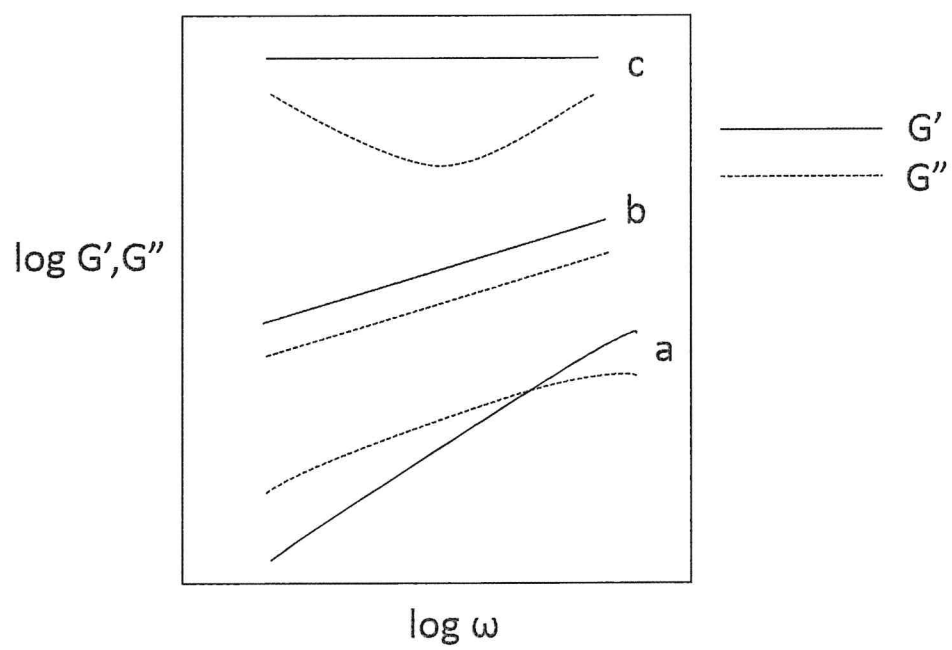


図4 力学スペクトルのパターン分類

a パターンは絡み合い高分子溶液, b パターンは「弱いゲル」, c パターンは典型的なゲルであることを示す.



図 5 SAXS 装置の全体図(北海道大学工学部)

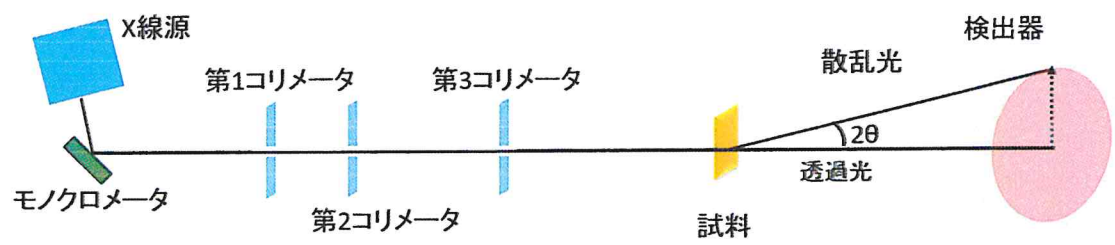


図 6 SAXS 装置体系の模式図

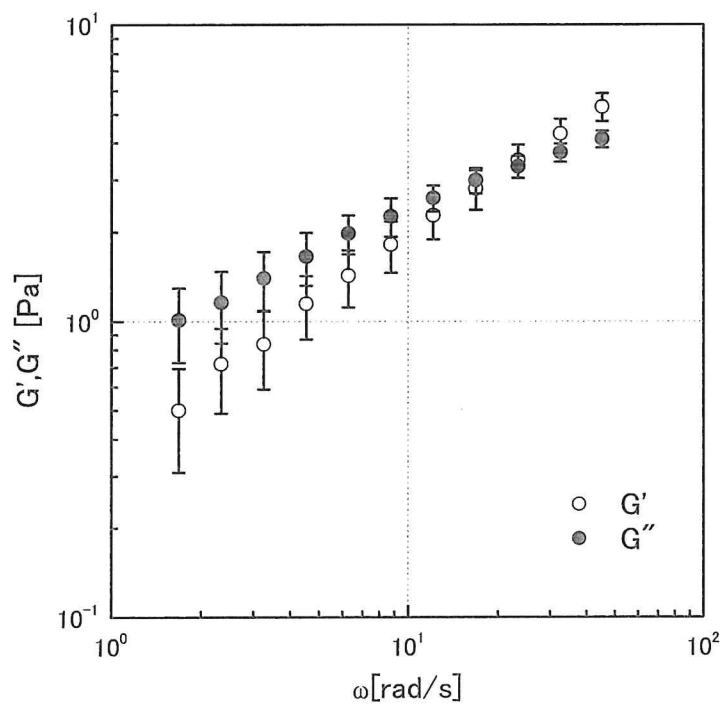


図7 非加熱 SE0.5_0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数3回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

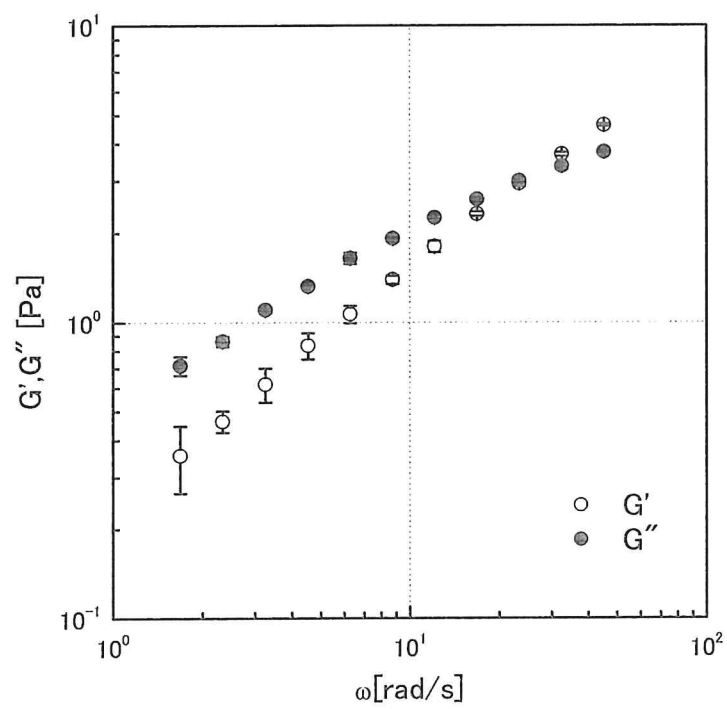


図 8 非加熱 SE0.5_0.1 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

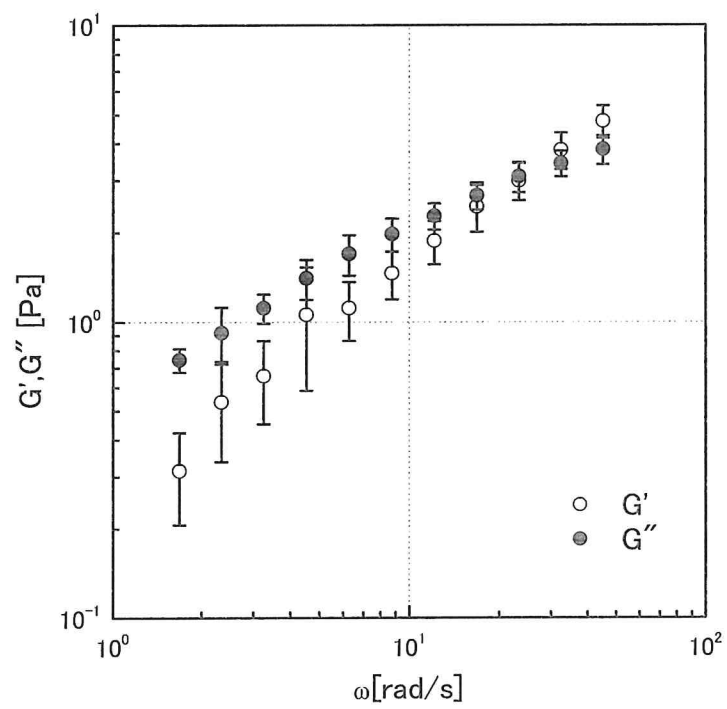


図 9 非加熱 SE0.5_0.3 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

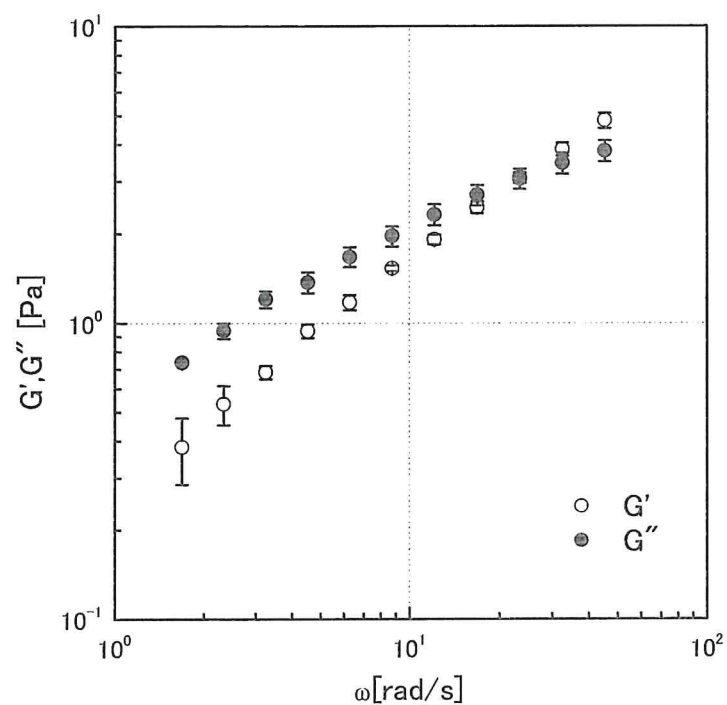


図 10 非加熱 SE0.5_0.6 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

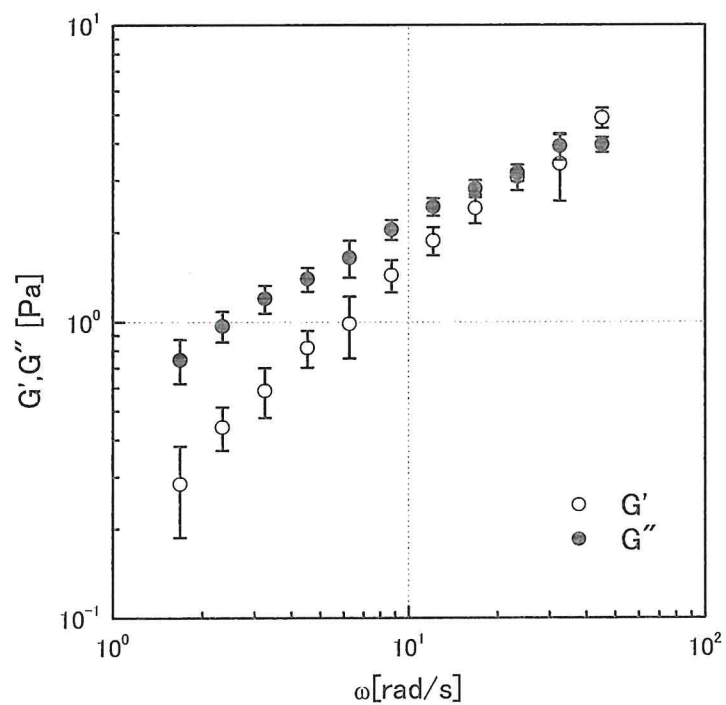


図 11 非加熱 SE0.5_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

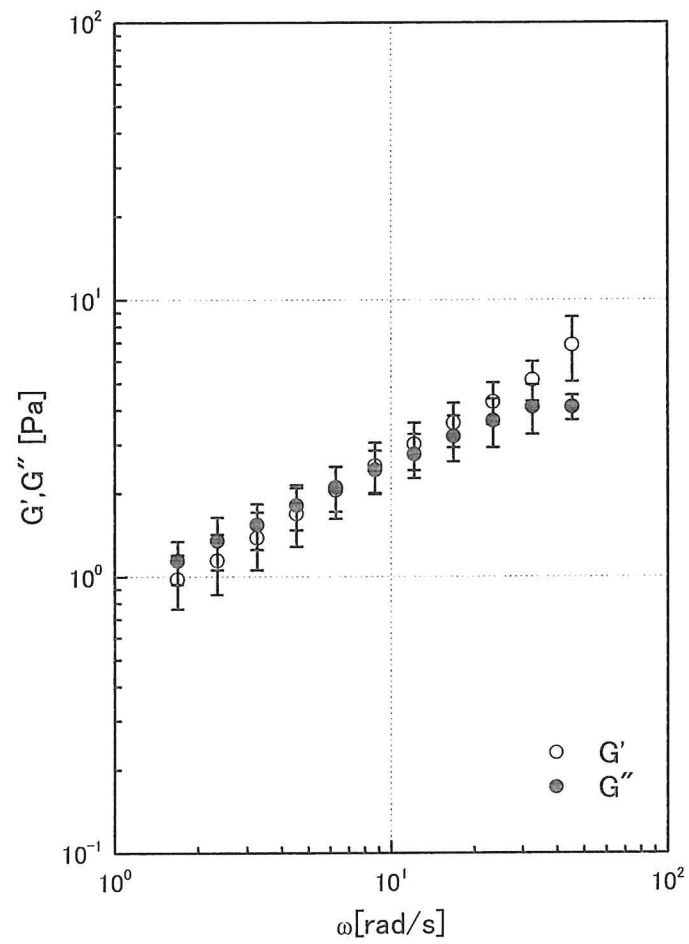


図 12 加熱冷却後 SE0.5_0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

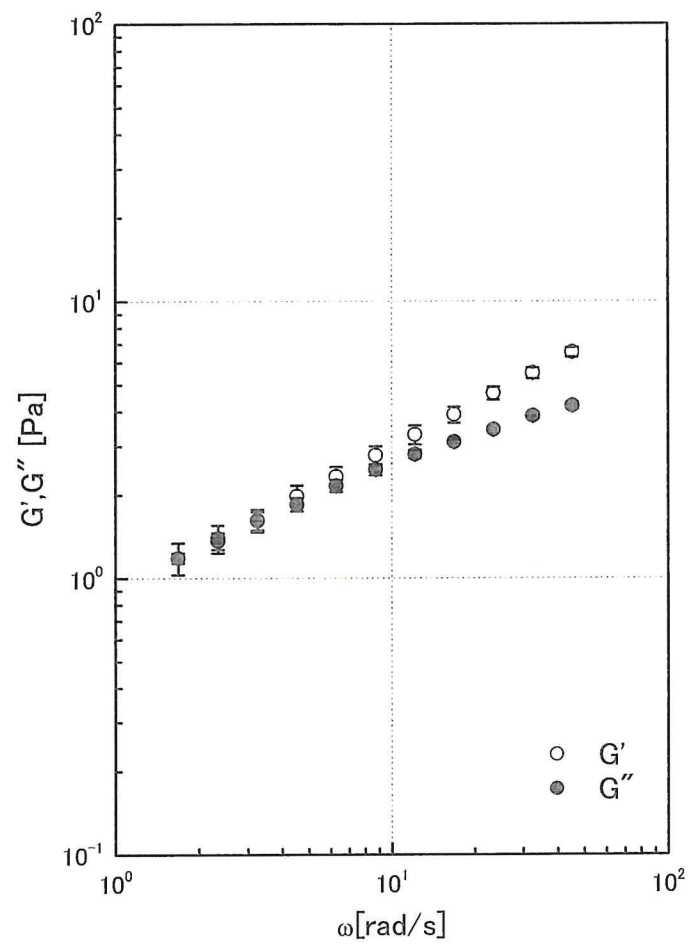


図 13 加熱冷却後 SE0.5_0.1 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

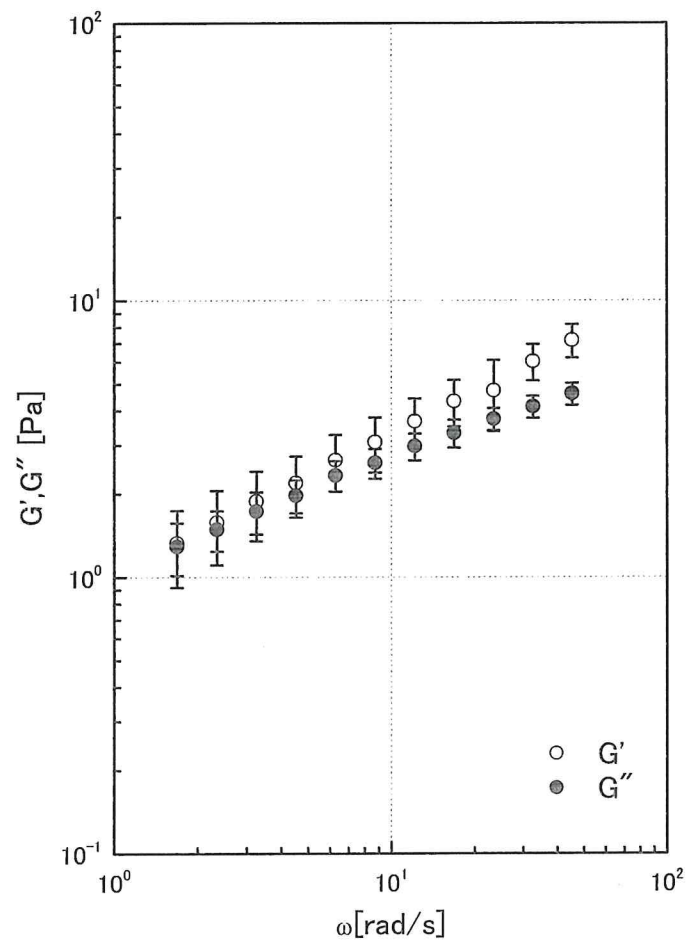


図 14 加熱冷却後 SE0.5_0.3 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

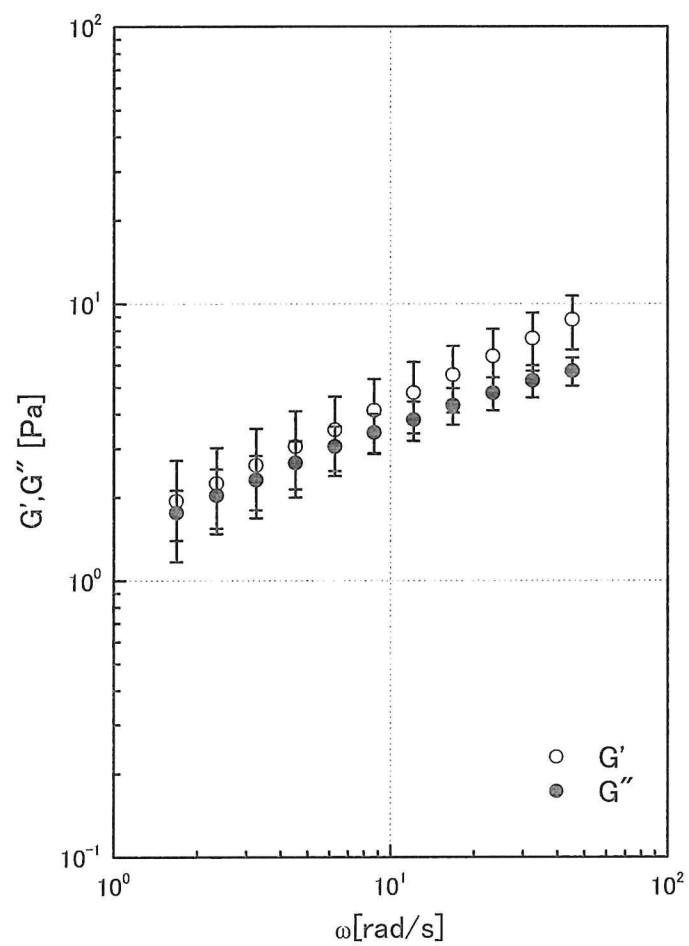


図 15 加熱冷却後 SE0.5_0.6 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

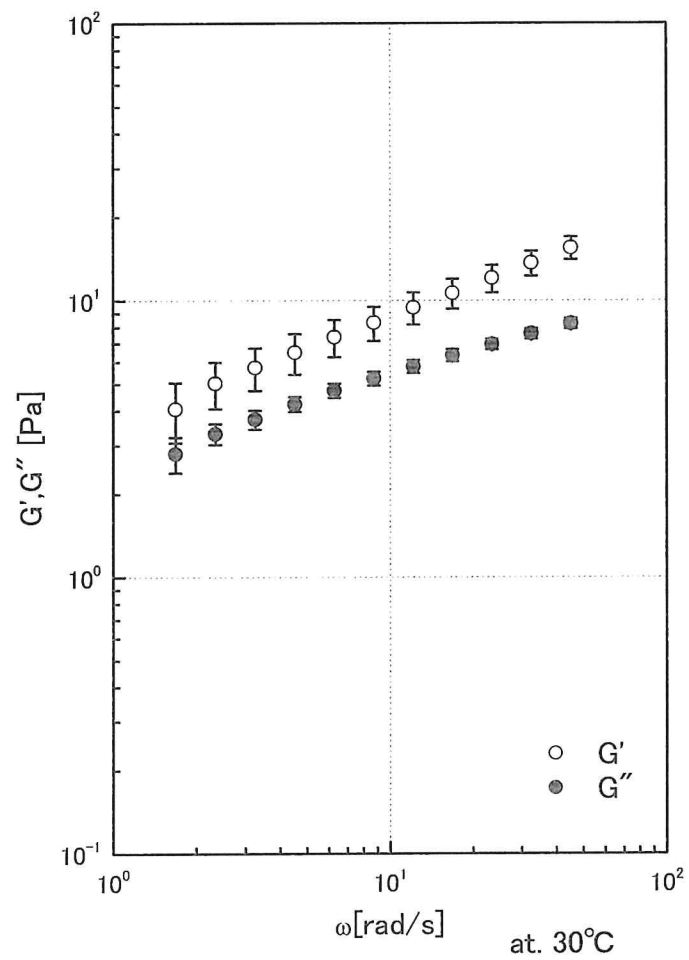


図 16 加熱冷却後 SE0.5_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

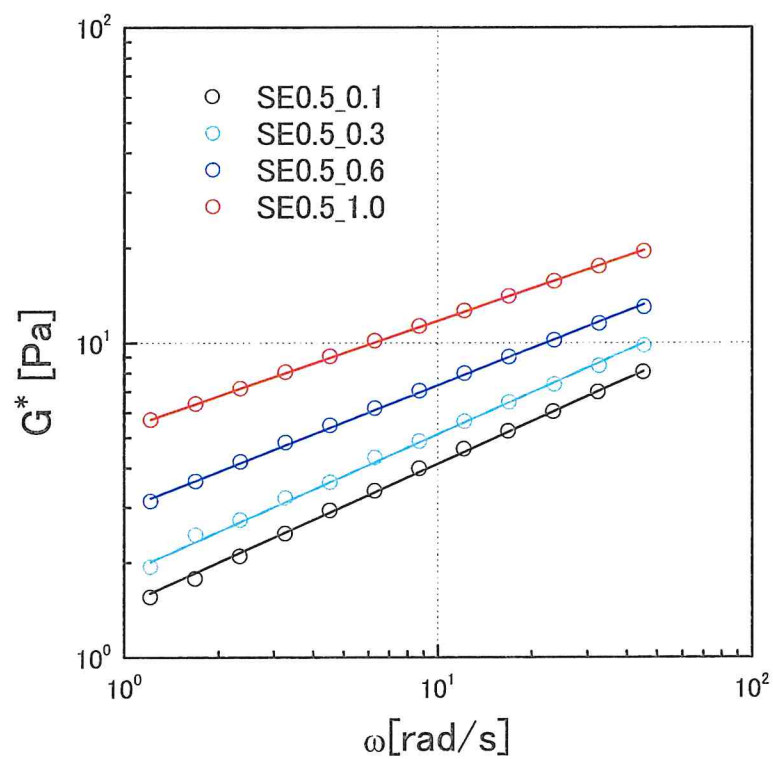


図 17 加熱冷却後 SCG-EWP 共存系(SCG0.5wt%一定)における複素弾性率の周波数依存性および weak gel model(1.4)式によるフィッティング結果. プロットは○が測定結果を表し, 実線がフィッティング結果を示す.

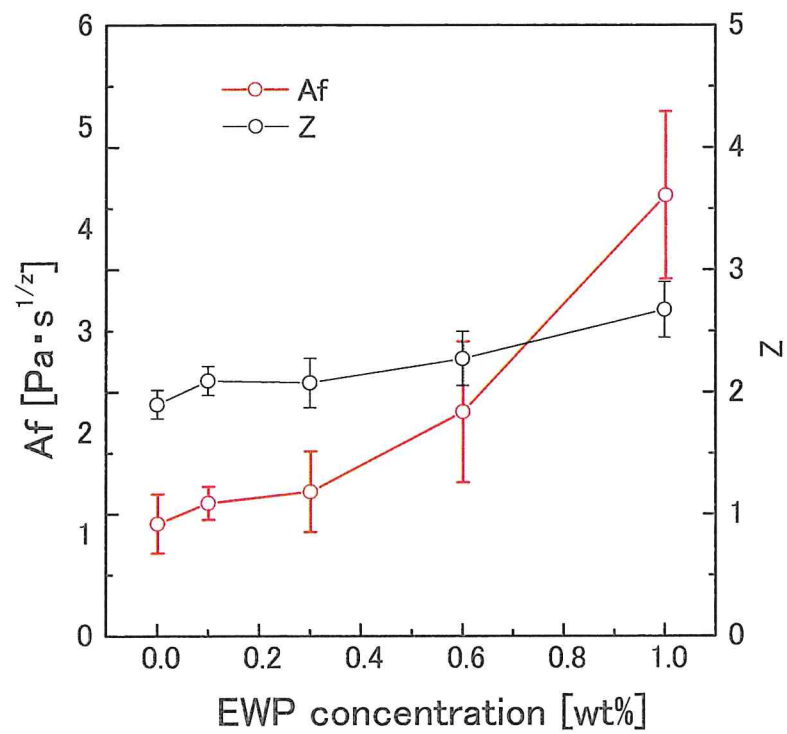


図 18 A_f 値, z 値の EWP 濃度依存性. 測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

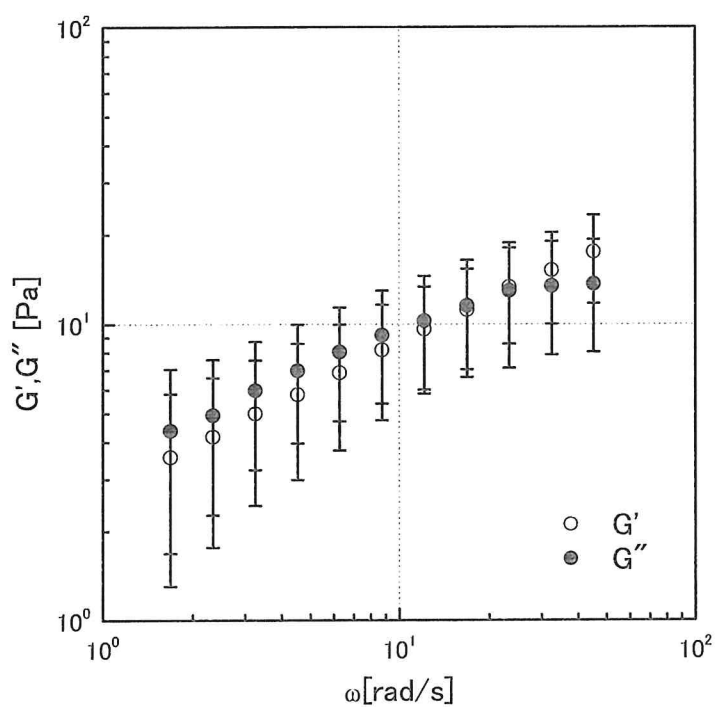


図 19 非加熱 SE0.75_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

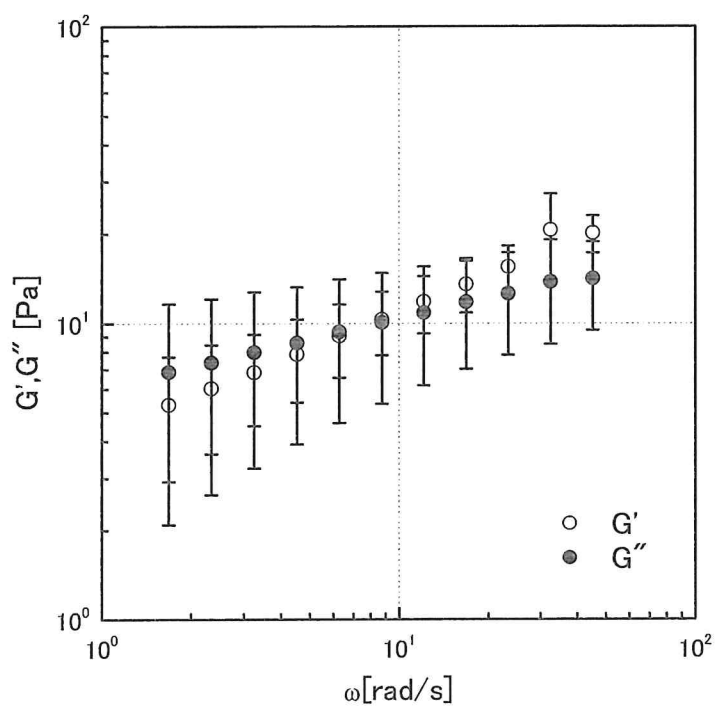


図 20 非加熱 SE1.0_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率(G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

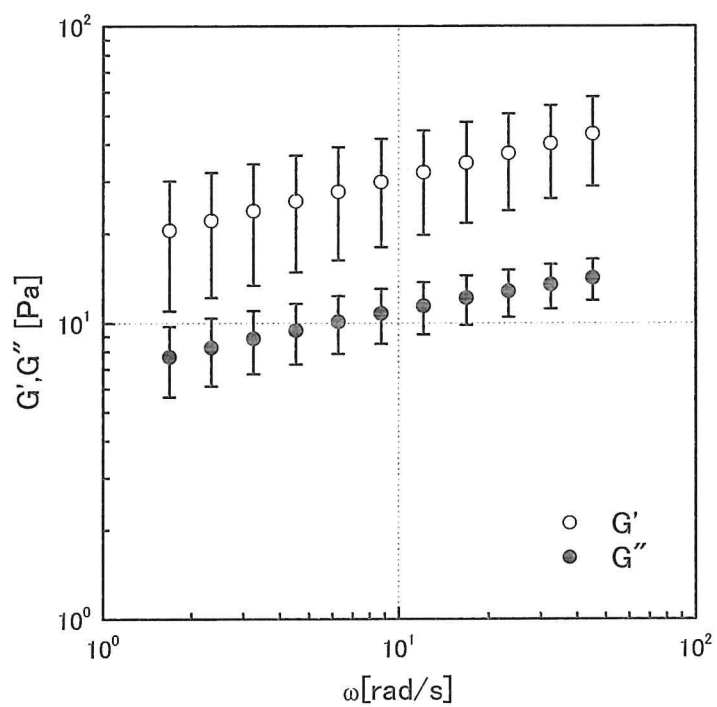


図 21 加熱冷却後 SE0.75_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

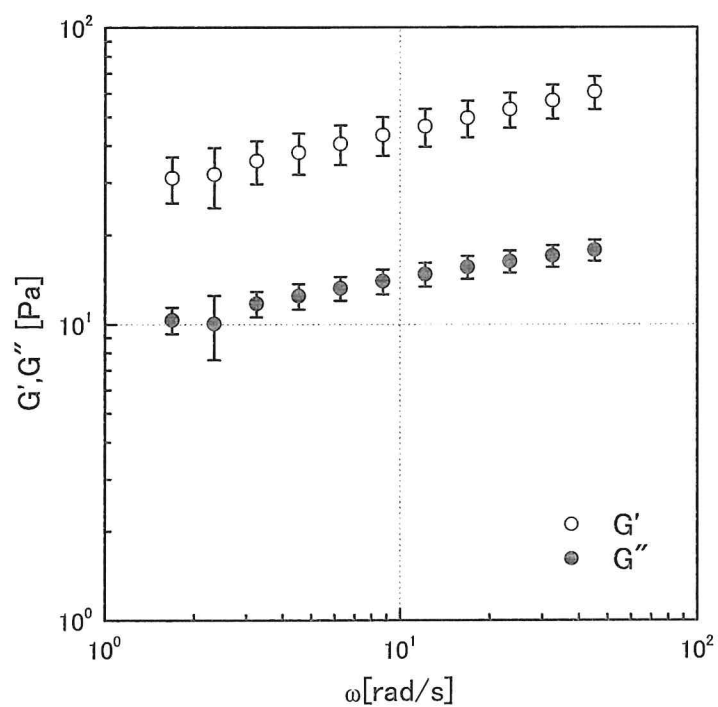


図 22 加熱冷却後 SE1.0_1.0 における動的弾性率の周波数依存性. ○は貯蔵弾性率 (G'), ●は損失弾性率(G''), そして測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

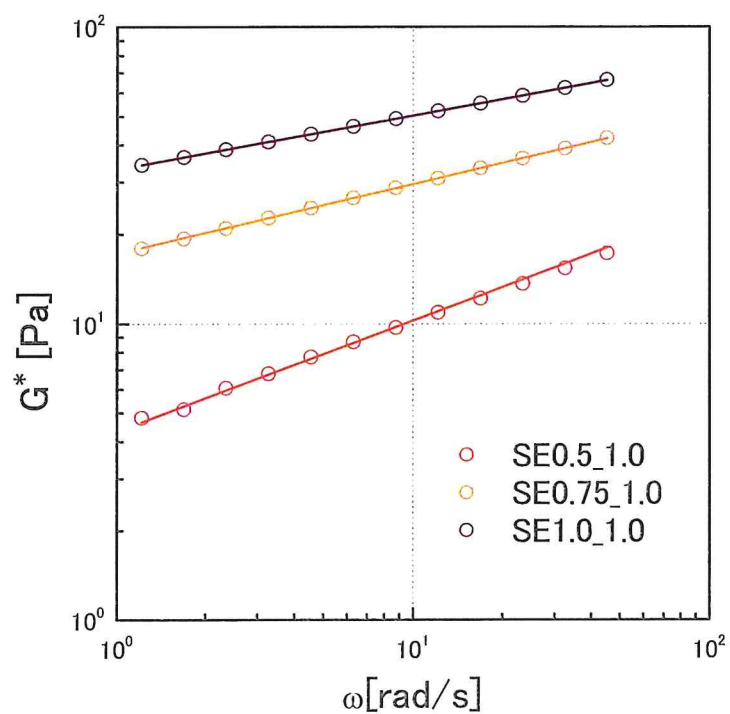


図 23 加熱冷却後 SCG-EWP 共存系(EWP1.0wt%一定)における複素弾性率の周波数依存性および weak gel model(1.4)式によるフィッティング結果. プロットは○が測定結果を表し, 実線がフィッティング結果を示す.

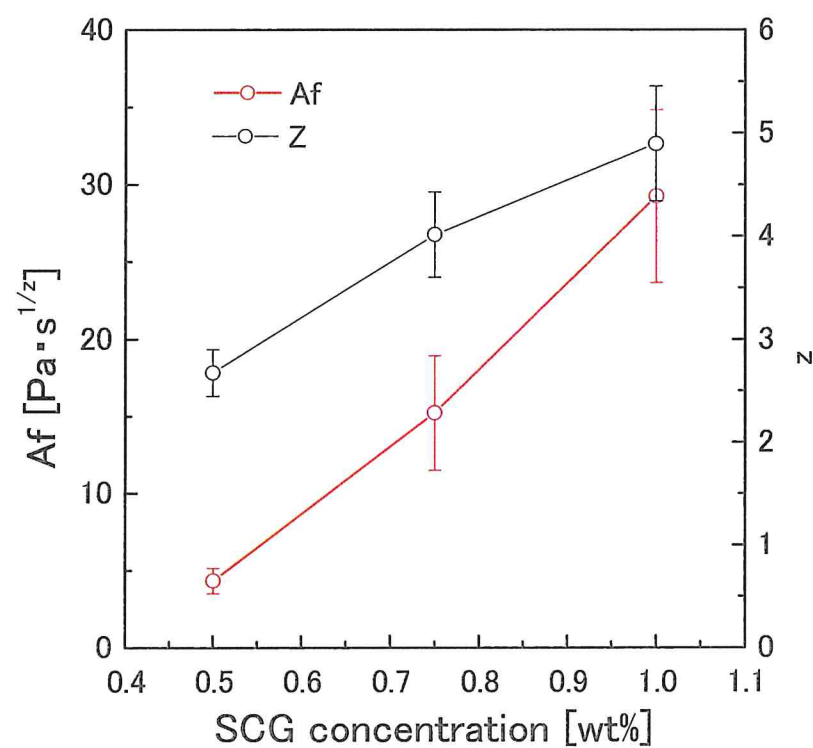


図 24 A_f 値, z 値の SCG 濃度依存性. 測定回数 3 回の平均値をプロットし, エラーバーは標準偏差を示す.

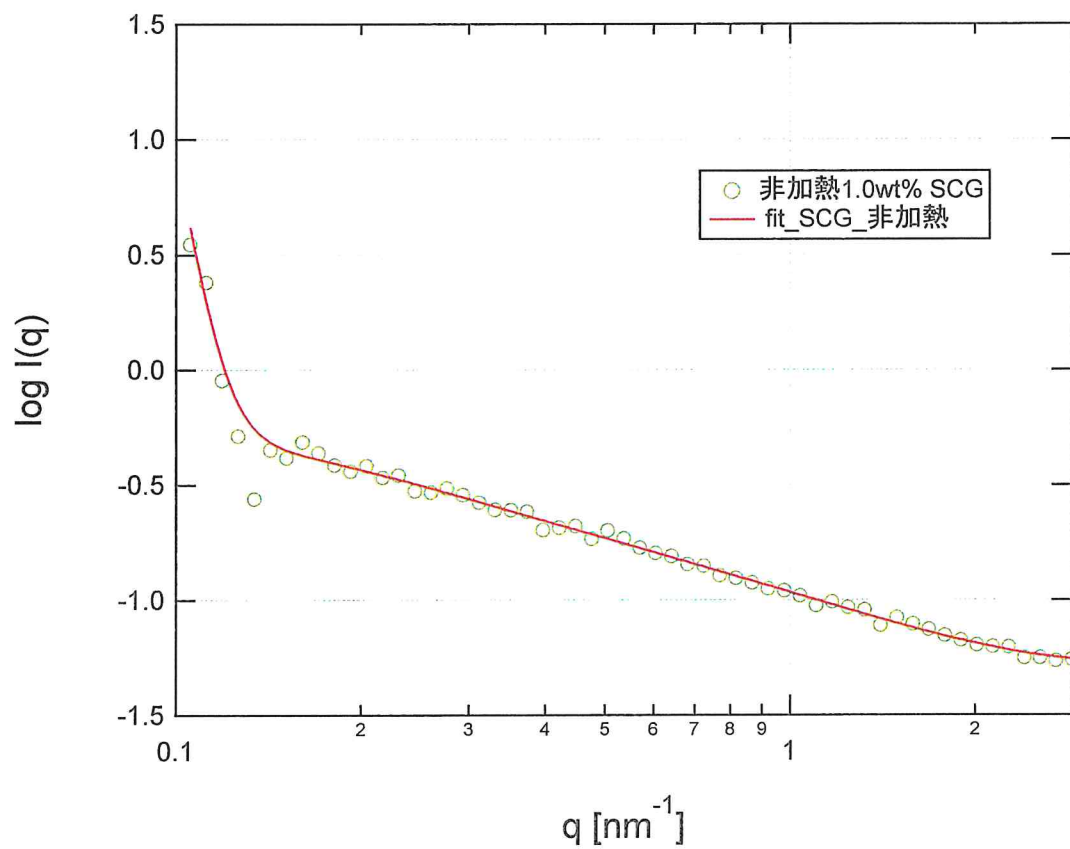


図 25 非加熱 1.0wt%SCG 溶液の散乱プロファイル. ○が SCG 溶液の散乱プロファイル, 赤色の実線が円柱モデル(3.3)式によるフィッティング結果を示す.

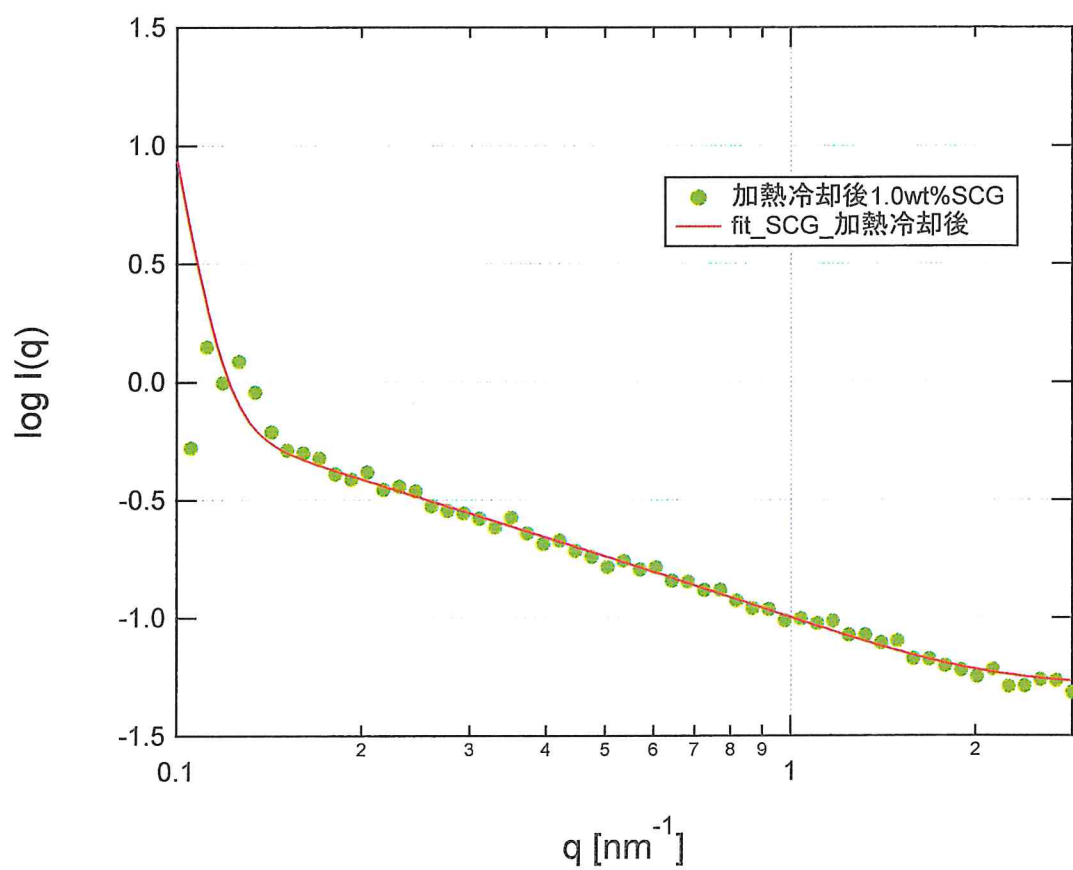


図 26 加熱冷却後 1.0wt%SCG 溶液の散乱プロファイル. ○が SCG 溶液の散乱プロファイル, 赤色の実線が円柱モデル(3.3)式によるフィッティング結果を示す.

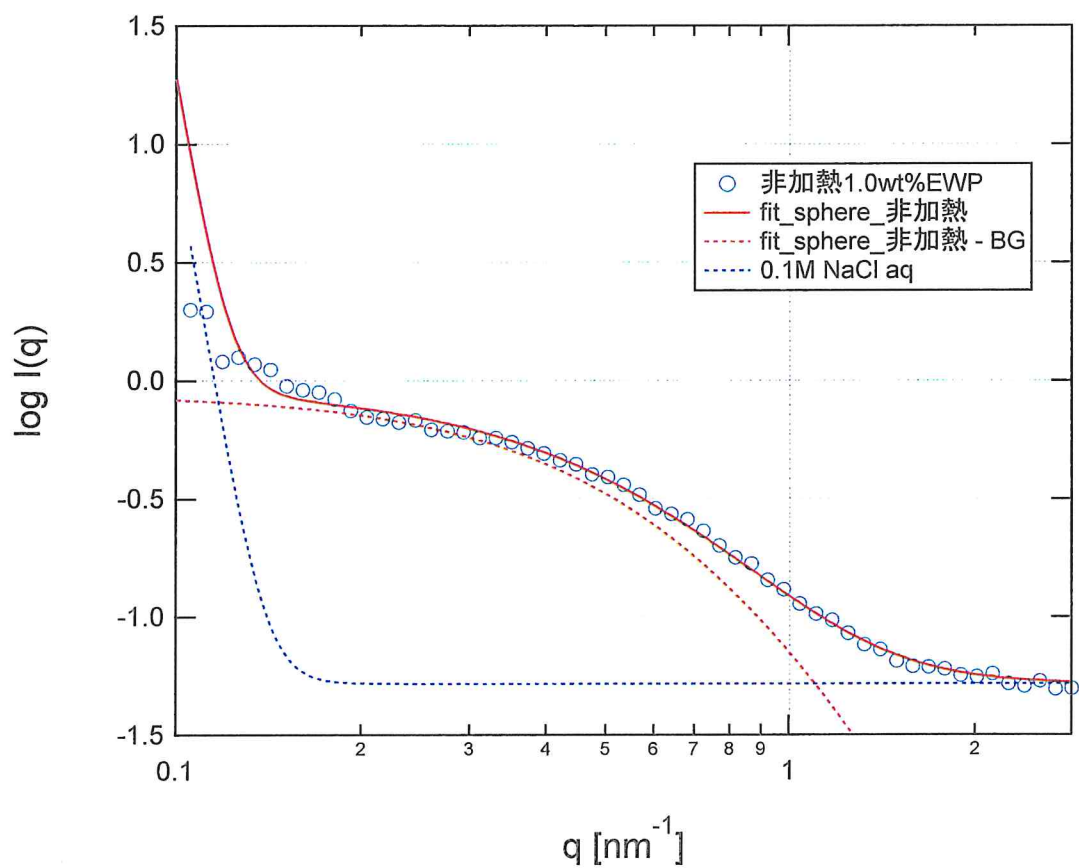


図 27 非加熱 1.0wt%EWP 溶液の散乱プロファイル. \circ が EWP 溶液の散乱プロファイル, 赤色の実線が球モデル(3.4)式によるフィッティング結果, 赤色の点線が溶媒からの散乱であるバックグラウンド(BG)を引いたフィッティング結果, 青色の点線が溶媒の散乱プロファイル(BG)を示す.

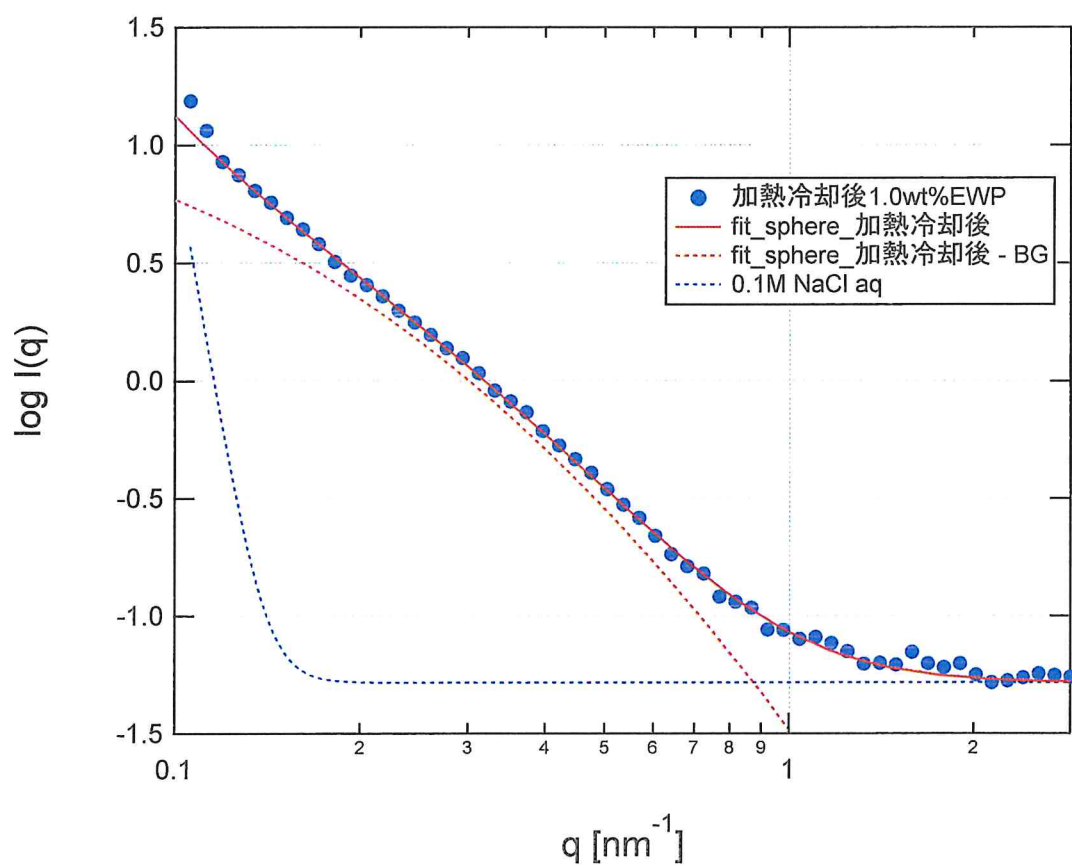


図 28 加熱冷却後 1.0wt%EWP 溶液の散乱プロファイル. ○が EWP 溶液の散乱プロファイル, 赤色の実線が球モデル(3.4)式によるフィッティング結果, 赤色の点線が溶媒からの散乱であるバックグラウンド(BG)を引いたフィッティング結果, 青色の点線が溶媒の散乱プロファイル(BG)を示す.

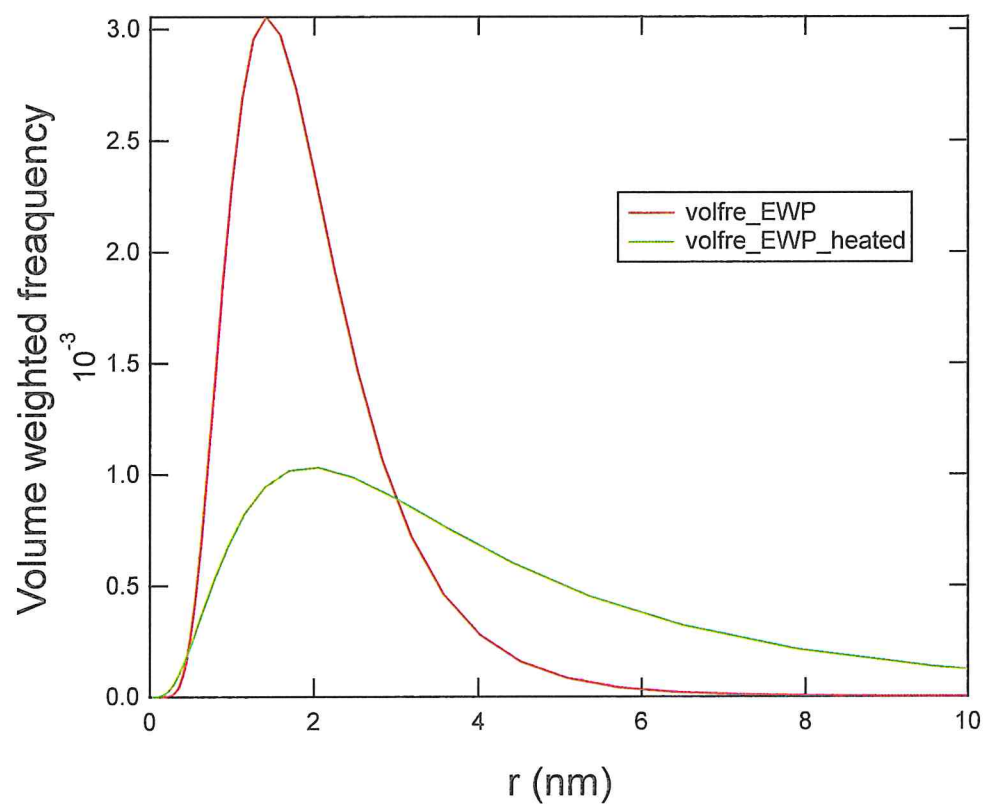


図 29 非加熱 EWP および加熱冷却後 EWP における体積重み付き頻度分布. 赤色の実線は非加熱 EWP における体積重み付き頻度分布, 緑色の実線は加熱冷却 EWP における体積の重み付き頻度分布を示す.

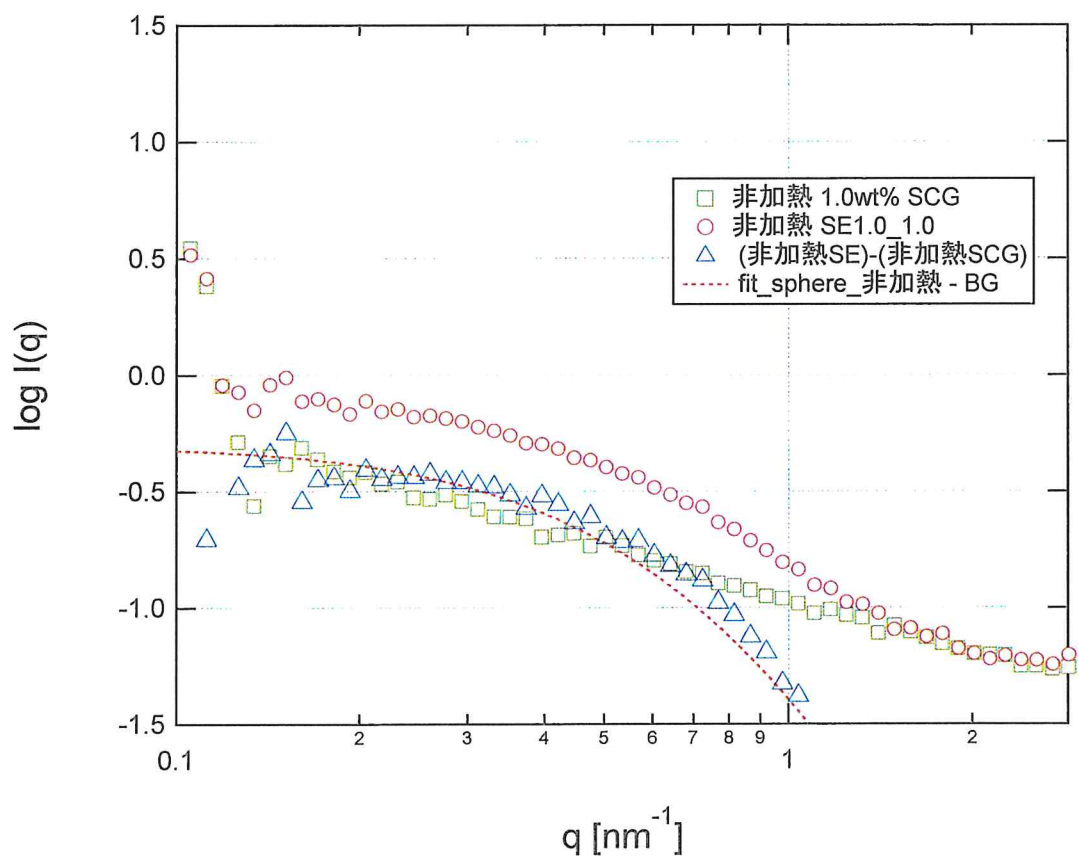


図 30 非加熱 SCG-EWP 共存系の散乱プロファイル. プロットは赤色の丸が SCG-EWP 共存系の散乱プロファイル, 緑色の四角形が 1.0wt%SCG 溶液の散乱プロファイル, 青色の三角形が SCG-共存系と SCG の散乱強度の差をプロットしたもの, 赤色の点線が非加熱 EWP のバックグラウンドを引いたフィッティング結果を示す.

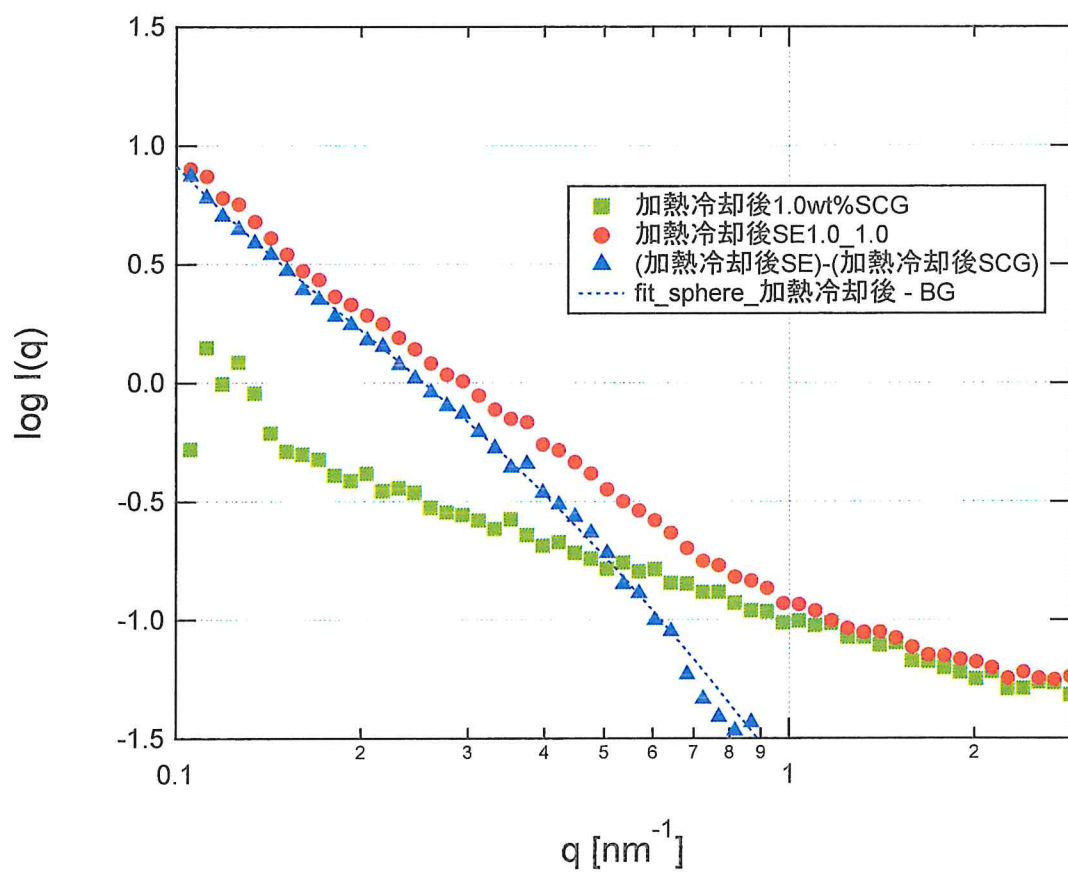


図 31 加熱冷却後 SCG-EWP 共存系の散乱プロファイル. プロットは赤色の丸が SCG-EWP 共存系の散乱プロファイル, 緑色の四角形が 1.0wt%SCG 溶液の散乱プロファイル, 青色の三角形が SCG-共存系と SCG の散乱強度の差をプロットしたもの, 水色の点線が加熱冷却後 EWP のバックグラウンドを引いたフィッティング結果を示す.

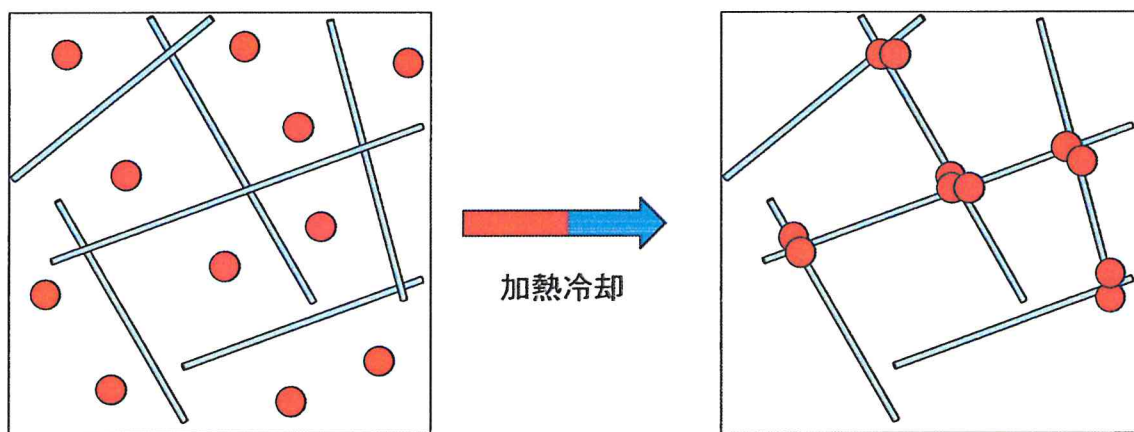


図 32 SCG-EWP 複合体の概念図. 水色の棒が SCG, 赤色の丸が EWP を示す.