TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

混合カラギーナンゲルの粘弾性測定とNMR測定によるゲル化機構の解明

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2013-09-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 廖, 榕強
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/979

修士学位論文

混合カラギーナンゲルの粘弾性測定と NMR 測定によるゲル化機構の解明

平成２４年度

（２０１３年３月）

東京海洋大学大学院

海洋科学技術研究科

食機能保全科学専攻

廖　榕強

［修士］

修士学位論文内容要旨
Abstract

専　攻 Major	食機能保全科学	氏　名 Name	廖　　榕強
論文題目 Title	混合カラギーナンゲルの粘弾性測定と NMR 測定によるゲル化機構の解明		

＜緒言＞

カラギーナンは、紅藻類より得られる高分子多糖の 1 種であり、硫酸基の結合部位と構成糖の相違より、主として κ、ι、λ の 3 タイプに大別される。ゲル化特性の異なるカラギーナンを混合することによりゲル物性をコントロールできると期待できるが、詳細なゲル物性や分子運動性への影響は明らかになっていない。そこで本研究では、よく使われている κ タイプと ι タイプのカラギーナンを混合し、その混合比の異なる試料について、ゲル物性の評価とゲル化機構の解明を行った。

＜実験＞

試料調製　κ タイプ及び ι タイプのカラギーナン（東京化成）を用いて、カラギーナンの混合比を κ : ι＝4 : 0、3 : 1、2 : 2、1 : 3、0 : 4（濃度 2%）として 90℃ 30 分間攪拌して完全に溶解し、混合系についてはさらに 90℃ 5 分間加熱溶解し(カチオンを添加する実験では、混合する前にカチオン水溶液を加え 95℃30 分加熱溶解した)、各混合比カラギーナン試料溶液を調製した。

測定方法　ゲル強度測定は RTC-2002D-D((株)レオテック)を使用し、球形プランジャーを用いた。動的粘弾性測定は MARS Ⅱ Rheometer(HAAKE)を用い、周波数 1Hz、0.5℃/min で降温させて測定した。NMR 測定は Bruker Avance DRX-400 (Bruker)を使用し、パルス状磁場勾配スピンエコー法により、70～20 ℃ までの降温過程において測定した。T_2 緩和時間測定は汎用型 NMR Maran Ultra (Oxford Instruments) を用い、約 0.5℃/min で 75 ~ 20℃降温させ測定した。

＜結果・考察＞

カチオン濃度の異なる κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系において

混合試料では ι タイプの添加によりヤング率の低下が見られた。これは κ タイプは強度が高い硬いゲルを形成するのに対して、ι タイプが柔軟なゲルを形成することに対応していると考えられる。冷却過程での動的粘弾性測定で得られた混合溶液の複素弾性率|G*|は 2 段階に増加した。また、磁場勾配 NMR 測定で得られた信号強度 I_0 も 2 段階の減少を見せた。信号強度の減少は運動性の低い成分の生成、すなわち、高次構造の形成を意味し、高温で ι-カラギーナン鎖の高次構造を形成し、さらに、降温すると κ-カラギーナン鎖も高次構造を形成すると考えられる。また、混合タイプ 2 段階目の増加の温度は κ タイプよりも高い温度であった。これは、ι-カラギーナン鎖の存在が κ-カラギーナン鎖の高次構造形成を促進しているためと考えられる。

カチオン濃度の等しい κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系において

ι タイプは κ タイプに比べて、多くのカチオンを含んでいる。したがって、両タイプのカチオン濃度を一定にしたカラギーナン溶液を調べた。κ タイプと ι タイプそれぞれはカチオン添加前と比べて、高いゲル化温度(45℃、55℃付近)で網目構造を形成した。κ2ι2 混合試料において、55℃付近から 40℃付近にかけて、2 段階に変化している。しかし、動的粘弾性測定では 2 段目の増加の温度が単独の κ タイプより低い温度であった。これは、カチオン添加により ι-カラギーナン鎖は強い網目を作り、先に網目に取り込まれたため、低い温度では`混合溶液の濃度が薄くなるので、2 段目の増加の温度は κ タイプより低温で起ったと考えられる。

以上より、一定のカチオン濃度の 2 種類のカラギーナンの混合溶液において、ι-カラギーナン鎖の存在が κ-カラギーナン鎖に影響していると考えられる。

【参考文献】

1) V.M.F.LAI, P.A.-L.WONG AND C.-Y.LII (2000) *JFS* Vol. 65, No. 8, 2000

2) Zhang, Q., Matsukawa, S., Watanabe, T. (2004) *Food Hydrocolloids, 18* :441-449

目次

第１章　序論
１－１　目的・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1
１－２　カラギーナンとは　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・2

第 2 章　測定理論と解析方法
2－1 ヤング率の算出　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・4
2－2 線形粘弾性　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・6
2－3 NMR の基本原理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・7
2－4 NMR 法による拡散係数測定　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・10
2－4－1　Pulse Field Gradient Spin Echo(PG-SE)法
2－4－2　Pulse Field Gradient Stimulated Echo(PG-STE)法
2－5 NMR 法による ^{1}HT_2 緩和時間測定　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13

第 3 章　カラギーナン試料について
3－1　マスター試料溶液作製・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14
3－2　GPC による分子量分布・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16

第４章　カチオン濃度の異なる κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系
4－1 実験方法
4－1－1 試料調製・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18
4－1－2 測定方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・19
4－2 結果・考察
4－2－1 ゲル強度・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・22
4－2－2 動的粘弾性の温度依存性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24
4－2－3 NMR エコー信号強度、拡散係数の算出・・・・・・・・・・・・・・25
4－2－4 カラギーナンの信号強度と拡散係数の温度依存性・・・・・・・27
4－2－5 カラギーナン水溶液の水の観測 ^{1}HT_2 緩和時間の温度依存性・・・29

第 5 章　カチオン濃度の等しい κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系
5－1 実験方法
5－1－1 試料調製・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・31

5－1－2 測定方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
5－2 結果・考察
5－2－1 動的粘弾性の温度依存性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・34
5－2－2 カラギーナン水溶液の水の観測 $^{1}\mathrm{H}T_2$ 緩和時間と粘度の温度依存 ・35

第 6 章　総括 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・37

謝辞 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・39

参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・40

第１章　序論

1－1　目的

食品に用いられる多糖類は、いくつかの種類を組み合わせて用いられることが多く、幅広い食感を表現することが可能となっている。しかし、組み合わせ方も数多く存在するため、使用する際には経験則が必要と考えている。

ゲル化特性の異なるカラギーナンを混合することによりゲル物性をコントロールできると期待できるが、詳細なゲル物性や分子運動性への影響は明らかになっていない。

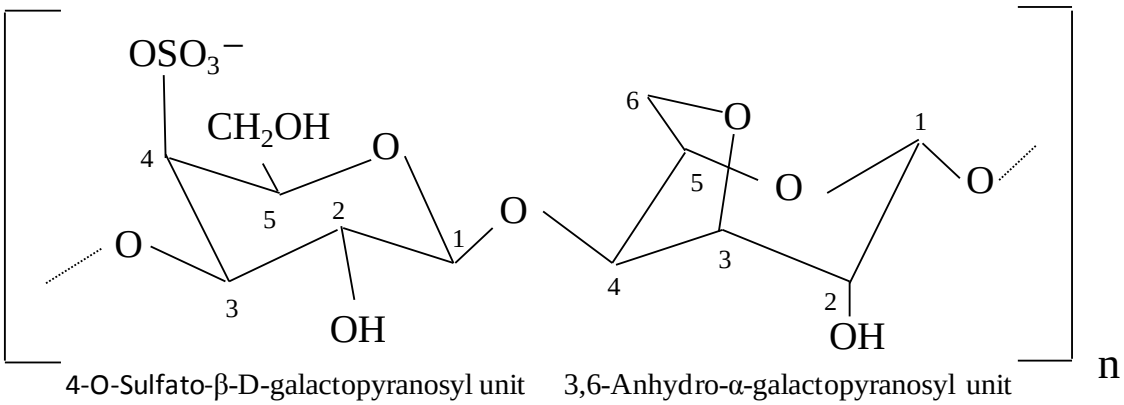
そこで、本研究では、混合カラギーナンにおける物性とゲル化機構を明らかにするために、κタイプとιタイプのカラギーナンを混合し、動的粘弾性、ゲル強度およびNMRによる分子運動性の測定を行った。これらの測定から、分子運動から分かるミクロな物性と溶液自体の性質を見るマクロな物性を観測することで、溶液のゲル化機構の解明を行っている。また、カラギーナンは、カチオン類の添加により、ゲル化温度がゲル強度と共に上昇する性質を持っている[7),8),11),21)]。そこで、混合比の異なるカラギーナン溶液において、カラギーナンに元来含まれているカチオン類がゲル物性に及ぼす影響も考察した。

1－2　カラギーナンとは

カラギーナンとは、紅藻類より得られる高分子多糖の 1 種であり、ゲル化や増粘などの機能を有することから、デザート類、乳製品など幅広い食品に応用されている [18]。図 1 に示したように、カラギーナンの主鎖はガラクトースで構成されており、D-ガラクトースと 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースが交互に連なった直鎖状の多糖類で、硫酸基の結合部位と構成糖の相違より、主として κ、ι、λ の 3 タイプに大別される [14),15),19)] 。

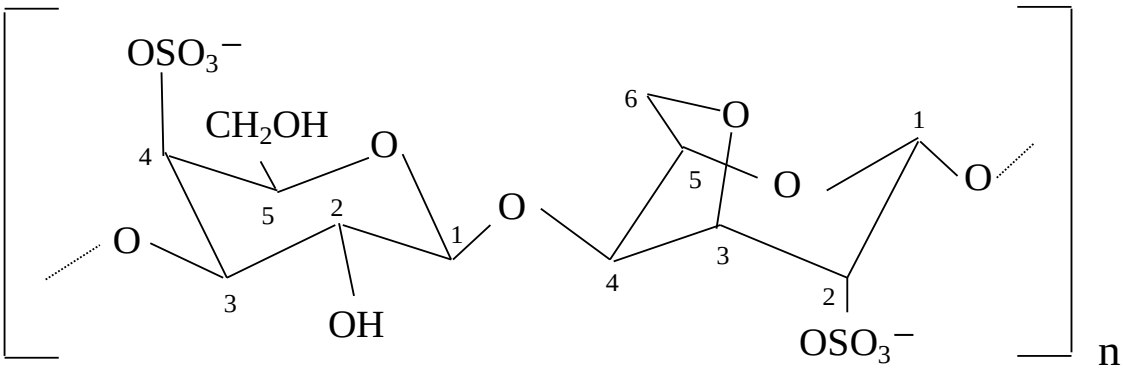
これら 3 タイプのカラギーナンの物性は全く異なり、一般にゲル化剤として使用されるのは、κ-カラギーナンで、硬くて脆いゲルを形成することができる [30)]。ι-カラギーナンは 3,6-アンヒドロ α-D-ガラクトース基に硫酸基があるため、弾力のある柔らかいゲルを形成するが、ゲル化させるために多くの添加量を必要とする。よって、ι タイプはゲル化目的よりも、少量の使用にて増粘剤やゼリーやプリンの離水防止剤として使用する場合が多いようである [30)]。本研究はこの 2 種カラギーナンを用いて研究を行った。

また、λ タイプの反発し合っている硫酸基の負電荷をたとえ中和しても、ピラノース環の立体配座が C1、C1 となるので鎖の相互接近が妨害され、らせん構造を形成しない [30)]。このため λ タイプはゲル化する能力は無く、増粘剤としての利用が主となる。



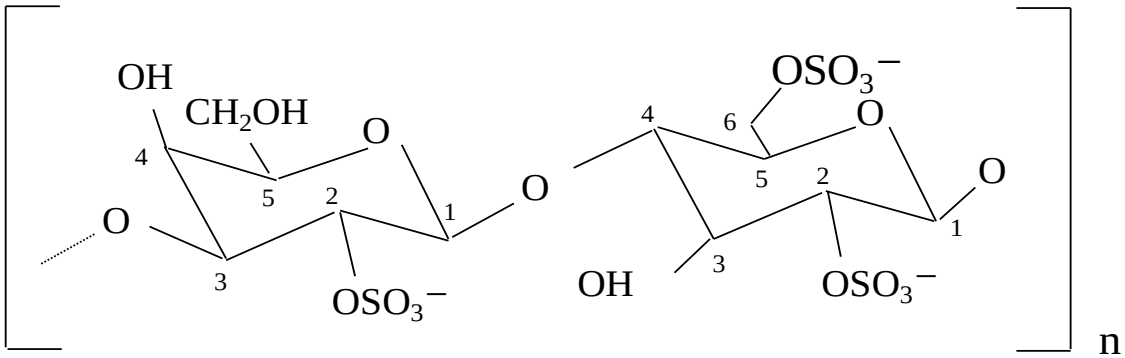
4-O-Sulfato-β-D-galactopyranosyl unit　3,6-Anhydro-α-galactopyranosyl unit

κ-カラギーナン



4-O-Sulfato-β-D-galactopyranosyl unit　3,6-Anhydro- 2-O-Sulfato- α-galactopyranosyl unit

ι-カラギーナン



2-O-Sulfato-β-D-galactopyranosyl unit　2,6-Di-O-Sulfato-α-galactopyranosyl unit

λ-カラギーナン

図１　カラギーナンの一次構造

第 2 章　測定理論と解析方法

2－1　ヤング率の算出 [29)]

物体が外力によって直ちに変形し、その外力を除くと直ちにもとの形に戻る性質を弾性という。一般に、物体の変形が十分に小さければ物体は弾性を示す。特に、応力と変形の間に比例関係が成り立つ場合をフック弾性という。フック弾性を示す物体(フック弾性体)では、応力と歪の比が一定となり、比例定数を弾性率という。

以下図 2 のように長さ L、断面積 S の試料に変形応力（圧縮応力）F をかけたとき、試料が弾性を示す範囲で変形 ΔL を生じた場合、歪（圧縮変形量）e は以下(1)式で表わせる。

$$e = \Delta L / L \qquad (1)$$

応力 F と歪 e の比例定数をヤング率という。ヤング率 E は、(2)式で定義される。

$$E = F/e \qquad (2)$$

本研究では、球形プランジャーを用いた。そこで、歪はプランジャー(球径 r)とゲルとの接触面積を考慮し、以下(3)式を用いてヤング率を算出した [6)]。

$$F = E(4r^3/3(1-v^2))(h/r)^{3/2} \qquad (3)$$

ここで、v はゲルのポアッソン比、h はプランジャーが球に入り込んだ高さである。

第 4 章では、(3) 式によって変形初期における応力－歪曲線のフィッティングを行い、ヤング率を求めた。

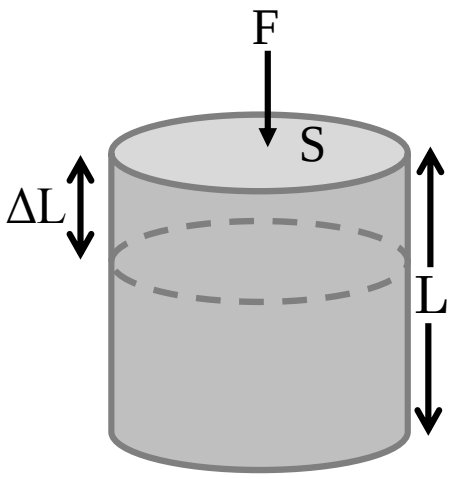


図 2　圧縮変形における変形の模擬図

2－2　線形粘弾性 [29),31)]

流体の流れでは、流体中の面に対して接線応力が働き、流れに対する抵抗が生ずる。この性質または生ずる抵抗のことを粘性という。特に、応力が変形速度に比例するのがニュートン粘性である。

2－1 で述べた弾性と、上に述べた粘性を併せ持つ物体を粘弾性体という。粘弾性物体に周期的外力を与えると、それに対応する応力や変形も周期的に変化する。一般に周期的挙動は複素関数を用いて表現できる。周波数を ω とすると、応力 σ と変形量（歪み）ε はそれぞれ(4)、(5)式のように複素表示される。

$$\sigma^*(t)=\sigma_0\exp(i\,(\omega t+\delta))=\sigma_0\{\cos(\omega t+\delta)+i\sin(\omega t+\delta)\} \tag{4}$$

$$\varepsilon^*(t)=\varepsilon_0\exp(i\omega t)=\varepsilon_0\{\cos(\omega t)+i\sin(\omega t) \tag{5}$$

ここで、δ は $\sigma^*(t)$と $\varepsilon^*(t)$の位相差であり、完全弾性体の場合は δ=0、ニュートン粘性体の場合は δ=π/2 となる。粘弾性体の場合は、0<δ<π/2 となる。このとき、複素弾性率 G*は以下の(6)式で定義される。

$$G^*(i\omega)=\sigma^*(t)/\varepsilon^*(t) \tag{6}$$

G*も複素関数であるため、(7)式のように実部と虚部で表わすことができる。

$$\begin{aligned} G^*(i\omega)&=\sigma_0(\omega)\exp(i\,(\omega t+\delta))/\varepsilon_0\exp(i\omega t)\\ &=G_0(\omega)\exp(i\delta)\\ &=G_0(\omega)\cos\delta+iG_0(\omega)\sin\delta\\ &=G'(\omega)+iG''(\omega) \end{aligned} \tag{7}$$

(7)式より、(8)式を用いて|G*|を算出することができる。

$$|G^*|=(G'^2+G''^2)^{1/2} \tag{8}$$

ここで、実部 G’はエネルギーの貯蔵に関する部分で動的弾性率（貯蔵弾性率）であり、虚数部 G”粘性によるエネルギーの損失に関する部分で動的損失（損失弾性率）である。

高分子の転移領域では、一定周波数において弾性率(G’、G”)の急速な変化が見られる。このとき、(8)式より|G*|も上昇することが分かる。そこで、第 4 章では、|G*|の増加率が大きい部分をゲル化点として考察を行った。

2－3　NMR の基本原理 [32),33)]

原子核は量子論的な意味で回転しており、核スピン量子数（s = 0, 1/2, 1, 3/2, 2, …などをとる）により量子化された角運動量と磁気モーメントをもつ。この性質を核スピンという。古典力学的なモデルを用いた場合、外部磁場の中に入れられると、核は磁場にある傾きをもち、磁場の方向を軸として傾いたコマのような運動をする。この運動をラーモアの歳差運動という（図 3）。

磁場中に置かれた核磁気モーメントの大きさは、次の式で表されるエネルギーをもつ。

$$E = \mu B_0 \qquad (9)$$

B_0 は外部磁場の強さ、つまり NMR 装置の超伝導磁石の強さである。式中の μ を詳しく表すと、次のようになる。

$$E = \mu B_0 = (m\gamma h / 2\pi) B_0 \qquad (10)$$

ここで、 m は s、s－1、s－2、…、－s であり、h はプランク定数である。γ は核磁気回転比、s は核スピン量子数で、これらは原子核の種類によって決まった一つの値をとる。

外部磁場がない場合、それぞれの原子核はランダムな方向を向いている。エネルギーレベルで考えると核は 2 種類の配向をとり、核磁気モーメントと外部磁場との向きで区別できる。1 つは磁場と平行つまりエネルギーが低い状態（α 準位）、もう 1 つは磁場と逆平行つまりエネルギーが高い状態（β 準位）である（図 4）。また、それぞれのエネルギー順位は次の式のように表される。

$$E_\alpha = -(m\gamma h / 2\pi) B_0 \qquad (11)$$

$$E_\beta = (m\gamma h / 2\pi) B_0 \qquad (12)$$

このような外部磁場中での核磁気モーメントのエネルギー順位の分裂をゼーマン分裂といい、水素核 ^{1}H 核を例にとると、$s = 1/2$ なので、エネルギー順位の分裂間隔の大きさは、

$$\Delta E = E_\beta - E_\alpha = \gamma h B_0 / 2\pi \qquad (13)$$

であり、これをゼーマンエネルギーとよぶ。γ, h は定数（γ は各核種による）なので、外部磁場が強くなるほど 2 つのエネルギー差も大きくなる。

ここで、ΔE に相当するエネルギーの電磁波を照射すると、E_α の状態である核が E_β の状態に励起される。そして、E_β の状態にある核は獲得したエネルギーを放出して E_α の状態に戻る。この一連の過程が NMR 現象である。

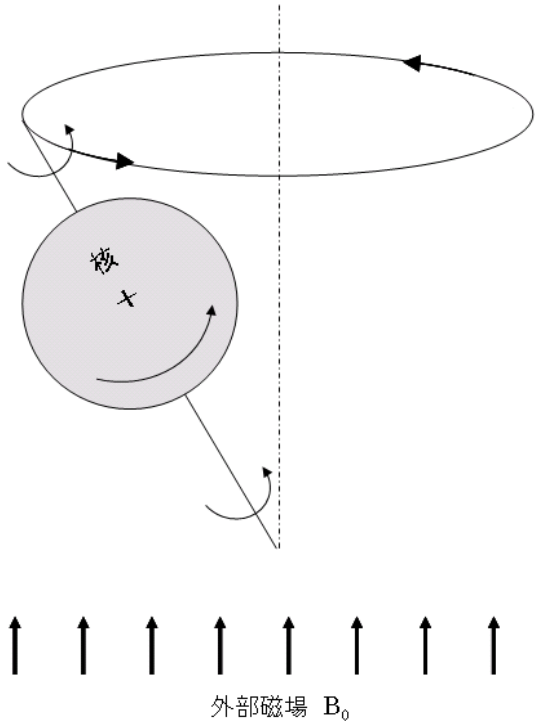


図 3　磁場中におかれた磁気モーメントをもつ核の歳差運動

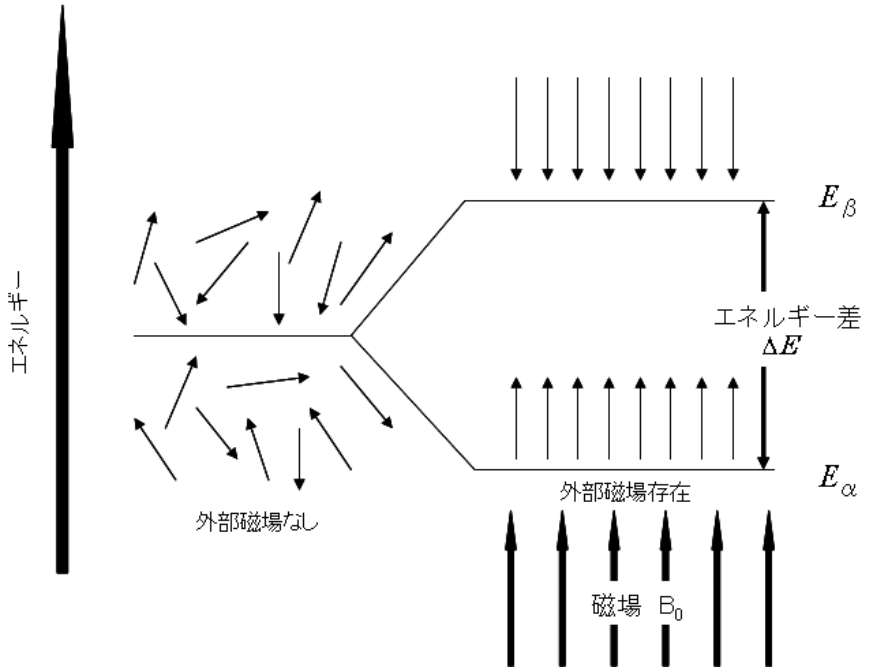


図 4　磁場中におかれた核のエネルギー状態

2－4　NMR 法による拡散係数測定 [34),35)]

2－4－1　Pulse Field Gradient Spin Echo(PG-SE)法

拡散係数測定には、スピンエコーのパルスシーケンスに２つのパルス状の磁場勾配を印加するパルス磁場勾配スピンエコー (Pulsed Field Gradient Spin Echo (PG-SE) (図 5) 法 [4)] がよく用いられる。この方法では、磁場勾配をかけることによって、磁化ベクトルの位置に関する情報を取り込むことができ、そこから拡散係数を求めることができる。
スピンエコー法はパルス間隔(τ)を一定として、

$$(90^{o}\ \text{パルス}-\tau 180^{o}\ \text{パルス}-\tau-\text{Echo}) \qquad (14)$$

というパルス系列を持つ。

PG-SE 法では 90°パルス照射後に、パルス上の磁場勾配(PFG)が z 軸方向に印加される。これによって、磁場が大きい場所ほど xy 平面上で磁化ベクトルが速く歳差運動することになり、スピンの空間的な位置を磁気的に標識することができる。そして、磁場勾配を印加後、一定時間後に 180°パルスをかけ、再度 z 軸方向に磁場勾配をかける。ここで、核に変位が生じていない場合、磁化ベクトルは再形成は不安定になり、シグナルに減衰が生じることになる。この減衰の比から拡散係数を求めることができる。PG-SE 測定で観測される信号強度 I は次式で与えられる。

$$I(2\tau) = I(0)\exp[-(\gamma g\delta)^2 D(\Delta - \delta/3)] \qquad (15)$$

I は信号強度、γ は磁気回転比、D は拡散係数、δ は磁場勾配継続時間、Δ は拡散時間、g は磁場配強度である。$I(0)$は磁場勾配をかけない場合の信号強度であり、次式で表される。これは、横緩和時間 T_2 に依存する。

$$I(0)=M_0\exp(-2\tau/T_2) \qquad (16)$$

2－4－2　Pulse Field Gradient Stimulated Echo(PG-STE)法

PG-SE 法を用いた場合、2 つの PFG の間(拡散時間)に磁化ベクトルは xy 平面状を歳差運動しているので、T_2 緩和により信号は減衰する。そのため、拡散係数測定を行う場合に拡散時間 Δ は、T_2 緩和より短い値を選択しなければならなくなる。一般に、粘度が低い低分子などの場合には T_2 緩和時間は長くなるが、粘度の高い液体、ゲル、ポリマーなどは T_2 緩和が短くなり、PG-SE 法での拡散観測は困難となる。このような高分子における拡散係数測定を行う際には、Pulse Field Gradient Stimulated Echo (PG-STE)法を用いる。パルス系列を図 6 に示す。これは、最初の磁場勾配を印加した後に 90°パルスをかけることで磁化ベクトルを反転させるため、T_2 緩和ではなく(17)式のように T_1 緩和の影響を受けることになる。粘度の高い高分子溶液のような、T_2 緩和の短い信号の測定では PG-STE 法が適している [3),22)]。

$$I(0)=1/2[M_0\exp\{-(2\tau/T_2+(\tau+\Delta)/T_1)\}] \qquad (17)$$

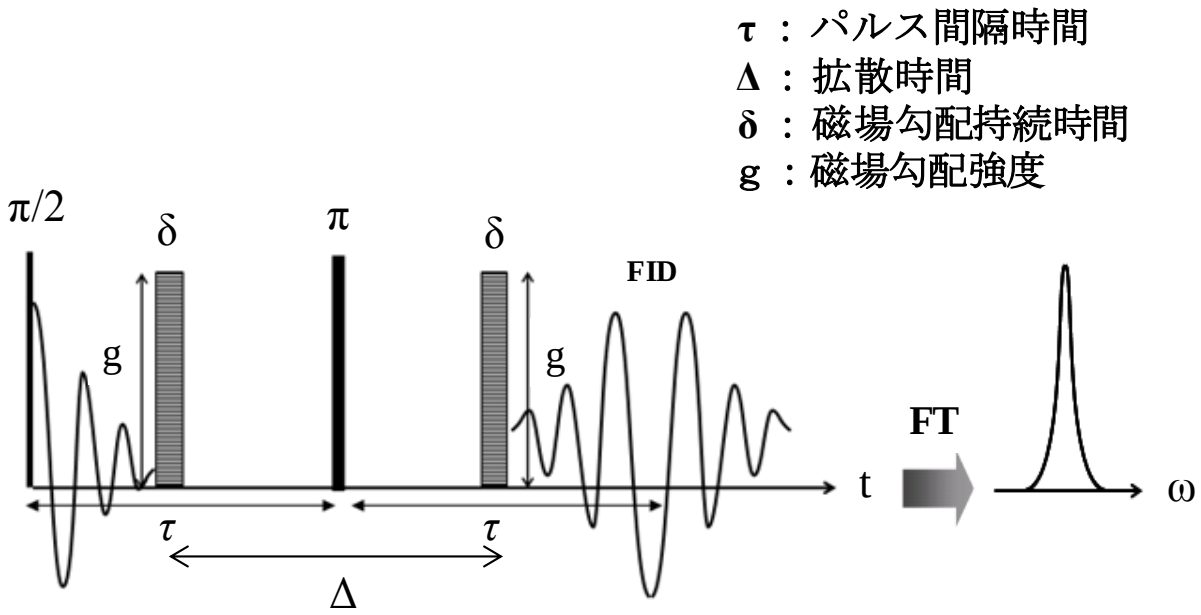


図 5　PG-SE 法のパルス系列

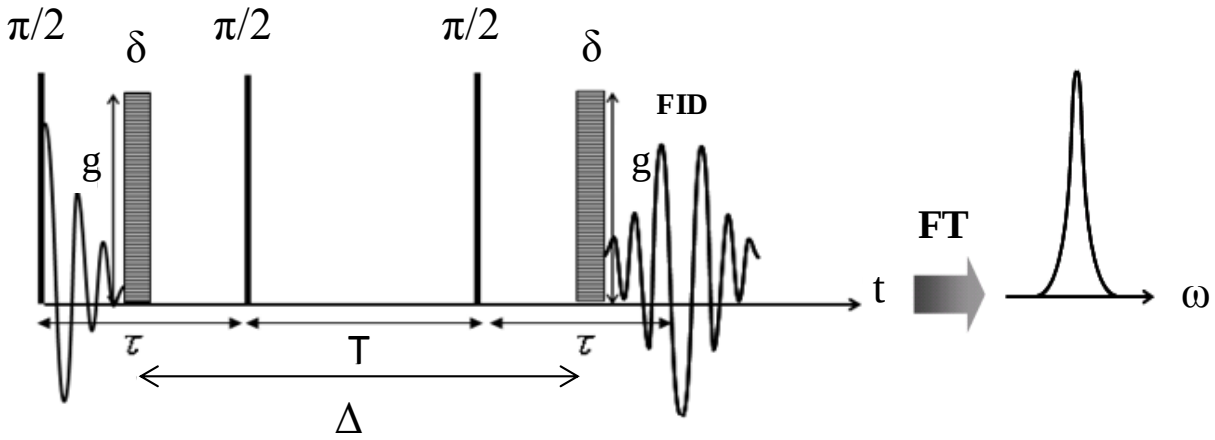


図 6　PG-STE 法のパルス系列

2－5　NMR 法による ^{1}HT_2 緩和時間測定 [24) - 27)]

T_2（スピーンースピン緩和時間）の NMR 緩和時間は磁気的な相互作用の強さと核が属する分子の運動性を反映し、溶液中の分子種について言えば、運動性が増すと緩和時間は長くなる。

緩和測定には磁場の不均一性と分子拡散の影響を軽減するために、$\pi_x/2$-[t_{cp}-π_y-t_{cp}-echo]$_n$（t_{cp} はパルス間隔）のパルスシーケンスにおいて現れるエコー信号を測定する Carr-Parcell-Meiboom-Gill(CPMG)法がしばしば用いられる。図 7 に CPMG 法にパルスシーケンスを示す。試料に X 方向の位相を持った 90° パルスが印加されると、磁化ベクトルが XY 平面に倒れ、試料中のスピンの位相が揃い、大きな NMR 信号が発生する。緩和過程を含む信号のエコー時間 t におけるエコー信号強度 I(t)の減衰は次式で表される [10)]。

$$I(t)=I_0\exp(-t/T_2) \qquad (18)$$

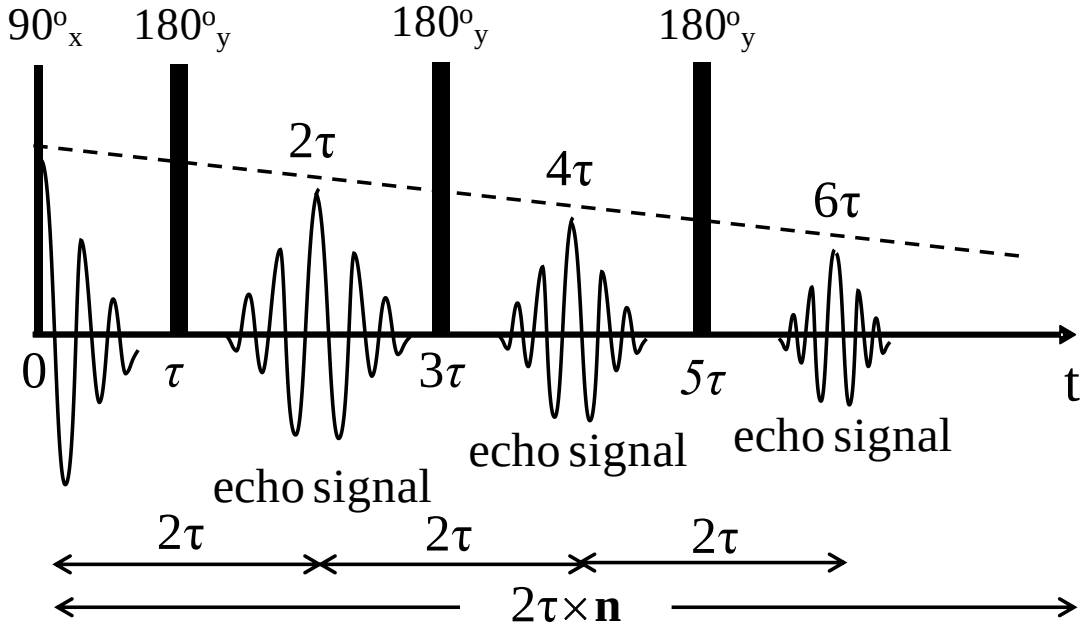


図 7　CPMG 法のパルスシーケンス

第 3 章　カラギーナン試料について

3－1　マスター試料溶液作製

試料調製を容易にし、高い再現性を得るため、κ－カラギーナンと ι－カラギーナンのマスター試料溶液を作成した。第 4 章、第 5 章の実験では、マスター試料溶液を再び溶解して実験に用いた。

2 種類のカラギーナン粉末は東京化成工業（株）から提供されたものを用いた。各粉末試料にイオン交換水を加え、室温で 1 時間撹拌し、80℃で 1 時間撹拌し、90℃で 1 時間撹拌後、メスシリンダーに注ぎ、冷蔵庫(4～5℃)で一晩冷却し、ゲル化させた。調製した試料を高さ 5mm に切り出し、レトルトパウチに密封後、110℃で 20 分間加熱殺菌を行った物をマスター試料溶液とした（図 8）。

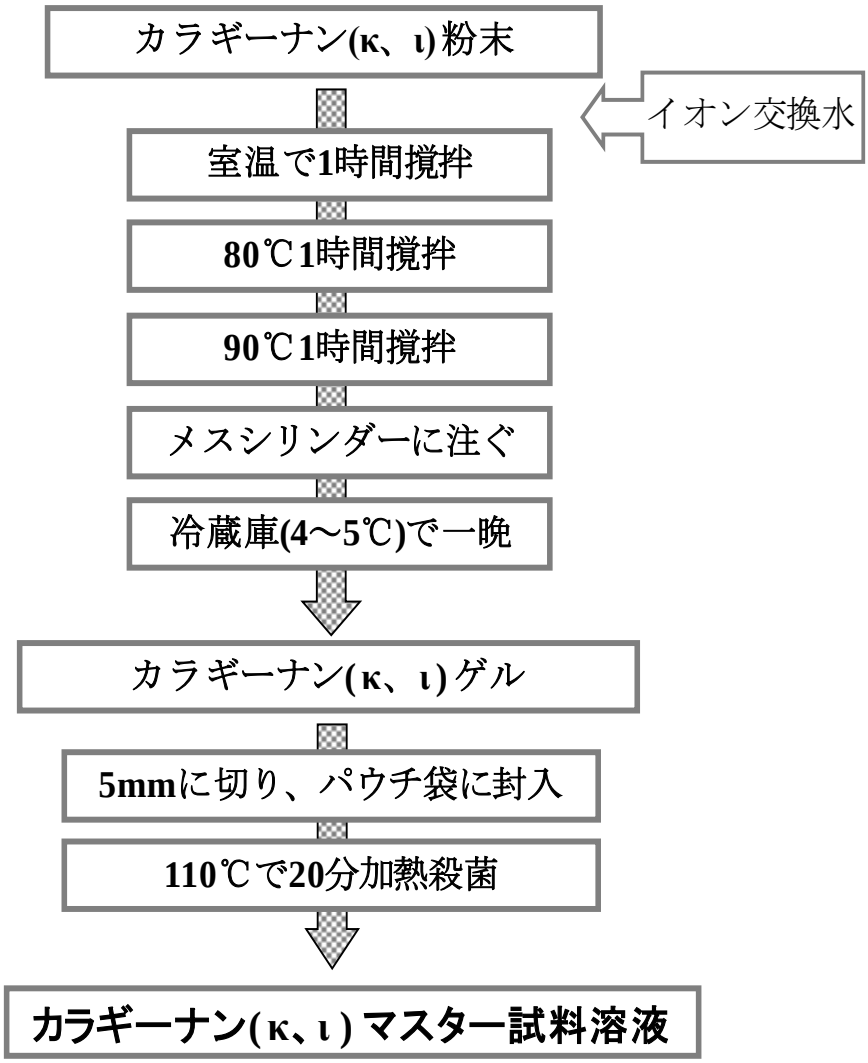


図 8　マスター試料溶液調整フローチャート

マスター試料溶液の濃度は次のように求めた。メスシリンダーの上、中、下に当たる部分のマスター試料を、それぞれ秤量ビンに入れ、重量を測定した後、乾燥機(105℃)で乾燥させ、一日ごとに重量を測定した。2 日目に、変化が見られなくなったため、乾燥を終了し、次式を用いてマスター試料のカラギーナン濃度を求めた。

カラギーナン濃度(%) = (乾燥後重量(g))/(乾燥前重量(g))×100　　(19)

作成した κ－カラギーナンのマスター試料溶液濃度は 5.698％であり、ι－カラギーナンのマスター試料溶液濃度は 4.743％であった。

3－2　GPC による分子量分布

作成したカラギーナン(κ、ι) のマスター試料溶液、粉末のカラギーナンの分子量分布を、それぞれ GPC によって求め、比較した。装置、条件は下に示した。

試料調製は次のように行った。カラギーナン(κ、ι) のマスター試料溶液、粉末カラギーナン水溶液を 95℃で 30 分間加熱撹拌し、溶解した状態で、測定まで 70℃保存し、GPC 装置で分子量分布を測定した。

得られた結果を図 9 に示した。実線は加熱処理後 2 種カラギーナンマスター溶液、点線は加熱処理前 2 種 2%カラギーナン粉末である。加熱処理前後のピークとほとんど重なったことから、分子量に変化は見られず、試料調製における熱処理の影響は無いことがわかった。

使用装置
HLC-8120GPC
カラム：TSK-gel G 4000PWx_L +G6000PWx_L　(東ソー(株))
カラム温度：70℃
検出器：RI(内臓)
検量線：プルラン　分子量 5.9～708×10^3

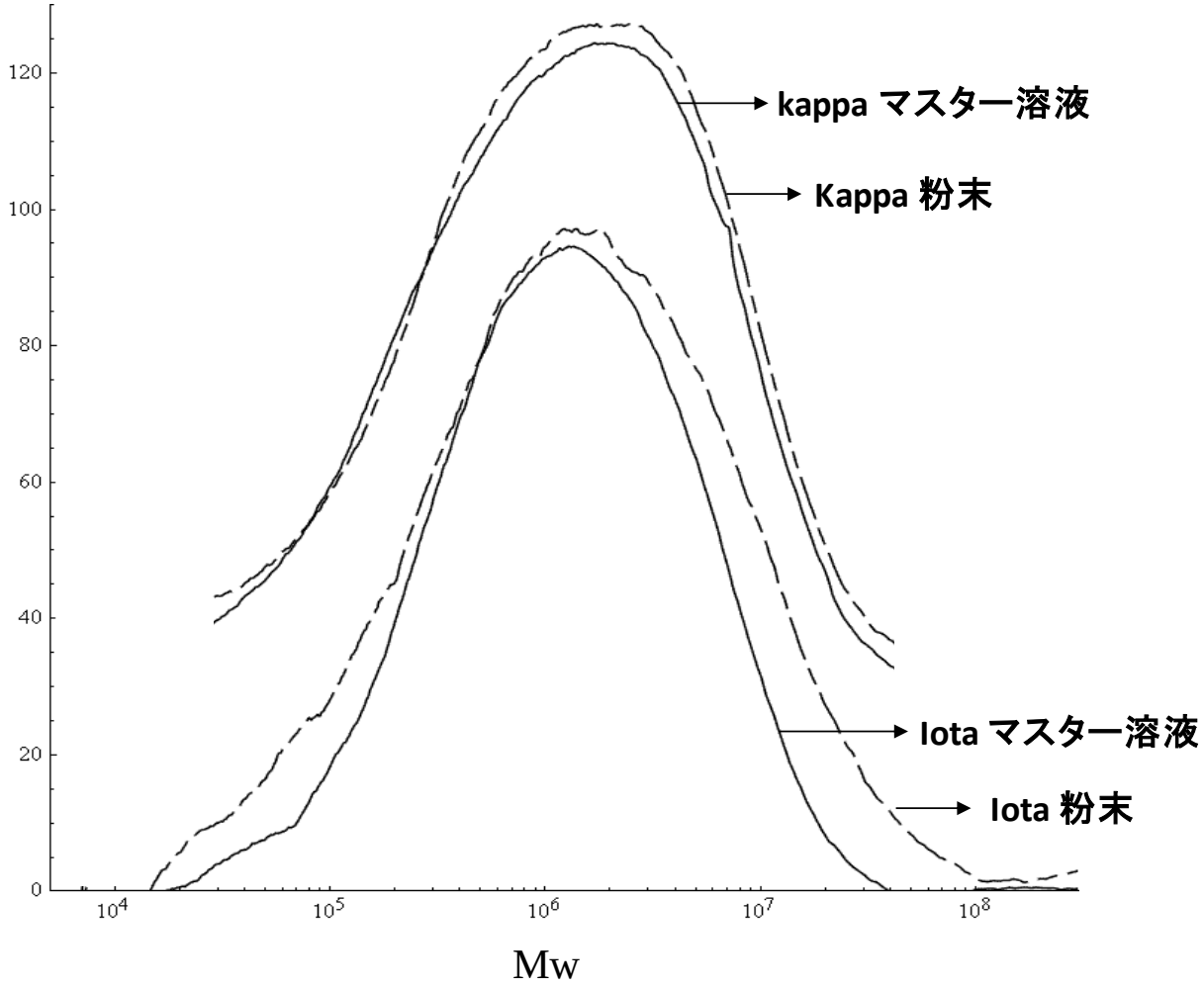


図 9　試料調製における 2 種 2%カラギーナンの分子量への影響

第４章　カチオン濃度の異なる κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系

4－1　実験方法

4－1－1　試料調製

2 種カラギーナンマスター試料溶液にカラギーナン濃度が 2%になるようにイオン交換水を加え、95℃で 30 分加熱溶解し、それぞれの混合比 κ : ι ＝ 4:0, 3:1, 2:2, 1:3, 0:4 で混合後、混合系においてはさらに 95℃で 5 分間混合加熱撹拌した。それぞれ κ、κ3ι1、κ2ι2 、κ1ι3 、ι と表記した。圧縮応力測定には、カラギーナンを加熱溶解した溶液を 30℃2 時間、25℃12 時間で保存して得られたゲル試料を使用した。また、NMR 測定では水の信号を減らし、水のプロトンの磁気的相互作用によるカラギーナンの信号の広幅を低下するために、D_2O を溶媒として用いた。（図 10）

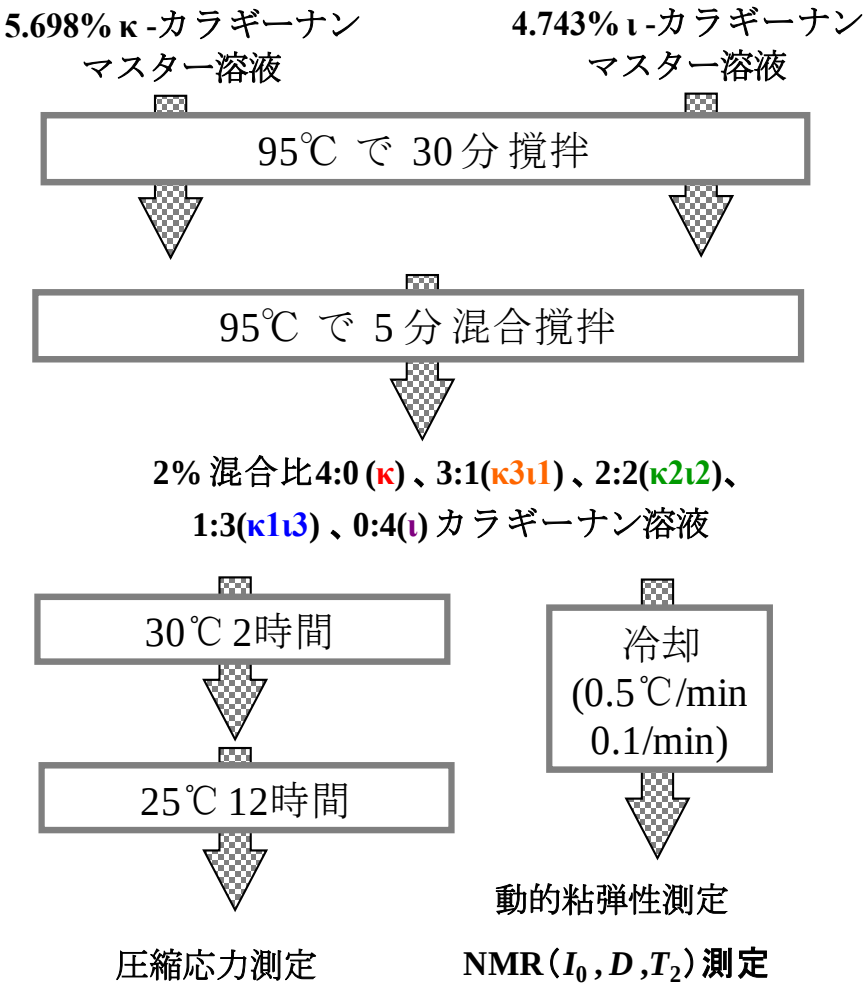


図 10　5 種カラギーナン水溶液とゲル試料調製のフローチャート

4－1－2　測定方法

圧縮応力測定は FUDOH RTC-2002D-D((株)レオテック)を使用した。ゲルが自立せず、平行板による圧縮試験が行えなかったため、図 11 のように容器に入れたゲルを球形プランジャー(直径 1.5cm)で、速度 10cm/分で圧縮して測定した。なお、毎回同じ容器を使用したため、横方向(容器壁)からの応力については考慮する必要は無い。各混合比のゲル試料について、それぞれ 3 回ずつ測定を行った。

動的粘弾性測定は HAAKE MARS Rheometer、を用い、周波数 1Hz、0.5℃/min で 70 ~ 20℃降温させて測定した。

磁場勾配 NMR 測定は Bruker Avance DRX-400 (Bruker)を用いた。試料管の底に磁化率マッチングセルを入れ、温度測定には光ファイバー温度計を用い、試料の上部に固定した（図 12）。測定温度は約 70 ~ 20℃とし、降温した後、昇温させ（約 0.1℃/min）各温度において *D* 測定を行った（図 13）。自己拡散係数測定方法として、パルス磁場勾配スティミュレイテッドスピンエコー (Pulsed Field Gradient Stimulated Spin Echo : PG-STE)法を用いた（図 6）。3ppm から 6ppm までのピークを、エコー信号強度と拡散係数の算出に用いた。測定パラメータは表 1 に従う。

^{1}HT_2 緩和時間測定は汎用型 NMR Maran Ultra (Oxford Instruments) を用い、約 0.5℃/min で 75 ~ 20℃降温させ測定した（図 13）。パラメータは表 2 に従う。

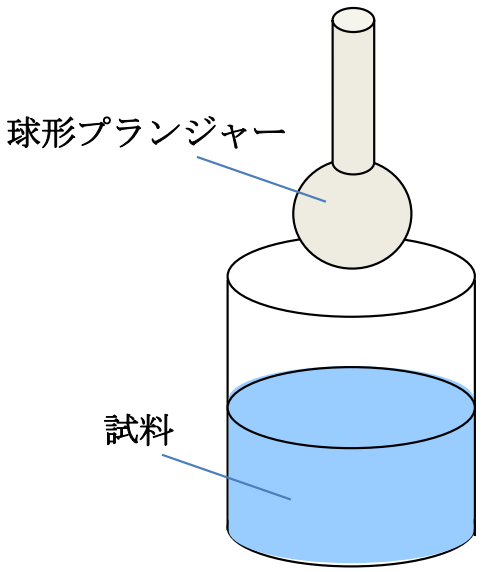


図 11　圧縮応力測定模擬図

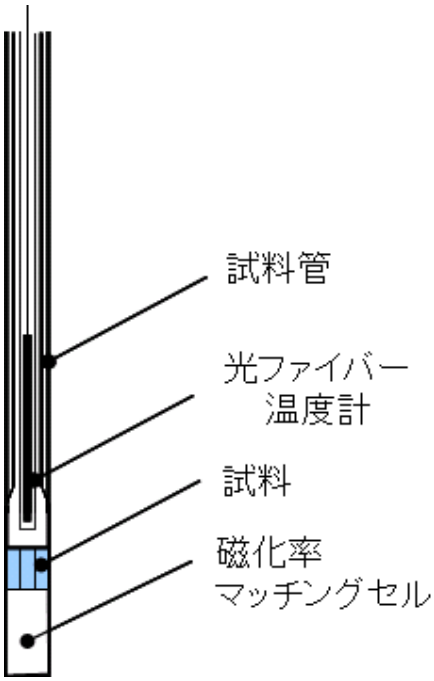


図 12　磁化率マッチングセルを用いた測定

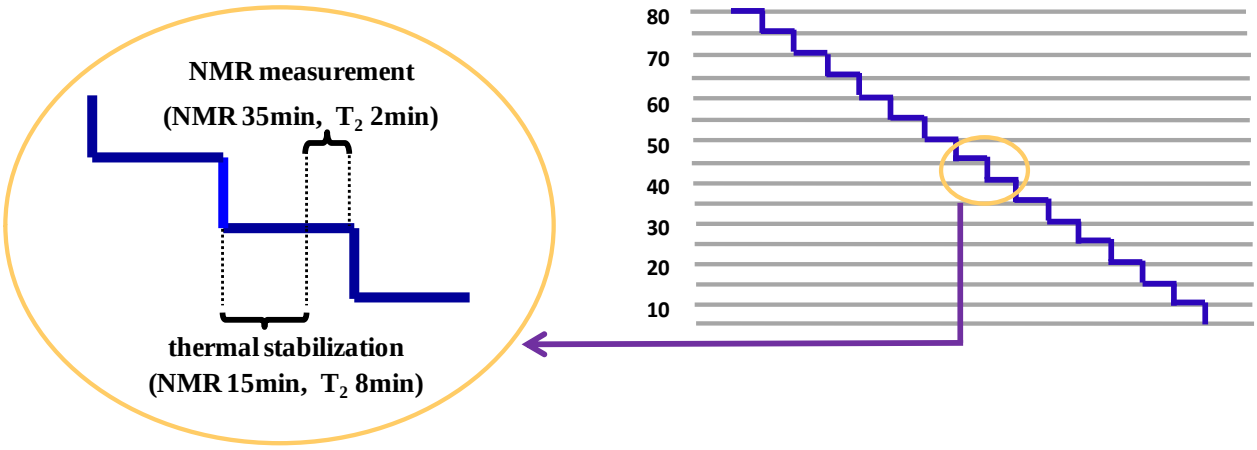


図 13　温度操作における経時変化

表 1　自己拡散係数測定におけるパラメータ

測定パラメータ	値
拡散時間 Δ(ms)	10ms
磁場勾配持続時間(δ)	1ms
磁場勾配強度(g)	200～1300 G/cm
待ち時間(s)	3.5s

表 2　T_2 緩和時間測定におけるパラメータ

測定パラメータ	値
スピンエコータイム(τ)	1ms
積算回数	8
待ち時間(s)	1s

4－2 結果・考察

4－2－1　ゲル強度

図 14 に混合比の異なる 2%カラギーナンの応力－歪曲線を示した。歪率はプランジャー直径を基準とした。また、歪率 0.2 以下において第 2 章（4）式に対してフィッティングを行い、ヤング率を算出した。応力－歪曲線のヤング率 (a) と破断エネルギー（b）をまとめたものを図 15 に示した。

κ- カラギーナンは高いヤング率と高い破断エネルギーを示したが、ι- カラギーナンの混合比が大きくなるにつれて減少した。これは、ι- カラギーナン鎖の硫酸基の増加が大きくゲル物性に影響しているためだと考えられる。

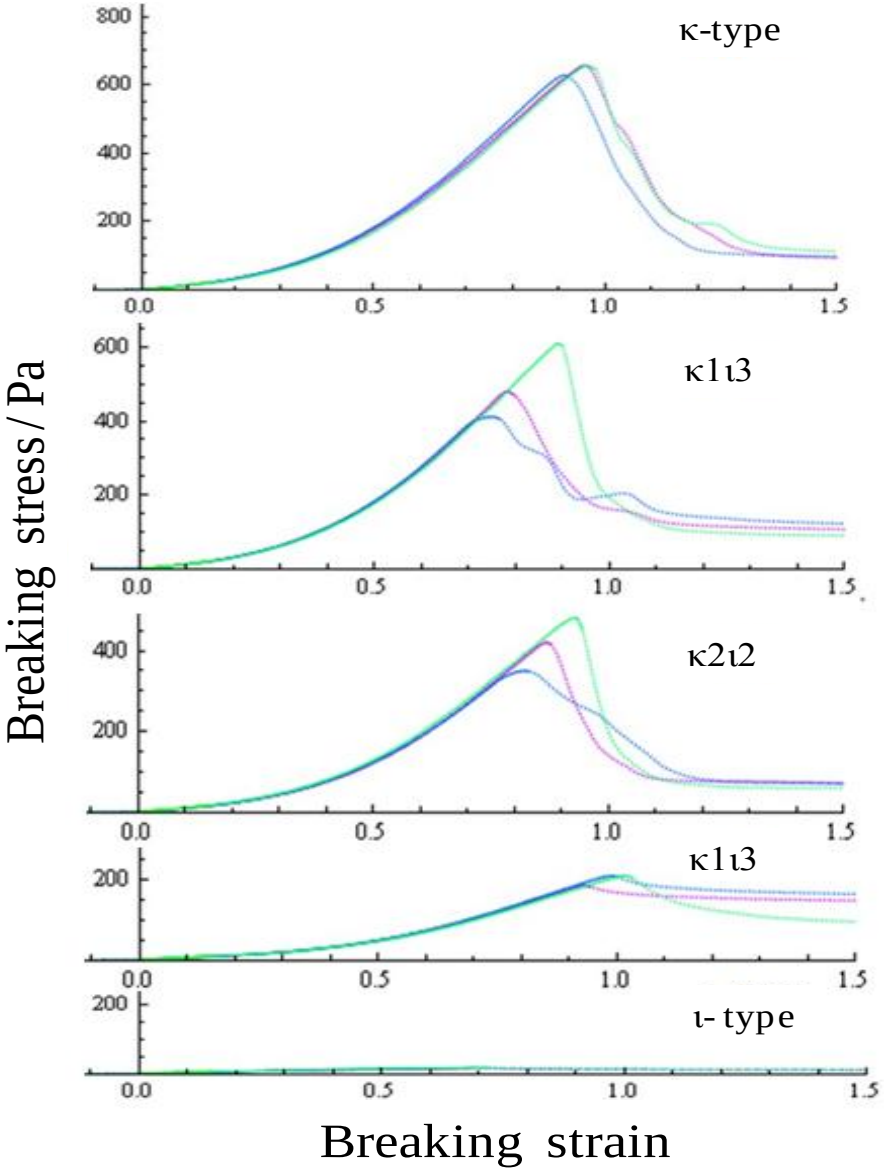


図 14　2% 5 種カラギーナンの応力－歪み曲線

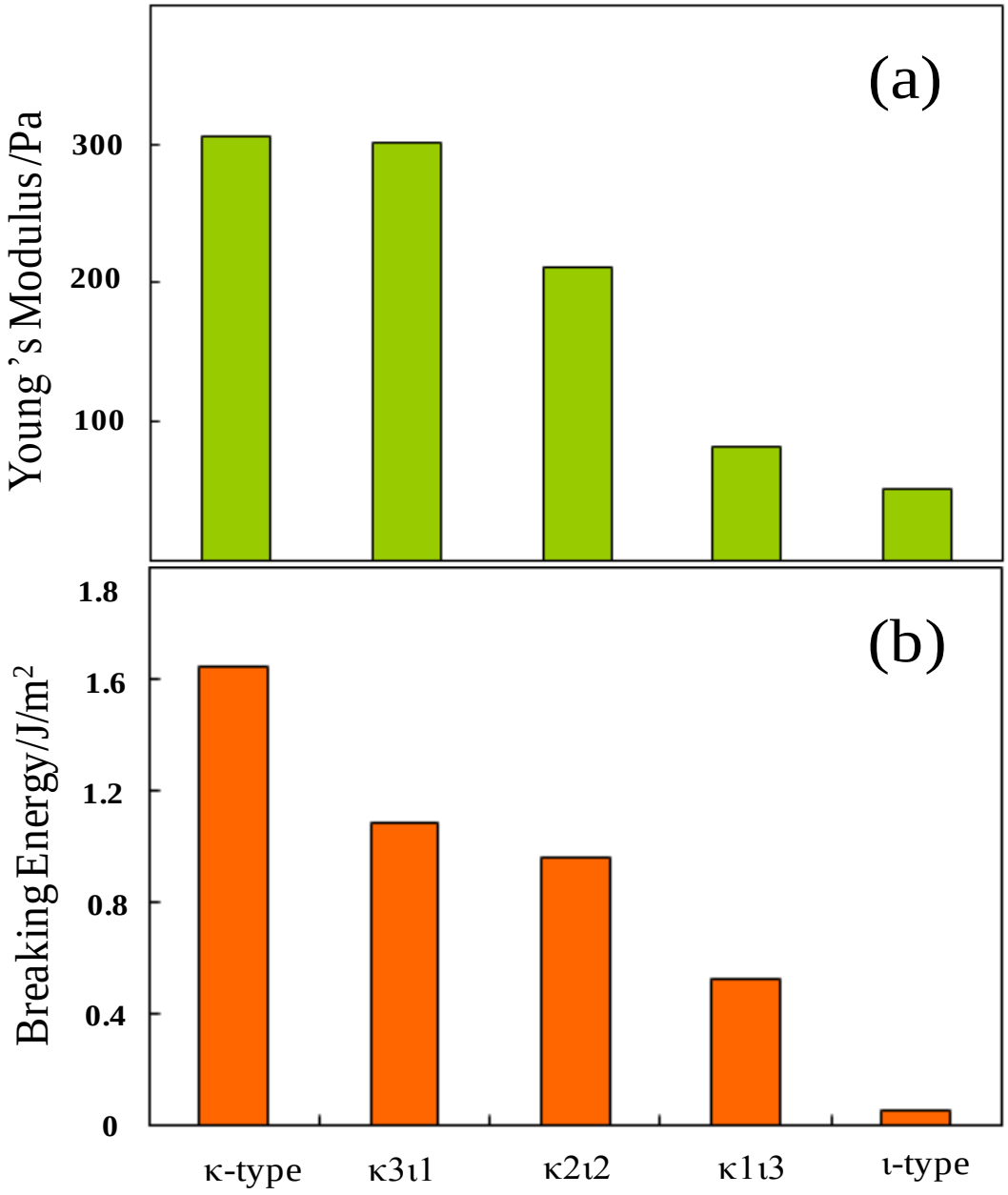


図 15　2% 5 種カラギーナンのヤング率(a)と破断エネルギー(b)

4－2－2　動的粘弾性の温度依存性

動的粘弾性測定結果を図 16 に示した。ι タイプにおいては、50℃付近で|G*|が急増するが、その後|G*|はあまり大きくならないのに対して、κ タイプは 35℃付近で急激に増加し、ι タイプの 100 倍の|G*|となった。これより、κ タイプは 35℃付近、ι タイプ 50℃付近で網目構造を形成すると考えられる。混合試料において、|G*|は 50℃付近で小さな増加を見せ、さらに ι タイプの含量に応じて 40℃から 47℃付近で 2 段目の増加を見せている。混合試料中において、ι タイプが高温から徐々に網目構造を形成し、さらに、40～47℃で κ-カラギーナン鎖が網目構造を形成すると考えられる。また、混合タイプ 2 段階目の増加の温度は単独 κ タイプよりも高い温度であった。これは、ι-カラギーナン鎖の存在が κ-カラギーナン鎖の高次構造形成を促進していると考えられる。

しかし、LII らにより、カチオン濃度の増加によって κ - カラギーナンゲル性質を与えるという報告されていた[23]。また、ICP の結果より ι タイプは κ タイプより多くカチオンを含んでいるため、ι タイプの添加によるカチオン濃度の増加が κ- カラギーナン鎖に影響を与えるとも考えられる。この点については第 5 章で詳しく述べる。

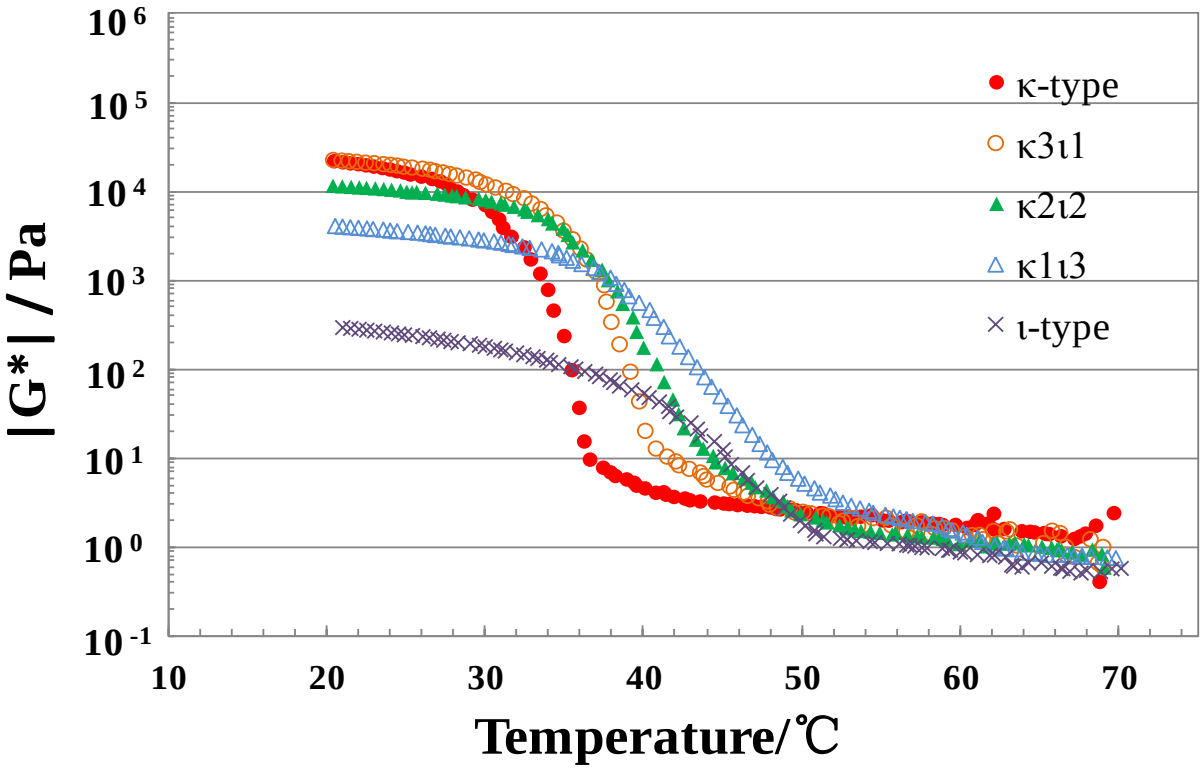


図 16　2% 5 種カラギーナン水溶液の動的粘弾性測定

4－2－3　NMR エコー信号強度、拡散係数の算出

70℃で得られた 2% の（κ タイプ : ι タイプ = 1:3）水溶液（κ1ι3）に対応する信号強度 I の $\gamma^2\delta^2g^2(\Delta-\delta/3)$ に対する対数プロットを図 17 に示した。磁場勾配強度の増加に伴い、ピーク強度の減少が見られた。I は直線的に減衰しており、拡散挙動が単一成分として表せることを示している。これより式(16) を用いて、非線形最小二乗法により D および I_0 (磁場勾配がない時の信号強度)を求めることが出来た。（本実験では 3～6ppm のピークをカラギーナンの D 測定及び信号強度 I_0 を求める解析に用いた）。

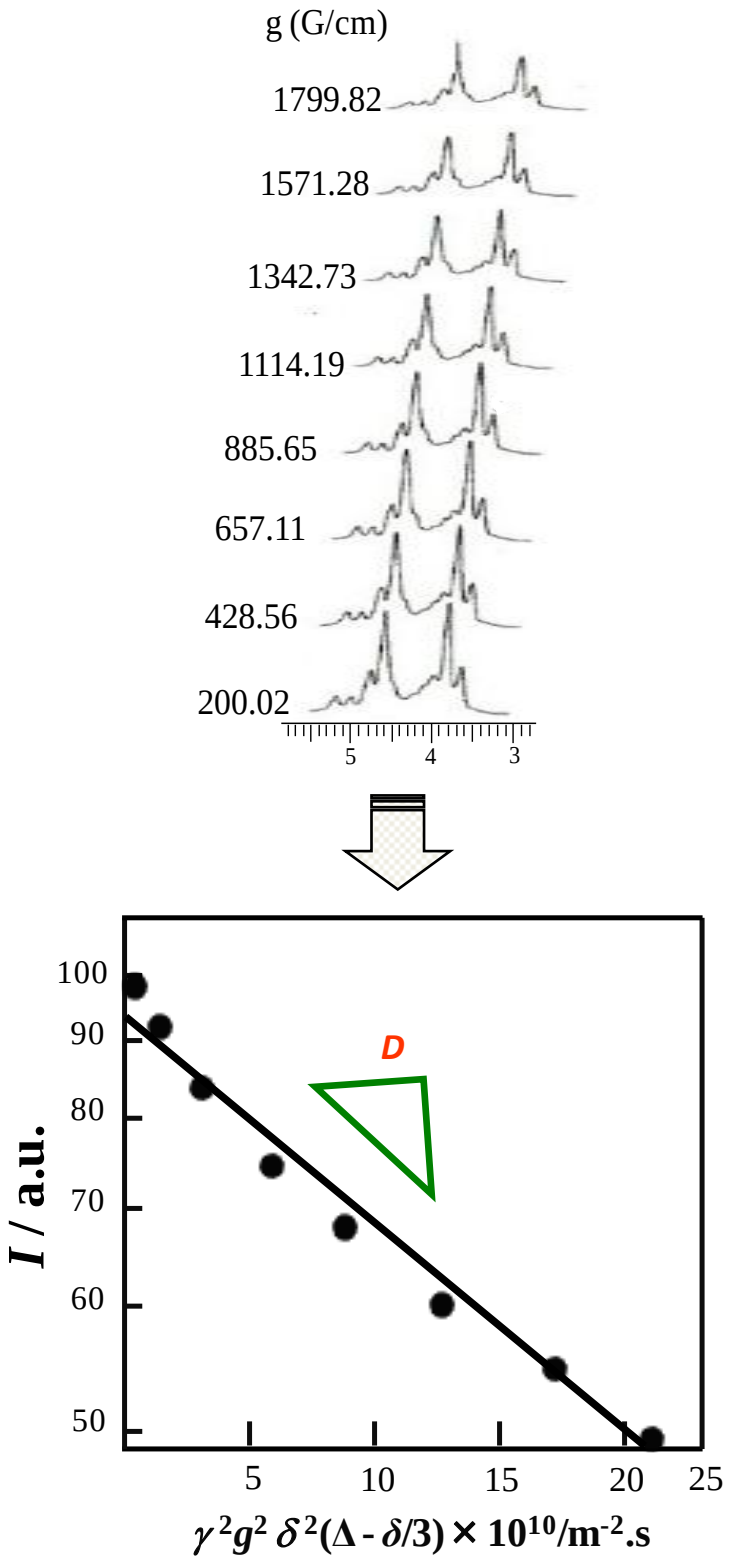


図 17　磁場勾配スペクトルからの拡散係数 *D* の算出

4－2－4　カラギーナンの信号強度と拡散係数の温度依存性

図 18 に冷却過程における 2%カラギーナン水溶液の信号強度 I_0（図 18(a)）および拡散係数 D（図 18(b)）の結果を示す。

図 18(a)の I_0 は、温度低下に伴い減少している。単独の κ タイプと ι タイプの信号強度変化に着目すると 35℃付近と 50℃付近において信号強度が急激な低下を見せた。NMR の信号強度の減少は、T_2 緩和時間が短く、運動性の低い成分を表す。よって、κ タイプと ι タイプのそれぞれが 35℃付近と 50℃付近で運動性の低い高次構造を形成していると考えられる。混合タイプにおいては、50℃から 35℃付近において I_0 が 2 段階に減少している。1 段目の|G*|増加に対応する 50℃から 40℃の間に I_0 が 70～60%程度に低下し、さらに 2 段目の|G*|増加に対応する 40℃から 35℃までの間に I_0 が急激な低下を見せた。このことから、50℃付近から 40℃に ι-カラギーナン鎖の高次構造を形成し、さらに、40℃以下に降温すると κ-カラギーナン鎖も高次構造を形成すると考えられる。

図 18(b)の拡散係数 D の温度依存性であるが、すべての混合溶液において、低温で温度を下げると拡散係数が増加している。拡散係数の上昇は溶解している成分の平均分子量が低下したことを表している。よって、相対的高分子量のカラギーナン鎖が高次構造に取り込まれ、低分子量のものは低温でも溶解していると考えられる。また、ι タイプの拡散係数は κ タイプより高い。これは ι タイプの平均分子量は κ タイプより小さいため、拡散係数が高いと考えられる。

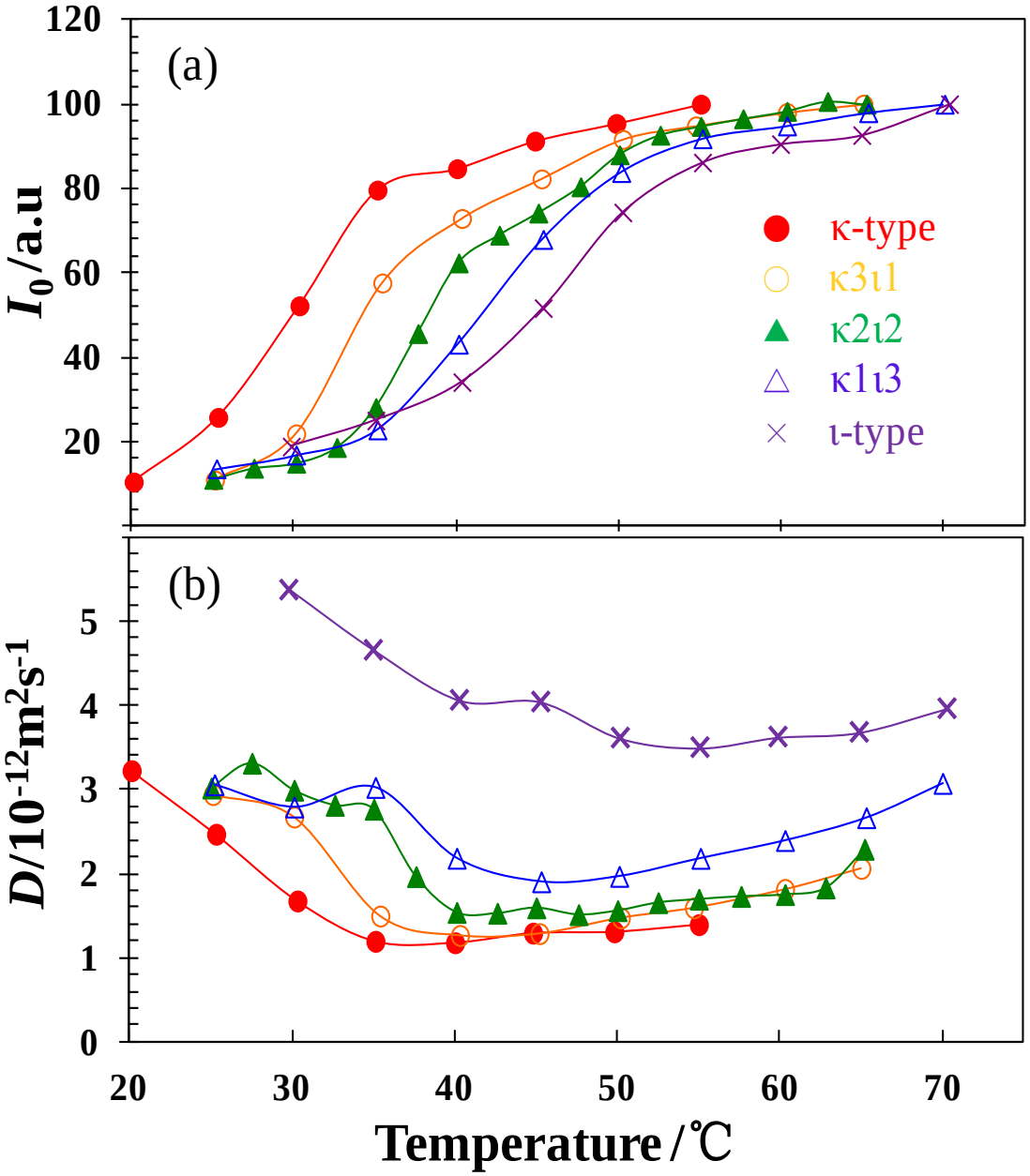


図 18　冷却過程における 2%カラギーナン水溶液の信号強度 I_0 及び拡散係数 D の温度依存性

4－2－5　カラギーナン水溶液の水の観測 ^{1}HT_2 緩和時間の温度依存性

図 19 にはカラギーナン混合試料について広幅 NMR による水の ^{1}HT_2 緩和時間の測定を行った結果を示した。観測される見かけの水 ^{1}HT_2 緩和時間は多糖鎖上の OH 基の ^{1}H と化学交換を介して糖鎖の運動性の変化を反映する。すなわち、糖鎖の運動性が抑制されて糖鎖上の OH 基の ^{1}H の緩和時間が短くなると、見かけの水の ^{1}HT_2 の緩和時間は減少する。

ι タイプにおいては 50℃付近の高次構造形成に伴う ^{1}HT_2 の緩和時間変化は小さいのに対して、κ タイプにおいては 35℃付近において大きく減少している。高次構造形成による運動性の抑制が、κ- カラギーナン鎖においては非常に大きいのに対して ι- カラギーナン鎖においてはあまり大きくないと考えられる。混合試料について見てみると、|G*| 増加とカラギーナン鎖の I_0 の減少が見られた 40℃付近において ^{1}HT_2 の緩和時間の急激な減少が見られる。これは、κ- カラギーナン鎖が運動性の極端に低い高次構造を形成していることに対応していると考えられる。

低温で温度を下げると、^{1}HT_2 の緩和時間が少し上昇した。これは、温度を下げると分子運動性が低下するが、カラギーナン鎖同士の凝集構造が大きくなり、交換できる OH 基の数が減るので、^{1}HT_2 の緩和時間が長くなったと考えられる。

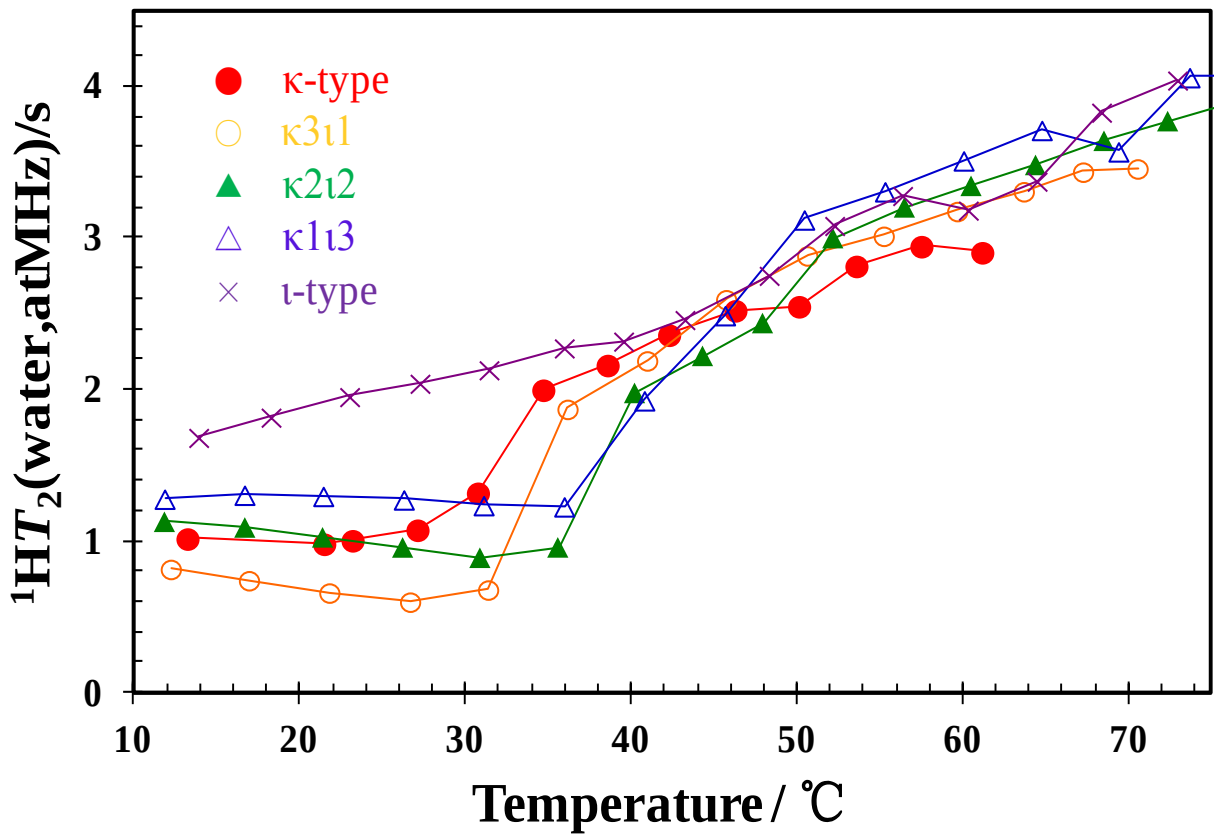


図 19　冷却過程における 2%カラギーナン水溶液
T_2 緩和時間の温度依存性

第 5 章　カチオン濃度の等しい κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系

5－1 実験方法

5－1－1 試料調製

2 種カラギーナンマスター試料溶液にカラギーナン濃度が 2%になるようにイオン交換水を加え、95℃で 30 分加熱溶解し、予め調製しておいた各カチオン水溶液を加え、95℃で 30 分加熱溶解した。混合系においては、混合した後、更に 95℃で 5 分間加熱撹拌し、それぞれの混合比（表記）は κ:ι ＝ 4:0 (κ), 3:1 (κ3ι1), 2:2 (κ2ι2), 1:3 (κ1ι3), 0:4 (ι) とした（図 20）。調製前後での試料のカチオン濃度を表 3 に示す。

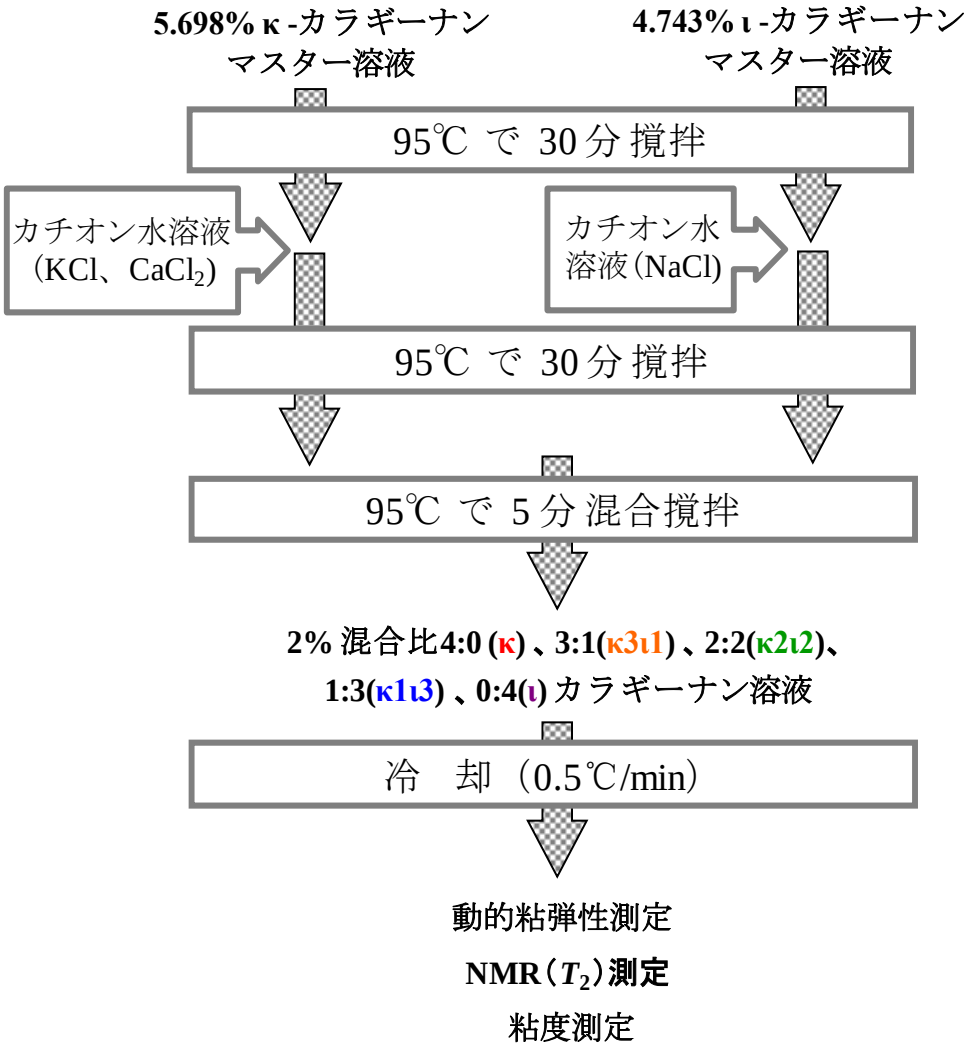


図 20　2%カラギーナン水溶液とゲル試料調製のフローチャート

表 3　カチオンを添加する前後での各種カラギーナンに含まれるカチオン濃度

	元来含まれる試料のイオン濃度(mM)			イオン濃度を同様にした試料(mM)		
	Na	**K**	**Ca**	**Na**	**K**	**Ca**
κ-type	**19.1**	**27.1**	**2.1**	**19.1**	**61.5**	**4.9**
κ3ι1	**15.1**	**35.7**	**2.8**	**19.1**	**61.5**	**4.9**
κ2ι2	**11.0**	**44.3**	**3.5**	**19.1**	**61.5**	**4.9**
κ1ι3	**7.0**	**52.9**	**4.2**	**19.1**	**61.5**	**4.9**
ι-type	**3.0**	**61.5**	**4.9**	**19.1**	**61.5**	**4.9**

5－1－2 測定方法

動的粘弾性測定は HAAKE MARS Ⅱ Rheometer、を用い、周波数 1Hz、0.5℃/min で 85 ~ 20℃降温させて測定した。

^{1}HT_2緩和時間測定は汎用型卓上 NMR Maran Ultra (Oxford Instruments) を用い、約 0.5℃/min で 85 ~ 15℃降温させ測定した（図 13）。測定パラメータは表 2 に従う。^{1}HT_2緩和時間の測定には、CMPG 法を用いた。図 7 に CPMG 法にパルスシーケンスを示す。

粘度測定は VISCOMATE 粘度計(VM-1G-L,(株)山一電機)を用いた。^{1}HT_2緩和時間測定も同時に行った。装置の仕組みは図 20 に示した。

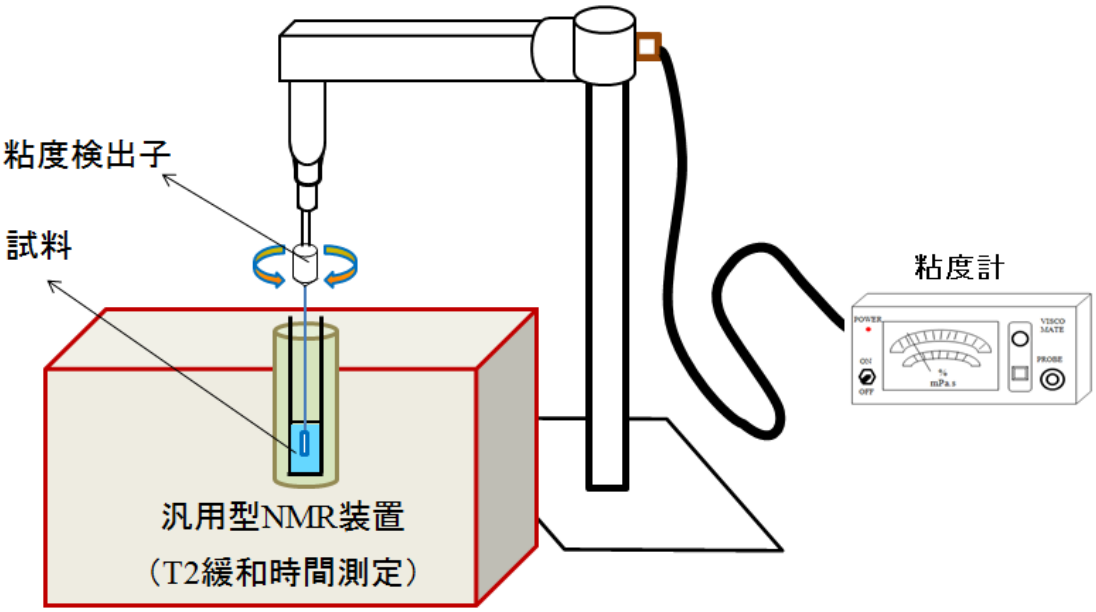


図 20　粘度測定と ^{1}HT$_2$緩和時間測定装置の仕組み

5－2 結果・考察

5－2－1　動的粘弾性の温度依存性

カチオン濃度の等しいカラギーナンの動的粘弾性測定結果を図 21 に示している。ι タイプにおいては、55℃付近で|G*|が急増するが、その後|G*|はあまり大きくならないのに対して、κ タイプは 45℃付近で急激に増加し、ι タイプより遥かに大きな|G*|となった。このことから、単独 κ タイプと ι タイプはそれぞれにゲル化点付近で網目構造を形成すると考えられる。κ2ι2 混合試料において、55℃付近から 40℃付近にかけて、二段階に増加している。しかし、二段目の増加の温度が単独の κ タイプより低い温度であった。これは、カチオン添加により強い網目を作り、ι-カラギーナン鎖は先に網目に取り込まれたため、低い温度では混合溶液の濃度が薄くなるので、二段目の増加の温度は κ タイプより低い温度であった。

しかし、κ3ι1、κ1ι3 の|G*|が高い温度で急増することに関しては、さらに検討する必要がある。

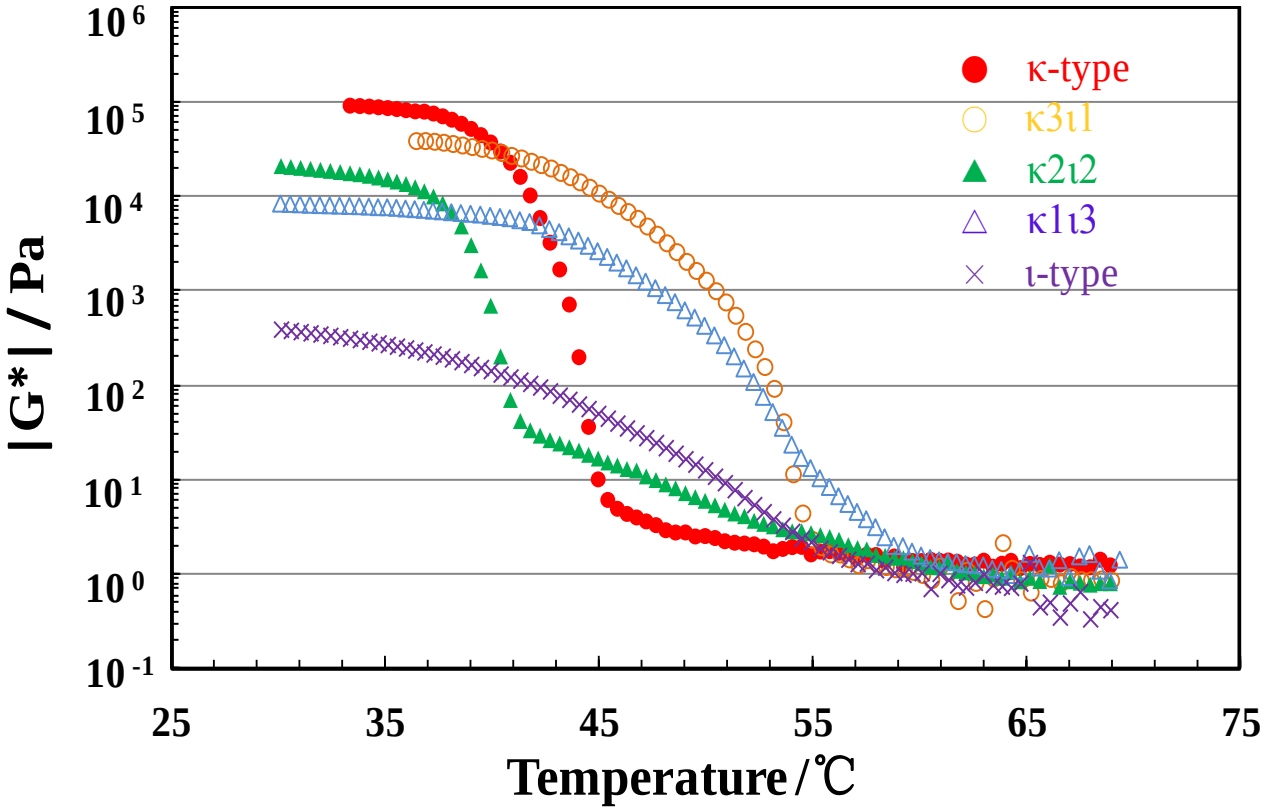


図 21　カチオン濃度の等しい 2%カラギーナンの動的粘弾性の温度依存性

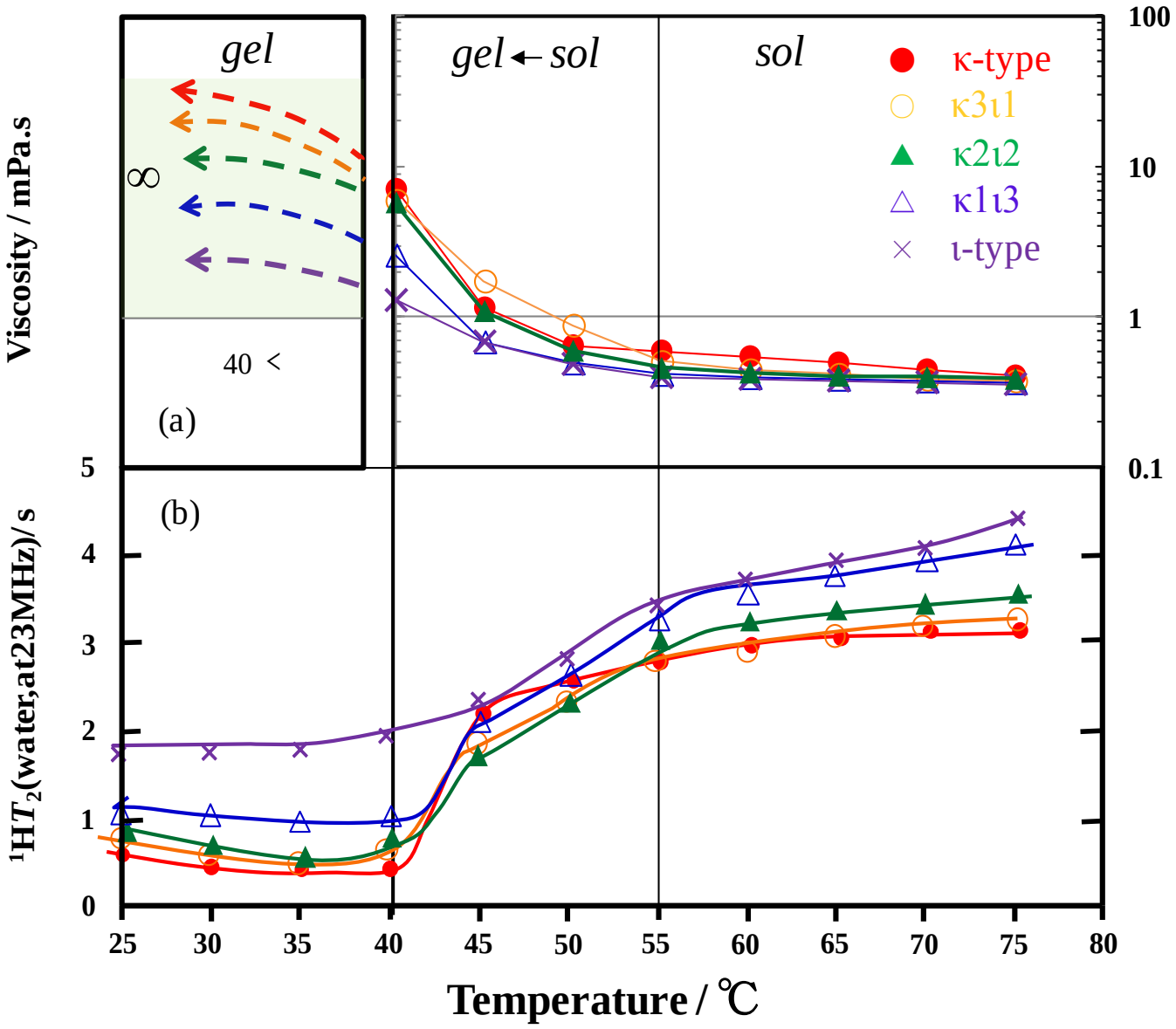
5－2－2　カラギーナン水溶液の水の観測 ^{1}HT_2 緩和時間と粘度の温度依存性

図 22 は冷却過程における 5 種の 2%のカラギーナン水溶液の水の観測 ^{1}HT_2 緩和時間(a)と粘度(b)の結果である。

カチオン濃度を一定に調整した ι タイプは、カチオン無添加の場合より高い温度（55℃付近）で水の ^{1}HT_2 緩和時間の急激な変化が見られているが、その変化は小さい。それに対して、κ タイプは 45℃付近において非常に大きく減少している。これはカチオン濃度一定の場合でも、高次構造形成による運動性の抑制が、κ- カラギーナン鎖においては非常に大きいのに対して ι- カラギーナン鎖においてはあまり大きくないと考えられる。つまり、ι タイプのランダムコイルと秩序構造における高分子鎖の運動性の変化が κ タイプに比べて小さいためである。混合試料について見てみると、55℃から 40℃付近において ^{1}HT_2 緩和時間が 2 段階で減少している。55℃から 45℃付近においては、ι- カラギーナン鎖が徐々に網目構造を形成し、さらに、45℃付近で κ-カラギーナン鎖が網目構造を形成すると考えられる。粘度測定と同様の結果を得られ、混合比が大きくなるにつれて粘度が増加した。全ての粘度の増加は 55℃付近であり、粘度は ι タイプの混合比が大きくなるほど大きくなる。

以上より、カチオン添加により強い網目を作り、ゲル化温度はカチオン添加前と比べて上昇したが、各混合溶液では同様な運動性変化が見られないことがわかった。

この結果と第 4 章の結果より、混合タイプにおいては、カチオンの存在がカラギーナン鎖の高次構造形成を助長するのではなく、ι-カラギーナン鎖の存在が κ-カラギーナン鎖の高次構造形成を助長し、ゲル化温度が高くなると考えられる。



22　冷却過程における 2%カラギーナン水溶液の粘度(a)と
^{1}HT_2 緩和時間(b)との温度依存性

第 6 章　総括

本研究では、κ-カラギーナン、ι-カラギーナンの混合系についてゲル物性とゲル化機構の解明を行った。

1. カチオン濃度の異なる κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系において

動的粘弾性測定では、κ タイプは低温で強固な高次構造を形成するのに対して、ι タイプは高温で高次構造が形成されるものの、構造が緩い。混合試料中において、ι-カラギーナン鎖が高温から徐々に網目構造を形成し、降温すると κ-カラギーナン鎖が網目構造を形成すると考えた。また、混合タイプ 2 段階目の増加の温度は単独 κ タイプよりも高い温度であった。これは、ι-カラギーナン鎖の存在が κ-カラギーナン鎖の高次構造形成を促進しているためであった。

磁場勾配 NMR の結果では、κ タイプと ι タイプにおいて、それぞれのゲル化点付近で信号強度（I_0）が減少し、運動性の低い高次構造を形成する。混合タイプにおいては、高温で ι-カラギーナン鎖が高次構造を形成し、さらに、降温すると κ-カラギーナン鎖も高次構造を形成すると考えられた。また、全てのカラギーナン溶液において、低温でさらに温度を下げると拡散係数が増加している。これは、相対的高分子量のカラギーナン鎖が高次構造に取り込まれ、低分子量のものは低温でも溶解しているためであった。さらに、ι タイプの平均分子量は κ タイプより小さいため、ι タイプの混合比が増大すると共に拡散係数が高くなった。

ι タイプにおいては 50℃付近の高次構造形成に伴う $^1\mathrm{H}T_2$ の緩和時間変化は小さいのに対して、κ タイプにおいては 35℃付近において大きく減少している。これは、高次構造形成による運動性の抑制が、κ- カラギーナン鎖においては非常に大きいのに対して ι- カラギーナン鎖においてはあまり大きくないためであると考えた。混合試料において、ι タイプの混合比が小さくなると $^1\mathrm{H}T_2$ の緩和時間が急激に減少する温度は低温にシフトした。このことは、κ- カラギーナン鎖が運動性の極端に低い高次構造を形成していることに対応しているためであると考えられた。これは κ タイプの強度が高い硬いゲルを形成するのに対して、ι タイプが柔軟なゲルを形成することに対応している。この結果は圧縮応力測定で得られた、ι タイプの混合比が大きくなるとヤング率と破断エネルギーが減少し、柔軟なゲルを形成する結果と一致した。

2. カチオン濃度の等しい κ-カラギーナンと ι-カラギーナンの混合系において

動的粘弾性測定では、κ タイプと ι タイプそれぞれカチオン添加前と比べて、高いゲル化温度(45℃、55℃)付近で網目構造を形成した。κ2ι2 混合試料において、55℃付近から 40℃付近にかけて、二段階に増加している。しかし、二段目の増加の温度が単独の κ タイプより低い温度であった。これは、カチオン添加により ι-カラギーナン鎖は強い網目を作り、先に網目に取り込まれたため、低い温度では混合溶液の濃度が薄くなるので、二段目の増加の温度は κ タイプより低い温度であると考えた。しかし、κ3ι1、κ1ι3 の|G*|が高い温度で急増することに関しては、さらに検討する必要がある。

ι タイプにおいては 55℃付近の高次構造形成に伴う $^{1}\mathrm{H}T_2$ 緩和時間の変化は小さいのに対して、κ タイプにおいては 45℃付近において大きく減少した。これは ι タイプのランダムコイルと秩序構造における高分子鎖の運動性の変化が、κ タイプに比べて小さいためである。混合タイプについては 55℃から 45℃付近において $^{1}\mathrm{H}T_2$ 緩和時間が 2 段階で減少した。55℃から 45℃付近においては、ι- カラギーナン鎖が徐々に網目構造を形成し、さらに、45℃付近で κ-カラギーナン鎖が網目構造を形成すると考えられた。粘度測定でも $^{1}\mathrm{H}T_2$ 緩和時間と同様な結果を得られ、ι タイプの混合比が大きくなるにつれて粘度が増加した。全ての混合比において、粘度の増加は 55℃付近であった。カチオン添加により強い網目を作り、ゲル化温度はカチオン添加前と比べて上昇したが、各カラギーナン溶液では異なる運動性変化が見られた。このことから、一定のカチオン濃度の 2 種類のカラギーナンの混合溶液において、ι-カラギーナン鎖の存在が κ- カラギーナン鎖に影響していると考えられる。

今後の課題として、混合系では κ 及び ι カラギーナン、またカチオンによる相互作用がどのような影響を与えるかは検討する必要がある。

謝辞

本研究の遂行に当たり、終始暖かい御指導・御助言を頂きました食機能保全科学専攻食品物性学研究分野の小川廣男教授、松川真吾准教授に心から感謝致します。

研究活動全般におきまして、多くの面で御指導・御助言を頂きました同専攻食品物性学研究分野田代有里助教に心から感謝致します。

ご多忙の中、修士論文の審査をしていただいた、食品冷凍学研究分野の鈴木徹教授に心から感謝致します。

松川真吾先生を紹介して頂いた大阪市立大学の西成勝好先生と中国福州大学饒平凡先生に心から感謝致します。

また、研究生活の支えとなって頂き、心遣いと協力をして頂き、素晴らしい時間を共有させて頂いた食品物性学研究室の皆様に心から感謝致します。

最後に、母国にいる母親、叔母など親戚の支えに深く感謝致します。

参考文献

1) A-S. Michel, M.M. Mestdagh, M.A.V. Axelos, (1997). Physico-chemical properties of carrageenan gels in presence of various cations. I*nternational Journal of Biological Macromolecules*, 21, 195-200

2) A. Parker, G. Brigand, C. Miniou, A.Trespoey & P. Vallee (1993) Rheology and fracture of mixed ι- and κ- carrageenan gels: Two-step gelation *Carbohydrate Polymers*, 20, 253-262

3) Burstein, D. (1996). Stimulated echoes: Description, applications, practical hints. *Concepts in Magnetic Resonance.* 8, 269-278

4) Carr, R. L., Purcell, E. M. (1954). Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review.* 94, 630-638

5) E. Tojo, J. Prado, (2003) A simple ^{1}H NMR method for the quantification of carrageenans in blends. *Carbohydrate Polymers*, 53, 325-329

6) G. V. S. Henderson, Jr., D. O. Campbell, V. Kuzmicz, L. H. Sperling, Gelatin as a physically cross-linked elastomer, *Journal of Chemical Education*, 62, 269-270 (1985)

7) M.R. Mangione, D. Giacomazza, D. Bulone, V. Martorana, G. Cavallaro, P.L. San Biagio. (2005). $K^{+}$and Na^{+} effects on the gelation properties of κ- carrageenan. *Biophysical Chemistry* 113, 129-135

8) Marina Ciancia, Michel Milas, Marguerite Rinaudo (1997). On the specific role of coions and counterions on κ-carrageenan conformation. I*nternational Journal of Biological Macromolecules*, 20, 35-41

9) Matsukawa, S., Ando, I. (1996). A study of Self-Diffusion of Molecules in Polymer Gel by Pulsed-Gradient Spin-Echo ^{1}H NMR, *Macromolecules*, 29, 7136-7140

10) Matsukawa, S. (2010). Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures (ed. Hollingworth, C. S.). New York, Nova Science Pub, Inc, Ch. 5, pp. 145-178

11) Morris, V. J., & Chilvers, G. R. (1981). Rheological studies on specific ion forms of ι-carrageenate gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32, 1235-1241

12) M.J. Ridout, S. Garza, G.J. Brownsey, V.J. Morris (1996) Mixed iota – kappa carrageenan gels. I*nternational Journal of Biological Macromolecules* 18 (1996) 5-8

13) Qiuhua. Zhao., (2012). Diffusion on probe polymer in κ-carrageenan solutions during gelation process studied by gradient NMR. *PhD Thesis, Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo*

14) Rees, D. A. (1969). Structure, conformational, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. *Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry*, 24, 267-332

15) Ress, D. A. & Welsh, E. j. (1977). Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels. *Angewandte Chemie International Editio*n, 16, 214-224

16) Rochas, C., & Rinaudo, M., (1980). Activity coefficients of counterions and conformation in Kappa-carrageenan systems. *Biopolymers*, 19, 1675-1687

17) Rinaudo, M. & Rochas, C., (1981). Investigations on aqueous solution properties of κ-carrageenans. *ACS Symposium Series*, 150, 367-378

18) Roberts, M. A., Quemener, B. (1999). Measurements of carrageenans in food: challenges, progress, and trends in analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 169-181

19) Slootmakers, D., Van Dijk, J. A. P. P., Varkevisser, F. A., Van Treslong, C. J. B., Reynaers, H. (1991). Molecular characterization of κ- and λ- Carrageenan by gel permeation chromatography, light scattering, sedimentation analysis and osmometry. *Biophysical Chemistry*, 41, 51-59

20) T.R. Thrimawithana, S. Young, D.E. Dunstan, R.G. Alany (2010) Texture and rheological characterization of Kappa and iota carrageenan in the presence of counter ions. *Carbohydrate Polymers*, 82, 69-77

21) Takahiro Funami, Mika Hiroe, Sakie Noda, Iwao Asai, Shinya Ikeda, Katsuyoshi Nishinari (2007) Influence of molecular structure imaged with atomic force microscopy on the rheological behavior of carrageenan aqueous systems in the presence or absence of cations. *Food Hydrocolloids*, 21, 617-629

22) Tanner, J. E. (1970). Use of stimulated echo in NMR diffusion studies. *Journal of Chemical Physics*, 52, 2523-2526

23) V.M.F.LAI, P.A.-L.WONG AND C.-Y.LII (2000) Effects of Cation properties on Sol-gel Transition and Gel Properties of κ-carrageenan. *Journal of food science*. 65(8), 1332-1337

24) Zhang, Q., Matsukawa, S., Watanabe, T. (2004) Theoretical analysis of water ^{1}H T_2 based on chemical exchange and polysaccharide mobility during gelation, *Food Hydrocolloids*, 18, 441-449

25) 松川真吾、張秋瑾、阿部絹子、渡部友理、渡部徳子(2003）NMR 緩和時間および拡散係数測定による生体高分子水溶液の構造とダイナミックスの解明 *高分子論文集(Kobunshi Ronbunshu)*, 60(6), 269-279

26) 松川真吾 ゲル状食品中の水の動的挙動の広幅 NMR による計測(2011) *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* Vol. 58, No. 10, 511-516

27) 松川真吾（2008）ゲル中の分子拡散 *foods & food ingredients journal of Japan,* 213, 443-451

28) 新庄礼佳、松川真吾（2012）混合ジェランガム系におけるゲルの物性評価とゲル化機構の解明 *foods & food ingredients journal of japan,* 217, 170-176

29) 磯直道、水野治夫、小川廣男　食品のレオロジー　－食の物性評価－　成山堂書店(1998) pp.5-7, 71-73

30) 国崎直道、佐野征男（2001）食品多糖類 乳化・ゲル化の知識　幸書房 pp.154-167

31) 中浜精一他（1988）エッセンシャル 高分子科学　講談社サイエンティフィック pp.218-219

32) 安藤喬志、宗宮創（2007)「これならわかる NMR」、化学同人、第 12 刷 pp.4-7

33) 竹内敬人、角屋和水、加藤敏代（2007）初歩から学ぶ NMR の基礎と応用 朝倉書店 pp.13-17

34) T. D. W クラリッジ（2004）竹内敬人、西川実希　訳　有機化学者のための高分解能 NMR テクニック　講談社 pp. 375-376

35) 長田義仁、梶原莞爾（1997）「ゲルハンドブック」 株式会社エヌ・ティー・エス、第 1 刷 pp.137-138