

東海大学大学院平成 29 年度博士論文

磁場勾配 NMR 法と誘電分光法による  
分子の動的構造解析に関する研究

指導教員 八木原 晋 教授

副指導教員 喜多 理王 教授

東海大学大学院 総合理工学研究科

総合理工学専攻

川口 翼

# はじめに

これまでの測定技術の発展は数多くの分子構造をより容易に決定することを可能にしてきた。NMR では核に対する電子雲の遮蔽効果を観測することで官能基ごとに NMR 信号を得ることができ、セットアップを工夫することで官能基のつながりも決定できる。結晶構造をとる試料であれば、X 線散乱等を活用することでたんぱく質のような巨大分子であってもその構造を決定することができる。結晶構造を取らないような物質であっても、電子顕微鏡を用いることでナノメートルオーダーの構造を観測することもできる。さらに今日では、原子間力顕微鏡を用いれば一つ一つの分子を実際に”観る”ことができるようになった。

ここまで述べた分子構造とは、”静的”な分子構造のことを指す。絶対零度を除けば分子は常に回転、並進、振動運動を行っており、必ずしも静的な構造が分子の特性を反映するわけではない。このように、分子の動的な特性を含めた分子構造を特に”動的”構造と呼ぶ。例えば、たんぱく質の結晶構造を X 線散乱から知ることができるが、この構造が実際に生体内で機能しているたんぱく質と同一であるとは言い切れない。一方で、水の様な小さな分子の構造は昔からよく知られているが、分子構造からは水の様々な特異な性質を説明することはできない。数多くの水分子が形成する動的な凝集構造を知ることがマクロな水の物性を知る唯一の鍵である。近年の研究は静的構造の段階を超え、動的構造の解明へとパラダイムシフトを行っている最中であるといえる。

動的構造を決定する際の難しさを決めるのは分子の空間スケール、時間スケールの幅広さである。例えば、水分子は水素結合によりネットワーク構造を作るが、この動的構造は 8ps 程度で生成消滅を繰り返しており、それより長い時間スケールで観測を行なっても平均化された静的な構造しか得ることができない。一方で、分子の大きさは Å スケールであり、背景とする理論や測定手法の工夫によってこの空間分解能を達成する必要がある。以上のことから、動的構造を論ずる際には時空間スケールを考えることが必要不可欠である。

水のように単純な単位構造が集まって協同的に振る舞うことで、一つの単位構造からは予測し得ないような効果や特性を示す系のことを一般に複雑系と呼ぶ。複雑系を特徴づけるためには既存の数学に加え、カオスやフラクタルと言った新しい数学概念の利用が不可欠となる。フラクタルとは幾何学的特徴の階層構造性のことであり、この概念を応用することで分子の動的構造の空間的・時間的な階層構造性をも取り入れた議論を行うことができる。複雑系、カオス、フラクタルはそれぞれ厳密には異なる概念を指し示す言葉ではあるが、動的構造について論じるためにはそれぞれの概念を複合的に取り入れていく必要がある。

以上のことから、分子の動的構造解析のためには幅広い時空間スケールを持った測定手法を用いた観測を行なう必要がある。本研究では異なる測定装置を相補的に用いることで、分子が作る動的構造が時空間スケールに依存してどのように観測されるか詳細に調べた。空間スケールの異

なる構造を有する系としてゲル、分散系、低分子量分子液体を採用した。時間スケールの異なる測定手法として誘電分光法と磁場勾配 NMR 法を用い、それぞれの手法から得られた結果を相補的に解析することで、異なる時空間スケールにおける分子ダイナミクスを関連付けることができた。本論文の構成は以下の通りである。

第 1 章では研究の背景と目的について、基礎的な事項を交えて問題点を抽出した。

第 2 章ではそれぞれの測定手法の原理や特徴について詳細に述べた。

第 3 章では生体膜構造が水分子ダイナミクスに及ぼす影響を調べるため、細胞膜のモデルとして用いられているリポソーム/水分散液を調製し、磁場勾配 NMR 法を用いた系統的な測定を行なった結果について述べる。

第 4 章では食品ゲル中の水分子ダイナミクスについて論じるため、誘電分光法と磁場勾配 NMR 法を用いて水分子の回転/並進ダイナミクスを解析した結果を示す。また、それぞれの測定手法における結果を相補的に解析し、ゲルの空間構造と水分子のダイナミクスの関係を明確に論じた。

第 5 章では水、1 価アルコール、2 価アルコール、3 価アルコール、エチレングリコールオリゴマー、及びいくつかの非水素結合性有機溶媒の誘電緩和時間と拡散係数を測定し、分子の回転を反映する誘電緩和時間と、分子の並進を反映する拡散係数の関係を整理した結果を示す。

第 6 章では本研究の総括を述べ、得られた知見を纏めた。

# 目次

第 1 章	序論	5
1.1	ソフトマターの特徴づけ	5
1.2	誘電分光と異常緩和	6
1.2.1	広帯域誘電分光法	6
1.2.2	異常緩和	8
1.2.3	フラクタル	9
1.3	核磁気共鳴分光法	11
1.3.1	磁気共鳴の黎明期	11
1.3.2	フーリエ変換 NMR の発展	14
1.3.3	NMR を用いたダイナミクス解析	15
1.4	研究目的	15
第 2 章	実験原理と手法	23
2.1	誘電分光法	23
2.1.1	時間域測定と周波数域測定	23
2.1.2	Time Domain Reflectometry (TDR) 法	24
2.1.3	VNA	25
2.2	核磁気共鳴分光法	26
2.2.1	PGF-NMR 法	27
第 3 章	リポソーム/水分散液における水分子ダイナミクス	37
3.1	背景	37
3.2	実験	38
3.2.1	サンプル調製	38
3.2.2	PGF-NMR 法測定	39
3.3	結果と考察	39
3.3.1	二成分解析	39
3.3.2	制限拡散	40
3.3.3	温度依存性と相転移	41
3.4	まとめ	42

目次	4
第 4 章 食品ゲル中の水分子ダイナミクス	49
4.1 背景	49
4.2 実験	51
4.2.1 サンプル調製	51
4.2.2 PFG-NMR 法	51
4.2.3 誘電分光法	52
4.3 結果と考察	53
4.3.1 拡散係数	53
4.3.2 誘電緩和	54
4.3.3 相補的解析	56
4.4 まとめ	57
第 5 章 様々な低分子液体の分子回転/並進ダイナミクス解析	69
5.1 背景	69
5.2 実験	71
5.2.1 サンプル調製	71
5.2.2 誘電緩和測定	72
5.2.3 PFG-NMR 測定	72
5.3 結果と考察	73
5.3.1 誘電緩和曲線解析	73
5.3.2 PFG-NMR 解析	74
5.3.3 $D$ - $\eta$ の関係	74
5.3.4 誘電緩和時間と拡散係数の関係	75
5.4 まとめ	77
第 6 章 まとめ	92
研究業績	96
謝辞	104

# 第 1 章

## 序論

### 1.1 ソフトマターの特徴づけ

一般に物質の三態と言えば気体・液体・固体を指し、多くの物質は温度や圧力に応じて異なる様態へと相転移をすることが知られている。約 200 年前にはボイル=シャルルの法則やファンデルワールスの状態方程式は気体分子のダイナミクスを正確に記述することに成功している。また、固体の結晶構造や振動モードに関する研究はブラッグ父子の貢献による X 線回折やフォノン散乱によって観測され、定量的な評価を行うことができる。X 線回折はたんぱく質のような巨大分子でさえその立体構造を決定することが可能であるし、気体分子運動論は熱機関の原理的説明や熱・統計力学に必要不可欠であった。一方で、後述する理由により液体に関する研究は後回しにされてきた。一つには液体は固体にはない回転や並進と行った運動モードを持ち、その運動モードは物質の種類や温度条件などに応じて数フェムト秒から数年といった幅広い特性時間を持つため、これらのダイナミクスを正確に観測することが難しいことが挙げられる。もう一つの理由は、液体分子は水素結合などの様々な分子間相互作用が強く影響を及ぼしあうことで成り立っているため、気体分子に比べ複雑な理論を必要とすることである。

近年の物性物理学においては、固体でも気体でもない物質について研究する分野をソフトマター物理学と呼ぶ。ソフトマター物理学の研究対象は液体、高分子、ガラス、コロイド、液晶、ゲル、生体など広範に渡っている。換言すれば、我々の生活圏に存在し、利用している物質のほとんどはソフトマターであると言え、それらの物質の物性を熟知することは重要性は想像に難くない。ソフトマターの物性はエントロピーやエンタルピーなどの熱力学的パラメータや、粘弾性などの力学的パラメータ、ゼータ電位や誘電率などの電気的パラメータなどによって特徴づけられる。こういった物性値は観測時間域、或いは観測周波数域に依存している。例えば、25℃における純水の誘電率は 78<sup>[1]</sup> であるが、1GHz を超えると急激に減少することが知られている。従って、時間域を考慮せずに水の誘電率を特徴づけることは出来ず、その背景となっている水分子のダイナミ

クスについて記述することもできない。

ガラスなども時間域を検討する必要がある良い例だろう。我々の常識的な時間域においてガラスは衝撃を加えるとあたかも固体であるかのように割れることから、直感的には振動以外の分子運動は存在していない様に思われる。実際にはガラスは結晶構造を取っていないため、液体の一状態にすぎない。しかしながら、その分子運動の特性時間は数年～数十年、或いはそれ以上であるため我々には停止しているようにしか見えない。Edgeworth らによって行われているピッチドロップ実験はピッチのような極めて粘性の高い物質が、それでもなお液体のように流れていることを明確に示している [2]。

以上のことからソフトマターの特徴づけには本質的に幅広い時空間スケールが必要であり、こういった分子ダイナミクスがその物質のマクロな物性を決定していると考えられる。さらに一般的な表現をすれば、分子の静的な構造と分子ダイナミクスが作り出す”動的構造”について適切な時間域で議論することで初めてソフトマターの物性を理解することができる。一つ一つの構造単位は単純でも、多くの単位が寄り集まることで複雑な特性・効果を発揮するような系を複雑系と呼ぶ。水もまた複雑系であると言え、静的な構造が極めて単純な水分子が集まることで特異的な特性を示すが、複雑系の特徴づけには既存の数学では不十分であり、カオスやフラクタルといった比較的新しい数学を用いる必要がある。

複雑系科学やソフトマター物理学は未だ発展途上であり、様々な課題が残されている。その理論の一部は液晶や高分子化学に実際に応用されているが、ガラスの運動性を正確に記述するモデルは未だ存在しないし、粉体におけるジャミング転移 [3] や記憶効果 [4] についても十分な解釈がなされていないことが多い。さらに言えば我々にとって最も身近な物質である水の様々な異常な特性、例えば 4°C で密度の極大値を持つ理由すら正確にはわかっていない。以上の様に、ソフトマターの物性の分子論的解明には明らかに分子複雑系の動的構造からの観点が必要であり、それ無しには物理的描像を得ることはできない。今後、より幅広い時空間スケールに渡る詳細な観測を行い、カオス・フラクタルなどの新しい数学概念を用いた解析によって初めてソフトマターの特徴づけが行えるだろう。

## 1.2 誘電分光と異常緩和

### 1.2.1 広帯域誘電分光法

誘電分光法は試料に交流電場を印加することで、分子の双極子モーメントに応じた分極をもたらす応答関数としての複素誘電率の周波数依存性を観測する手法である。誘電分光法の最も有利な特徴はその観測窓の広さであり、 $\mu\text{Hz}$  から  $\text{THz}$  までの複素誘電率測定の結果が報告されてい

る [5-8]。当研究グループでも複数の装置をつなぎ合わせることで  $1\mu\text{Hz}$  から  $50\text{GHz}$  までの観測域を達成している。

双極子モーメントを持つ分子に交流電場を印加すると、分子運動の特性周波数よりも低い周波数域では分子は電場の時間変化に完全に応答することができ、配向分極の大きさに応じた誘電率が観測される。同手法はその広帯域性から広帯域誘電分光法 (Broadband Dielectric Spectroscopy: BDS) とも呼ばれる。しかし、交流の周波数が特性周波数に近づき、追い越していく過程で分子は交流電場に追従できなくなるため観測される誘電率は低下していく。この過程を誘電緩和現象と呼び、複素誘電率の実数部を誘電率、虚数部を誘電損失とすることで特徴づけられる。

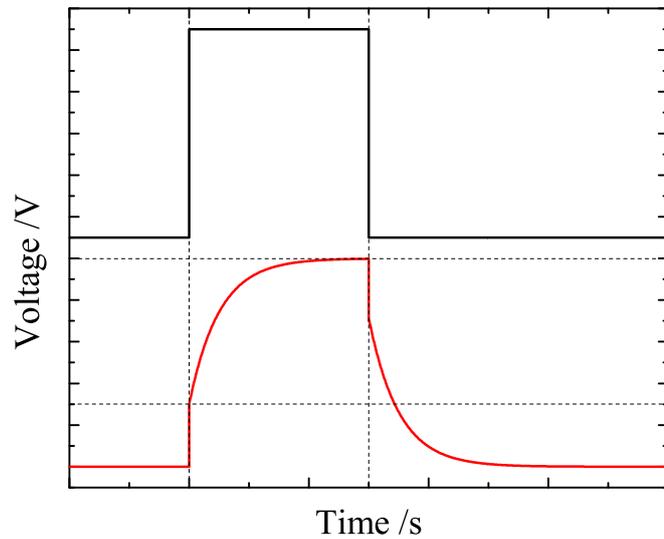


Figure 1.1 The schematic chart of step pulse response.

誘電緩和を記述する最も簡単な式として Debye の式が知られている。今、ある誘電体に図 1.1 のように理想的なステップパルス印加すると、系はある時間をおいて分極していく。この分極過程は以下の微分方程式で表すことができる。

$$\frac{dP(t)}{dt} = -\frac{1}{\tau}P(t) \quad (1.1)$$

で表すことができる。ここで  $P$  は分極、 $\tau$  は分極過程の特性時間である。この微分方程式は電場と誘電率に応じた分極の最大値を  $P_{max}$  とし、また、電子分極などによる分極は極めて早い時間域で生じるためこれを定数  $P_{\infty}$  として置くと以下のような応答関数  $\phi(t)$  が求まる。

$$\phi(t) = P_{max} \exp(-t/\tau) + P_{\infty} \quad (1.2)$$

この指数減衰関数の振幅を規格化し、直流成分である  $P_{\infty}$  を差し引いた後にラプラス変換するこ

とで周波数域の複素誘電率  $\epsilon^*$  が得られる。

$$\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon'' = \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} \quad (1.3)$$

これを Debye の式と呼び、 $\epsilon'$  を誘電率、 $\epsilon''$  を誘電損失、 $\epsilon_s$  を静的誘電率、 $\epsilon_\infty$  を光学領域における誘電率、 $\omega$  を角周波数 ( $2\pi f$ ) とする。また、 $\epsilon_s$  と  $\epsilon_\infty$  の差を  $\Delta\epsilon$  で表し、緩和強度と呼ぶ。Debye の式の実数部と虚数部はそれぞれ書き下すと、

$$\epsilon' = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{1 + (\omega\tau)^2}, \quad (1.4)$$

$$\epsilon'' = \frac{\Delta\epsilon\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2}, \quad (1.5)$$

となる。

### 1.2.2 異常緩和

Debye の式は単純な式ながら誘電緩和過程を良く記述したが、過冷却液体などの研究において Debye 式で表せないような緩和過程が認められてきた。これを異常緩和或いは非指数緩和 (non-exponential relaxation) と呼ぶ。時間域における最も一般的な異常緩和を記述する式は以下に示す Kohlrausch-Williams-Watts(KWW) 式<sup>[9]</sup>である。

$$\phi(t) = \exp(-(t/\tau)^{\beta_k}), \quad (1.6)$$

ここで、 $\beta_k$  は 1 以下かつ 0 より大きい変数である。 $\beta_k$  が 1 の時は指数関数に一致する。指数関数を拡張したような特性から拡張指数関数や Stretched Exponential 関数とも呼ばれる。KWW 式は時間域において様々な緩和過程を記述するが、 $\beta_k$  が 0.5 の場合を除いて周波数域での厳密解が存在しない。その為、周波数域測定においてのみ観測される誘電緩和スペクトルを記述するために、以下に示す Cole-Cole 関数<sup>[10]</sup>が利用されてきた。

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{1 + (j\omega\tau)^\beta}. \quad (1.7)$$

ここで、 $\beta$  を緩和時間分布パラメータと定義する。他にも式 Cole-Davidson 式<sup>[11]</sup>(式 1.8) や、Cole-Cole 式と Cole-Davidson 式をより一般化した Havriliak-Negami 式<sup>[12]</sup> (式 1.9) が知られている。

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{(1 + j\omega\tau)^\alpha}, \quad (1.8)$$

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{[1 + (j\omega\tau)^\beta]^\alpha}. \quad (1.9)$$

ここで  $0 < \alpha, \beta \leq 1$  である。また、Havriliak-Negami 式の実数部、虚数部は以下のように書ける [13]。

$$\epsilon' = \epsilon_\infty + \Delta\epsilon \frac{\cos(\alpha\phi)}{\{1 + 2(\omega\tau)^\beta \sin[\pi/2(1-\beta)] + (\omega\tau)^{2\beta}\}^{\alpha/2}}, \quad (1.10)$$

$$\epsilon'' = \Delta\epsilon \frac{\sin(\alpha\phi)}{\{1 + 2(\omega\tau)^\beta \sin[\pi/2(1-\beta)] + (\omega\tau)^{2\beta}\}^{\alpha/2}}. \quad (1.11)$$

ここで、

$$\phi = \arctan \left( \frac{(\omega\tau)^\beta \cos[\pi/2(1-\beta)]}{1 + (\omega\tau)^\beta \sin[\pi/2(1-\beta)]} \right) \quad (1.12)$$

である。

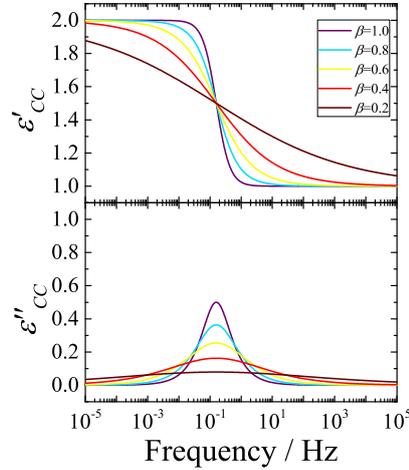


Figure 1.2 The  $\beta$  dependency of Cole-Cole relaxation curve, where,  $\tau = 1, \Delta\epsilon = 1,$  and  $\epsilon_\infty = 1$ .

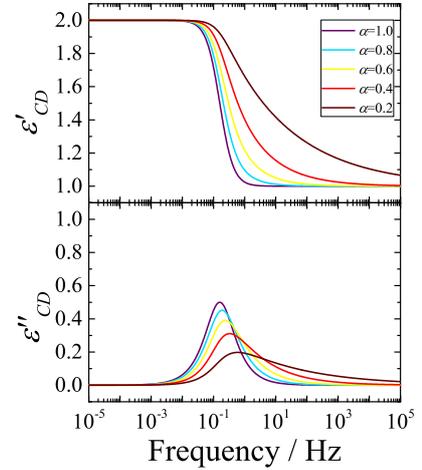


Figure 1.3 The  $\alpha$  dependency of Cole-Cole relaxation curve, where,  $\tau = 1, \Delta\epsilon = 1,$  and  $\epsilon_\infty = 1$ .

図 1.2, 1.3, に Cole-Cole 式, Cole-Davidson 式の  $\beta, \alpha$  依存性を示す。虚数部についてのみ注目すれば Cole-Cole 式の  $\beta$  は誘電緩和スペクトルを左右対称に幅広にし、Cole-Davidson 式の  $\alpha$  は非対称に幅広にする。また、KWW 式とは逆にこれらの式は時間域での厳密解をもたず、あくまで経験的に導入された関数である。また、誘電緩和過程を特徴づける関数は上に挙げたものだけではなく他の式も提案されている [14]。

### 1.2.3 フラクタル

異常緩和は過冷却液体 [15–17] や混合系 [18–20] のみならず、Glycerol [21] のような単成分でも認められる普遍的な現象である。この様な緩和過程を説明するモデルとしてフラクタル解析が期待されている。図 1.4 にシェルピンスキーのカーペットと呼ばれる典型的なフラクタル図形を示す。シェルピンスキーのカーペットは正方形を各辺がもとの長さの  $1/3$  の長さになるような、9 つにの

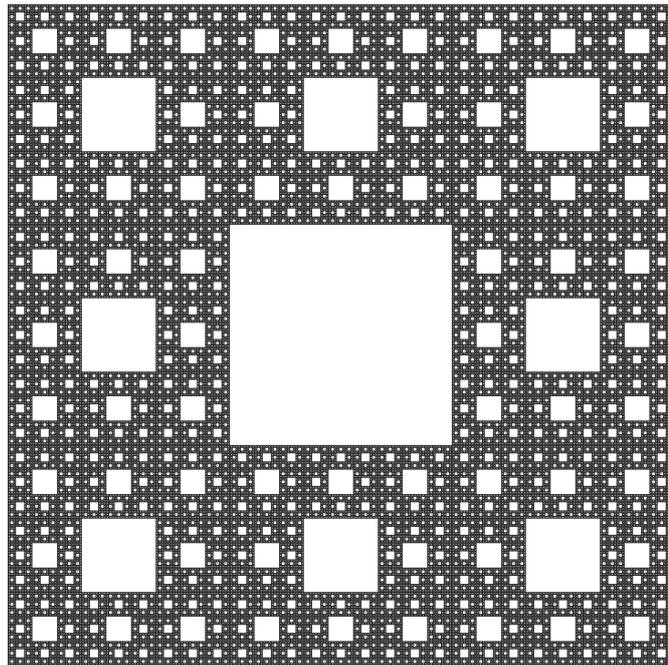


Figure 1.4 The sixth generation Sierpinski's carpet.

等しい大きさの領域に分割し、中央部分をくり抜くといった手続きを繰り返すことで形作られる。この様な手続きによって形作られる図形は自己相似性、階層構造的性を持つ。図 1.4 に示すものはこの手続きを 6 回行なったものである。また、同様の手続きを一次元に対して適用したものをカントール集合、三次元に適用したものをメンガーのスポンジと呼ぶ。この様な図形はフラクタル次元という概念を導入することで特徴づけることができ、例えば理想的なシェルピンスキーのカーペットのフラクタル次元は  $\log_3 8 \sim 1.893$  であることが知られている。一般に、次元は整数値のみを取るがフラクタル次元はこれを実数に拡張したものと考えることができ、ある図形を  $1/a$  に縮小した時に  $b$  個の相似図形によって全体が構成されているとき、そのフラクタル次元  $D$  は、

$$D = \log_a b \quad (1.13)$$

と定義される。特に整数値のみを取る次元をユークリッド次元と呼んで区別することがある。例えば正方形を全体の  $1/2$  に縮小すると 4 つの均等な領域に分解されることからその次元は  $\log_2 4 = 2$  であり、ユークリッド次元と一致する。自然に存在するあらゆるものはフラクタル図形であると言え、自己相似性を持つ典型的な例として山脈、海岸線、木などがあげられる。例えば、L-system と呼ばれるフラクタルの概念を元にしたアルゴリズムによって生成された木や葉は現実のものを見分けることが困難であるし、海岸線は自己相似性を持つことから十分に拡大した海岸線からはその地点を決定することができない。

Fujiwara らはシェルピンスキーのカーペットの分割数を変えることでいくつかのフラクタル図

形を用意し、その空間上でモンテカルロ法によるランダムウォークシミュレーションを行なった<sup>[22]</sup>。単純な格子モデルにおけるランダムウォークでは Debye 型の緩和過程が得られたのに対し、フラクタル図形におけるランダムウォークからは Cole-Cole 型の緩和過程が認められた。この研究はあくまでシミュレーションによるものであるが、実験的に観測される Cole-Cole 関数型の緩和過程に重要な解釈を与えた。すなわち、分子が形作るような構造もまたフラクタル性を持つはずであるし、その構造が分子のダイナミクスに影響を与えていると考えられる。Ryabov ら<sup>[23-25]</sup>は Cole-Cole 式から求まる誘電緩和時間  $\tau$  と誘電緩和時間分布パラメータ  $\beta$  の関係 (以下  $\tau$ - $\beta$  ダイアグラムと呼ぶ) を整理し、フラクタルの概念を取り入れた以下の式を提案した。

$$\beta = \frac{d_G}{2} \frac{\ln \tau \omega_s}{\ln(\tau/\tau_0)}, \quad (1.14)$$

ここで、 $\tau_0$  はカットオフ時間、 $d_g$  はフラクタル次元であり、 $\omega_s$  は

$$\omega_s = \frac{2d_E G^{(2/d_G)} D_s}{R_0^2} \quad (1.15)$$

である。また、 $d_E$ 、 $G$ 、 $D_s$ 、 $R_0$  はそれぞれユークリッド次元、幾何学係数、自己拡散係数、カットオフ空間である。Ryabov らはこの新たな解析手法により、疎水的高分子と親水的高分子が異なるフラクタル次元を持つことを複数の高分子水溶液で示した。しかしながら、Ryabov の式の変数にはかなり自由度があるため  $\tau$ - $\beta$  ダイアグラムからフラクタル次元を決定するためには広い条件での実験を行なう必要がある。また、カットオフ時間やカットオフ空間、自己拡散係数は相互に依存した特性変数であるから定量的な評価は難しく、今後こういった問題の解決が望まれる。

## 1.3 核磁気共鳴分光法

### 1.3.1 磁気共鳴の黎明期

1922 年に行われたシュテルン＝ゲルラッハの実験において電子スピンの発見されたことから<sup>[26]</sup>、早い段階において現代における電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance: ESR) や核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance: NMR) の存在が予測されていた。Goter らは 1936 年には核磁気共鳴現象を観測するための実験を行っていたが、当時は磁気緩和時間の概念がまだ理解されていなかったためこれらの実験は失敗に終わった。最初の磁気共鳴現象が実験的に得られたのは 1946 年であり、Purcell らと Bloch らが独立に報告した<sup>[27,28]</sup>。Bloch は Goter らの失敗を分析し、二つの緩和時間  $T_1, T_2$  によりスピン系の巨視的磁化の緩和過程を記述する Bloch 方程式

を報告した<sup>[29]</sup>。系の巨視的磁化  $\mathbf{M}$  は、個々のスピンの磁気モーメント  $\boldsymbol{\mu}$  のベクトル和として、

$$\mathbf{M} = \sum \boldsymbol{\mu} = M_0 \mathbf{k}, \quad (1.16)$$

と書ける。ここで、 $M_0$  は巨視的磁化の平衡状態での大きさであり、 $\mathbf{k}$  は印加される静磁場と同じ方向の単位ベクトルとする。今、 $z$  方向に静磁場  $\mathbf{B}_0$  が印加されると系の巨視的磁化  $\mathbf{M}$  は静磁場方向に対してある角度を持って歳差運動をする。これを Larmor の歳差運動と呼び、その角周波数  $\omega$  は

$$\omega = \gamma \mathbf{B}_0, \quad (1.17)$$

と書ける。ここで  $\gamma$  は磁気回転比であり、それぞれの核で固有の値を持つ。以下の議論では角周波数  $\omega$  の回転座標系における巨視的磁化について扱う。巨視的磁化の時間変化は以下のように書ける。

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \mathbf{M} \times \gamma \mathbf{B}_0. \quad (1.18)$$

磁化が外部から何らかの影響を受けることで平衡状態からずれると、系は平衡状態では持ち得なかった  $x$ 、 $y$  方向の磁化  $M_x$ 、 $M_y$  を持つ。やがて系が平衡状態に戻っていく過程で  $M_x$  と  $M_y$  は消滅し、 $z$  方向の磁化  $M_z$  は  $M_0$  に一致する。この過程を Bloch 方程式では以下のように書ける。

$$\begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= (\mathbf{M} \times \gamma \mathbf{B}_0)_x - \frac{1}{T_2} M_x \\ \frac{dM_y}{dt} &= (\mathbf{M} \times \gamma \mathbf{B}_0)_y - \frac{1}{T_2} M_y \\ \frac{dM_z}{dt} &= (\mathbf{M} \times \gamma \mathbf{B}_0)_z - \frac{1}{T_1} (M_z - M_0) \end{aligned} \quad (1.19)$$

ここで、 $T_1$  はスピン-格子緩和時間 (Spin-Lattice Relaxation Time、縦緩和時間、回復時間とも)、 $T_2$  はスピン-スピン緩和時間 (Spin-Spin Relaxation Time、横緩和時間、位相記憶時間とも) である。Bloch 方程式が発表された時点では  $T_1, T_2$  といった緩和時間はあくまで経験的なパラメータとして考案されたものに過ぎなかったが、後に Purcell は Bloembergen と共に Bloembergen-Purcell-Pound(BPP) 理論<sup>[30]</sup> を発表し、分子の双極子-双極子相互作用によりもたらされる二つの緩和時定数に物理的解釈を加えた。分子運動の相関時間  $\tau_c$  と  $T_1$ 、 $T_2$  の関係は BPP 理論から、

$$\begin{aligned} \frac{1}{T_1} &= R_1 = K \left( \frac{\tau_c}{1 + (\omega\tau_c)^2} + \frac{4\tau_c}{1 + (2\omega\tau_c)^2} \right) \\ \frac{1}{T_2} &= R_2 = K \left( 3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1 + (\omega\tau_c)^2} + \frac{2\tau_c}{1 + (2\omega\tau_c)^2} \right) \end{aligned} \quad (1.20)$$

と書ける。ここで、

$$K = \frac{3\mu_0^2}{160\pi^2} \frac{\hbar^2 \gamma^4}{r^6} \quad (1.21)$$

であり、 $\mu_0$  は真空の透磁率、 $\hbar$  はディラック定数、 $r$  は相互作用をする双極子-双極子間距離である。図 1.5 に BPP 理論から予測される共鳴周波数 100MHz と 400MHz における相関時間  $\tau_c$  と

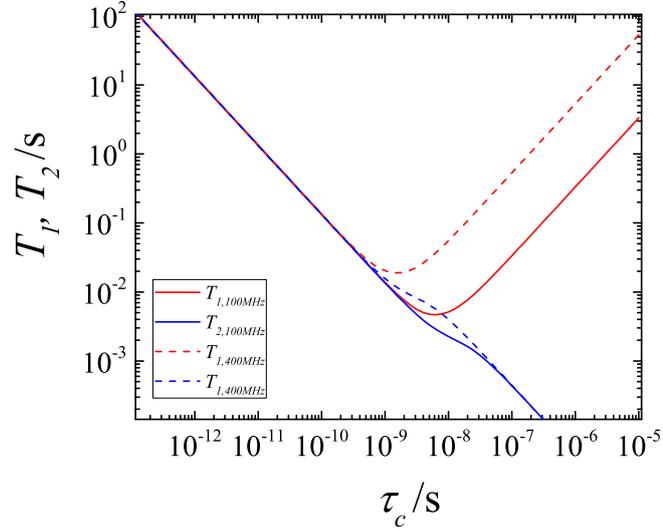


Figure 1.5 The relationship of  $\tau_c$  between  $T_1, T_2$  where, resonance frequency  $\omega$  as 100 MHz and 400 MHz,  $r$  as  $1.50 \times 10^{-10}$ , and  $\gamma$  as  $2.675 \times 10^8$ .

$T_1, T_2$  の関係を示す。図 1.5 からわかるように  $T_1$  緩和時間は極小値を持ち、 $T_2$  は分子運動が遅くなるにつれ (相関時間が大きくなるにつれ) 減少していく。式 1.20 は  $T_1, T_2$  と相関時間  $\tau_c$  の関係を表しているがほとんどの場合は  $r$  も未知数であるため、ここから単純に相関時間を決定することは難しい。共鳴周波数に応じて BPP 理論が描くカーブは異なるため、共鳴周波数を変化させることで緩和時間測定が行えれば  $\tau_c$  を見積もれる可能性があるが、近代の超電導 NMR 装置は容易に静磁場を変更できないため広い周波数域での測定は難しい。さらに、それぞれの緩和時間は同位体、イオン、溶存酸素、pH などの影響を強く受けるため、緩和時間から具体的な分子運動とその相関時間について報告した研究例は少ない。一方で、 $^{17}\text{O}$  や  $^2\text{H}$  のような四極子核では縦緩和時間  $T_1$  と相関時間  $\tau_c$  は、

$$\frac{1}{T_1} = \frac{3\pi^2}{10} \frac{2I+3}{I^2(2I-1)} \left( \frac{e^2qQ}{h} \right)^2 \left( 1 + \frac{\eta^2}{3} \right) \tau_c \quad (1.22)$$

と書ける。ここで、 $h$  はプランク定数、 $I$  はスピン、 $\eta$  は異方性パラメータ、 $e^2qQ$  は四極子定数である。四極子定数や異方性パラメータは温度や分子状態の影響をあまり受けず、ある程度正確な値が予測できることから比較的容易に  $\tau_c$  を求めることができる<sup>[31]</sup>。Yamanaka らは超純水の  $^{17}\text{O}$ -NMR 緩和時間を測定することで、水分子の回転相関時間を 1.8ps と報告している<sup>[32]</sup>。この値は Barthel らによる誘電分光法測定から得られた値 1.02ps<sup>[33]</sup> と概ね一致している。Bloch と Purcell は功績を認められ 1952 年にノーベル賞を受賞している。また、Bloembergen は後にメー

ザー (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation: MASER) やレーザー (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation: LASER) への貢献から 1981 年に同じくノーベル賞を受賞している。

### 1.3.2 フーリエ変換 NMR の発展

初期の核磁気共鳴は励起用静磁場、若しくは照射ラジオ波を掃引することで共鳴ピークを得ていたことから連続波法 (Continuous Wave: 以下 CW 法とする) と呼ばれる。CW 法による測定がなされた時点で現在化学シフトと呼ぶ、電子遮蔽効果により分子のそれぞれの官能基に応じて分離したピークが得られることが示唆されていたが、磁気共鳴の本質的な感度の低さと掃引にかかる時間などの理由により極めて長い測定時間が必要とされていた。1954 年に Kubo らによって提唱された線形応答理論に基づくフーリエ変換 NMR (パルス NMR とも)<sup>[34]</sup> は CW 法に比べ大幅に測定時間を短縮可能であり、また、劇的にスペクトル分解能を向上することができたため、NMR 分光法による化学分析が現実的な手法と認められ始めた。特に、天然存在比が 0.1% 程度の  $^{13}\text{C}$  のシグナルを得るためにはパルス法が必要不可欠であり、CW 法では実質的には不可能である。分解能の向上はカップリング定数 ( $J$ -constant) の詳細な解析を可能としたことから、化学シフトのみならずカップリング定数の解析が分子構造の推定への強力な手助けをするようになった。Kubo らの功績は、それまでは主に固体物理分野において用いられていた NMR が化学分野へと応用されるに至った重要なきっかけである。また、フーリエ変換 NMR の概念は FT-IR や時間域での誘電分光法測定にも適用されている。フーリエ変換 NMR の開発は Ernst らによって精力的に行われ、後に多次元 NMR や核磁気共鳴画像法 (Magnetic Resonance Imaging: MRI) といった技術へと発展していく。Ernst らは有機化学分野及び医療診断における功績が認められ 1991 年にノーベル賞を受賞した。パルス法の発展過程において特に重要なのは 1950 年に Hahn によって報告された Spin-Echo (Hahn エコーとも呼ぶ) の発見である<sup>[35]</sup>。Spin-Echo 法を用いることで静磁場の不均一性によらない横緩和時間  $T_2$  を得ることができ、様々なパルス系列に応用されている。後に Spin-Echo 法では正確な  $T_2$  緩和時間を得る過程で分子拡散の影響を受けてしまうことがわかり、この問題を改善したパルス系列が Carr と Purcell らによって発明された<sup>[36]</sup>。この系列は何度かのマイナーバージョンアップを経て Carr-Purcell-Meiboom-Gill 法 (CPMG 法)<sup>[37]</sup> として現在も利用されている。後述するが、Spin-Echo 法が本質的に分子拡散の影響を受けてしまうという問題点は後に分子拡散係数測定へと応用されていく。高速フーリエ変換アルゴリズム (FFT) の開発や、計算機性能の向上は二次元 NMR を実用可能なものとした。例えば、最も一般的かつ単純な二次元 NMR 法は COrrrelation Spectroscopy (COSY) であり、その二次元スペクトルからスピンカップリングに関する情報を得られる。静的な分子構造のみならず、NOESY (NOE

correlated Spectroscopy) や ROESY (Rotating-frame nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy) では空間的に近い距離に位置するスピンの交差ピークとして観測されることから、大分子の二次構造や複数分子からなる包接錯体のコンフォメーションをも推定することができる [38]。

### 1.3.3 NMR を用いたダイナミクス解析

当初、分析化学分野では分子の静的構造を知ることが目的であったため、分子の運動性および運動性に対応する磁気緩和時間は見過ごされていた。しかし、多くの NMR パルス系列は長時間の積算を必要としたことから、正確に緩和時間を見積もる必要と、可能であれば緩和時間を短縮させる必要が生じてきた。磁場勾配パルス (Pulsed Field Gradient: PFG) は意図的に磁場を乱すことで緩和時間を短縮し、短時間での積算を実現した。さらに、PFG は試料中の特定の空間領域における NMR 信号を抽出することができることから、後に MRI へと発展していった。1965 年に Stejskal と Tanner<sup>[39, 40]</sup> は Spin-Echo 法のパルス系列に PFG を加えることで効率的かつ正確に分子拡散係数を測定できることを示した。既に動的光散乱法 (Dynamic Light Scattering: DLS) による分散系での拡散係数測定は知られていたが、Stejskal らの方法は NMR ピークを示す分子であればあらゆるものに適用可能であり、特に水などの低分子量分子の拡散係数を直接測定可能にしたことからソフトマター物理学分野に与えた影響は大きい。PFG パルスを用いた拡散係数測定は細胞<sup>[41-44]</sup>、分散系の粒径測定<sup>[45-48]</sup>、ゲル網目の相関長測定<sup>[49-51]</sup>、拡散係数による多成分系のスペクトル分離 (Diffusion Ordered Spectroscopy: DOSY)<sup>[52-56]</sup> など様々な応用が成されている。近年、これらの技術は NMR による緩和時間測定法と共に NMR Relaxometry、NMR Diffusometry と呼ばれ、NMR による分子のダイナミクス・動的構造に関する研究が報告されている<sup>[57-61]</sup>。特に Field-Cycling (FC) NMR<sup>[62, 63]</sup> は広帯域に渡る分子ダイナミクスの解析に成功し、今後その応用が期待される。最近では、緩和・拡散測定用のベンチトップ NMR が各社から発売され、食品分析や化粧品開発などの分野において活用されている<sup>[64]</sup> が、NMR を用いた分子の運動性に関する研究はまだ発展途上である。同時に技術的な課題も残されており、広帯域誘電分光法の様な広い観測窓を持つには至っていない。

## 1.4 研究目的

本研究の目的は誘電分光法と磁場勾配 NMR (PFG-NMR) 法による測定を行い、それぞれの手法の結果を相補的に解析することで、分子が作る動的構造についての理解を深めることである。対象とした系は、細胞膜モデル粒子 (Liposome) 分散系、食品ゲル系、単一低分子量分子液体系の

3つである。以下にそれぞれの条件を示す。

1. Liposome 分散系における水分子の拡散現象を観測した。また、Liposome を構成する膜の相転移に伴う水分子ダイナミクスの変化や、分散系が水分子の拡散を阻害する制限拡散 (restricted diffusion) の影響を評価する。
2. 食品ゲルモデルとして豆腐を調製し、誘電分光法と NMR により水分子の回転・並進ダイナミクスを観測した。調製条件を工夫することで異なる力学特性や微細構造を持つ豆腐を調製し、誘電緩和時間・並進拡散係数の変化を分析した。また、双方の結果を互いに比較することでゲル系における水分子の回転・並進運動がどのように関係しているかを議論する。
3. 水、1 価・2 価・3 価アルコール、エチレングリコールオリゴマー、及び非水素結合性有機溶媒の単一系において広帯域誘電分光法と PFG-NMR 法を用いた測定を行なった。得られた誘電緩和時間と拡散係数、及び粘性を相互に比較することで分子が回転・並進運動の実効半径や水素結合の影響について議論する。

それぞれの系は異なる空間スケールを持っており、どのように分子の回転と拡散が特徴づけられるか検証した。最後にこれらの結果を総括し、分子の回転・並進ダイナミクスの視点から動的構造の普遍的な特徴について議論する。

## 参考文献

- [1] Udo Kaatzke. Reference liquids for the calibration of dielectric sensors and measurement instruments. *Meas. Sci. Technol.* *Meas. Sci. Technol.*, 18(18):967–976, 2007.
- [2] R Edgeworth, B J Dalton, and T Parnell. The pitch drop experiment. *European Journal of Physics*, 5(4):198–200, oct 1984.
- [3] Takahiro Hatano. Scaling properties of granular rheology near the jamming transition. *Journal of the Physical Society of Japan*, 77(12):18–21, 2008.
- [4] So Kitsunozaki, Akio Nakahara, and Yousuke Matsuo. Shaking-induced stress anisotropy in the memory effect of paste. *EPL (Europhysics Letters)*, 114(6):64002, 2016.
- [5] Yoshiki Yomogida, Yuki Sato, Ryusuke Nozaki, Tomobumi Mishina, and Jun'ichiro Nakahara. Comparative study of boson peak in normal and secondary alcohols with terahertz time-domain spectroscopy. *Physica B: Condensed Matter*, 405(9):2208–2212, 2010.
- [6] Yoshiki Yomogida, Yuki Sato, Ryusuke Nozaki, and Tomobumi Mishina. Comparative dielectric study of monohydric alcohols with terahertz time-domain spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 981(1-3):173–178, 2010.
- [7] M. Breslin, R. Boyd, and J.G. Berberian. Time study of the dielectric permittivity of supercooled 3-bromopentane during crystallization. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 172-174(PART 1):218–222, 1994.
- [8] P. Lunkenheimer, U. Schneider, R. Brand, and A. Loid. Glassy dynamics. *Contemporary Physics*, 41(1):15–36, 2000.
- [9] Graham Williams and David C. Watts. Non-symmetrical dielectric relaxation behaviour arising from a simple empirical decay function. *Transactions of the Faraday Society*, 66(1):80, 1970.
- [10] Kenneth S. Cole and Robert H. Cole. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics. *The Journal of Chemical Physics*, 9(4):341, 1941.

- [11] D. W. Davidson and R. H. Cole. Dielectric Relaxation in Glycerol, Propylene Glycol, and n - Propanol. *The Journal of Chemical Physics*, 19(12):1484–1490, dec 1951.
- [12] S. Havriliak and S. Negami. A complex plane representation of dielectric and mechanical relaxation processes in some polymers. *Polymer*, 8:161–210, 1967.
- [13] F. Alvarez, A. Alegria, and J. Colmenero. Relationship between the time-domain Kohlrausch-Williams-Watts and frequency-domain Havriliak-Negami relaxation functions. *Physical Review B*, 44(14):7306–7312, 1991.
- [14] Alexander Puzenko, Yoshihito Hayashi, Yaroslav E. Ryabov, Igal Balin, Yuri Feldman, Udo Kaatzke, and Ralph Behrends. Relaxation Dynamics in Glycerol – Water Mixtures: I. Glycerol-Rich Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(12):6031–6035, mar 2005.
- [15] Sebastian Pawlus, Marian Paluch, and Marzena Dzida. Molecular Dynamics Changes Induced by Hydrostatic Pressure in a Supercooled Primary Alcohol. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(21):3249–3253, nov 2010.
- [16] C. Hansen, F. Stickel, T. Berger, Ranko Richert, and E. W. Fischer. Dynamics of glass-forming liquids. III. Comparing the dielectric  $\alpha$ - and  $\beta$ -relaxation of 1-propanol and o-terphenyl. *The Journal of Chemical Physics*, 107(4):1086–1093, jul 1997.
- [17] C. A. Angell, K. L. Ngai, G. B. McKenna, P. F. McMillan, and S. W. Martin. Relaxation in glassforming liquids and amorphous solids. *Journal of Applied Physics*, 88(6):3113–3157, 2000.
- [18] Seiichi Sudo, Naoki Shinyashiki, Yusuke Kitsuki, and Shin Yagihara. Dielectric Relaxation Time and Relaxation Time Distribution of Alcohol – Water Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry A*, 106(3):458–464, jan 2002.
- [19] N. Shinyashiki, D. Imoto, and S. Yagihara. Broadband dielectric study of dynamics of polymer and solvent in poly(vinyl pyrrolidone)/normal alcohol mixtures. *Journal of Physical Chemistry B*, 111(9):2181–2187, 2007.
- [20] Yuri Feldman, Alexander Puzenko, and Yaroslav Ryabov. Non-Debye dielectric relaxation in complex materials. *Chemical Physics*, 284(1-2):139–168, 2002.
- [21] U. Schneider, R. Brand, P. Lunkenheimer, and A. Loidl. Excess Wing in the Dielectric Loss of Glass Formers: A Johari-Goldstein  $\beta_2$  Relaxation? *Physical Review Letters*, 84(24):5560–5563, jun 2000.
- [22] Susumu Fujiwara and Fumiko Yonezawa. Anomalous relaxation in fractal and disordered

- systems. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 198-200(PART 1):507–511, may 1996.
- [23] Yaroslav E. Ryabov, Yuri Feldman, Naoki Shinyashiki, and Shin Yagihara. The symmetric broadening of the water relaxation peak in polymer-water mixtures and its relationship to the hydrophilic and hydrophobic properties of polymers. *Journal of Chemical Physics*, 116(19):8610–8615, 2002.
- [24] Ya E. Ryabov and Yuri Feldman. Novel approach to the analysis of the non-Debye dielectric spectrum broadening. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 314(1-4):370–378, 2002.
- [25] Y Ryabov and Y Feldman. The relationship between the scaling parameters and relaxation time for non-exponential relaxation in disordered systems. *Fractals*, 11(March):173–183, 2003.
- [26] Walther Gerlach and Otto Stern. Der experimentelle Nachweis der Richtungsquantelung im Magnetfeld. *Zeitschrift für Physik*, 9(1):349–352, dec 1922.
- [27] E. M. Purcell, H. C. Torrey, and R. V. Pound. Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Physical Review*, 69(1-2):37–38, jan 1946.
- [28] F. Bloch, W. W. Hansen, and M. Packard. The Nuclear Induction Experiment. *Physical Review*, 70(7-8):474–485, oct 1946.
- [29] F. Bloch, W.W. Hansen, and M. Packard. The Nuclear Induction Experiment. *Physical Review*, 70(7-8):474–485, oct 1946.
- [30] N Bloembergen, E M Purcell, and R V Pound. Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Physical Review*, 73(7):679–712, apr 1948.
- [31] Koji Yoshida, Ayuko Kitajo, and Toshio Yamaguchi.  $^{17}\text{O}$  NMR relaxation study of dynamics of water molecules in aqueous mixtures of methanol, ethanol, and 1-propanol over a temperature range of 283-403 K. *Journal of Molecular Liquids*, 125(2-3):158–163, 2006.
- [32] Koji Yamanaka, Akio Shimizu, Shintaro Suga, and Satoru Mashimo. Dynamic Structure of Water in Ultra Pure Water Producing System Observed by Dielectric and  $^{17}\text{O}$ -NMR Relaxations. *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN*, 29(3):421–426, 1996.
- [33] J. Barthel, K. Bachhuber, R. Buchner, and H. Hetzenauer. Dielectric spectra of some common solvents in the microwave region. Water and lower alcohols. *Chemical Physics Letters*, 165(4):369–373, 1990.

- [34] R Kubo and K Tomita. A general theory of magnetic resonance absorption, 1954.
- [35] E. L. Hahn. Spin echoes, 1950.
- [36] H. Y. Carr and E. M. Purcell. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Physical Review*, 94(3):630–638, 1954.
- [37] S. Meiboom and D. Gill. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Review of Scientific Instruments*, 29(8):688–691, 1958.
- [38] Doreen Niether, Tsubasa Kawaguchi, Jana Hovancová, Kazuya Eguchi, Jan K. G. Dhont, Rio Kita, and Simone Wiegand. Role of Hydrogen Bonding of CyclodextrinDrug Complexes Probed by Thermodiffusion. *Langmuir*, page acs.langmuir.7b02313, 2017.
- [39] E O Stejskal and J E Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependant field gradient. *The Journal of chemical physics*, 42(1):5, 1965.
- [40] J. E. Tanner. Pulsed Field Gradients for NMR Spin-Echo Diffusion Measurements. *Review of Scientific Instruments*, 36(8):1086, 1965.
- [41] J. E. Tanner. Intracellular diffusion of water. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 224(2):416–428, 1983.
- [42] Josef Pfeuffer, Ulrich Flögel, Wolfgang Dreher, and Dieter Leibfritz. Restricted diffusion and exchange of intracellular water: Theoretical modelling and diffusion time dependence of  $^1\text{H}$  NMR measurements on perfused glial cells. *NMR in Biomedicine*, 11(1):19–31, 1998.
- [43] K.R Brownstein and C.E Tarr. Importance of classical in NMR studies of water in biological cells. *Physical Review A*, 19(6):2446–2453, 1979.
- [44] Ki-Jeong Suh, Young-Shick Hong, Vladimir D Skirda, Vitaly I Volkov, Chung-Yung J Lee, and Cherl-Ho Lee. Water self-diffusion behavior in yeast cells studied by pulsed field gradient NMR. *Biophysical chemistry*, 104(1):121–130, 2003.
- [45] J. E. Tanner and E. O. Stejskal. Restricted Self-Diffusion of Protons in Colloidal Systems by the Pulsed-Gradient, Spin-Echo Method. *The Journal of Chemical Physics*, 49(4):1768–1777, 1968.
- [46] K G Hollingsworth and M L Johns. Measurement of emulsion droplet sizes using PFG NMR and regularization methods. *Journal of colloid and interface science*, 258:383–389, 2003.
- [47] Clint P Aichele, Mark Flaum, Tianmin Jiang, George J Hirasaki, and Walter G Chapman. Water in oil emulsion droplet size characterization using a pulsed field gradient with

- diffusion editing (PFG-DE) NMR technique. *Journal of colloid and interface science*, 315(2):607–19, nov 2007.
- [48] Jason P Hindmarsh, Jiahong Su, John Flanagan, and Harjinder Singh. PFG-NMR analysis of intercompartment exchange and inner droplet size distribution of W/O/W emulsions. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 21:9076–84, sep 2005.
- [49] Shingo Matsukawa and Isao Ando. A Study of Self-Diffusion of Molecules in Polymer Gel by Pulsed-Gradient Spin – Echo  $^1\text{H}$  NMR. *Macromolecules*, 29(2):7136–7140, 1996.
- [50] Tomoaki Hagiwara, Richard W. Hartel, and Shingo Matsukawa. Relationship between recrystallization rate of ice crystals in sugar solutions and water mobility in freeze-concentrated matrix. *Food Biophysics*, 1(2):74–82, 2006.
- [51] Bona Dai and Shingo Matsukawa. Elucidation of gelation mechanism and molecular interactions of agarose in solution by  $^1\text{H}$  NMR. *Carbohydrate Research*, 365:38–45, 2013.
- [52] Jari S Kavakka, Ilkka Kilpela, and Sami Heikkinen. General Chromatographic NMR Method in Liquid State for Synthetic Chemistry: Polyvinylpyrrolidone Assisted DOSY Experiments. *Organic Letters*, 11(6):1349–1352, 2009.
- [53] Mathias Nilsson. The DOSY Toolbox: A new tool for processing PFG NMR diffusion data. *Journal of Magnetic Resonance*, 200(2):296–302, 2009.
- [54] Denise P Hinton and Charles S Johnson. Diffusion ordered 2D NMR spectroscopy of phospholipid vesicles: determination of vesicle size distributions. *Journal of Physical Chemistry*, 97(35):9064–9072, 1993.
- [55] Kevin F. Morris, Benjamin J. Cutak, Ann M. Dixon, and Cynthia K. Larive. Analysis of diffusion coefficient distributions in humic and fulvic acids by means of diffusion ordered NMR spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 71(23):5315–5321, 1999.
- [56] Christopher a. Crutchfield and Douglas J. Harris. Molecular mass estimation by PFG NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance*, 185(1):179–182, 2007.
- [57] B P Hills, H-r Tang, P Manoj, and C Destruel. NMR Diffusometry of Oil-in-Water Emulsions. *Magnetic Resonance Imaging*, 19:449–451, 2001.
- [58] Takahiro Ohkubo, Moe Ibaraki, Yukio Tachi, and Yasuhiko Iwadate. Pore distribution of water-saturated compacted clay using NMR relaxometry and freezing temperature depression; effects of density and salt concentration. *Applied Clay Science*, 123:148–155, 2016.
- [59] Paula Berman, Ofer Levi, Yisrael Parmet, Michael Saunders, and Zeev Wiesman.

- Laplace inversion of low-resolution NMR relaxometry data using sparse representation methods. *Concepts in Magnetic Resonance Part A: Bridging Education and Research*, 42(3):72–88, 2013.
- [60] C Buchmann, M Meyer, and G E Schaumann. Characterization of wet aggregate stability of soils by (1) H-NMR relaxometry. *Magnetic resonance in chemistry : MRC*, (August), oct 2014.
- [61] Arnaud C A Muller, Karen L. Scrivener, Agata M. Gajewicz, and Peter J. McDonald. Densification of C-S-H measured by 1H NMR relaxometry. *Journal of Physical Chemistry C*, 117(1):403–412, 2013.
- [62] Rainer Kimmich and Esteban Anordo. *Field-cycling NMR relaxometry*, volume 44. 2004.
- [63] D. Kruk, R. Meier, and E. A. Rössler. Translational and rotational diffusion of glycerol by means of field cycling 1H NMR relaxometry. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(5):951–957, 2011.
- [64] Harald Todt, Gisela Guthausen, Wolfgang Burk, Dieter Schmalbein, and Andreas Kamlowski. Water/moisture and fat analysis by time-domain NMR. *Food Chemistry*, 96(3):436–440, 2006.

## 第 2 章

# 実験原理と手法

### 2.1 誘電分光法

誘電体に電場を印加すると分極  $\mathbf{P}$  が生じる。分極  $\mathbf{P}$  は電束密度  $\mathbf{D}$  と電界  $\mathbf{E}$  の関係から、

$$\mathbf{D} = \epsilon_r \epsilon_0 \mathbf{E} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P} \quad (2.1)$$

と表せる。ここで、 $\epsilon_0$  は真空の誘電率、 $\epsilon_r$  は比誘電率であり、誘電体の誘電率を  $\epsilon$  とすると  $\epsilon_r = \epsilon/\epsilon_0$  である。ここで交流電場における比誘電率  $\epsilon_r$  を複素誘電率  $\epsilon^*$  として、以下のように定義する。

$$\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon'' \quad (2.2)$$

ここで、 $j$  は虚数であり、 $\epsilon'$  と  $\epsilon''$  をそれぞれ誘電率、誘電損失と定義する。

#### 2.1.1 時間域測定と周波数域測定

分極には大きく分けて電子分極、原子分極、双極子分極があるが、ここでは双極子分極についてのみ取り扱う。例えば、水のような物質は電気陰性度の異なる酸素と二つの水素から構成されているため双極子モーメントを持つ。双極子モーメントが電場に対して応答することを双極子分極と呼ぶが、双極子分極の緩和時間 (時定数)  $\tau$  は分子の運動性に依存するため、ステップパルスに対する応答過程を測定することで分子運動を観測することができる。ステップパルスによる応答を観測する手法を時間域測定と呼び、Time Domain Reflectometry (TDR)<sup>[1]</sup> や DC Transient Current (DCTC)<sup>[2]</sup> などの手法がある。

一方で、特定の周波数  $f$  における誘電体を含む回路のキャパシタンス  $C$ 、レジスタンス  $R$ 、誘電正接  $\tan \delta$  を測定することで複素誘電率  $\epsilon^*$  の周波数特性を得るような手法を周波数領域測定と呼ぶ。周波数領域測定では図 2.1 に示すような誘電率の周波数依存性が認められる。複素誘電率

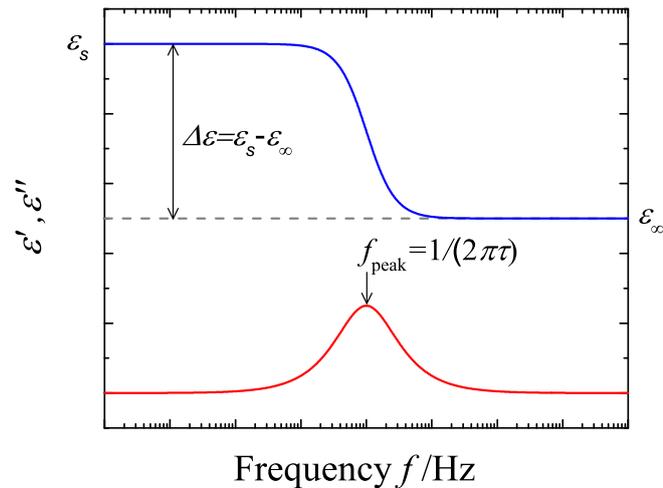


Figure 2.1 A typical frequency dependence of permittivity  $\epsilon'$  and dielectric loss  $\epsilon''$ .

の周波数依存性を誘電緩和 (若しくは誘電分散)、虚部の周波数依存性を誘電損失 (若しくは誘電吸収) と呼ぶ。以下に示す Debye の式等を用いた解析を行うことで誘電緩和過程を特徴づけられ、緩和時間  $\tau$  を決定することができる。

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} \quad (2.3)$$

ここで  $\epsilon_\infty$  は光学領域での誘電率、 $\epsilon_s$  は静的誘電率、 $\omega$  は角周波数 ( $= 2\pi f$ ) である。周波数領域測定では回路特性を評価するために用いられるインピーダンスアナライザや LCR メータなどの製品を利用することで誘電分光法測定が行える。3GHz 程度までは市販のインピーダンスアナライザを用いて測定が行えるが、それ以上の周波数では Vector Network Analyzer (VNA) を用いる必要がある。

また、時間領域・周波数領域どちらの測定手法でも測定サンプルに合わせた電極を設計し、校正キットや標準試料による装置校正・補償を行なう必要がある。以下に TDR 法と VNA 測定の詳細を述べる。

### 2.1.2 Time Domain Reflectometry (TDR) 法

TDR 法では印加するステップパルス (入射波) に対する応答 (反射波) を観測し、標準試料との差分波形を取ることで誘電緩和過程を得る。観測の下限・上限時間 (又は上限・下限周波数) は入射波の立ち上がり時間と電極長により規定される。入射波の立ち上がりが緩和時間に比べて遅いと、分極過程は印加する入射波の立ち上がりに埋もれてしまい正確な値を決定することができない。電極長が短いと電極とパルサー間のインピーダンスミスマッチによる反射波の歪みが短い時間域で生じてしまう。インピーダンスミスマッチ以降の電圧値には信頼性が乏しいため、これ

以上長い緩和時間を持つサンプルの緩和時間を決定することはできない。しかし、実際にはパルサーの立ち上がり時間や電極長などの値から上限・下限周波数を一意に決定することは困難であることが多いため、使用する電極に応じて複数の標準試料測定を行うことで観測時間域を決定する必要がある。本研究では直径 2.2mm のセミリジッドケーブルを 70cm の長さで裁断することで電極を作成し、立上り時間が 12ps のパルサー (80E10 TDR module, Tektronix) とデジタルオシロスコープ (DSA8300, Tektronix) を用いることで 100MHz から 65GHz の間で信頼のおける測定が行えることを確認した。

一連の TDR 測定は既知のリファレンス試料と未知試料の反射波形の差分をとることで解析を行うディファレンス法を用いた [3]。以下にディファレンス法の一般式を示す。

$$\epsilon_x^*(\omega) = \frac{1 + \{(cf_s)/[j\omega(\gamma - d)\epsilon_s^*(\omega)]\}\rho f_x}{1 + \{[j\omega(\gamma - d)\epsilon_s^*(\omega)]/(cf_s)\}\rho f_s}, \quad (2.4)$$

ここで、

$$\begin{cases} \rho &= \frac{V_s(\omega) - V_x(\omega)}{V_s(\omega) + V_x(\omega)}, \\ f_i(z_i) &= z_i \cot(z_i), \\ z_i(\omega) &= (\omega d/c) \sqrt{\epsilon_i^*(\omega)}. \end{cases} \quad (2.5)$$

である。ここで  $\epsilon_x^*(\omega)$  と  $\epsilon_s^*(\omega)$  は未知試料とリファレンスの複素誘電率、 $c$  は光速、 $d$  は電極のセルサイズ、 $\gamma$  は電極の電気長である。また、 $V_x(\omega)$  と  $V_s(\omega)$  は反射波形  $R_x(t)$  と  $R_s(t)$  のラプラス変換である。

### 2.1.3 VNA

周波数域の誘電分光法測定では Agilent 社製の VNA(N5230) に High Performance Probe(8570E) と Ecal ユニット (N4693) を用いた。測定周波数域は 100MHz から 50GHz である。上述のように周波数域の測定ではいくつかの測定装置を用いることが出来るが、特に高周波域ではネットワーク解析法を用いる必要がある。VNA では測定試料のインピーダンスの絶対値と参照波との位相差を同時測定することで S パラメータを測定することができる。また、透過波 ( $S_{11}$ ) と反射波  $S_{12}$  について測定を行うことが出来るが、本研究では開放端電極を用いることで反射波  $S_{11}$  の解析を行なった。 $S_{11}$  パラメータは入射波の振幅  $\text{Mag}(A)$  と位相  $\text{Deg}(A)$ 、反射波の振幅  $\text{Mag}(B)$  と位相  $\text{Deg}(B)$  から以下のように書ける。

$$S_{11} = \frac{A}{B} = \frac{\text{Mag}(A)}{\text{Mag}(B)} (\text{Deg}(B) - \text{Deg}(A)) \quad (2.6)$$

さらに、 $S_{11}$  と既知の特性インピーダンス  $Z_0$  から試料のインピーダンス  $Z_x$  は以下のように決定できる。

$$Z_x = \frac{S_{11} - Z_0}{S_{11} + Z_0} \quad (2.7)$$

## 2.2 核磁気共鳴分光法

パルス法 (フーリエ変換)NMR ではパルスシーケンスを工夫することで複雑な測定を行なうことができ、数多くのパルスシーケンス提案されている。最も単純なパルスシーケンスはひとつの  $90^\circ$  パルス ( $\pi/2$  パルス) を与えた直後に自由誘導減衰 (Free Induction Decay: FID) を観測することである。得られた FID に適切な窓関数をかけフーリエ変換することで NMR スペクトルが得られる。

殆どの場合、NMR 測定では積算を行なうことで S/N 比の向上を目指す。 $^{13}\text{C}$  など天然存在比の少ないの核における測定では数千回の積算を行なうことも珍しくない。積算の繰り返し時間 (Repetition Time) はしばしば測定時間に大きな影響を及ぼす。すなわち、FID 観測後には系が十分に緩和し、平衡状態になるまで待った後に次の積算プロセスに映る必要がある。一般に、この繰り返し時間は縦緩和時間  $T_1$  の 5 倍程度とすることが望ましいが、水系などでは緩和時間が数秒になることも珍しくなく、その繰り返し時間は数十秒に達するため測定時間の律速要因となる。

逆に言えば、適切な条件で積算を重ねるためには試料の縦緩和時間  $T_1$  がわかっていることが望ましい。 $T_1$  を測定するためのパルスシーケンスはいくつか提案されているが、最も古典的かつ一般的なものは回復反転法 (Inversion Recovery; IR,  $180^\circ - \tau - 90^\circ$ ) であろう。IR 法では十分だと思われる繰り返し時間において、待ち時間  $\tau$  を段階的に変化させながらシグナル強度の変化を観測することで、以下の式から  $T_1$  を決定することができる。

$$M(\tau) = M_0(1 - 2e^{-\tau/T_1}) \quad (2.8)$$

ここで  $M(\tau)$  は待ち時間  $\tau$  における信号強度、 $M_0$  は十分に緩和 (平衡化) した時の信号強度である。

上に  $T_1$  の”長さ”が問題となる状況について紹介したが、複雑なパルスシーケンスではしばしば横緩和時間  $T_2$  の”短さ”が問題となる。十分に均一かつ希薄な系では  $T_1 = T_2$  となることが期待できるが、分子量が大きかったり、二次構造をとるような系ではこの限りではない。また、そもそも複雑なパルスシーケンスが必要とされる試料は難解な分子構造を持っているものである。横緩和時間  $T_2$  は位相の記憶時間とも呼ぶが、複雑なパルスシーケンスにおいてスピンのコヒーレンスを保てる時間は  $T_2$  により決定され、一つのパルス系列の測定時間が  $T_2$  を超える場合には信号

は積算の回数によらず得られなくなってしまう。

一見したところ、 $90^\circ$  パルスを印加し FID の減衰過程を見れば  $T_2$  を決定できるように見える。しかし、実際には FID の減衰過程を決める時定数は  $T_2^*$  と呼ばれ  $T_2$  と区別しなくてはならない。実際の NMR 測定ではいかなるセットアップを行なっても試料管や静磁場、そして時間や試料管近傍の温度ゆらぎなど、様々な要因によって不均一磁場が発生する。ラーモアの式から明らかのように空間的に不均一な磁場は局所的に共鳴周波数を僅かではあるが変化させてしまう。この効果は位相の乱れとして現れ、実際の物性値である  $T_2$  よりも遥かに早くコヒーレンスが失われてしまう。従って、常に  $T_2^* < T_2$  であり、不均一磁場の影響を打ち消さない限り正確な  $T_2$  を知ることはできない。

$T_2$  緩和時間の測定法として最初に報告されたものは Spin-Echo 法<sup>[4]</sup>( $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau$ ) である。IR 法と同様に待ち時間  $\tau$  を変化させていくことで、以下の式から  $T_2$  を決定できる。

$$M(2\tau) = M_0 e^{-2\tau/T_2} \quad (2.9)$$

先述したとおり、不均一磁場の効果によって一つ目の  $90^\circ$  パルスの直後から位相は乱れ、シグナルは失われていく。しかし、その後の  $180^\circ$  パルスはスピン系を反転させることで、不均一磁場の影響を逆転させ、乱れていった位相を再び同調させるような方向に作用させることができる。この現象はあたかも山彦 (Echo) のように一度は消失したシグナルが返ってくることから Spin-Echo と名付けられた。その特性から、Spin-Echo 法はスピン系の複雑なコヒーレント制御を可能にし、数多くのパルスシーケンスに組み込まれており、パルス法 NMR において必要不可欠な技術となっている。

様々パルスシーケンスを複合的に用いることは NMR 測定の骨子となる点であり、これまでも数え切れないほどのパルスシーケンスが考案されてきた。本研究で用いている NMR 装置にも標準で 100 を超えるパルスシーケンスが組み込まれており、日常的な化学分析でも COSY, DEPT, NOESY, HSQC, HMBC など複数の手法を用いることが一般的となっている。

### 2.2.1 PFG-NMR 法

本節では Pulsed Field Gradient (PFG) NMR 法の原理について述べる。最も基本的な PFG-NMR 法のパルスシーケンスは図.2.2 に示す Pulsed field Gradient Spin Echo(PGSE) シーケンスである。

前述の通り、Spin-Echo 法は画期的な手法で不均一磁場の影響を消し、正確な  $T_2$  測定を可能とした。しかし、これまでの議論では分子拡散の寄与が無視されていることを注意しなくてはならない。つまり、分子拡散の影響を考えれば、それぞれのパルス間の待ち時間  $\tau$  の間に分子はその

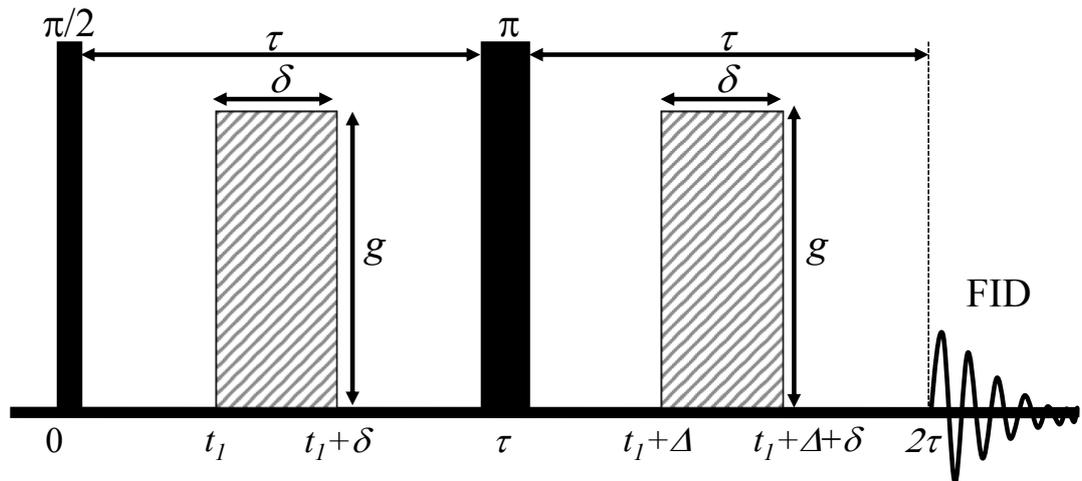


Figure 2.2 The pulsed field gradient spin-echo sequence. A closed box and hatched box represent RF-pulse and field gradient pulse, respectively.

位置をわずかにではあるが変えている。従って、 $180^\circ$ パルスの後にスピンス系が感じる不均一磁場は先ほどとはわずかに異なっており、このためシグナルは $T_2$ 緩和時間から予測されるよりも小さな値になってしまう。

このシグナルの減少の程度は二つの要因によって決まる。一つ目は磁場の不均一性であり、より磁場が空間的に不均一であるほどシグナルは大きく減少する。もう一つの要因は分子の物性値である拡散係数であり、単位待ち時間に分子の移動が大きければよりシグナルは減少するだろう。PGSEシーケンスは一見問題点に見えるようなこの特性を応用した測定手法である。すなわち、図.2.2に斜線で示す磁場勾配パルスを印加することで大きな不均一磁場を制御し、正確な拡散係数測定を可能にした。

PGSEシーケンスでは原理的に3つの量を測定変数として選ぶことができる。それぞれ傾斜磁場印加時間 $\delta$ 、拡散時間 $\Delta$ 、傾斜磁場強度 $g$ である。どのパラメータも大きくとることでシグナルをより減少させることができ、段階的に変化させていけば後述するStejskal-Tannerの式から拡散係数を決定することができる。実際には傾斜磁場強度 $g$ を測定変数と選ぶことが望ましい。なぜならば、傾斜磁場印加時間 $\delta$ は本質的に拡散時間 $\Delta$ よりも短い必要があるため幅広い値をとることは困難であり、また、拡散時間 $\Delta$ の変化は $T_2$ の効果によるシグナル減少を引き起こしてしまうため解析が難しくなる。傾斜磁場強度 $g$ を変化させるのであればこのような問題点は考慮しなくて良い。そのため、本研究でも一連の測定は傾斜磁場強度 $g$ を測定変数として行なった。

## Stejskal-Tanner 式の導出

以下に Stejskal-Tanner 式の [5] 導出を図.2.2 のパルスシーケンスに基づいて述べる。なお、導出は Kuchel ら [6] の手法に準じた。

まず、 $x-y$  平面における磁化ベクトル  $\mathbf{M}_{x,y}$  を複素数表示で、

$$\mathbf{M}_{x,y} = M_x + iM_y \quad (2.10)$$

と置く。ここで  $M_x$  と  $M_y$  はそれぞれ  $x$  と  $y$  方向の磁化ベクトルの大きさ、 $i$  は虚数単位である。磁化ベクトル  $\mathbf{M}_{x,y}$  は Larmor 周波数  $\omega$  で複素平面上を回転しているため、

$$\mathbf{M}_{x,y} = M_0(\cos \omega t + i \sin \omega t) = M_0 e^{i\omega t} \quad (2.11)$$

と書ける。第一章の Bloch 方程式で示した通りこの磁化は時定数  $T_2$  に応じて減少していくが、ここでは  $T_2$  は十分に長いものとし減衰項を省略する。次に、静磁場を  $B_0$ 、線形な傾斜磁場を  $\mathbf{G}$ 、核の位置ベクトルを  $\mathbf{r}$  とすると、

$$B_z = B_0 + \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} \quad (2.12)$$

となる。ここで静磁場と傾斜磁場は  $z$  方向にかかっているものとした。傾斜磁場により Larmor 周波数は位置ベクトル  $\mathbf{r}$  に応じて変化するため、

$$\omega = \gamma(B_0 + \mathbf{G} \cdot \mathbf{r}) \quad (2.13)$$

となる。ここで  $\gamma$  は核固有の磁気回転比である。つぎに、 $z$  軸に対して  $\omega = \gamma B_0$  で回転する座標系を考えると 2.11 は、

$$\mathbf{M}_{x,y} = M_0 e^{-i\gamma \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} t} \quad (2.14)$$

となる。これを  $\psi(\mathbf{r}, t)$  とおくとその時間微分は、

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} = -i\gamma \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} M_0 e^{-i\gamma \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} t} = -i\gamma \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} \psi \quad (2.15)$$

と書ける。この式を区間  $t=0$  から  $t$  で積分すると、

$$\psi = A(0) e^{-i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{F}(t)} \quad (2.16)$$

が得られる。ここで、

$$\mathbf{F}(t) = \int_0^t \mathbf{G}(t') dt' \quad (2.17)$$

であり、境界条件を  $\psi(0) = A(0)$  と置いた。上式では分子拡散は考慮されていないが、実際には

Fick の第二法則から  $\psi$  は

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \psi}{\partial \mathbf{r}^2} = D \nabla^2 \psi \quad (2.18)$$

となり、従って式 2.15 は

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} = -i\gamma \mathbf{G} \cdot \mathbf{r} \psi + D \nabla^2 \psi \quad (2.19)$$

と書き直される。拡散項により  $A$  は時間に依存するため、このことを踏まえて式 2.16 を書き直すと、

$$\psi = A(t) e^{-i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{F}(t)} \quad (2.20)$$

となる。さらに、図.2.2 に示す  $t = \tau$  で  $\pi$  パルスを受けた磁化のモーメントは逆向きになるため [4] 式 2.20 は、

$$\begin{aligned} \psi &= A(t) e^{-i\gamma \mathbf{r} \cdot (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})}, \\ \text{if } \xi &= +1 \quad \text{for } 0 < t < \tau \\ \xi &= -1 \quad \text{for } t > \tau \end{aligned} \quad (2.21)$$

となる。ここで  $\mathbf{f} = \mathbf{F}(\tau)$  とした。従って式 2.21 の時間微分以下のように書ける。

$$\begin{aligned} \frac{\partial \psi}{\partial t} &= \frac{dA(t)}{dt} e^{-i\gamma \mathbf{r} \cdot (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})} \\ &\quad - A(t) i\gamma \mathbf{r} \cdot \left( \frac{d\mathbf{F}(t)}{dt} + (\xi - 1) \frac{d\mathbf{f}}{dt} \right) e^{-i\gamma \mathbf{r} \cdot (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})}, \end{aligned} \quad (2.22)$$

ここで、

$$\frac{d\mathbf{F}(t)}{dt} = \mathbf{G}(t), \quad \frac{d\mathbf{f}}{dt} = 0,$$

である。さらに、簡略化するため、

$$\phi = -i\gamma \mathbf{r} \cdot (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})$$

と置くと式 2.22 は

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} = \frac{dA(t)}{dt} e^{\phi} - A(t) i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{G}(t) e^{\phi} \quad (2.23)$$

となる。

次に、式 2.19 の拡散項について 2.21 を代入し整理すると、

$$\begin{aligned} D \nabla^2 A(t) e^{\phi} &= DA(t) \nabla^2 e^{\phi} \\ &= DA(t) [\gamma (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})] \nabla e^{\phi} \\ &= -DA(t) [\gamma (\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})]^2 e^{\phi} \end{aligned} \quad (2.24)$$

となる。式 2.24 を式 2.19 に代入し、整理すると、

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} = -A(t)i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{G}e^{\phi} - DA(t)[\gamma(\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})]^2 e^{\phi} \quad (2.25)$$

が得られる。

式 2.23 と式 2.25 から、

$$\frac{dA(t)}{dt}e^{\phi} - A(t)i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{G}(t)e^{\phi} = -A(t)i\gamma \mathbf{r} \cdot \mathbf{G}e^{\phi} - DA(t)[\gamma(\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})]^2 e^{\phi}, \quad (2.26)$$

整理すると、

$$\frac{dA(t)}{dt} = -A(t)D[\gamma(\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})]^2 \quad (2.27)$$

が得られる。これを変数分離して区間  $t = 0$  から  $2\tau$  で積分すると、

$$\int_{A(0)}^{A(2\tau)} \frac{dA(t)}{A(t)} = -D\gamma^2 \int_0^{2\tau} [(\mathbf{F}(t) + (\xi - 1)\mathbf{f})]^2 dt, \quad (2.28)$$

区間  $0-\tau$  と  $\tau-2\tau$  で分割すると  $\xi$  はそれぞれ  $+1, -1$  となり最終的に、

$$\begin{aligned} -\frac{1}{D\gamma^2} \ln \left( \frac{A(2\tau)}{A(0)} \right) &= \int_0^{\tau} \mathbf{F}(t)^2 dt + \int_{\tau}^{2\tau} (\mathbf{F}(t)dt - 2\mathbf{f})^2 dt \\ &= \int_0^{\tau} \mathbf{F}(t)^2 dt + \int_{\tau}^{2\tau} (\mathbf{F}(t)^2 - 4\mathbf{f} \cdot \mathbf{F}(t) + 4\mathbf{f}^2) dt \\ &= \int_0^{\tau} \mathbf{F}(t)^2 dt + \int_{\tau}^{2\tau} (\mathbf{F}(t)^2 dt - 4\mathbf{f} \cdot \int_{\tau}^{2\tau} \mathbf{F}(t)dt + 4\mathbf{f}^2(2\tau - \tau)) \\ &= \int_0^{2\tau} \mathbf{F}(t)^2 dt - 4\mathbf{f} \cdot \int_{\tau}^{2\tau} \mathbf{F}(t)dt + 4\mathbf{f}^2\tau \end{aligned} \quad (2.29)$$

が得られる。次に、 $\mathbf{G}(t)$  をパルスシーケンスに従って以下の 5 段階に分割し、

$$\begin{aligned} \mathbf{g}_0 &\text{ when } 0 < t < t_1, \\ \mathbf{g}_0 + \mathbf{g} &\text{ when } t_1 < t < t_1 + \delta < \tau, \\ \mathbf{g}_0 &\text{ when } t_1 + \delta < t < t_1 + \Delta > \tau, \\ \mathbf{g}_0 + \mathbf{g} &\text{ when } t_1 + \Delta < t < t_1 + \Delta + \delta < 2\tau, \\ \mathbf{g}_0 &\text{ when } t_1 + \Delta + \delta < t \leq 2\tau, \end{aligned} \quad (2.30)$$

式 2.29 を定積分する。ここで、 $\mathbf{g}$  は印加する傾斜磁場であり、矩形波とする。 $\mathbf{g}_0$  は測定上避けら

れない不均一磁場であり、時間に依存せず一定とする。 $\mathbf{F}(t)$  はそれぞれの区間に従って、

$$\begin{aligned}
\mathbf{F}_1(t) &= \int_0^{t_1} \mathbf{g}_0 dt \quad \text{for } 0 < t < t_1, \\
\mathbf{F}_2(t) &= \mathbf{F}_1(t_1) + \int_{t_1}^{t_1+\delta} (\mathbf{g}_0 + \mathbf{g}) dt \quad \text{for } t_1 < t < t_1 + \delta < \tau, \\
\mathbf{F}_3(t) &= \mathbf{F}_2(t_1 + \delta) + \int_{t_1+\delta}^{t_1+\Delta} \mathbf{g}_0 dt \quad \text{for } t_1 + \delta < t < t_1 + \Delta > \tau, \\
\mathbf{F}_4(t) &= \mathbf{F}_3(t_1 + \Delta) + \int_{t_1+\Delta}^{t_1+\Delta+\delta} (\mathbf{g}_0 + \mathbf{g}) dt \quad \text{for } t_1 + \Delta < t < t_1 + \Delta + \delta < 2\tau, \\
\mathbf{F}_5(t) &= \mathbf{F}_4(t_1 + \Delta + \delta) + \int_{t_1+\Delta+\delta}^{2\tau} \mathbf{g}_0 dt \quad \text{for } t_1 + \Delta + \delta < t \leq 2\tau,
\end{aligned} \tag{2.31}$$

となる。ここで、式 2.29 の右辺の 3 項を別々に書き下すと、

$$\begin{aligned}
\int_0^{2\tau} \mathbf{F}(t)^2 dt &= (8g_0^2\tau^3 + 24\delta gg_0\tau^2 + 24\delta^2 g^2\tau - 6\delta gg_0t_1^2 \\
&\quad + ((-6\delta^2 - 6\Delta\delta)gg_0 - 12\delta^2 g^2)t_1 + (-2\delta^3 - 3\Delta\delta^2 - 3\Delta^2\delta)gg_0 \\
&\quad + (-7\delta^3 - 9\Delta\delta^2)g^2)/3,
\end{aligned} \tag{2.32}$$

$$\begin{aligned}
\int_{\tau}^{2\tau} \mathbf{F}(t) dt &= -6g_0^2\tau^3 - 18\delta gg_0\tau^2 + (4\delta gg_0t_1 + (2\delta^2 + 4\Delta\delta)gg_0 - 12\delta^2 g^2)\tau \\
&\quad + 4\delta^2 g^2 t_1 + (2\delta^3 + 4\Delta\delta^2)g^2,
\end{aligned} \tag{2.33}$$

$$4\mathbf{f}^2\tau = 4\mathbf{F}(\tau)^2\tau = 4g_0^2\tau^3 + 8\delta gg_0\tau^2 + 4\delta^2 g^2\tau, \tag{2.34}$$

となる。式 2.32,2.33,2.34 の和を取り整理すると式 2.29 は、

$$-\frac{1}{D\gamma^2} \ln\left(\frac{A(2\tau)}{A(0)}\right) = g^2\delta^2(\Delta - \delta/3) \tag{2.35}$$

と書け、最終的に以下の Steskal-Tanner の式が得られる。

$$\frac{A(2\tau)}{A(0)} = e^{-(\gamma g \delta)^2 (\Delta - \delta/3) D}. \tag{2.36}$$

### 対流と放射減衰の抑制

一般的な NMR 測定では外径が 5mm、内径が 4.9mm 程度の試料管がよく使用される。しかし、径の大きい試料管では温調の際に対流が発生してしまい拡散係数測定に影響を与えてしまう。細いガラスキャピラリーをサンプル管として使用することで対流を抑制することが出来る [7,8]。他に、Shigemi 管と呼ばれる試料管を使用することで対流を抑制する手法もある [9]。本研究では外径 2mm、内径約 1.8mm のキャピラリーを通常の 5mm 管に固定して挿入することで測定を行った。水などの粘性の低い試料の場合はキャピラリーの片側をバーナーで封緘し、試料を入れたの

ちもう一方をバーナーかパテで封緘した。粘性が高い試料の場合は両端を開放した状態でサンプルに触れさせ、シリンジで吸引するなどしてサンプル管に入れ、両側をパテで封管した。

キャピラリーを挿入する 5mm 管を Fluorinert で満たすことで熱伝導率と質量を増やし測定中のゆらぎが少ないようにした。Fluorinert は炭化水素のプロトンをフッ素に置換したものであり、プロトンの測定においてシグナルを乱すことがない。いくつかの種類があるが、本研究では 3M 社の FC-40 を使用した。

Table 2.1 Self-diffusion coefficients of six standard liquids at various temperatures<sup>[10]</sup>.

Liquid	$T/^\circ\text{C}$	$D/10^{-9}\text{m}^2\text{s}^{-1}$	Liquid	$T/^\circ\text{C}$	$D/10^{-9}\text{m}^2\text{s}^{-1}$
Water	25	2.299	DMSO	25	0.730
	35	2.895		35	0.889
	40	3.222		45	1.069
	55	4.444		55	1.264
Cyclohexane	25	1.424	Tetradecane	25	0.520
	35	1.694		35	0.642
	45	2.010		45	0.776
	55	2.352		55	0.920
Dioxane	25	1.089	Pentanol	25	0.286
	35	1.305		35	0.391
	45	1.561		45	0.532
	55	1.820		55	0.700

表 2.1 に標準的な液体の拡散係数を纏めた。ほとんどの測定では  $25^\circ\text{C}$  における水の拡散係数で装置の傾斜磁場強度を校正し、測定を行なった。装置温度は Ethylene Glycol を用いて校正を行なった。

本研究で扱った純水や水の多い系では放射減衰 (Radiation Damping) の影響に注意する必要がある。このようなプロトンが極めて多い系では  $90^\circ$  パルスが切られた後も、そのシグナルの大きさからプロトンが rf コイルに影響を与えてしまい、rf コイルに誘導された電流がまた試料に影響を与えるといった現象が起こる。これを放射減衰と呼ぶ。NMR 緩和時間を本来の値より小さくしてしまい、スペクトルの線形も歪めてしまう。また、普通パルス幅・パワーとピーク強度は sin 波形を描くためその極大値から  $90^\circ$  パルスを決定できるが、放射減衰の影響が強い系では歪な波形になってしまうため  $90^\circ$  パルスを決定できず、決定できたとしても本来の  $90^\circ$  パルスの役割を果たせるかは疑問が残る。放射減衰現象の発見は古く、1954 年には Bloembergen らにより定量的な評価が行われている<sup>[11]</sup>。しかし、現在でも放射減衰の本質的な解決法はなく<sup>[12]</sup>、状況に応じていくつかの手法をつかいはける必要がある<sup>[13-15]</sup>。最も単純な解決策は溶質がプロトンを多

く含むのなら濃度を下げ、溶媒を完全に重水素化溶媒に置き換えることである。しかし、蛋白質などの大分子の 2 次、3 次構造を調べる際には重水素化溶媒は構造を変化させてしまう恐れがあるし、本研究で行なうような拡散係数や緩和時間も変化させてしまうため物性測定においてこの手法は使えない。NMR 装置の共鳴周波数が上がり感度が高くなるにつれ放射減衰の影響も増すため、今後も高分解能 NMR 測定において重要な課題となるだろう。

本研究では、Price ら<sup>[16]</sup>が報告した Q-switch 法を参考に、検出コイルと共鳴回路の Q 値を低下させることで測定を行い放射減衰の影響を可能な限り減らすことで一連の測定を行った。Q 値を低下させたため感度も低下したが、水系では十分な感度を達成できた。

### 測定装置

本研究では Bruker 社製 Avance 400WB NMR を使用した。プローブには Bruker 社製 Smart-probe と Diff50 probe を使用した。一般的な溶液測定や二次元 NMR 測定、緩和時間測定には Smartprobe を用いた。拡散係数測定には Diff50 probe を使用した。それぞれのプローブの保証測定温度範囲は -50 から 60°C であった。Diff50 probe の最大傾斜磁場強度は 2300gauss/cm であり、試料の緩和時間にも寄るが  $10^{-5}$  から  $10^{-14}$ m<sup>2</sup>/sec 程度の範囲での拡散係数測定が行えた。1 次元、2 次元フーリエ変換、位相・ベースライン補正、ピークの化学シフト値・積分強度などの基本的な解析は Bruker 社製 Topspin 3.2pl5 で行なった。

## 参考文献

- [1] Robert H. Cole. Evaluation of dielectric behavior by time domain spectroscopy. I. Dielectric response by real time analysis. *The Journal of Physical Chemistry*, 79(14):1459–1469, jul 1975.
- [2] S. Mashimo, R. Nozaki, S. Yagihara, and S. Takeishi. Dielectric relaxation of poly(vinyl acetate). *The Journal of Chemical Physics*, 77(12):6259–6262, dec 1982.
- [3] Robert H. Cole, Satoru Mashimo, and Paul Winsor. Evaluation of dielectric behavior by time domain spectroscopy. 3. Precision difference methods. *The Journal of Physical Chemistry*, 84(7):786–793, apr 1980.
- [4] E. L. Hahn. Spin echoes, 1950.
- [5] E O Stejskal and J E Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependant field gradient. *The Journal of chemical physics*, 42(1):288–292, 1965.
- [6] Philip W. Kuchel, Guilhem Pagès, Kaz Nagashima, Sendhil Velan, Vimalan Vijayaragavan, Vijayasarithi Nagarajan, and Kai Hsiang Chuang. Stejskal-tanner equation derived in full. *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, 40A(5):205–214, sep 2012.
- [7] Takashi Iwashita, Tsuyoshi Konuma, Erisa Harada, Shoko Mori, and Kenji Sugase. Use of glass capillaries to suppress thermal convection in NMR tubes in diffusion measurements. *Magnetic Resonance in Chemistry*, (April):729–733, 2016.
- [8] M Holz and H Weingartner. Calibration in accurate spin-echo self-diffusion measurements using  $^1\text{H}$  and less-common nuclei. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 92(1):115–125, mar 1991.
- [9] Kee-Choo Chung, Hyo-Yeon Yu, and Sang-Doo Ahn. Convection Effects on PGSE-NMR Self-Diffusion Measurements at Low Temperature: Investigation into Sources of Induced Convective Flows. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(6):1970–1974, jun 2011.
- [10] Manfred Holz, Stefan R. Heil, and Antonio Sacco. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate  $^1\text{H}$  NMR

- PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742, 2000.
- [11] N Bloembergen and R Pound, V. Radiation Damping in Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review*, 95(1):8–12, 1954.
- [12] V V Krishnan and Nagarajan Murali. Radiation damping in modern NMR experiments: progress and challenges. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 68:41–57, jan 2013.
- [13] W. E. Maas, F. H. Laukien, and D. G. Cory. Suppression of Radiation Damping by Q Switching during Acquisition, 1995.
- [14] a K Khitrin and Alexej Jerschow. Simple suppression of radiation damping. *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 225:14–6, dec 2012.
- [15] Bilgin Zengin, Mehmet Zafer Koylu, Sibel Korunur, and Ali Yilmaz. Elimination of radiation damping effects from the nmr relaxation curves of H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O mixtures containing protein and ions. *Chinese Journal of Physics*, 51(4):692–699, 2013.
- [16] William S. Price and Markus Walchli. NMR diffusion measurements of strong signals: the PGSE-Q-switch experiment. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 40(13):S128–S132, dec 2002.

## 第3章

# リポソーム/水分散液における水分子ダイナミクス

### 3.1 背景

リン脂質分子のような両親媒性分子は、水中でミセルなどの構造を形成することが知られている。こういった凝集構造は、温度、濃度、および鎖長、頭部基の極性などの化学構造に依存し、適切な条件においてはリン脂質は小胞構造、いわゆるリポソームを示す<sup>[1]</sup>。リポソームは生体膜モデルとしてよく知られており、その膜特性を様々な形で制御することができるため、化粧品や臨床分野に既に応用されている。リポソーム膜の移動度、流動性、柔軟性、および透過性などの動的な特性は、リン脂質の種類、温度、pH などによって決定され、僅かな条件の違いが大きな特性の変化を示す。さらに、リン脂質膜はある温度で相転移をすることが知られており、相転移の前後で動的な特性が大きく変化することが知られている。また、リン脂質はいくつかの種類の親水基または疎水基を有するので、リン脂質の種類およびこれらの混合比を選択することによって膜の特徴を調節することができる。こういった特徴から、リポソームは様々な形で応用されており、今後の発展が期待されている。臨床および医薬分野では数多くの研究が行われているが<sup>[2,3]</sup>、リン脂質膜の相転移に伴う水と脂質二重層の共同的なダイナミクスや動的構造に関する報告は少ない。大きな要因の一つとして、水などの分子運動は極めて短い特性時間をもつため、観測が困難なことがあげられる<sup>[4]</sup>。

Stejskal ら<sup>[5]</sup>によって初めて報告された Pulsed Field Gradient(PFG) NMR では分子拡散現象を観測することができる。この手法は細胞系<sup>[6,7]</sup>や、分散系<sup>[8-10]</sup>、生体<sup>[11-13]</sup>などに応用可能であり、NMR 信号が得られる核種であればあらゆる分子の拡散係数を決定することができる。他に拡散係数を測定する手法として、動的光散乱法(DLS)や、X線、中性子線散乱などの手法が知られているが、PFG-NMR 法ではそれらに比べ非侵襲的な測定が行なえ、また、濁度や分散状

態の不均一性に影響を受けにくく、水分子のような極めて小さな分子であっても分子拡散現象を観測できる。さらに、拡散現象を観測する時間域を変化させることで、周囲の空間によって運動が制限される”制限拡散”<sup>[8]</sup> についての情報を得ることも出来る。換言すれば、制限拡散は小さな分子の拡散現象をプローブとすることで空間に関する情報を得ることが出来る。

一般的な NMR 測定では水分子の割合が多いと Radiation Damping(RD)<sup>[14]</sup> などの影響により正確な分子ダイナミクスを測定することは難しいが、PFG を使うことで RD の影響を小さくすることも出来る。こういった手法を用いることで、リン脂質/水系における脂質分子の異方性拡散や構造解析に関する研究が多数報告されているが<sup>[15,16]</sup>、これらの報告では水分子自体の拡散現象については十分に論じられていない。

本研究の一つ目の目的は、リポソーム分散液における水分子の拡散挙動を数ミリ秒から数百ミリ秒の観測時間域で観測することで、リポソームによって引き起こされる水の制限拡散現象を特徴づけることである。もう一方の目的はリン脂質の相転移による水分子ダイナミクスがどのような影響をうけるか検証することであり、相転移温度を含むように 25°C から 50°C の温度範囲で測定を行なった。以上の目的はリポソームとそれを構成するリン脂質の動的構造の理解を深め、その知見は応用的な分野でも適用可能であることが期待できる。

## 3.2 実験

### 3.2.1 サンプル調製

リン脂質として 41°C に相転移温度  $T_m$  を持つ<sup>[4]</sup>1,2-dipalmitoyl-rac-glycero-3-phosphocholine (DPPC, Mw=734.1) を用いた。DPPC は Sigma-Aldrich 社から購入し、それ以上の精製等を行うことなく使用した。溶媒として超純水 (比抵抗 18.2M $\Omega$ , Simplicity UV, Millipore) を使用し、3wt% の DPPC/水分散液を調製し、70°C に加熱しボルテックスで十分に攪拌させた。

十分に DPPC を分散させたのち、エクストルーダー (日油リポソーム社製) を用いた押し出し法でリポソームの粒径を均一にした。フィルターとして 0.4 $\mu\text{m}$  と 0.05 $\mu\text{m}$  のポリカーボネート製フィルター (Nuclepore, Track-Etch 社) を使用し、窒素ガスで加圧しながらそれぞれのフィルターを 3 回透過させることで、粒径 50nm の一枚膜リポソーム/水分散液を調製した。ここで得られたサンプルを超純水で希釈することで 3.0 から 0.1wt% のリポソーム/水分散液を得た。

### 3.2.2 PFG-NMR 法測定

PFG-NMR 法測定は 400MHz の NMR(Ascend 400WB, Bruker 社) に Diff 50 プローブ (Bruker 社) と  $^1\text{H}$  コイルを使用することで行なった。測定パルスシーケンスとして、PFG Spin Echo(SE) 法<sup>[5]</sup>を用い、最大で 1200gauss/cm まで傾斜磁場強度を変化させることで測定を行なった。図.3.1 に PFG-SE シーケンスを示す。ここで、 $\Delta$  は拡散時間、 $\delta$  は傾斜磁場印加時間、 $g$  は傾斜磁場強度、 $\pi/2$  は  $90^\circ$  パルス、 $\pi$  は  $180^\circ$  パルスであり、拡散時間  $\Delta$  は 5 から 200ms の間で変化させ、傾斜磁場印加時間  $\delta$  は 1ms で固定した。得られた NMR 信号の傾斜磁場強度依存性を以下の Stejskal-Tanner の式<sup>[5]</sup>を用いて解析することで拡散係数  $D$  を得た。

$$\ln \left( \frac{A(g)}{A(0)} \right) = -(\gamma g \delta)^2 (\Delta - \delta/3) D \quad (3.1)$$

ここで、 $A(g)$  は傾斜磁場強度  $g$  における信号強度、 $A(0)$  は一点目の信号強度である。また、 $\gamma$  は核固有の磁気回転比であり、ここでは水素原子の磁気回転比とする。一般に、上式の右辺の  $D$  以外のパラメータを総称して B-value と呼ぶ。

試料管として 1.8mm 径のガラスキャピラリーを使用し、4cm 程度の液高になるよう調製したサンプルを入れた。一つの測定あたり傾斜磁場強度を変化させることで 128 個のプロットを得た。積算回数は 16 回とした。

また、測定温度は相転移温度である  $41^\circ\text{C}$  を挟むように  $25^\circ\text{C}$  から  $50^\circ\text{C}$  の範囲で測定を行なった。 $33^\circ\text{C}$  から  $45^\circ\text{C}$  の間では  $1^\circ\text{C}$  刻み、それ以外は  $5^\circ\text{C}$  刻みで温度を変化させ測定を行なった。水分子の拡散現象を解析するため、得られた NMR スペクトルの OH ピークについてのみ解析を行い、拡散係数を決定した。

## 3.3 結果と考察

### 3.3.1 二成分解析

図.3.2 に 3wt% の DPPC/水分散系、測定温度  $25^\circ\text{C}$ 、拡散時間 20ms における測定結果を示す。Stejskal-Tanner の式から片対数グラフにおける傾きが拡散係数となることがわかるが、図.3.2 は途中で屈曲した減衰過程を示すため、単一成分の拡散係数では解析することができない。そこで、2成分の拡散係数を仮定し、拡散係数の大きい成分と小さい成分をそれぞれ fast 成分、slow 成分として解析を行なった。

図.3.2 の条件における拡散係数の値は fast 成分で  $2.152 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{sec}$ 、slow 成分で  $6.842 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{sec}$  であった。fast 成分の値は  $25^\circ\text{C}$  における純水の拡散係数  $2.299 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{sec}$ <sup>[17]</sup>

に極めて近い値を示したことから分散液中の自由水に起因するものと考えられる。一方で slow 成分は fast 成分よりも三桁程度低い値を示したことから、リポソーム及びリン脂質により運動を制限された水に起因するものと考えられる。

### 3.3.2 制限拡散

図.3.3 に濃度 3.0 から 0.1wt% のリポソーム/水分散液の温度 25°C、拡散時間 20ms における減衰過程を示す。図.3.3 の slow 成分と fast 成分の切片の比はそれぞれの成分の割合と考えることができることから、DPPC 濃度の減少は slow 成分の水の減少と対応していることがわかる。これらの結果を解析したものを図.3.4 に示す。図.3.4 から DPPC 濃度が小さくなると fast、slow 両成分の拡散係数も増大することがわかる。

ここで、PFG-NMR 法で得られた拡散係数はある拡散時間における見かけの拡散時間であると考えることができる。従って、DPPC の濃度増加すなわちリポソーム粒子の数密度が増加することによって水-リポソーム、リポソーム-リポソームの衝突や相互作用の頻度が増え、見かけの拡散係数が減少したものと考えられる。図.3.5 に濃度 3wt% と 1wt% の fast,slow 成分の拡散時間依存性を示す。明らかに拡散係数は減少傾向にあるが、サンプルそのものの状態は拡散時間に対して変化していないため、ここで減少しているものは見かけの拡散係数であると考えられる。このような傾向を一般に制限拡散<sup>[8]</sup>と呼ぶ。図.3.5a に示す fast 成分の拡散時間依存性はそれぞれの濃度で異なる傾向を示した。上で述べたように fast 成分は分散液中の自由水の運動を反映しているものと考えられ、この成分の拡散時間依存性はリポソーム-水間の衝突頻度を反映していると考えられる。明らかに DPPC 濃度が大きいほうが衝突頻度は増加するものと考えられ、図.3.5a におけるそれぞれの濃度の減衰過程からは衝突頻度に関する情報が反映されていると考えられる。

興味深いことに、slow 成分は両方の濃度で同一の減衰過程を示した。slow 成分はリポソーム膜に運動を制限された水であるため、その拡散時間依存性はリポソーム-リポソーム間の衝突頻度を反映していると考えられる。

この両方の成分の傾向は以下のような推定をすることで説明することができる。まず、平均リポソーム粒子間距離  $\bar{l}$  とある拡散時間における平均拡散距離を  $\bar{r}$  とする。DPPC の密度は 0.94g/ml<sup>[18]</sup>、膜厚は 8nm<sup>[19]</sup>、リポソームの粒径は 50nm であることから、平均粒子間距離  $\bar{l}$  は 1wt% で 80.8nm、3wt% で 50.6nm であると見積もられた。平均拡散距離  $\bar{r}$  は拡散時間  $t$  と拡散係数  $D$  には以下の関係があり、

$$\bar{r} = \sqrt{6Dt} \quad (3.2)$$

ここから  $\bar{r}$  を一意に決定できる。25°C の純水の拡散係数  $D_{wat}$  を  $2.299 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{sec}$ <sup>[17]</sup> とし、

粒径 50nm のリポソーム粒子の拡散係数は以下の Stokes-Einstein 式から決定できる。

$$D_{lip} = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (3.3)$$

ここで  $k_B$  はボルツマン定数、 $T$  は絶対温度、 $\eta$  は溶媒の粘性、 $a$  は粒子の半径である。粘性を 25°C における水の粘性として上式から計算すると  $D_{lip}$  は  $9.81 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{sec}$  と求められた。 $D_{wat}$  と  $D_{lip}$  からそれぞれの平均移動距離は  $16.6\mu\text{m}$ 、 $1.08\mu\text{m}$  と見積もられた。これらの値から衝突頻度  $\bar{r}/\bar{r}$  と定義し、水-リポソーム、リポソーム-リポソーム間の衝突頻度をそれぞれ  $R_{wat}$ 、 $R_{lip}$  として、時間依存性を計算した結果を図.3.6 に示す。 $R_{wat}$  は本研究の測定時間域において、1wt% と 3wt% で有意に異なる値を示した。一方で、 $R_{lip}$  には殆ど衝突頻度に差が見られなかったことから、リポソーム粒子と協同運動をしている水分子であると考え、図.3.5 の slow 成分の減衰過程には濃度依存性が認められなかったことを説明できる。また、リポソーム膜内外の水の行き来は今回の測定時間域よりも十分に短い数百  $\mu\text{sec}$  域で生じているため<sup>[20]</sup>、膜内外の水は今回の測定から区別することが出来ない。従って、slow 成分はリポソーム粒子に水和した水に起因すると考えられる。

### 3.3.3 温度依存性と相転移

図.3.7 に拡散時間 5ms、濃度 3wt% のリポソーム/水分散液の減衰過程の温度依存性を示す。slow 成分の強度は温度の増加に従って減少していくことがわかるが、41°C と 42°C の間で大きなギャップが認められる。この急激な slow 成分、つまり水和水の減少は相転移温度  $T_m = 41^\circ\text{C}$  と明確に関連していると言え、相転移温度では水和水が急激に減少することが示唆されている。この結果を解析し、得られた拡散係数を図.3.8 に示す。ここで、図.3.8a には純水の拡散係数の温度依存性<sup>[17]</sup>、図.3.8b には Stokes-Einstein 式から決定した 50nm のリポソーム粒子の拡散係数を重ねて示す。

図.3.8a から fast 成分は相転移温度までは純水と同じような温度依存性を示すことがわかる。換言すれば両者は等しい活性化エネルギーを持っていると考えられ、この結果は fast 成分は分散液中の自由水であるとした上の考察と矛盾しない。また相転移温度以上で温度依存性が変化することから、リン脂質のダイナミクスも一部反映されていると考えられる。

図.3.8b に slow 成分の拡散係数の温度依存性と、粒径を 50nm として Stokes-Einstein 式から求めたリポソームの拡散係数を示す。相転移温度以下においては、slow 成分はリポソームと同程度の値をもち、その温度依存性も同様の傾向を示した。一方で、相転移温度を超えると急激な増加傾向を示し、リポソーム粒子の拡散係数とはまったく異なる傾向を示した。一般に、リン脂質は相転移温度を超えると流動性が増し、膜が柔らかくなることが知られている。従って、slow 成

分の急激な温度依存性の変化は膜の状態が変化したことにより引き起こされているものと考えられ、この結果からも slow 成分は膜に水和した水に起因しているものと結論付けられる。逆に言えば、水の動きを観測することで脂質膜の状態に関する情報が得られると言え、この知見は他のリン脂質や細胞などにも応用可能であると期待できる。

### 3.4 まとめ

PFG-NMR 法測定によりリポソーム/水分散液中において多成分の水分子の拡散現象が認められた。fast 成分、slow 成分の 2 成分を仮定し解析を行うことで拡散時間、温度、濃度依存性を特徴づけることができた。拡散時間を変化させることで制限拡散現象について解析した結果、fast 成分は水-リポソーム間の衝突、slow 成分はリポソーム-リポソーム間の衝突に関連していることが示された。さらに、純水及び純水中の 50nm の粒子の拡散係数の予測値を fast,slow 成分と比較することで、それぞれの成分は自由水、リポソームの膜に水和した水和水であることが示された。slow 成分はリン脂質の相転移温度以上で異常な傾向を示したことから、脂質膜の状態をも反映していると考えられる。以上の結果から水分子をプローブとすることで脂質膜の動的な特性を特徴づけることができた。

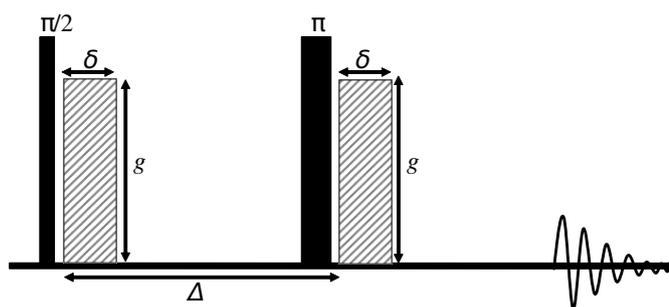


Figure 3.1 Pulsed Field Gradient Spin Echo sequence.

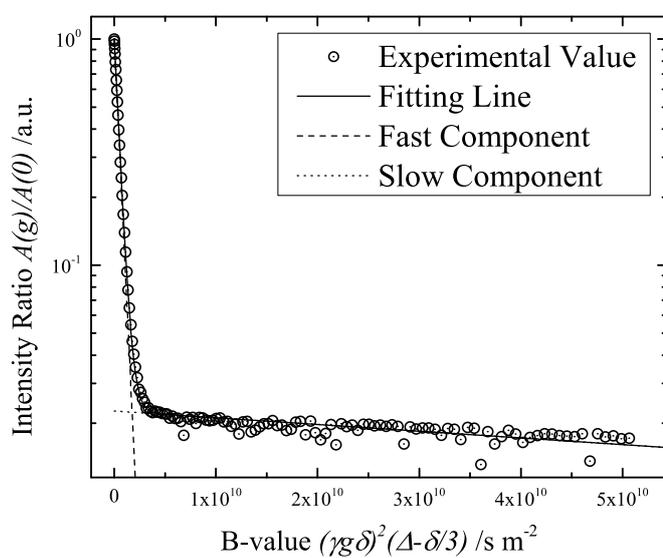


Figure 3.2 The example of bi-exponential analysis for 3 wt% liposome/water dispersion at 25 °C.

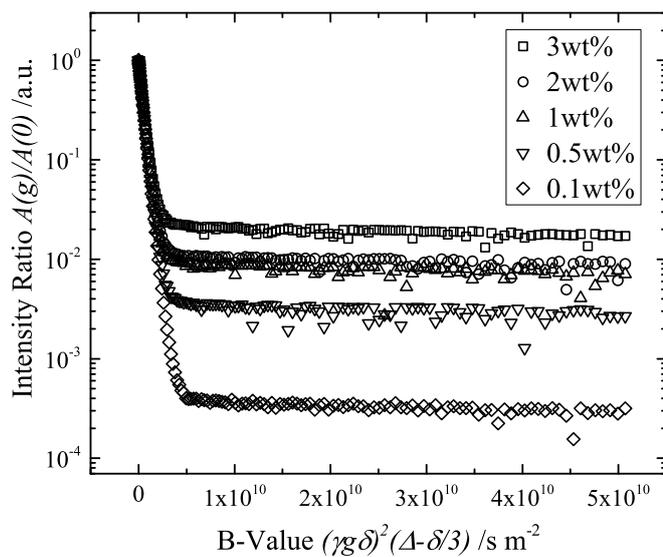


Figure 3.3 DPPC concentration dependence of decay curve.

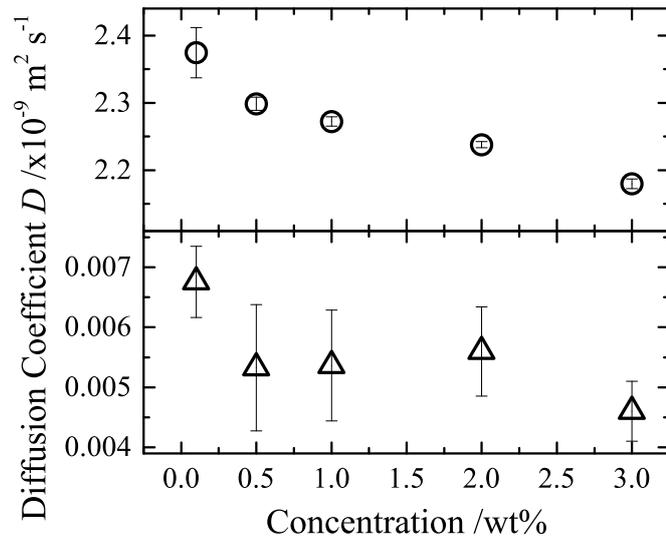


Figure 3.4 DPPC concentration dependence of the fast (circle) and slow (triangle) diffusion coefficients, respectively. Error bar indicates standard error of the fitting procedure.

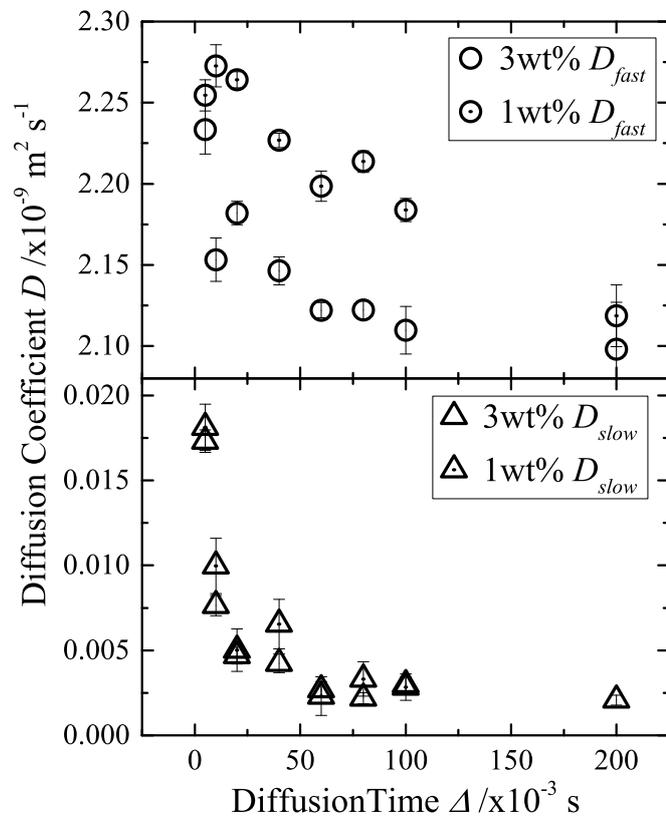


Figure 3.5 Diffusion time dependences of (a) fast and (b) slow diffusion coefficients for 3 wt% and 1 wt%. Error bar indicates standard error of the fitting procedure.

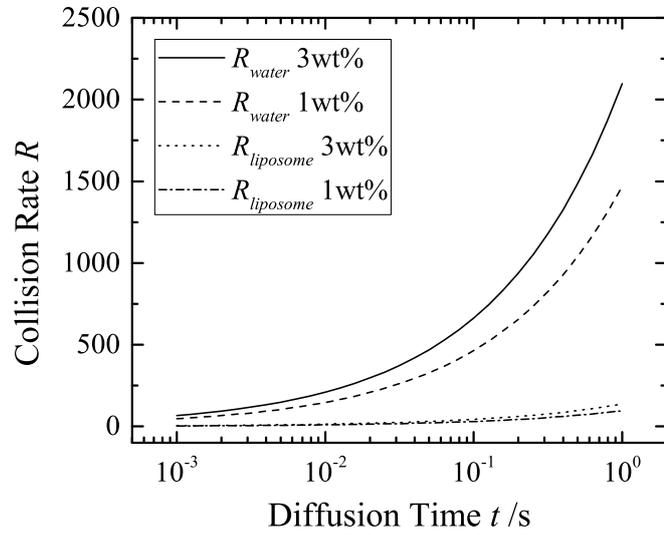


Figure 3.6 The numerical calculation of liposome-water and liposome-liposome collision rate  $R$  against diffusion time  $t$ .

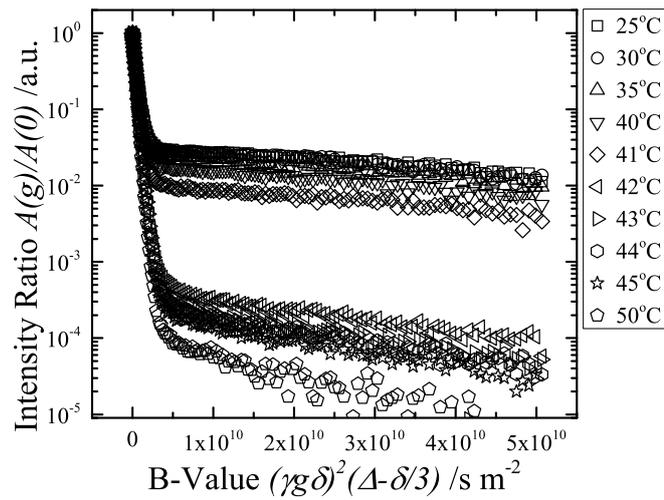


Figure 3.7 The temperature dependence of decay curve for 3 wt% liposome/water dispersion at diffusion time 5 ms.

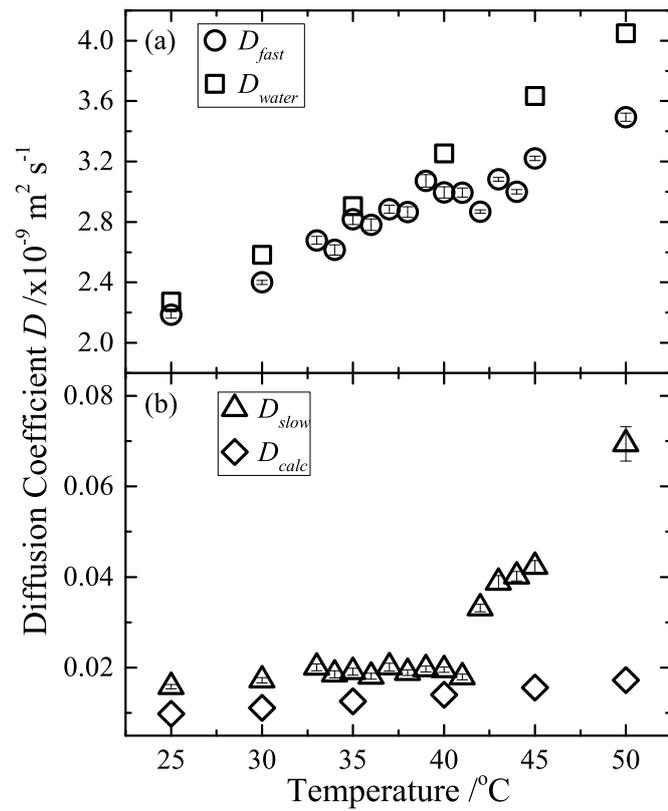


Figure 3.8 Temperature dependence of the diffusion coefficient for (a) fast component(circle), pure water(box), (b) slow component(triangle), and liposome particle(diamond) derived from Stokes-Einstein relation for 3 wt% liposome/water dispersion at diffusion time 5 ms. Error bar indicates standard error of the fitting procedure.

## 参考文献

- [1] U P Fringeli. A new crystalline phase of L-alpha-dipalmitoyl phosphatidylcholine monohydrate. *Biophysical Journal*, 34(2):173–187, 1981.
- [2] D Lasic. Novel applications of liposomes. *Trends in Biotechnology*, 16(7):307–321, jul 1998.
- [3] Shyamal Kumar Kundu, Ashish Ranjan Sharma, Sang Soo Lee, Garima Sharma, C. George Priya Doss, Shin Yagihara, Do Young Kim, Ju Suk Nam, and Chiranjib Chakraborty. Recent trends of polymer mediated liposomal gene delivery system. *BioMed Research International*, 2014, 2014.
- [4] S. K. Kundu, S. Choe, K. Sasaki, R. Kita, N. Shinyashiki, and S. Yagihara. Relaxation dynamics of liposomes in an aqueous solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015.
- [5] E O Stejskal and J E Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependant field gradient. *The Journal of chemical physics*, 42(1):288–292, 1965.
- [6] Jörg Kärger. NMR self-diffusion studies in heterogeneous systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 23(C):129–148, aug 1985.
- [7] Ki-Jeong Suh, Young-Shick Hong, Vladimir D Skirda, Vitaly I Volkov, Chung-Yung J Lee, and Cherl-Ho Lee. Water self-diffusion behavior in yeast cells studied by pulsed field gradient NMR. *Biophysical chemistry*, 104(1):121–130, 2003.
- [8] J. E. Tanner and E. O. Stejskal. Restricted Self-Diffusion of Protons in Colloidal Systems by the Pulsed-Gradient, Spin-Echo Method. *The Journal of Chemical Physics*, 49(4):1768–1777, 1968.
- [9] Jason P Hindmarsh, Jiahong Su, John Flanagan, and Harjinder Singh. PFG-NMR analysis of intercompartment exchange and inner droplet size distribution of W/O/W emulsions. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 21:9076–84, sep 2005.
- [10] M.a. Voda and J. van Duynhoven. Characterization of food emulsions by PFG NMR. *Trends in Food Science & Technology*, 20(11-12):533–543, dec 2009.

- [11] Hana Lahrech, Sonia Zoula, Chantal Re, and Michel De. In Vivo Measurement of the Size of Lipid Droplets in an Intracerebral Glioma in the Rat. *Magnetic Resonance in Medicine*, 45:409–414, 2001.
- [12] Nikolaus Nestle, Asal Qadan, Petrik Galvosas, Wolfgang Süß, and Jörg Kärger. PFG NMR and internal magnetic field gradients in plant-based materials. *Magnetic resonance imaging*, 20(7):567–573, sep 2002.
- [13] Y Qiao, P Galvosas, and P T Callaghan. Diffusion correlation NMR spectroscopic study of anisotropic diffusion of water in plant tissues. *Biophysical journal*, 89(4):2899–2905, 2005.
- [14] V V Krishnan and Nagarajan Murali. Radiation damping in modern NMR experiments: progress and challenges. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 68:41–57, jan 2013.
- [15] Holly C Gaede and Klaus Gawrisch. Lateral diffusion rates of lipid, water, and a hydrophobic drug in a multilamellar liposome. *Biophysical journal*, 85(3):1734–40, 2003.
- [16] G Orädd, G Lindblom, K Fontell, and H Ljusberg-Wahren. Phase diagram of soybean phosphatidylcholine-diacylglycerol-water studied by x-ray diffraction and  $^{31}\text{P}$ - and pulsed field gradient  $^1\text{H}$ -NMR: evidence for reversed micelles in the cubic phase. *Biophysical journal*, 68(5):1856–63, may 1995.
- [17] Manfred Holz, Stefan R. Heil, and Antonio Sacco. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate  $^1\text{H}$  NMR PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742, 2000.
- [18] J F Nagle and D A Wilkinson. Lecithin bilayers. Density measurement and molecular interactions. *Biophysical journal*, 23(2):159–75, 1978.
- [19] Dotchi Exerowa, Roumen Todorov, and Ljubomir Nikolov. Amphiphile bilayer films from DPPC: Bilayer lipid membranes and Newton black films. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 250(1-3 SPEC. ISS.):195–201, 2004.
- [20] D Huster, a J Jin, K Arnold, and K Gawrisch. Water permeability of polyunsaturated lipid membranes measured by  $^{17}\text{O}$  NMR. *Biophysical journal*, 73(August):855–864, 1997.

## 第4章

# 食品ゲル中の水分子ダイナミクス

### 4.1 背景

日本やアジア諸国で伝統的に食されているゲル状の食品として豆腐 (Soybean curd) が知られている。近年、豆腐は欧米諸国でもその低脂肪、高たんぱくな特性から欧米諸国でも食されるようになり、癌の抑止につながるという報告もある<sup>[1,2]</sup>。伝統的な豆腐の製法として、豆乳を加熱し、凝固剤として塩化マグネシウムや塩化カルシウムわずかに加えるといった手順が知られている。興味深いことに、豆腐はその調製条件によってその特性を多様に変化させることが知られている。条件として、加熱時間<sup>[3]</sup>、凝固剤濃度<sup>[4]</sup>、大豆たんぱく濃度<sup>[5,6]</sup>などがあり、異なる特性をもつゲルを容易に作成できることから、豆腐は食品ゲルのモデルとして優れていると考えられる。食品化学分野においては、既に数多くの豆腐に関する報告が成されている<sup>[7]</sup>。典型的な手法として、力学測定<sup>[6,8,9]</sup>や超音波散乱<sup>[10]</sup>によるテクスチャー評価や、電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM) や共焦点レーザー顕微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM) による微細構造の観察などがある<sup>[11-14]</sup>。これらの研究から、豆腐ゲルの構造や架橋過程のモデルはある程度わかってきており、豆腐内には数十から数百マイクロメートル程度の小胞がありその中に水が存在しているといったことが知られている<sup>[3,15]</sup>。一方で、分子の回転、並進、振動などの運動を特徴づける測定手法として核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) や誘電分光法 (Dielectric Spectroscopy, DS)、赤外分光 (FT-IR)、円偏光二色性分光<sup>[16]</sup>などが知られているが、特に水の回転や並進と言ったダイナミクスに関する報告は少なく<sup>[17,18]</sup>、豆腐ゲル中における水の動的構造は十分に知られていない。

その他のゲルと同様に、豆腐の80-90%は水によって構成されている<sup>[19]</sup>。そのため、水分量や水分子の分子レベルでの相互作用は粘弾性などといった豆腐ゲルの物性に大きな影響を与えると予測できる。しかしながら、水分子ダイナミクスの特性時間は極めて短く、例えば水分子の回転によって特徴づけられる水素結合ネットワークの生成消滅過程の特性時間は数ピコ秒程度である

ため、その観測には様々な困難がある。乾燥重量法<sup>[20]</sup>や遠心法<sup>[21]</sup>などによって豆腐の水分量を定量的に評価するといった報告は既になされているが、こういった測定では豆腐ゲルは破壊されてしまうこともあり、水分子ダイナミクスそのものを捉えることはできない。

こういった理由から非侵襲に水分子ダイナミクスを捉える測定手法が必要とされており、そこで得られた知見は工業的な応用にも役立つことが期待できる。そこで、本研究では傾斜磁場勾配 (Pulsed Field Gradient, PFG)-NMR 法と誘電分光法を併用することで、水分子の並進、回転ダイナミクスを観測することを試みた。

PFG を用いた NMR 測定技術は様々な分野で利用されている。NMR 測定において PFG はスピン系の制御能を有し、様々なパルスシーケンスに組み込まれている。PFG をスピンエコーに組み込むことで分子拡散係数の測定に応用した結果や関連する方程式は Stejskal らによって報告されている<sup>[22]</sup>。一方で、臨床医療分野では同技術は核磁気共鳴画像法 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) として利用されており、今日では臨床検査において必要不可欠なものになっている。本研究では、PFG を用いた分子拡散係数測定を行い、数十ミリ秒程度の時間域における豆腐ゲル中の水分子ダイナミクスを観測した。

誘電分光法は分子の永久双極子モーメントの配向現象を元に分子の運動性を観測する測定手法である。特に、MHz から GHz 域の誘電分光法はポリマー水溶液、蛋白質水溶液<sup>[23]</sup>、分散液や食品<sup>[24, 25]</sup>など様々な水を含む系で測定されている。Li らの NMR 緩和時間測定による報告<sup>[17]</sup>によると豆腐中には大きく分けて三種類の異なる運動性を持つ水が存在するとされている。運動性が良い順から小胞中を自由に運動する自由水、たんぱく質表面に存在する水、そしてたんぱく質に取り囲まれ運動を制限された結合水である。誘電分光法では結合水は MHz 域において観測されることが予測されるが<sup>[26, 27]</sup>、豆腐は多量のイオンを含むため、これらのイオンのダイナミクスによって水のダイナミクスが覆い隠されてしまう事がある。そこで本研究では特に自由水に着目することで、豆腐ゲルの特性と水分子ダイナミクスの関連性について明らかにしていく。過去の報告によれば 25°C における水の誘電緩和時間は 8.27 ピコ秒<sup>[28]</sup>であることが知られている。この緩和時間は水が形成する水素結合ネットワークが、水分子の回転により生成消滅を繰り返す過程の特性時間であることが知られている。この緩和過程は様々な水系の測定において特に重要であり、水分子のゆらぎによる水を含む物質の特徴づけや<sup>[29]</sup>、フラクタルの概念を導入した様々な系に適用可能なモデルが知られている<sup>[30]</sup>。

本研究では、高周波域の誘電分光法と PFG-NMR 法を併用することで豆腐及び豆乳中の水分子の回転・並進ダイナミクスを観測することを目的とする。さらに、それらの結果を相補的に解析することで既に知られている粘弾性などの物性値と比較し、新たなゲル評価手法として提案する。また、それぞれの測定手法は大きく異なる観測時間・空間域を持つが、そういった状況における分

子ダイナミクス観測がどのようなパラメータの相関として現れるか検証し、水分子の動的構造に関する知見を深める。

## 4.2 実験

### 4.2.1 サンプル調製

本研究で用いた豆腐ゲルは凝固剤を加えた豆乳を 80°C で加熱することで調製した。凝固剤として塩化マグネシウム (Wako 1st Grade, Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) を用い、その濃度は 0.4 wt% から 0.7 wt% とした。加熱時間は 10 分、30 分、60 分、120 分の間で変化させた。加熱過程を終えたあと、室温に数分間静置し粗熱を取り除いたあと測定装置にセットした。サンプルとして二種類の異なるものを用意し、一方は市販の豆乳 (たんぱく質濃度 9%)、もう一方は大豆タンパク質アイソレート (Soy protein isolate, SPI) を超純水に溶存させたものである。後者の濃度は 5, 7, 9wt% とした。SPI として Fujipro F (Fuji Oil Co., Ltd. Osaka, Japan) を用いた。Fujipro F の組成は 11S Glycinin 21%、7S Glycinin 41%、他のリボ蛋白 38%、そして 1.5% 程度のカチオンである。SPI を純水に分散させたのち、100°C で 3 分間加熱することで完全に溶存させた。これらの調製手法は Cheng らの報告<sup>[31]</sup> に基いて行われた。また、それぞれのサンプルの加熱時間、凝固剤濃度、SPI 濃度などの諸条件は表 4.1 に纏めた。

誘電分光法測定の試料として 5ml のバイアル管に豆乳を 3ml 程度入れ、豆腐ゲルを調製した。電極を接触させる表面を出来る限り滑らかにするため、加熱前の段階で泡などを可能な限り取り除いた。また、ゲル化後に離水した水はゲルの特性を反映しないため、測定直前に取り除いた。NMR 測定用の試料管にはグラスキャピラリーを用い、同様の加熱過程で調製した。

### 4.2.2 PFG-NMR 法

PFG-NMR 測定には 400MHz NMR (Ascend 400WB, Bruker, Germany) と Diff-50 プローブ (Bruker, Germany) を用い、測定温度は 25 ± 0.1°C とした。測定シーケンスとして Stimulated Echo 法<sup>[32]</sup> を使用した。傾斜磁場強度を測定変数とし、最大で 600gauss/cm まで変化させることで測定を行なった。図 4.1 に Stimulated Echo 法のパルスシーケンスを示す。ここで、 $\Delta$  は拡散時間、 $\delta$  は傾斜磁場印加時間、 $g$  は傾斜磁場強度であり、 $\pi/2$  は 90° パルスを表す。拡散時間  $\Delta$  は 20ms、傾斜磁場印加時間  $\delta$  は 1ms とした。得られた減衰過程を以下の Stejskal-Tanner の式<sup>[22]</sup> で解析し、拡散係数  $D$  を決定した。

$$\ln \left( \frac{A(g)}{A(g_0)} \right) = -(\gamma g \delta)^2 (\Delta - \delta/3) D. \quad (4.1)$$

ここで  $A(g)$  は傾斜磁場強度  $g$  におけるシグナル強度、 $A(g_0)$  は1点目の測定点におけるシグナル強度、 $\gamma$  は核固有の磁気回転比である。一般に、式 4.1 の右辺の  $D$  以外のパラメータを総称して  $B$ -value と呼ぶ。

傾斜磁場強度は純水を標準試料として  $25^\circ\text{C}$  における拡散係数が  $2.299 \times 10^{-9} \text{m}^2/\text{sec}$ <sup>[33]</sup> となるように校正した。対流を抑止するため<sup>[34,35]</sup> 1.8mm 径のガラスキャピラリーを用いて液高が約 4cm になるよう試料を入れた。この条件において試料量は約  $100\mu\text{l}$  であった。水を多量に含む試料の NMR 測定では放射減衰という現象が起きてしまうことが知られており、これを抑止するため共鳴回路の  $Q$  値をあえて下げる<sup>[36]</sup> ことで測定を行った。

### 4.2.3 誘電分光法

水のダイナミクスを観測するため GHz 域の誘電分光法測定を行なった。測定温度は  $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$  とした。周波数域測定としてベクトルネットワークアナライザ (Vector Network Analyzer, VNA) を用い、時間域測定として Time Domain Reflectometry (TDR) 法を用いた。

Agilent 製 VNA (N5230C, Agilent Technologies, CA., US) に High Performance Probe (8570E, Agilent Technologies, CA., US) と Ecal ユニット (N4693, Agilent Technologies, CA., US) を用いて 100MHz から 50GHz の間で測定を行なった。High Performance Probe を電極としてサンプルに直接接触させ、装置間はフレキシブルケーブルで接続した。校正と伝送線路の補償には、OPEN、SHORT と標準試料としてそれぞれ air、水銀、純水を使用した。

TDR 法測定では Tektronix 社製のデジタイジングオシロスコープと立ち上がり時間 12ps のパルサー (DSA8300 and 80E10 TDR module, Tektronix, OR., US) を用い、電極は 2.2mm 径、長さ 70cm のセミリジッドケーブルを用いた。ディファレンス法<sup>[37]</sup> による測定を行い、以下の式から解析を行った。

$$\epsilon_x^*(\omega) = \frac{1 + \{(cf_s)/[j\omega(\gamma d)\epsilon_s^*(\omega)]\}\rho f_x}{1 + \{[j\omega(\gamma d)\epsilon_s^*(\omega)]/(cf_s)\}\rho f_s}, \quad (4.2)$$

ここで、

$$\begin{cases} \rho & = \frac{V_s(\omega) - V_x(\omega)}{V_s(\omega) + V_x(\omega)}, \\ f_i(z_i) & = z_i \cot(z_i), \\ z_i(\omega) & = (\omega d/c) \sqrt{\epsilon_i^*(\omega)}. \end{cases} \quad (4.3)$$

であり、 $\epsilon_x^*(\omega)$  と  $\epsilon_s^*(\omega)$  は未知試料と標準試料の複素誘電率である。また、 $j$  は虚数単位、 $c$  は光速、 $\omega$  は角周波数、 $\gamma$  は電極形状に依存したの電気長、 $d$  はセル長である。 $V_x(\omega)$  と  $V_s(\omega)$  は未知試料と標準試料の反射波形 ( $R_x(t)$ 、 $R_s(t)$ ) のラプラス変換である。標準試料として比抵抗  $18.2\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$  の超純水 (Millipore, Simplicity UV) と dimethyl sulfoxide (DMSO) を用いた。文

献値等の結果と比較し、今回の TDR 測定における測定周波数域は 100MHz から 65GHz と見積もられた。

それぞれの測定は豆腐ゲル表面に電極を直接接触させることで行われた。また同一試料について、VNA 法で 3 回、TDR 法で 8 回、接触させる部分を変化させることで結果を平均化することで、ゲル表面の不均一性や取りきることの出来ないゲルから離水した水などによる影響を軽減した。

VNA、TDR から得られた複素誘電率  $\epsilon^*(\omega)$  の実部  $\epsilon'$  と虚部  $\epsilon''$  を以下の Cole-Cole 式<sup>[38]</sup> で解析することで誘電緩和パラメータを決定した。

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon' - j\epsilon'' = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{1 + (j\omega\tau)^\beta} - j\frac{\sigma_{DC}}{\epsilon_0\omega}, \quad (4.4)$$

ここで、 $\epsilon_\infty$  は光学領域の誘電率、 $\sigma_{DC}$  は直流電気伝導性分、 $\epsilon_0$  は真空の誘電率、 $\Delta\epsilon$  は緩和強度、 $\tau$  は緩和時間、そして  $\beta$  は緩和時間分布パラメータ ( $0 < \beta \leq 1$ ) である。 $\Delta\epsilon$ 、 $\tau$ 、 $\beta$  の 3 つのパラメータは誘電緩和過程を特徴づける変数として重要であり、 $\tau$  は回転運動の特性時間、 $\Delta\epsilon$  は双極子モーメントに基づくその分子の数密度、 $\beta$  は誘電損失ピークを対称に幅広にするパラメータであり分子ダイナミクスの不均一性をそれぞれ表す。ここで、純水における  $\beta$  は 1 であり、ゲル系や分散系では 1 より小さい値を持つ。それぞれの測定について、上記 3 つのパラメータを自作のカーブフィッティングソフトウェアにより決定した。

## 4.3 結果と考察

### 4.3.1 拡散係数

図 4.2 に豆乳と豆腐の  $^1\text{H-NMR}$  を示す。化学シフトは一連の測定の前に TMS を用いて校正し、水分子の OH 基由来の大きなピークが 4ppm 付近に観測された。図 4.2b に示すように、豆乳のゲル化に伴って OH 基以外の大豆たんぱく由来のピークは小さく、幅広になった。一般に知られているように、ゲル化や固体への相転移などは分子運動を制限するため、NMR  $T_2$  緩和時間が減少する<sup>[39]</sup>。NMR ピークの線形は  $T_2$  値により規定されるため、上記のようなピークの変化が認められた。本研究では水分子のダイナミクスについて検証するため、OH 基のピークについてのみ一連の解析を行なった。

図 4.3 に PFG-NMR 測定における信号強度比  $A(g)/A(g_0)$  の減衰過程を片対数グラフで示す。式 4.1 からわかるように、本図の傾きは拡散係数  $D$  と一致する。Hong ら<sup>[40]</sup> は過去の報告において豆腐中の水分子が複数の拡散成分を持つことを示したが、今回得られた結果は単一成分の傾きを示しているため、この報告とは一致しない。これは、Hong らの測定が今回の測定用よりもは

るかに分解能が低い、63MHzのベンチトップNMRによって行われたことが原因と考えられる。NMRの分解能が低かったため大豆タンパク由来のシグナルと水のシグナルを分離できなかったため多成分の拡散係数が得られたのだと考えられるが、これらは水のダイナミクスを正確に反映しているとは言えない。Liら<sup>[17]</sup>は豆腐中の水分子の $T_2$ 緩和時間が2ms程度であることを報告しており、今回の測定で用いた拡散時間20msでは結合水と自由水を分離して複数成分の拡散係数を得ることは出来ないと考えられ、これは先述の解釈とも一致する。

Stejskal-Tanner式による解析から得られた拡散係数 $D$ を表4.1、及び凝固剤濃度との関係を図4.4に纏めた。図4.4から拡散係数は凝固剤濃度の増加に伴って減少していくことがわかる。

Onoderaらの豆腐ゲルの凝固剤濃度変化に伴う構造変化に関する電子顕微鏡観測による結果から、凝固剤濃度の増加はゲルの微細構造をより細かにすることがわかっている。しかし、この凝固剤濃度依存性はある点で変化し、それ以上凝固剤濃度が増加するとそれまでの傾向とは逆に粗い微細構造を撮るようになる。この傾向は豆腐ゲルの凝固剤濃度を变化させた力学測定の結果からも支持される。すなわち、凝固剤濃度を変数として破断応力との関係を調べるとある点までは増大傾向を示すが、それ以降は減少傾向を示すようになる。本研究から得られた拡散係数も同様の傾向を示すことが予想されるが、図4.4に示すように単純な減少傾向しか認められなかったため、本研究の調製条件では微細構造や破断応力の凝固剤濃度依存性が変化する点よりも薄い領域を取り扱っていると思われる。

豆腐ゲル中の水分子の拡散係数は純水の拡散係数に近い値を示したことから、ゲル中の自由水に由来するものと考えられる。ここで、分子拡散の空間スケールを $r = \sqrt{6D\Delta}$ として計算すると約 $10\mu\text{m}$ となり、これは豆腐ゲル中の小胞の大きさに匹敵する<sup>[15]</sup>。さらに、凝固剤濃度との関係から相関係数を決定すると $-0.73$  ( $p < 0.01$ )となり、有意な負の相関が認められた。これらの結果から拡散係数の減少は、凝固剤濃度の増加がゲルの微細構造をより細かくすることで小胞の平均的な大きさが減少し、ゲル構造と水分子との衝突頻度が増えたことによって引き起こされたと考えられる。

一方で、先ほど述べた豆腐ゲルの破断応力は加熱時間の増加に伴って増大し、飽和していくが<sup>[3]</sup>、加熱時間と拡散係数の間に相関は認められなかった ( $p < 0.05$ )。従って、本研究で得られたような拡散係数の低下は凝固剤濃度に依存したゲルの微細構造の不均一性によってのみ依存すると思われる。

### 4.3.2 誘電緩和

誘電分光法から得られた結果を特徴づける手法は大きく分けて以下の二種である。一つ目は誘電率と誘電損失の関係を線形にプロットしたCole-Coleダイアグラムを描くことであり<sup>[41-43]</sup>、

緩和過程の数に対応した円弧が認められる。もう一つ目は緩和過程の数を仮定し、複素誘電率の周波数依存性を非線形最小二乗法を用いて解析することである<sup>[44]</sup>。本研究では後者の手法を採用した。

図 4.5 に VNA 測定から得られた加熱時間 10 分、凝固剤濃度 0.4wt% における豆腐ゲルの誘電緩和過程を示す。これらの結果は二つの Cole-Cole 関数を用いることで解析することができた。特に、20GHz 付近の緩和は自由水に由来することがわかっている<sup>[45]</sup>。

もう一方の緩和過程は 1GHz 付近に観測されたため、明らかに自由水とは別の成分であると考えられ、大豆タンパクによって運動を束縛された結合水に由来するものと考えられる。Miura ら<sup>[24]</sup> は広帯域誘電分光法を用いて多種の食品を測定し、20GHz にひとつ、1GHz から 10MHz にひとつの緩和が系統的に認められることを示した。報告によれば、低周波側の緩和過程は結合水若しくは変性たんぱくのマクロブラウン運動であるとされ、本研究でも同様の解釈を行えるだろう。また、直流電気伝導性はゲル中のイオンのダイナミクスを反映する。しかし、本研究の目的はゲル中の自由水ダイナミクスを解析することであるため、以降では自由水についてのみ議論する。TDR から得られた誘電緩和曲線も同様に解析を行ない、得られた結果を表 4.1 に纏めた。

図 4.6 に VNA 測定から得られた誘電緩和時間  $\tau$ 、誘電緩和時間分布パラメータ  $\beta$ 、緩和強度の凝固剤濃度依存性を示した。また、加熱時間の変化は異なるプロットで示した。リファレンスを用いた装置校正を行なったにも関わらず、3% 程度のエラーバーが認められる。これは豆腐ゲルと電極の接触面の不均一異性に由来すると考えられる。

相関分析から、誘電緩和時間  $\tau$  は加熱時間に正の相関を持ち ( $r=0.90$ ,  $p < 0.01$ )、凝固剤濃度には依存しないことがわかった。言い換えれば加熱時間の増加は水分子の運動性を低下させたと考えられる。Kohyama らの報告によれば加熱時間の増加は豆腐ゲルの破断法力を指数的に増加させるとされていることから、誘電緩和時間  $\tau$  は間接的に豆腐ゲルの破断応力を反映している。

一方で、緩和時間分布パラメータ  $\beta$  は緩和時間とは逆に、凝固剤濃度の増加に伴って減少し ( $r = -0.69$ ,  $p < 0.05$ )、加熱時間には相関を示さなかった ( $r = 0.17$ ,  $p < 0.1$ )。Levy らの報告から<sup>[46]</sup>、塩水溶液におけるイオンの増加は  $\beta$  の減少をもたらすことが知られている。しかし、イオン水溶液における  $\beta$  の減少は、塩化カリウムを 3wt% 加えたとしても 0.3 程度であり、今回の報告における傾向とは異なる。図 4.6 からわかるように、凝固剤濃度が 0.6% 程度であっても  $\beta$  は 0.96 から 0.97 まで減少している。従って、本研究で得られた  $\beta$  の減少傾向は Levy らによって報告されたものとは異なる起源を持つといえる。

一般に、何らかの影響で運動を制限された水分子の緩和時間は増大し、 $\beta$  は減少することが知られている。 $\beta$  の減少は周囲の環境により水素結合ネットワークが乱されたことにより引き起こされる。このような現象は水を含む様々な系で普遍的に認められ<sup>[47]</sup>、”スローダイナミクス”と呼

ばれる。本研究で認められたような  $\beta$  の減少も豆腐ゲルの微細構造やその不均一性によって水が束縛されたために生じたスローダイナミクスによるものであると考えられる。 $\beta$  の傾向とゲル構造の不均一性との対応は過去の報告とも矛盾しない [12]。

もう一つの誘電緩和パラメータは誘電緩和強度  $\Delta\epsilon$  であり、系の自由水量を直接反映する。しかし、図.4.6 から  $\Delta\epsilon$  と凝固剤濃度や加熱時間との対応は認められなかった。逆に言えば、自由水量は必ずしも豆腐ゲルの構造や水分子の動的な状態を反映するわけではない。

### 4.3.3 相補的解析

PFG-NMR 法と誘電分光法の観測時間域は大きく異なっており、前者は 20ms 程度、後者は 10 から 100ps 程度である。この様に観測時間域が異なる系であっても得られたパラメータには相関が認められる場合があり [25]、本研究でもこのような相補的な解析手法の適用を試みる。相補的解析例として自由水量と拡散係数の関係を図 4.7 に、 $\beta$  と拡散係数の対応を図.4.8 に示す。また、それぞれの値を表.4.1 に纏めた。

自由水量は 25°C における純水の緩和強度 73.2<sup>[28]</sup> との比から求められた。まず、図.4.7 に示す豆乳のプロットの傾向を見てみると、自由水量の減少、すなわち SPI 濃度の増加に伴って拡散係数は大きく減少している。SPI の増加は明らかに試料の粘性を増すため、この結果は理解しやすい。一方で、豆腐ゲルとについて同様に比較してみると、自由水量と拡散係数の間には大きな関連は認められない。ここで、図 4.7 の左上のプロットは自由水量が 100% に極めて近い値を示している。これは誘電分光測定において電極を試料に接触させた際に水が離水してしまい、電極周辺が水で満たされてしまったことに起因すると考えられる。ゲルの離水 (シネレシス) は接触型電極を用いて誘電分光測定の本質的な問題点であり、注意して解析を行う必要がある。従って、これらのプロットは豆腐ゲルの構造を反映しているとは言えないため以下の議論からは取り除くものとする。図中に示す実線と破線のように拡散係数と自由水量間の相関係数を求めると豆乳で 0.99、豆腐ゲルで 0.18 であったため、単純に自由水量を比較するだけでは豆腐ゲルの構造やそれを反映した水分子ダイナミクスを特徴づけることはできないことがわかる。

次に、 $\beta$  と拡散係数の逆数の関係を図.4.8 に示す。先ほどの自由水量との比較とは異なり、豆乳、豆腐のどちらにも明確な相関が認められる。また、誘電緩和時間  $\tau$  と拡散係数との関係も比較したが、豆腐ゲルにおいて相関は認められなかった。誘電緩和時間  $\tau$  は拡散係数に比べて極めて短い時間域における水分子の回転運動を反映しているため、両者に相関が認められなかったと考えられる。すなわち、拡散係数が長い時間スケール (広い空間スケール) における水分子の拡散の平均値を反映している一方で、誘電緩和時間は短い時間域の小さな空間スケールにおける局所的な運動を反映していることが示唆される。一方で、 $\beta$  に反映されるような水素結合ネットワー

クの不均一性はこれより大きな空間スケールを持つことが報告されており<sup>[48]</sup>、この視点から見れば $\beta$ が反映している空間スケールは単一の水分子というよりは水分子が複数集まった構造体の大きさである<sup>[49]</sup>。したがって、 $\beta$ が反映する空間スケールは $\tau$ のそれよりも遥かに大きく、そのため拡散係数とも相関が生じたと考えられる。

図.4.8 に示す実線と破線は豆乳と豆腐ゲルの傾向を反映しており、相関係数はそれぞれ-0.87と-0.95であり、双方に有意差があった。この相関分析の結果を表.4.2 に示す。この二つはそれぞれ異なる起源を持った相関を示していると考えられ、豆乳では SPI 分散液としてマクロ粘性の変化が反映されており、豆腐ゲルではゲルの微細構造の変化を反映している。このように、分散液とゲルといったような全く異なる系であっても  $\beta$ - $1/D$  ダイアグラムを用いた解析を行うことができ、それぞれには有意差が認められることがわかった。さらに、今回得られた結果は力学測定<sup>[3]</sup>や、電子顕微鏡観測<sup>[12]</sup>による結果とよく対応する。このような解析手法は豆腐のみならず、他の食品やゲルにも適用可能であると期待できる。

#### 4.4 まとめ

誘電分光法と PFG-NMR 法を相補的に用いることで、豆腐ゲルと豆乳中の水分子の回転と並進運動を異なる時間域において観測した。誘電緩和時間 $\tau$ と誘電緩和時間分布パラメータ $\beta$ はそれぞれ加熱時間と凝固剤濃度に依存して変化し、豆腐の破断応力と微細構造の不均一性を反映することがわかった。水分子の並進拡散係数 $D$ は $\beta$ に対応するような傾向を示したことから、ゲルの微細構造を反映していると考えられる。それぞれの結果を $\beta$ - $1/D$ として整理したところ、豆乳と豆腐で異なる相関係数が認められ、それぞれ-0.87、-0.95であった。これらの結果から、誘電分光法と PFG-NMR 法を用いて水分子ダイナミクスを捉えることで、水分子の回転・並進運動を特徴づけ、さらにはゲルの巨視的な物性や微視的な構造を特徴づける事ができたといえる。同様の手法は他のゲルや食品ゲルにも応用可能であり、新たな評価手法として期待できる。

Table 4.1 The three dielectric relaxation parameters, the dielectric relaxation time  $\tau$ , the dielectric relaxation time broadening parameter  $\beta$ , the dielectric strength  $\Delta\epsilon$ , and the diffusion coefficient  $D$  and the sample condition, the SPI concentration, coagulant concentration  $c$ , and heating time  $t$ , obtained by the series of experiments.

	SPI (wt%)	$c$ (wt%)	$t$ (min.)	$\tau$ (ps)	$\beta$	$\Delta\epsilon$	$D$ ( $\text{m}^2/\text{sec}$ )
Soymilk <sup>a</sup>	5	-	-	7.93	1.000	72.1	$2.08 \times 10^{-9}$
	7	-	-	9.33	0.910	58.9	$2.00 \times 10^{-9}$
	9	-	-	1.02	0.882	51.1	$1.92 \times 10^{-9}$
Tofu Gel <sup>a</sup>	7	0.5	30	9.21	0.913	63.0	$1.87 \times 10^{-9}$
	7	0.6	30	10.12	0.895	61.4	$1.82 \times 10^{-9}$
	7	0.7	30	8.40	0.926	64.8	$1.91 \times 10^{-9}$
	9	0.5	30	11.26	0.911	63.5	$1.93 \times 10^{-9}$
	9	0.6	10	9.67	0.907	66.3	$1.88 \times 10^{-9}$
	9	0.6	30	10.36	0.949	71.9	$1.81 \times 10^{-9}$
	9	0.6	60	8.44	0.983	73.3	$1.78 \times 10^{-9}$
	9	0.6	120	9.24	0.884	60.1	$1.88 \times 10^{-9}$
	9	0.7	30	9.27	0.911	62.9	$1.79 \times 10^{-9}$
Tofu Gel <sup>b</sup>	-	0.4	10	8.26	0.974	63.3	$2.06 \times 10^{-9}$
	-	0.4	30	8.39	0.974	63.1	$1.99 \times 10^{-9}$
	-	0.4	60	8.52	0.982	64.1	$2.01 \times 10^{-9}$
	-	0.5	10	8.13	0.966	65.9	$1.99 \times 10^{-9}$
	-	0.5	30	8.45	0.974	63.3	$1.99 \times 10^{-9}$
	-	0.5	60	8.52	0.961	62.0	$2.00 \times 10^{-9}$
	-	0.6	10	8.20	0.962	64.9	$1.96 \times 10^{-9}$
	-	0.6	30	8.45	0.968	62.9	$1.96 \times 10^{-9}$
	-	0.6	60	8.52	0.968	62.0	$1.99 \times 10^{-9}$

<sup>a</sup> Made from a SPI dissolved in ultrapure water and measured by TDR.

<sup>b</sup> Made from commercial soymilk consisting of a 9% soy protein component and measured by VNA.

Table 4.2 Linear regression analysis of the correlation between the dielectric relaxation broadening parameter  $\beta$  and the inverse of the diffusion coefficient  $1/D$ .

	Slope	Intercept	$R^2$	Pearson's $r$
Soymilk	$-2.88 \times 10^{-9}$	2.37	0.81	-0.95
Tofu Gel	$-1.45 \times 10^{-9}$	1.70	0.74	-0.87

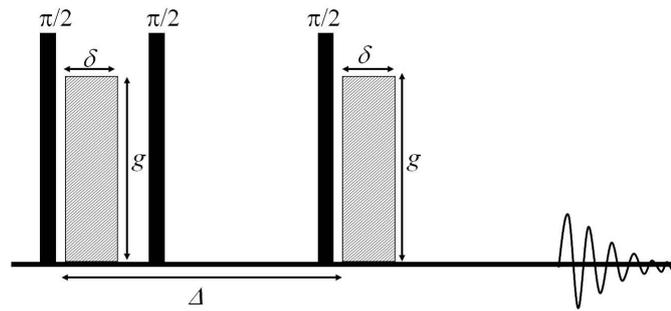


Figure 4.1 Schematic chart of the stimulated echo sequence.

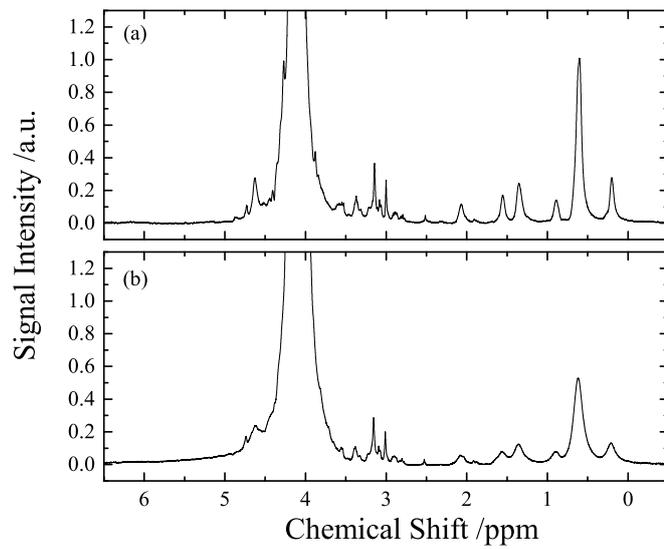


Figure 4.2  $^1\text{H}$ -NMR spectra for (a) soymilk and (b) tofu gel at 25 °C. The large peak near 4 ppm is attributed to water protons. Other smaller peaks are attributed to 11S, 7S glycinin and lipids.

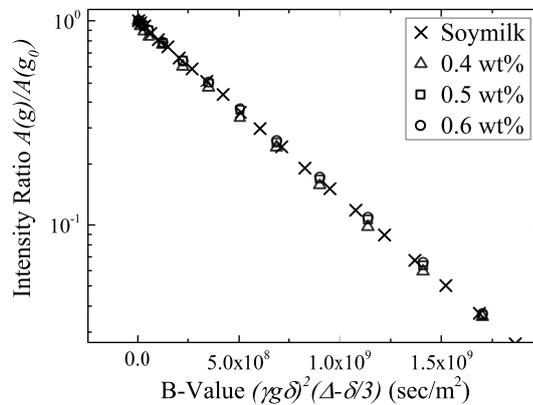


Figure 4.3 Attenuation curve of the signal intensity obtained from the PFG-NMR measurement for soymilk and several coagulant concentrations, (open triangle) 0.4 wt%, (open square) 0.5 wt%, and (open circle) 0.6 wt%, of tofu gels heated for 10 min.

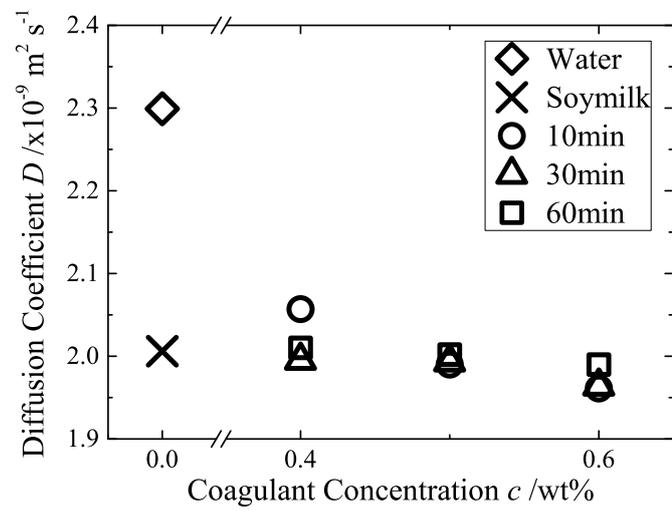


Figure 4.4 The relationship between the coagulant concentration and the diffusion coefficient of water molecules in (open diamond) pure water, ( $\times$ ) soymilk, and tofu gels with heating times of (open circle) 10 min, (open triangle) 30 min, and (open square) 60 min.

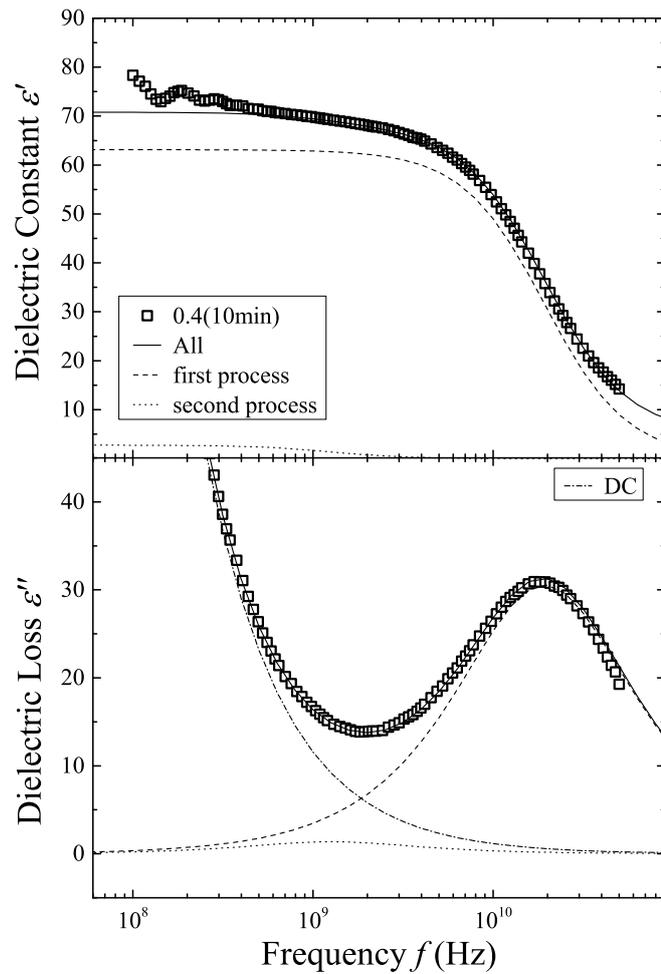


Figure 4.5 Fitting curve example for the Cole-Cole equation for a tofu gel with a 0.4 wt% coagulant concentration and 10 min of heating time. The dashed, and dotted lines indicate the first process, and the second process, respectively. The direct current (DC) component that only appeared in lower figure, was depicted by chain line. The solid line indicates the sum of these components.

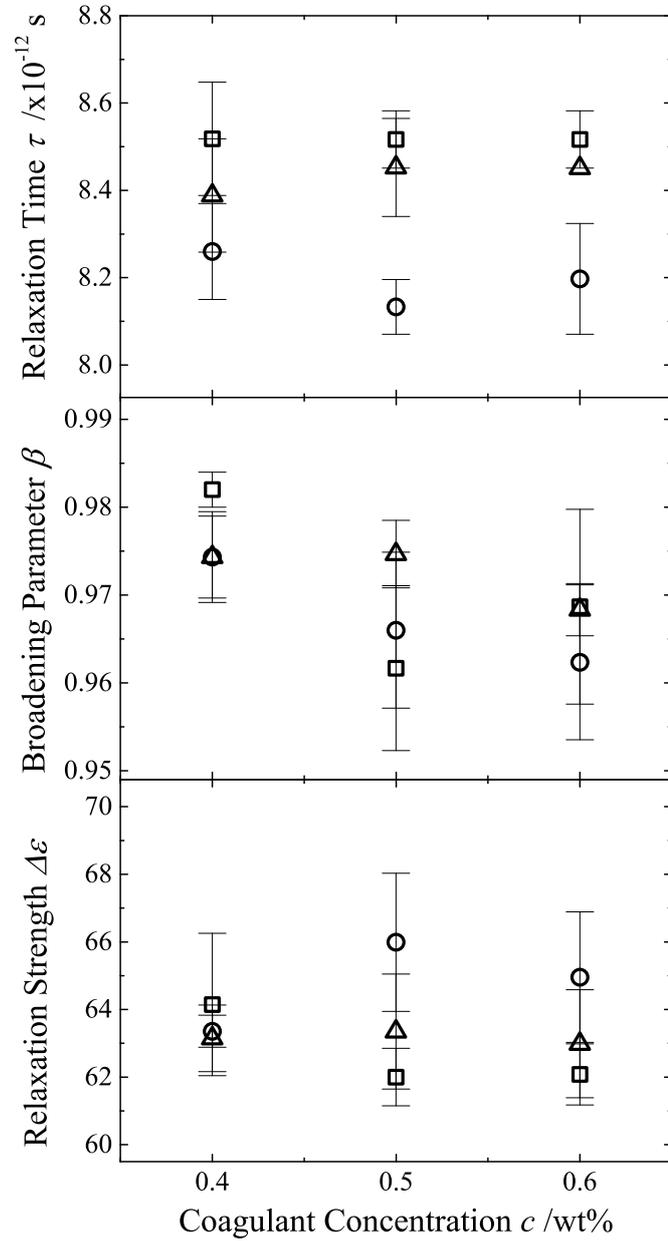


Figure 4.6 Dielectric relaxation parameters obtained via the curve fitting procedure for tofu gels with heating times of (open circle) 10 min, (open triangle) 30 min, and (open square) 60 min. The error bars shows the standard error for multiple measurements.

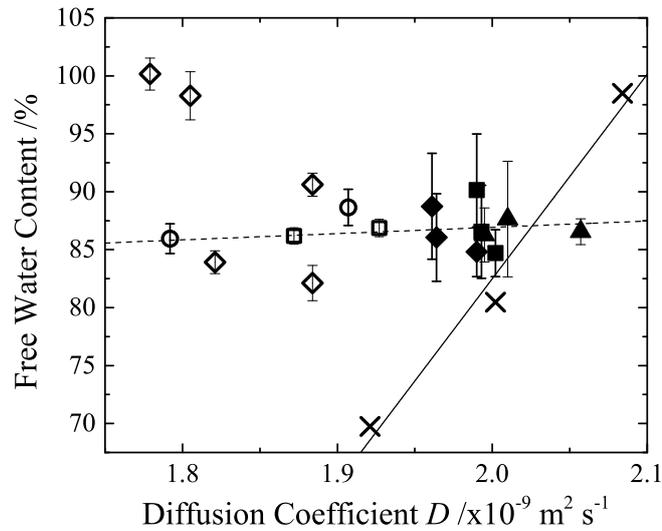


Figure 4.7 The relationship between the diffusion coefficient and the free water content for (×) soymilk and tofu gels with coagulant concentrations of (triangle) 0.4 wt%, (square) 0.5 wt%, (diamond) 0.6 wt%, and (circle) 0.7 wt%. The open and closed symbols indicate the commercial soymilk samples and those prepared using dissolved SPI, respectively. The solid and dashed lines indicate the regression analyses for the soymilk and tofu gels, respectively. The error bars show the standard error for multiple measurements.

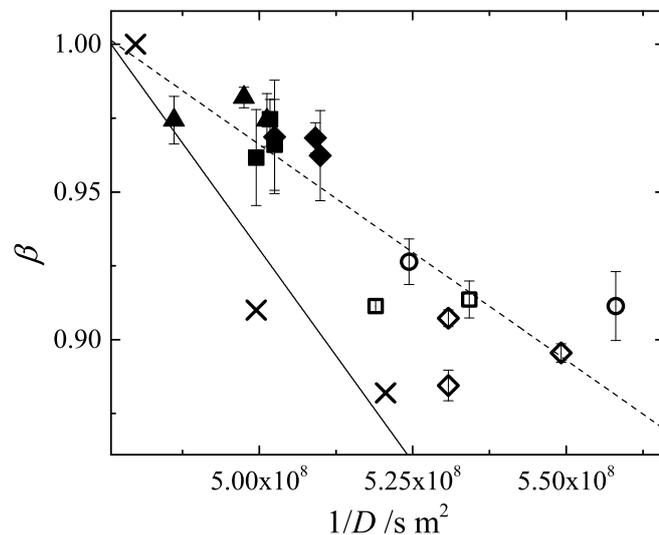


Figure 4.8 The  $1/D - \beta$  plot for (×) soymilk and tofu gels with coagulant concentrations of (triangle) 0.4 wt%, (square) 0.5 wt%, (diamond) 0.6 wt%, and (circle) 0.7 wt%. The open and closed symbols indicate gels made from commercial soymilk and dissolved SPI, respectively. The solid and dashed lines indicate the regression analyses for the soymilk and tofu gels, respectively. The error bars show the standard error for multiple times measurements.

## 参考文献

- [1] Anna H Wu, Regina G Ziegler, Pamela L Horn-Ross, AM Nomura, Dee W West, Laurence N Kolonel, Jeanne F Rosenthal, Robert N Hoover, and Malcolm C Pike. Tofu and risk of breast cancer in asian-americans. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 5(11):901–906, 1996.
- [2] Mark J. Messina, Victoria Persky, Kenneth D. R. Setchell, and Stephen Barnes. Soy intake and cancer risk: A review of the in vitro and in vivo data. *Nutrition and Cancer*, 21(2):113–131, 1994.
- [3] Kaoru Kohyama, Yoh Sano, and Etsushiro Doi. Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7):1808–1812, 1995.
- [4] Molamma P Prabhakaran, Conrad O Perera, and Suresh Valiyaveetil. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. *Food Chemistry*, 99(3):492–499, 2006.
- [5] Kaoru Kohyama, Michiyo Murata, Fumito Tani, Yoh Sano, and Etsushiro Doi. Effects of protein composition on gelation of mixtures containing soybean 7s and 11s globulins. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 59(2):240–245, 1995.
- [6] Yongqiang Cheng, Naoto Shimizu, and Toshinori Kimura. The viscoelastic properties of soybean curd (tofu) as affected by soymilk concentration and type of coagulant. *International journal of food science & technology*, 40(4):385–390, 2005.
- [7] K Nishinari, Y Fang, S Guo, and GO Phillips. Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, 39:301–318, 2014.
- [8] Ying-Chia Huang and Meng-I Kuo. Rheological characteristics and gelation of tofu made from ultra-high-pressure homogenized soymilk. *Journal of Texture Studies*, 46(5):335–344, 2015.
- [9] MICHIKO FUCHIGAMI and AI Teramoto. Structural and textural changes in kinu-tofu

- due to high-pressure-freezing. *Journal of Food Science*, 62(4):828–837, 1997.
- [10] Feng-Jui Kuo, Cheng-Chang Lien, Yu-Ya Huang, and Ching-Hua Ting. Use of ultrasound for measuring tofu texture. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 4(3):83–89, 2011.
- [11] V Urbonaite, HHJ De Jongh, E Van Der Linden, and L Pouvreau. Water holding of soy protein gels is set by coarseness, modulated by calcium binding, rather than gel stiffness. *Food hydrocolloids*, 46:103–111, 2015.
- [12] Yuzuru Onodera, ONO Tomotada, and Katsuhiko Nakasato. Homogeneity and microstructure of tofu depends on 11s/7s globulin ratio in soymilk and coagulant concentration. *Food science and technology research*, 15(3):265–274, 2009.
- [13] Guadalupe Préstamo, M Lesmes, Laura Otero, and G Arroyo. Soybean vegetable protein (tofu) preserved with high pressure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7):2943–2947, 2000.
- [14] JM DeMan, L DeMan, and S1 Gupta. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as affected by different coagulants. *Food Structure*, 5(1):11, 1986.
- [15] Xingyun Peng, Chengang Ren, and Shuntang Guo. Particle formation and gelation of soymilk: Effect of heat. *Trends in Food Science & Technology*, 54:138–147, 2016.
- [16] Takao Nagano, Takeshi Akasaka, and Katsuyoshi Nishinari. Study on the heat-induced conformational changes of  $\beta$ -conglycinin by ftir and cd analysis. *Food Hydrocolloids*, 9(2):83–89, 1995.
- [17] Teng Li, Xin Rui, Wei Li, Xiaohong Chen, Mei Jiang, and Mingsheng Dong. Water distribution in tofu and application of t 2 relaxation measurements in determination of tofu's water-holding capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(34):8594–8601, 2014.
- [18] Teng Li, Xin Rui, Kun Wang, Mei Jiang, Xiaohong Chen, Wei Li, and Mingsheng Dong. Study of the dynamic states of water and effects of high-pressure homogenization on water distribution in tofu by using low-field nuclear magnetic resonance. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30:61–68, 2015.
- [19] HL Wang, EW Swain, WF Kwolek, and WR Fehr. Effect of soybean varieties on the yield and quality of tofu. *Cereal Chem*, 60(3):245–248, 1983.
- [20] TD Cai and KC Chang. Dry tofu characteristics affected by soymilk solid content and coagulation time. *Journal of food quality*, 20(5):391–402, 1997.

- [21] Chuan-He Tang, Ling Chen, and Edward Allen Foegeding. Mechanical and water-holding properties and microstructures of soy protein isolate emulsion gels induced by  $\text{CaCl}_2$ , glucono- $\delta$ -lactone (gdl), and transglutaminase: Influence of thermal treatments before and/or after emulsification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(8):4071–4077, 2011.
- [22] Edward O Stejskal and John E Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *The journal of chemical physics*, 42(1):288–292, 1965.
- [23] Naoki Shinyashiki, Wataru Yamamoto, Ayame Yokoyama, Takeo Yoshinari, Shin Yagihara, Rio Kita, KL Ngai, and Simone Capaccioli. Glass transitions in aqueous solutions of protein (bovine serum albumin). *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(43):14448–14456, 2009.
- [24] N Miura, S Yagihara, and S Mashimo. Microwave dielectric properties of solid and liquid foods investigated by time-domain reflectometry. *Journal of food science*, 68(4):1396–1403, 2003.
- [25] Y Maruyama, Y Numamoto, H Saito, R Kita, N Shinyashiki, S Yagihara, and M Fukuzaki. Complementary analyses of fractal and dynamic water structures in protein–water mixtures and cheeses. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 440:42–48, 2014.
- [26] Fumiya Abe, Akihiro Nishi, Hironobu Saito, Megumi Asano, Seiei Watanabe, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki, and Seiichi Sudo. Dielectric study on hierarchical water structures restricted in cement and wood materials. *Measurement Science and Technology*, 28(4):044008, 2017.
- [27] Satoru Mashimo, Shinichi Kuwabara, Shin Yagihara, and Keniti Higasi. Dielectric relaxation time and structure of bound water in biological materials. *J. Phys. Chem.:(United States)*, 91(25), 1987.
- [28] Udo Kaatze. Complex permittivity of water as a function of frequency and temperature. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 34(4):371–374, 1989.
- [29] Shin Yagihara, Mikio Oyama, Akio Inoue, Megumi Asano, Seiichi Sudo, and Naoki Shinyashiki. Dielectric relaxation measurement and analysis of restricted water structure in rice kernels. *Measurement Science and Technology*, 18(4):983, 2007.
- [30] Yaroslav E Ryabov, Yuri Feldman, Naoki Shinyashiki, and Shin Yagihara. The symmetric

- broadening of the water relaxation peak in polymer–water mixtures and its relationship to the hydrophilic and hydrophobic properties of polymers. *The Journal of chemical physics*, 116(19):8610–8615, 2002.
- [31] Yongqiang CHENG, Naoto SHIMIZU, and Toshinori KIMURA. Rheological properties of mgcl<sub>2</sub>-coagulated tofu and conditions for hard tofu production in china. *JOURNAL of the JAPANESE SOCIETY of AGRICULTURAL MACHINERY*, 66(3):98–104, 2004.
- [32] John E Tanner. Use of the stimulated echo in nmr diffusion studies. *The Journal of Chemical Physics*, 52(5):2523–2526, 1970.
- [33] Manfred Holz, Stefan R Heil, and Antonio Sacco. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate 1h nmr pfg measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742, 2000.
- [34] Kee-Choo Chung, Hyo-Yeon Yu, and Sangdoo Ahn. Convection effects on pgse-nmr self-diffusion measurements at low temperature: investigation into sources of induced convective flows. *Bull. Korean Chem. Soc*, 32(6):1970–1974, 2011.
- [35] Takashi Iwashita, Tsuyoshi Konuma, Erisa Harada, Shoko Mori, and Kenji Sugase. Use of glass capillaries to suppress thermal convection in nmr tubes in diffusion measurements. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 54(9):729–733, 2016.
- [36] William S Price and Markus Walchli. Nmr diffusion measurements of strong signals: the pgse-q-switch experiment. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 40(13):S128–S132, 2002.
- [37] Robert H Cole, Satoru Mashimo, and Paul Winsor IV. Evaluation of dielectric behavior by time domain spectroscopy. 3. precision difference methods. *The Journal of Physical Chemistry*, 84(7):786–793, 1980.
- [38] Kenneth S Cole and Robert H Cole. Dispersion and absorption in dielectrics i. alternating current characteristics. *The Journal of chemical physics*, 9(4):341–351, 1941.
- [39] Charles P Slichter. *Principles of magnetic resonance*, volume 1. Springer Science & Business Media, 2013.
- [40] Young Shick Hong and Cherl Ho Lee. Self-diffusion coefficient of water in tofu determined by pulsed field gradient nuclear magnetic resonance. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(1):219–223, 2006.
- [41] Jean-Louis Damez, Sylvie Clerjon, Said Abouelkaram, and Jacques Lepetit. Dielectric behavior of beef meat in the 1–1500khz range: Simulation with the fricke/cole–cole model. *Meat Science*, 77(4):512–519, 2007.

- [42] Kota Watanabe, Yoshinori Taka, and Osamu Fujiwara. Cole-cole measurement of dispersion properties for quality evaluation of red wine. *Measurement Science Review*, 9(5):113–116, 2009.
- [43] Stuart O Nelson and Samir Trabelsi. Dielectric spectroscopy of wheat from 10 mhz to 1.8 ghz. *Measurement Science and Technology*, 17(8):2294, 2006.
- [44] Constantino Grosse. A program for the fitting of debye, cole–cole, cole–davidson, and havriliak–negami dispersions to dielectric data. *Journal of colloid and interface science*, 419:102–106, 2014.
- [45] Udo Kaatze. Reference liquids for the calibration of dielectric sensors and measurement instruments. *Measurement Science and Technology*, 18(4):967, 2007.
- [46] Evgeniya Levy, Alexander Puzenko, Udo Kaatze, Paul Ben Ishai, and Yuri Feldman. Dielectric spectra broadening as the signature of dipole-matrix interaction. ii. water in ionic solutions. *The Journal of chemical physics*, 136(11):114503, 2012.
- [47] Ernst-Joachim Donth. *The glass transition: relaxation dynamics in liquids and disordered materials*, volume 48. Springer Science & Business Media, 2013.
- [48] N Shinyashiki, D Imoto, and S Yagihara. Broadband dielectric study of dynamics of polymer and solvent in poly (vinyl pyrrolidone)/normal alcohol mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(9):2181–2187, 2007.
- [49] Shin Yagihara, Megumi Asano, Masanori Kosuge, Sousuke Tsubotani, Daizo Imoto, and Naoki Shinyashiki. Dynamical behavior of unfreezable molecules restricted in a frozen matrix. *Journal of non-crystalline solids*, 351(33):2629–2634, 2005.

## 第 5 章

# 様々な低分子液体の分子回転/並進ダイナミクス解析

### 5.1 背景

誘電分光法 (Dielectric Spectroscopy; DS) は、これまでのおよそ 100 年間、液体構造の研究分野において重要な役割を果たしてきた [1]。中性子散乱や光散乱、分子動力学シミュレーション、NMR などの液体構造分野における他の測定手法に比べ、誘電分光法の最も顕著な特徴はその観測時間域の幅広さである。その特徴から、誘電分光法は生体系や、ポリマー、ガラス転移性液体などの物質の研究に用いられている [2]。

一般に、典型的な低分子量分子液体の誘電緩和現象は数百 MHz から THz の領域で観測される。分子性液体に関する誘電分光法の研究は大きく二つのアプローチにわけられる。一方は、誘電分光法の広帯域性を存分に発揮し、幅広い温度域における分子運動の変化やガラス転移などの現象を観測するといった手法である。もう一方は主に室温に近い特定の温度において、GHz から THz 領域における高周波域誘電分光法を用いた手法であり、ガラス転移などの現象を考慮しているわけではない。

ガラス転移を起こす物質 (ガラス系) の研究においては水や一価のアルコールにおいては、低周波側から Debye 過程と  $\alpha$  過程 (構造緩和) の二つの緩和過程が認められる [2-4]。一般に、Debye 過程は一価アルコールの水素結合ネットワークによって形成される超分子構造の緩和であると考えられている。この超分子構造がどのようなものかについては未だに議論があり、Transient Chain Model(TCM)<sup>[5]</sup> やミセル<sup>[6]</sup> などのモデルが提案・確認されている。Debye 過程のもう一つの特徴として、この過程は誘電分光法でのみ観測されることが挙げられる。そして、Debye 過程が一価アルコールや水で観測されるにも関わらず、なぜ二価、三価などの多価アルコールでは観測されないのかはよくわかっていない。Pawlus ら<sup>[7]</sup> は一価アルコールを加圧することで  $\alpha$  過

程と癒合する形で Debye 過程が消滅することを示した。これは、高圧により水素結合ネットワークが乱され、超分子構造の緩和と単一分子の緩和が区別されなくなったためだと考えられる。

$\alpha$  過程は示差走査熱量系 (Differential Scanning Calorimetry; DSC) などでも観測される構造緩和と同じ起源を持つ緩和過程であると考えられており、 $\alpha$  過程の緩和時間が 100 から 1000 秒に到達する温度が熱測定から得られたガラス転移温度に一致することが知られている [8]。さらに、 $\alpha$  過程の緩和時間や温度依存性は光散乱や中性子散乱、Kerr 効果などの手法による測定結果とも一致する [9]。ほとんどの場合において、誘電分光法で得られた  $\alpha$  過程は非対称性を示すことが知られている [10]。さらに、低温側においては  $\alpha$  過程は Johari-Goldstein(JG) 過程に分離するといった特徴を持つことが知られている [3] が、本研究ではガラス転移温度よりも遥かに高い温度域における測定であるため、JG 過程については考慮する必要がない。

$\alpha$  過程のような非対称性を持つ緩和過程は Havriliak-Negami(HN) 式 [11]

$$\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon'' = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{[1 + (j\omega\tau)^\beta]^\alpha} \quad (0 < \alpha, \beta \leq 1), \quad (5.1)$$

によって良く特徴づけられる。ここで  $\epsilon^*$  は複素誘電率、 $\epsilon'$  は誘電率  $\epsilon''$  誘電損失、 $\epsilon_\infty$  は光学領域における誘電率、 $\Delta\epsilon$  は緩和強度、 $\tau$  は誘電緩和時間、そして  $j$  は虚数単位である。さらに、式中の  $\alpha$  と  $\beta$  は非対称及び対称性の緩和時間分布パラメータである。HN 式は  $\alpha$  が 1 のときは Cole-Cole(CC) 式 [12] に一致し、 $\beta$  が 1 の時は Cole-Davidson(CD) 式 [13] に一致する。特に、 $\alpha$ 、 $\beta$  が共に 1 の時は Debye 式に一致し、先述した Debye 過程は Debye 式で特徴づけられる。

ガラス系の研究とは異なり、高周波域における誘電分光法測定からは、一価のアルコールにおいて 3 つの緩和過程が存在することが報告されている [14-17]。これらの緩和には“ $\alpha$  過程”のような統一的な呼称は存在しないが、低周波側の過程は Debye 過程と一致する。しかし、 $\alpha$  過程に相当する緩和は非対称の一つの緩和ではなく、対称な二つの緩和の重ね合わせとして解析されることも多い。

本研究では一価のアルコールの解析においては両者の解析モデルを用いた解析を行なった。また、本研究ではそれぞれの緩和過程を低周波側から Debye 過程、 $\alpha$  過程、 $\beta$  過程と呼ぶことにする。

傾斜磁場パルス (Pulsed Field Gradient; PFG) は NMR 測定においてシムコイルの調整や、測定時間の短縮、NMR によるイメージング (MRI) など様々な形で利用されている。また、混合系のそれぞれの分子拡散係数の違いに着目することで、それぞれの分子に由来するスペクトルを分離する手法として (Diffusion Ordered Spectroscopy; DOSY) が知られている。逆に言えば、DOSY 法を適切に用いることで分子拡散係数を決定することができる。PFG を利用した拡散係数の測定は Stejskal と Tanner により提案され [18]、硫酸銅水溶液の拡散係数が報告された。以

降、PFGの様々な活用法が発見され、現在では過冷却液体など<sup>[19]</sup>も含め様々な物質の物性解析に利用されている。

分子の並進拡散と回転拡散を特徴づける式として、Stokes-Einstein(SE)式、

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi R_t} D^{-1}, \quad (5.2)$$

と Debye-Stokes-Einstein(DSE)式、

$$\tau = \frac{8\pi\eta R_r^3}{k_B T}, \quad (5.3)$$

がそれぞれ知られている。ここで、 $D$ は並進拡散係数、 $k_B$ はボルツマン定数、 $T$ は絶対温度、 $\eta$ は溶媒の粘性、 $\tau$ は誘電緩和時間、そして $R_t$ と $R_r$ は並進・回転の半径を表す。ここで、誘電緩和時間 $\tau$ は分子運動の相関時間に対応しており、特に小さな分子の誘電緩和時間は分子の回転拡散係数の逆数と考えることができる。SE式とDSE式には他にも異なる表現があることが知られているが<sup>[20-22]</sup>、本研究ではFujaraら<sup>[23]</sup>やMazza<sup>[24]</sup>らの報告で用いられたような形式に準じた。

一般に、SE式は希薄分散系において、分散質の流体力学的半径と分散媒の粘性を繋げる式としてよく用いられている。しかし、この式がどの程度の大きさの分散質或いは分子にまで適用できるのかはよくわかっていない。また、DSE式は誘電緩和時間と分子の大きさの関係をよく記述するが、ガラス転移を起こすような状況では適用できない<sup>[24]</sup>。ガラス系にもDSE式を適用するため、 $\tau$ をある指数で乗じたfractional-DSE式が知られており、実際にガラス系で適用されている<sup>[25,26]</sup>。しかし、半径 $R_r$ の取扱いに関する検証は十分ではない。

これまでに、SE式やDSE式は様々な形で適用されてきたが、ことなる分子種にわたる系統的な検証はなされていない。本研究では誘電分光法とPFG-NMR法を相補的に用いることで、一価、二価、三価アルコール、エチレングリコールオリゴマー(EGO)、いくつかの有機溶媒、そして水の誘電緩和時間と並進拡散係数を比較した。また、それぞれの粘性を文献値から引用し、SE式とDSE式を用いた解析を行うことを目的とする。さらに、 $R_t$ と $R_r$ を並進と回転の”実効半径”として定義し、それぞれの分子種を特徴づけた。また、それらの比 $R_r/R_t$ についても議論した。

## 5.2 実験

### 5.2.1 サンプル調製

本研究で用いた試料を表.5.1に纏めた。それぞれの販売元も表に示し、購入した試料は特別な調製をせずそのまま使用した。用いたサンプルは一価、二価、三価アルコール、エチレングリコールオリゴマー、非水素結合性液体(有機溶媒として)に分類された。

### 5.2.2 誘電緩和測定

誘電分光法測定はインピーダンスアナライザ (IA, Agilent, 4294A, 40Hz-100MHz)、インピーダンスマテリアルアナライザ (IMA, Agilent, E4991A, 1MHz-3GHz)、ベクトルネットワークアナライザ (VNA, Agilent Technologies, N5230C, 100MHz-50GHz) の3つの装置を複合して用いることを行なった。一部の試料の測定には Time Domain Reflectometry (TDR) 法を用いた。これらの装置により、全体で 40Hz から 50GHz に渡る周波数領域における測定を行なった。また、測定温度は  $25 \pm 0.5$  °C とした。

IA と IMA の校正には open(空気)、short、load(50 Ω) の3つを使用し、伝送線路と電極・サンプルセルも含めた補償を行なった。VNA には open(空気)、short(水銀) を用いて開放端同軸電極の校正を行なった。load の代わりとなる標準試料としてクロロホルムを用い、過去に報告された誘電緩和パラメータ<sup>[27]</sup> から校正を行った。得られた誘電緩和曲線は Levenberg-Marquardt 法<sup>[28]</sup> を使用して解析した。

### 5.2.3 PFG-NMR 測定

一連の PFG-NMR 測定にはプロトンの共鳴周波数 400MHz の NMR(Bruker, 400WB) と Diff 50 プローブ (Bruker) を用いた。それぞれの試料は純粋な状態で測定され、TMS といった化学シフト校正標準は使用せず、測定前に別途校正を行なった。試料管として、対流を抑制するため<sup>[29]</sup> 1.8mm 径の毛細管を用いた。パルスシーケンスとして Stimulated Echo<sup>[30]</sup> シーケンスを用い、傾斜磁場強度  $g$  を 10 から 2300gauss/cm まで変化させることで測定を行なった。得られた信号強度の減衰過程を Stejskal-Tanner 式<sup>[18]</sup>,

$$\frac{I(g)}{I(g_0)} = -\exp((\gamma g \delta)^2 (\Delta - \delta/3) D), \quad (5.4)$$

を用いて解析した。ここで、 $\gamma$  は磁気回転比、 $\delta$  は傾斜磁場印加時間、 $\Delta$  は拡散時間、そして  $I(g)/I(g_0)$  はある傾斜磁場強度  $g$  と一点目のプロットの信号強度比である。傾斜磁場パルスのオーバーシュートなどの影響を減らすため、半サイン波形の傾斜磁場パルスを用いた。また、傾斜磁場印加時間  $\delta$  と拡散時間  $\Delta$  はそれぞれ 1ms と 20ms に固定した。傾斜磁場強度の校正標準として純水を用い、25 °C における拡散係数が文献値<sup>[31]</sup>  $2.299 \times 10^{-9}$  に一致するように傾斜磁場強度を決定した。

それぞれの測定では傾斜磁場強度を 64 段階で変化させることで、減衰過程を得た。最大傾斜磁場強度は対象の拡散係数に応じて設定した。例えば、グリセロールのような粘性の高い物質ではプローブの最大傾斜磁場強度である 2300gauss/cm まで印加し、1-ブタノールのような低粘性物

質では傾斜磁場強度の最大値は 300gauss/cm とした。いくつかの試料は複数の NMR ピークを持つため、それぞれ別々に解析し、最後に結果を平均化した。測定温度は  $25 \pm 0.1$  °C とした。

## 5.3 結果と考察

### 5.3.1 誘電緩和曲線解析

図.5.1 に一価アルコールの例として 1-ブタノールの誘電緩和曲線を示す。300MHz 付近に大きな緩和過程、20GHz 付近に小さな緩和過程がそれぞれ認められる。高周波域の過程は極めて小さく、また、非対称性を持つため解析には注意を要する。背景で述べたように、一価アルコールの解析モデルとして緩和過程を三つ仮定する手法<sup>[32]</sup>と二つ仮定する手法<sup>[7]</sup>が存在する。

前者は THz までの周波数域にわたる測定であるため、今回の測定装置では最も高周波側の緩和を観測することはできない。そこで、この解析モデルではメタノール、エタノール、1-プロパノールの文献値<sup>[16]</sup>から緩和時間  $\tau$  と緩和強度  $\Delta\epsilon$  を見積り、その値を初期値として非線形最小二乗法を用いた解析を行った。それぞれの緩和パラメータの予測値は一価アルコールの炭素数を変数としたべき乗則の外挿値として決定した。図.5.2 に  $\tau$  と  $\Delta\epsilon$  の予測曲線を示す。

これらの予測値を元にして、Debye 式の三つ重ね合わせで解析した結果を図.5.1 の実線で示す。明らかに、最も高周波側の  $\beta$  過程は本測定の周波数域では観測できないため、予測値に固定した。そのため  $\beta$  過程に関する詳細な議論は行わない。一方で、Debye 過程と  $\alpha$  過程は今回の観測周波数域で十分にカバーできている。全ての一価のアルコールについて同様の解析を行った結果を図.5.2 にプロットした。

Debye 式と Cole-Davidson 式の二つの過程を用いた解析では予測値は使用せず、緩和曲線から Debye 過程を事前に解析し、差分を取ったものについて Cole-Davidson 式で  $\alpha$  過程を解析した。これらの結果も同様に図.5.2 に示す。非対称性分布パラメータ  $\alpha$  はおよそ 0.3 から 0.4 であった。この緩和過程は非対称であるため、以下の式<sup>[33]</sup>を用いて誘電損失のピーク値としての緩和時間  $\tau_{peak}$  を計算する必要がある。

$$\tau_{peak} = \frac{\tau}{\left[ \tan \left( \frac{\pi}{2(\alpha+1)} \right) \right]^{\frac{1}{\beta}}}, \quad (5.5)$$

ここで  $\alpha$  と  $\beta$  は式.5.1 と一致する。

一価アルコールと同様に、水でも複数の緩和過程が認められる。Barthel らは 25 °C における水の低周波側の緩和時間を 8.32ps と報告している<sup>[14]</sup>。他の研究でもほとんど同じ値が報告されている<sup>[16, 32, 34]</sup>。また、Hansen らはこの緩和は Debye 過程であることを示した<sup>[4]</sup>。一方で、高周波側の  $\alpha$  緩和では 1.02ps から 0.169ps までの異なる値が報告されており<sup>[14, 16, 32, 34]</sup>。一方で、

それぞれの過程は二つの Debye 式の重ね合わせとして解析されている点では一致している。本研究では報告されている最大値  $1.02\text{ps}^{[14]}$  と最小値  $0.169\text{ps}^{[16]}$  を採用し、以下の節で議論する。

一価アルコールと水以外の試料では  $\alpha$  過程と思われる単一の緩和過程のみが観測された。二価、三価アルコールは Cole-Davidson 式で、EGO は Havriliak-Negami 式でよく記述することができた。また、非水素結合性液体試料については文献値を採用した。CD 式と HN 式から得られた緩和時間は式.5.5 を用いて補正し、表.5.1 に纏めた。以降は特に断らない限り、 $\alpha$  過程の緩和時間は  $\tau_{peak}$  に補正したものとして議論する。

### 5.3.2 PFG-NMR 解析

図.5.3 に 1-ブタノールの  $^1\text{H}$  NMR スペクトルとそれぞれピーク帰属を示す。図中の番号はそれぞれの官能基に対応している。一連の測定はスピニングを行わず、毛細管を用いたため一般的な NMR 測定に比べるとピークの分解能と対称性は劣る。しかし、拡散係数の解析にはそれぞれのピーク面積を採用したため、分解能の影響はないとみなせる。

図.5.3 のピーク 1,2, 及び 5 はそれぞれ分離して解析されたが、3,4 のように分離が困難なものは同一のピークとして解析した。それぞれのピーク面積の積分強度の減衰過程を図 5.4 に示す。実線は式.5.4 を用いた解析した結果である。これらの解析から拡散係数はピークごとに得られたため、最後にその結果を平均化し、その試料の拡散係数とした。例えば 1-ブタノールの拡散係数は  $1.43 \pm 0.01 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  となり、ピーク毎の誤差は 1% 以下に抑えられた。

### 5.3.3 $D$ - $\eta$ の関係

一連の測定から得られた拡散係数  $D$  と粘性  $\eta$  の関係を図 5.5 に示す。それぞれの値と参考文献は表.5.1 に纏めた。拡散係数と粘性は共に今回用いた試料で 3 桁から 4 桁に渡る幅広い値を示した。

赤い実線は SE 式による非線形最小二乗法の結果であり、唯一のフィッティングパラメータである  $R_t$  は  $1.90 \times 10^{-10} \text{ m}$  と求められた。この結果は、粘性と拡散係数の関係が分子種によらず、一意的な関係で説明できることを示すが、実際にはそれぞれの液体分子は異なる分子量と大きさを持つため、各液体やカテゴリーで普遍的に成立する解釈とはならない。図 5.5 は以下の二つの興味深い物理的知見を示唆している。ひとつめは、分子種が球形なのか棒状なのかには依らず、全て単一  $D$ - $\eta$  の関係として説明できることである。ふたつめは、粘性と拡散係数の観測時間域が大きく異なっているにもかかわらず、両者の値が対応した点である。本研究における拡散係数の観測時間域は 20ms 程度であり、空間域で言えば十数マイクロメートル程度と見積もれる。一方で、粘性測定はウベローデ粘性計などで行われるが、この観測時間域はどんなに短くても数秒

程度であり、空間域も拡散係数測定よりは遥かに大きくなる。言い換えれば拡散係数は微視的、粘性は巨視的な観測結果であるが、上述したように同じ実効半径  $R_t$  を用いて対応付けることができる。

### 5.3.4 誘電緩和時間と拡散係数の関係

図.5.6 に拡散係数  $D$  と誘電緩和時間  $\tau$  の関係を示す。上に示した粘性との対応のような単純な関係性は認められない。

上述したように、一価アルコールと水には複数の緩和過程が存在する。赤い丸と青い丸プロットは一価アルコールと水の Debye 過程を反映している。背景でも述べたように Debye 過程は複数の分子が形作る高次構造の連鎖的回転緩和であるため、単一分子自体のダイナミクスを直接反映しているわけではない。そのため  $\tau$ - $D$  両対数図でも Debye 過程は曲線的な傾向を示し、従って DSE 式での解析も行うことができない。この曲線的な傾向は Debye 過程を引き起こすような高次構造がアルコールの種類によって異なることを示している。

赤い三角で示すプロットは  $\beta$  過程に対応している。一価アルコールの文献値を元に傾きを求めた結果が黒い実線であり、その傾きは約-1/3、つまり  $\tau$  と  $D$  の三乗根との関係があることが示された。文献値以外のプロットはあくまで予測値であるし、どの程度定量的に傾きを議論できるかは今回の結果から不明確であるが、いずれにせよ DSE 式にこの様な三乗根の関係を示す特徴はないため、 $\beta$  過程では DSE 式での特徴づけは出来ない。

以上の結果から、DSE 式を用いて誘電緩和時間  $\tau$  と拡散係数  $D$  を議論するためには、図.5.6 にひし形で示した  $\alpha$  過程についてのみ考える必要がある。SE 式と DSE 式の間を拡散係数  $D$  と誘電緩和時間  $\tau$  について整理すると以下のように書き換えられる。

$$\tau = \frac{4 R_r^3}{3 R_t} D^{-1} = \frac{4}{3} \left( \frac{R_r}{R_t} \right)^3 \frac{R_t^2}{D}, \quad (5.6)$$

ここで、並進実効半径  $R_t$  と回転実効半径  $R_r$  が同一であると仮定すれば、 $\tau = (4R_t^2)/(3D)$  と書ける。図.5.6 の赤線は  $R_r = R_t = 1.90 \times 10^{-10} \text{m}$  として求めたものであるが、明らかにこの線に現れるプロットは存在しないため、並進拡散と回転拡散では異なる実効半径を持つと考えなくてはならない。逆に言えば、このような  $D$ - $\tau$  図が回転と並進の実効半径の比  $R_r/R_t$  を与えており、その比は分子種によらず、クロロホルムのような水素結合を形成しないほとんど球状をとる分子であっても、常に 1 より小さいことがわかる。これは回転運動における排除体積効果の小ささを示している。

緑線と青線に実効半径の比を 2/3、1/3 とした計算結果を示す。緑の線には二価アルコール、EGO の一部、非水素結合性液体が現れ、青い線には三価アルコール、一価アルコールの一部、そ

して水が現れた。この視点から分子種について考えると、二価アルコール、EGO、非水素結合性液体の群と一価アルコール、三価アルコール、水の群に大別することができる。それぞれの  $R_t$ 、 $R_r$ 、そして比  $R_r/R_t$  は表.5.1 に纏めた。

EGO の傾向を注意して観察すると、エチレングリコールやジエチレングリコールなどの小さい分子は青い線に現れているのに対し、PEG600 の様な大分子はこの傾向から外れ、 $R_r/R_t$  が減少していくことがわかる。ここで、拡散係数は分子全体の並進移動により規定されるが、誘電緩和時間はその限りではなく局所的な分子ダイナミクスを反映する場合もある。従って、PEG600 のような大分子では誘電緩和時間はもはや分子全体の回転を反映しない局所的なダイナミクスであると考えられるため、 $\tau$ - $D$  からこれまでのような  $R_r/R_t$  比に関する議論はできない。

一方で、一価アルコールはこれとは逆の傾向をとり、分子量の増加に伴って青線から緑の線へとシフトして実効半径比が増大して1に近づいていくことがわかる。この特徴的な傾向は以下のように解釈することができる。一価アルコールではEGOとは異なり、分子量の増加に伴って水素結合密度が徐々に低下していく。Kaatzeらにより提案された”Wait and Switch”(WS) モデル<sup>[35,36]</sup>では、アルコールや水のダイナミクスは濃い水素結合ネットワークにより既定されると考えられる。水素結合ネットワークの密度が十分に高ければ、それぞれのアルコール分子は容易に新たに水素結合を形成するパートナーを見つけることができるため短い緩和時間を示す。しかし、アルキル鎖が長くなるに連れて水素結合密度が低下していったため、緩和時間が増加して行き、緑の線すなわち非水素結合性液体と同じ群へとシフトしていったと考えられる。一方で、三価のアルコールは炭素数が増加しても常にOH基が外向きに存在し、水素結合密度があまり低下しない。そのため、小さな影響回転半径を示したのだと考えられる。

水についても同様にWSモデルのような考え方が適用できるが、先述したように水の $\alpha$ 過程は報告により値が異なっている。Barthelら<sup>[14]</sup>の値を採用すれば明らかに一価、三価アルコールと同じ群に分類されるが、Liら<sup>[16]</sup>の値を採用するとむしろ $\beta$ 過程であるかのように見える。いずれの緩和時間であるにせよ、本研究の測定周波数域の限界に近い緩和時間であるため決定的な証拠はないが、 $\tau$ - $D$  図から考えると水の $\alpha$ 過程は1ps程度であると思積られる。

以上の議論を踏まえると、二価のアルコールが矛盾した傾向を示している。この原因について現段階ではっきりとしたことは言えないが、原因の一つとしてOH基の対称的な配置があると考えられる。すなわち一価、三価アルコールとは違い、二価アルコールはOH基が偶数個存在するため、二価のアルコールでは水素結合ネットワークが分子に対して対称的に形成され、もはやWSモデルで予測されるような緩和時間を促進するような効果は得られないと思われる。

図.5.7にそれぞれの拡散係数 $D$ と誘電緩和時間 $\tau$ から求めた $R_t$ 、 $R_r$ の関係を示す。ここで、赤、緑、青の実線はそれぞれ傾きが1、0.78、0.44であり、切片0の線形関係を示す。緑線は二価

アルコールと非水素結合性液体から、青線は水、一価アルコール、グリセロールからそれぞれ最小二乗法で傾きを決定した。図.5.6と同様に、この図からも分子種によって明らかなグループ分けが存在することがわかる。また、それぞれの分子種の実効半径比、 $R_r/R_t$  を定量的に議論できる。

以上から、 $\tau$ - $D$  図と  $\eta$ - $D$  図にそれぞれ DSE 式、SE 式を用いた解析を適用し、並進および回転の実効半径  $R_t$  と  $R_r$  およびそれらの比と考えることで、 $\alpha$  過程と拡散係数  $D$  の関係を様々な分子種について説明することが出来た。

## 5.4 まとめ

一価、二価、三価アルコール、エチレングリコールオリゴマー (EGO)、非水素結合性液体、水などの液体分子の回転、並進拡散のダイナミクスを粘性  $\eta$ 、拡散係数  $D$ 、誘電緩和時間  $\tau$  から系統的に調べた。粘性と拡散係数の関係から、全ての分子種について共通の SE 式を用いて記述することができた。これとは逆に、誘電緩和時間と拡散係数には単純な関係は認められず、分子種を考慮した上で DSE 式を適用する必要があることがわかった。さらに、SE 式、DSE 式それぞれに並進実効半径  $R_t$ 、回転実効半径  $R_r$  といった概念を導入することで異なる分子種のカテゴリーについて系統的に整理することができた。特に、高い水素結合密度を持つような分子では  $R_r/R_t$  比が小さくなったことから、排除体積が小さく、小さい回転半径を持って分子の回転拡散が生じていると考えられる。一方で、EGO のような大分子ではもはや誘電緩和時間を単純な分子回転として対応付けることができなくなるため、上記のような議論は行えない。逆に言えば、 $\tau$ - $D$  図のように誘電緩和時間と並進拡散をまとめることで、そのダイナミクスがどのような分子間相互作用を反映しているか、若しくは異なる分子機構の起源をもつのかを明確にすることができる。

Table 5.1: The diffusion coefficient,  $D$ , the viscosity,  $\eta$ , and the dielectric relaxation time for  $\alpha$ -process,  $\tau_\alpha$ , Debye-process,  $\tau_D$ , and  $\beta$ -process,  $\tau_\beta$ , of mono-, di-, tri-, ethylene glycol oligomers, non hydrogen bond liquids, and water. Retailers also listed bottom of the table.

Name	$D/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\eta/\text{mPa} \cdot \text{s}^\dagger$	$\tau_\alpha/\text{s}$	$\tau_D/\text{s}$	$\tau_\beta/\text{s}$	$R_t/\text{nm}$	$R_r/\text{nm}$	$R_r/R_t$	Ref.
Methanol <sup>a</sup>	$2.42 \times 10^{-9}$	0.544	$1.22 \times 10^{-12}$	$5.15 \times 10^{-11}$	$1.07 \times 10^{-13}$	1.66	0.72	0.43	[16,37]
Ethanol <sup>a</sup>	$1.08 \times 10^{-9}$	1.074	$3.98 \times 10^{-12}$	$1.64 \times 10^{-10}$	$2.22 \times 10^{-13}$	1.88	0.85	0.45	[16,37]
1-Propanol <sup>a</sup>	$5.81 \times 10^{-10}$	1.945	$8.15 \times 10^{-12}$	$3.21 \times 10^{-10}$	$2.02 \times 10^{-13}$	1.93	0.88	0.46	[16,37]
2-Propanol <sup>a</sup>	$5.45 \times 10^{-10}$	2.038	$9.14 \times 10^{-12}$	$3.51 \times 10^{-10}$	$2.18 \times 10^{-13}$	1.96	0.90	0.46	[16,37]
1-Butanol <sup>a</sup>	$4.11 \times 10^{-10}$	2.544	$8.54 \times 10^{-12}$	$4.57 \times 10^{-10}$	$2.57 \times 10^{-13}$	2.09	0.82	0.39	[37]
1-Pentanol <sup>b</sup>	$3.00 \times 10^{-10}$	3.619	$1.43 \times 10^{-11}$	$6.17 \times 10^{-10}$	$2.88 \times 10^{-13}$	2.01	0.87	0.43	[37]
1-Hexanol <sup>a</sup>	$2.17 \times 10^{-10}$	4.578	$3.13 \times 10^{-11}$	$8.71 \times 10^{-10}$	$3.16 \times 10^{-13}$	2.20	1.04	0.47	[37]
1-Heptanol <sup>a</sup>	$1.64 \times 10^{-10}$	5.81	$4.82 \times 10^{-11}$	$1.10 \times 10^{-9}$	$3.41 \times 10^{-13}$	2.30	1.11	0.48	[37]
1-Octanol <sup>a</sup>	$1.26 \times 10^{-10}$	7.288	$6.01 \times 10^{-11}$	$1.32 \times 10^{-9}$	$3.65 \times 10^{-13}$	2.37	1.11	0.47	[37]
1-Nonanol <sup>b</sup>	$1.10 \times 10^{-10}$	9.123	$1.06 \times 10^{-10}$	$1.45 \times 10^{-9}$	$3.87 \times 10^{-13}$	2.17	1.24	0.57	[37]
1-Decanol <sup>a</sup>	$8.01 \times 10^{-11}$	10.9	$1.18 \times 10^{-10}$	$1.70 \times 10^{-9}$	$4.08 \times 10^{-13}$	2.50	1.21	0.48	[37]
1,2-Propanediol <sup>b</sup>	$3.22 \times 10^{-11}$	40.4	$3.40 \times 10^{-10}$	-	-	1.68	1.11	0.66	[37]
1,3-Propanediol <sup>b</sup>	$3.87 \times 10^{-11}$	40.067	$3.31 \times 10^{-10}$	-	-	1.41	1.11	0.79	[38]

Name	$D/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\eta/\text{mPa} \cdot \text{s}^\dagger$	$\tau_\alpha/\text{s}$	$\tau_D/\text{s}$	$\tau_\beta/\text{s}$	$R_t/\text{nm}$	$R_r/\text{nm}$	$R_r/R_t$	Ref.
1,4-Butanediol <sup>a</sup>	$1.89 \times 10^{-11}$	72.618	$7.00 \times 10^{-10}$	-	-	1.59	1.16	0.73	[38]
1,2-Pentanediol <sup>c</sup>	$2.20 \times 10^{-11}$	55.32	$6.91 \times 10^{-10}$	-	-	1.80	1.27	0.71	[39]
1,5-Pentanediol <sup>c</sup>	$1.30 \times 10^{-11}$	108.95	$1.09 \times 10^{-9}$	-	-	1.55	1.18	0.76	[40]
1,7-Heptanediol <sup>c</sup>	$8.37 \times 10^{-12}$	138.234	$1.83 \times 10^{-9}$	-	-	1.89	1.29	0.69	[41]
Ethylene glycol <sup>a</sup>	$8.94 \times 10^{-11}$	16.1	$1.20 \times 10^{-10}$	-	-	1.52	1.07	0.70	[37]
Diethylene Glycol <sup>b</sup>	$4.63 \times 10^{-11}$	30.2	$2.39 \times 10^{-10}$	-	-	1.56	1.09	0.70	[37]
Triethylene Glycol <sup>b</sup>	$4.55 \times 10^{-11}$	34.398	$2.17 \times 10^{-10}$	-	-	1.40	1.01	0.72	[42]
Tetraethylene Glycol <sup>a</sup>	$2.56 \times 10^{-11}$	44.451	$2.43 \times 10^{-10}$	-	-	1.92	0.96	0.50	[43]
Pentaethylene Glycol <sup>a</sup>	$2.34 \times 10^{-11}$	-	$1.97 \times 10^{-10}$	-	-	-	-	-	-
Hexaethylene Glycol <sup>a</sup>	$5.02 \times 10^{-11}$	-	$1.79 \times 10^{-10}$	-	-	-	-	-	-
PEG400 <sup>b</sup>	$1.15 \times 10^{-11}$	94.4	$1.70 \times 10^{-10}$	-	-	2.00	0.67	0.33	[44]
PEG600 <sup>a</sup>	$6.91 \times 10^{-12}$	135.8	$1.17 \times 10^{-10}$	-	-	2.33	0.52	0.22	[45]
Ethyl Acetate <sup>a</sup>	$2.90 \times 10^{-9}$	0.423	$1.12 \times 10^{-11\dagger}$	-	-	1.78	1.63	0.92	[37, 46]
Methyl Acetate <sup>d</sup>	$3.63 \times 10^{-9}$	0.364	$9.41 \times 10^{-12\dagger}$	-	-	1.64	1.29	0.78	[37, 46]
DMF <sup>a</sup>	$1.67 \times 10^{-9}$	0.794	$1.04 \times 10^{-11\dagger}$	-	-	1.30	1.23	0.95	[37, 47]
Chloroform <sup>a</sup>	$2.38 \times 10^{-9}$	0.537	$5.90 \times 10^{-12\dagger}$	-	-	1.71	1.22	0.71	[27, 37]
Acetone <sup>a</sup>	$4.65 \times 10^{-9}$	0.306	$2.90 \times 10^{-12\dagger}$	-	-	1.54	1.16	0.75	[37, 48]
DMSO <sup>a</sup>	$7.44 \times 10^{-10}$	1.987	$1.92 \times 10^{-11\dagger}$	-	-	1.48	1.16	0.79	[37, 49]
1,2-Dichloroethane <sup>a</sup>	$1.71 \times 10^{-9}$	0.779	$1.07 \times 10^{-11\dagger}$	-	-	1.64	1.31	0.80	[50]

Name	$D/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\eta/\text{mPa} \cdot \text{s}^\dagger$	$\tau_\alpha/\text{s}$	$\tau_D/\text{s}$	$\tau_\beta/\text{s}$	$R_t/\text{nm}$	$R_r/\text{nm}$	$R_r/R_t$	Ref.
Acetonitrile <sup>a</sup>	$4.42 \times 10^{-9}$	0.369	$3.37 \times 10^{-12}\dagger$	-	-	1.34	1.14	0.85	[37, 51]
Tetrahydrofuran <sup>a</sup>	$2.90 \times 10^{-9}$	0.456	$4.00 \times 10^{-12}\dagger$	-	-	1.65	1.13	0.68	[37, 52]
Dichloromethane <sup>a</sup>	$3.52 \times 10^{-9}$	-	$5.71 \times 10^{-12}\dagger$	-	-	-	-	-	[37, 50]
Glycerol <sup>a</sup>	$1.88 \times 10^{-12}$	934	$1.22 \times 10^{-9}$	-	-	1.24	0.60	0.48	[37]
1,2,6-Hexanetriol <sup>a</sup>	$7.41 \times 10^{-13}$	1678	$3.86 \times 10^{-9}$	-	-	1.76	0.72	0.41	[53]
1,2,4-Butanetriol <sup>a</sup>	$1.10 \times 10^{-12}$	704	$2.20 \times 10^{-9}$	-	-	2.82	0.80	0.28	[54]
Water <sup>e</sup>	$2.299 \times 10^{-9}\dagger$	0.89	$1.02 \times 10^{-12}\dagger$	$8.17 \times 10^{-12}\dagger$	-	1.07	0.31	0.29	[14, 31, 37]
Water <sup>e</sup>	-	-	$1.69 \times 10^{-13}\dagger$	$8.32 \times 10^{-12}\dagger$	-	1.07	0.57	0.54	[16]

<sup>a</sup> Wako Chemical

<sup>b</sup> Sigma-Aldrich

<sup>c</sup> Tokyo Chemical

<sup>d</sup> Kanto Chemical

<sup>e</sup> purified by Direct-Q 3UV, Millipore, resistivity as 18.2M $\Omega$ /cm

<sup>†</sup> literature values

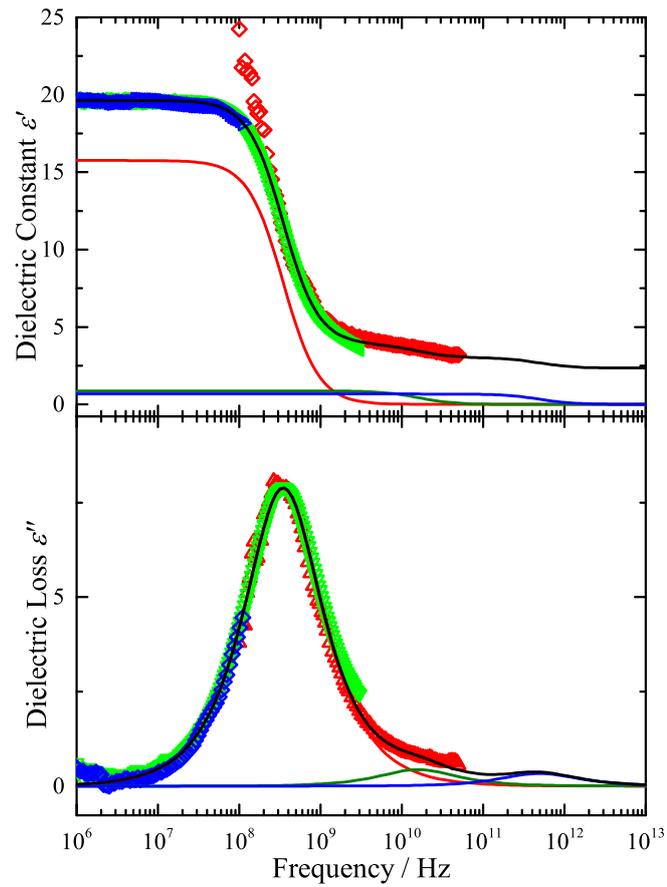


Figure 5.1 The dielectric constant  $\epsilon'$  and the dielectric loss  $\epsilon''$  for 1-Butanol. Red, green, and blue plots were obtained from VNA, IMA, and IA, respectively. The black solid line shows the best fitted lines by three superposition of the Debye equation. The red, green, and blue solid lines separately show each process, Debye-process,  $\alpha$ -process, and  $\beta$ -process in order from low frequency side, respectively.

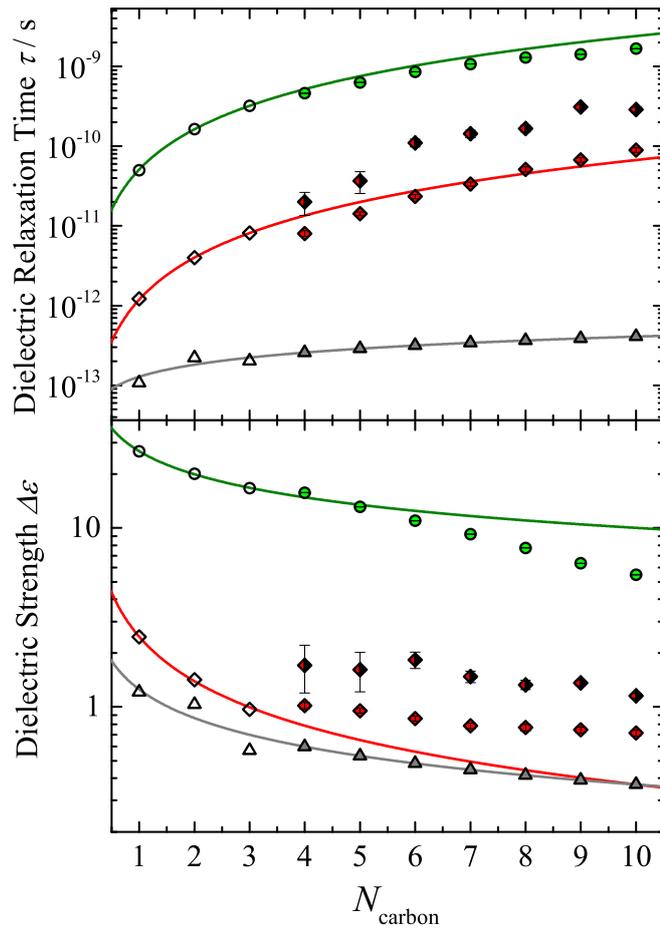


Figure 5.2 Predicted lines and the fitted values of mono-alcohols. The literature values<sup>[16]</sup> of methanol, ethanol, 1-propanol are plotted as an open, circle, diamond, and triangle, symbols. The predicted lines were obtained from literature values and power law with carbon number as a variable. A closed green, red, gray plots were fitted values of the present study by superposition of three Debye equations. Each circle, diamond, and triangle plot represents the Debye-process, the  $\alpha$ -process, and the  $\beta$ -process (see text), respectively. Half-filled symbols are fitted by Cole-Davidson equation.

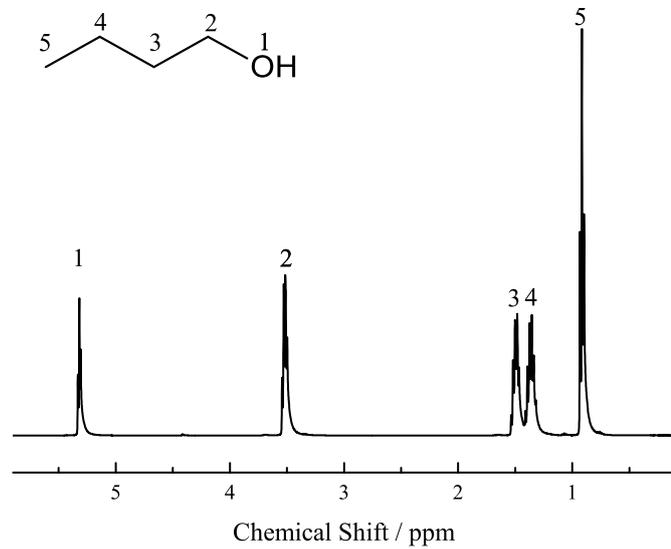


Figure 5.3 A  $^1\text{H}$ -NMR spectrum for the 1-butanol and its peak assignment, without chemical shift standard and deuterated solvents. The calibration of chemical shift is performed beforehand of the measurement.

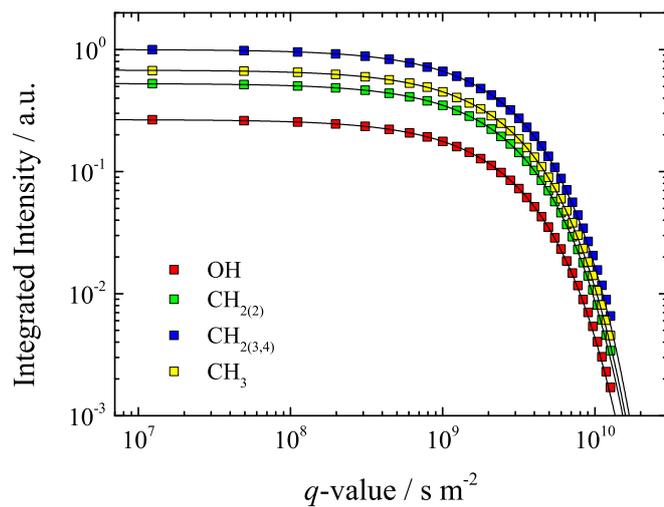


Figure 5.4 The attenuation curve of the PFG-NMR measurement for the 1-butanol. The blue, yellow, green, red plots correspond to the peak assignment number of Fig. 5.3 as shown as legend. The integrated intensity is normalized by the blue plots values.

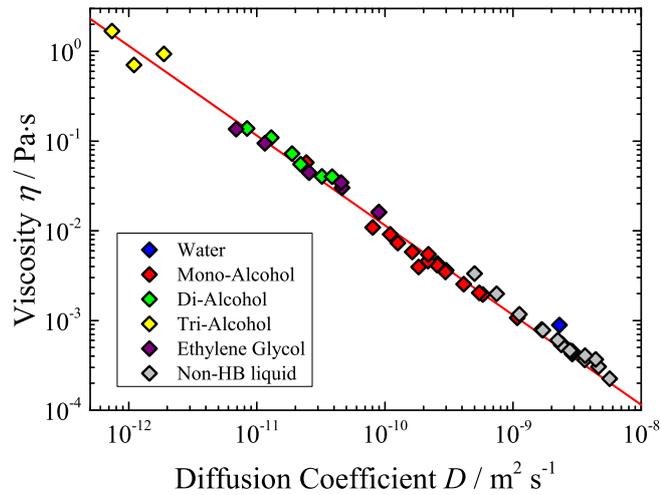


Figure 5.5 The relationship between the viscosity,  $\eta$ , and the translational diffusion coefficient,  $D$ . The viscosity values are cited from literatures (see Table. 5.1). The diffusion coefficient of water is reported by Holz et al.<sup>[31]</sup> that used as a referenced sample for the series of the PFG-NMR measurements. The red line represents best fitted values by Stokes-Einstein equation with  $R_t$  as  $1.90 \times 10^{-10}$  m.

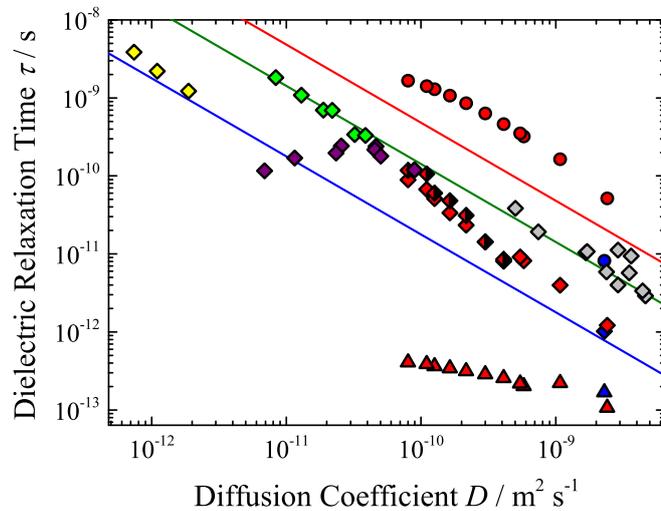


Figure 5.6 The relationship between the dielectric relaxation time,  $\tau$ , and the translational diffusion coefficient,  $D$ . Each circle, diamond, and triangle plot represents the Debye-process, the  $\alpha$ -process, and the  $\beta$ -process (see text). The closed symbols are obtained by the three Debye equation fitting. The half-filled symbols are fitted by Cole-Davidson equation, and its dielectric relaxation time is corrected by Eq. 5.5. The yellow, green, red, plots represent tri-, di-, mono-alcohols, respectively. The purple, gray, blue plots represent ethylene glycol oligomers, non hydrogen bonded liquids, and water, respectively. The red, green, blue are obtained by the Eq. 5.6 with  $R_t$  as  $1.90 \times 10^{-10}$  m, and  $R_r/R_t$  as 1, 2/3, 1/3, respectively. The black line is depicted by power law by the exponent as -1/3 that is not follow the Eq. 5.6.

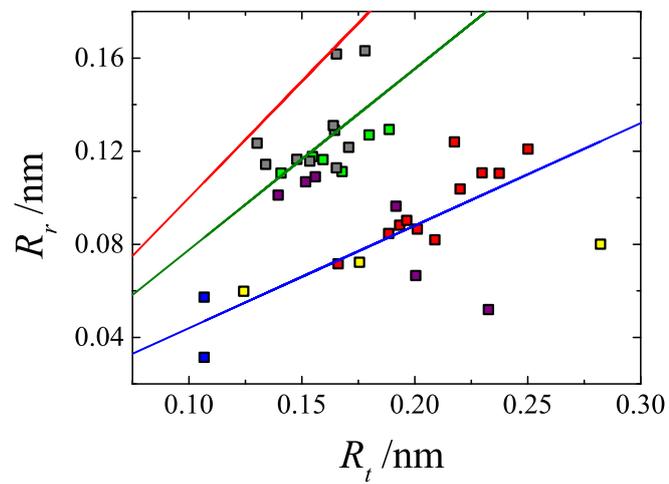


Figure 5.7 The relationship between the rotational effective radius  $R_r$  and translational effective radius  $R_t$ . The yellow, green, red, plots represent tri-, di-, mono-alcohols, respectively. The purple, gray, blue plots represent ethylene glycol oligomers, non hydrogen bonded liquids, and water, respectively. The red, green, blue are represent linear relation with slope as 1.00, 0.78, and 0.44, respectively.

## 参考文献

- [1] Roland Böhmer, Catalin Gainaru, and Ranko Richert. Structure and dynamics of mono-hydroxy alcohols—Milestones towards their microscopic understanding, 100 years after Debye. *Physics Reports*, 545(4):125–195, dec 2014.
- [2] C. A. Angell, K. L. Ngai, G. B. McKenna, P. F. McMillan, and S. W. Martin. Relaxation in glassforming liquids and amorphous solids. *Journal of Applied Physics*, 88(6):3113–3157, 2000.
- [3] C. Hansen, F. Stickel, T. Berger, Ranko Richert, and E. W. Fischer. Dynamics of glass-forming liquids. III. Comparing the dielectric  $\alpha$ - and  $\beta$ -relaxation of 1-propanol and o-terphenyl. *The Journal of Chemical Physics*, 107(4):1086–1093, jul 1997.
- [4] Jesper S. Hansen, Alexander Kisliuk, Alexei P. Sokolov, and Catalin Gainaru. Identification of Structural Relaxation in the Dielectric Response of Water. *Physical Review Letters*, 116(23):1–5, 2016.
- [5] C. Gainaru, R. Meier, S. Schildmann, C. Lederle, W. Hiller, E. A. Rössler, and R. Böhmer. Nuclear-magnetic-resonance measurements reveal the origin of the debye process in monohydroxy alcohols. *Physical Review Letters*, 105(25):1–4, 2010.
- [6] D. Fragiadakis, C. M. Roland, and R. Casalini. Insights on the origin of the Debye process in monoalcohols from dielectric spectroscopy under extreme pressure conditions. *Journal of Chemical Physics*, 132(14), 2010.
- [7] Sebastian Pawlus, Marian Paluch, and Marzena Dzida. Molecular Dynamics Changes Induced by Hydrostatic Pressure in a Supercooled Primary Alcohol. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(21):3249–3253, nov 2010.
- [8] Li Min Wang and Ranko Richert. Dynamics of glass-forming liquids. IX. Structural versus dielectric relaxation in monohydroxy alcohols. *Journal of Chemical Physics*, 121(22):11170–11176, 2004.
- [9] E. Rössler, U. Warschewske, P. Eiermann, A. P. Sokolov, and D. Quitmann. Indications

- for a change of transport mechanism in supercooled liquids and the dynamics close and below  $T_g$ . *Journal of Non-Crystalline Solids*, 172-174(PART 1):113–125, 1994.
- [10] M. D. Ediger, C. A. Angell, and Sidney R. Nagel. Supercooled Liquids and Glasses. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(31):13200–13212, 1996.
- [11] S. Havriliak and S. Negami. A complex plane representation of dielectric and mechanical relaxation processes in some polymers. *Polymer*, 8:161–210, 1967.
- [12] Kenneth S. Cole and Robert H. Cole. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics. *The Journal of Chemical Physics*, 9(4):341, 1941.
- [13] D. W. Davidson and R. H. Cole. Dielectric Relaxation in Glycerol, Propylene Glycol, and n - Propanol. *The Journal of Chemical Physics*, 19(12):1484–1490, dec 1951.
- [14] J. Barthel, K. Bachhuber, R. Buchner, and H. Hetzenauer. Dielectric spectra of some common solvents in the microwave region. Water and lower alcohols. *Chemical Physics Letters*, 165(4):369–373, 1990.
- [15] Yoshiki Yomogida, Yuki Sato, Ryusuke Nozaki, Tomobumi Mishina, and Jun'ichiro Nakahara. Dielectric study of normal alcohols with THz time-domain spectroscopy. *Journal of Molecular Liquids*, 154(1):31–35, jul 2010.
- [16] Ruoyu Li, Carmine D'Agostino, James McGregor, Michael D Mantle, J Axel Zeitler, and Lynn F Gladden. Mesoscopic Structuring and Dynamics of Alcohol/Water Solutions Probed by Terahertz Time-Domain Spectroscopy and Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(34):10156–10166, aug 2014.
- [17] Takaaki Sato and Richard Buchner. Dielectric relaxation spectroscopy of 2-propanol-water mixtures. *Journal of Chemical Physics*, 118(10):4606–4613, 2003.
- [18] E O Stejskal and J E Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependant field gradient. *The Journal of chemical physics*, 42(1):5, 1965.
- [19] Ernst Rössler. Indications for a change of diffusion mechanism in supercooled liquids. *Physical Review Letters*, 65(13):1595–1598, sep 1990.
- [20] Thorsten Koddermann, Ralf Ludwig, and Dietmar Paschek. On the validity of Stokes-Einstein and Stokes-Einstein-Debye relations in ionic liquids and ionic-liquid mixtures. *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry*, 9(13):1851–8, sep 2008.
- [21] Maxim Vergeles, Pawel Keblinski, Joel Koplik, and Jayanth R. Banavar. Stokes drag at

- the molecular level. *Physical Review Letters*, 75(2):232–235, 1995.
- [22] F. Ould-Kaddour and D. Levesque. Molecular-dynamics investigation of tracer diffusion in a simple liquid: Test of the Stokes-Einstein law. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 63(1 II):1–9, 2001.
- [23] F. Fujara, B. Geil, H. Sillescu, and G. Fleischer. Translational and rotational diffusion in supercooled orthoterphenyl close to the glass transition. *Zeitschrift für Physik B Condensed Matter*, 88(2):195–204, jun 1992.
- [24] Marco G. Mazza, Nicolas Giovambattista, H. Eugene Stanley, and Francis W. Starr. Connection of translational and rotational dynamical heterogeneities with the breakdown of the Stokes-Einstein and Stokes-Einstein-Debye relations in water. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 76(3):1–12, 2007.
- [25] Stella Bielowka, Tatiana Psurek, Jerzy Ziolo, and Marian Paluch. Test of the fractional Debye-Stokes-Einstein equation in low-molecular-weight glass-forming liquids under condition of high compression. *Physical Review E*, 63(6):2–5, 2001.
- [26] Stephen R. Becker, Peter H. Poole, and Francis W. Starr. Fractional Stokes-Einstein and Debye-Stokes-Einstein relations in a network-forming liquid. *Physical Review Letters*, 97(5):2–5, 2006.
- [27] R. Chandra, Meizhen Xu, Paul Firman, Edward M. Eyring, and Sergio Petrucci. Microwave and infrared dielectric relaxation of alkyl carbonates, chloroform, and their mixtures at 25 ° C. *Journal of Physical Chemistry*, 97(47):12127–12133, 1993.
- [28] Donald W. Marquardt. An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, 11(2):431–441, jun 1963.
- [29] Takashi Iwashita, Tsuyoshi Konuma, Erisa Harada, Shoko Mori, and Kenji Sugase. Use of glass capillaries to suppress thermal convection in NMR tubes in diffusion measurements. *Magnetic Resonance in Chemistry*, (April):729–733, 2016.
- [30] J. E. Tanner. Use of the Stimulated Echo in NMR Diffusion Studies. *Journal of Chemical Physics*, 52(5):2523–2526, 1970.
- [31] Manfred Holz, Stefan R. Heil, and Antonio Sacco. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate <sup>1</sup>H NMR PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742, 2000.
- [32] Takaaki Sato and Richard Buchner. Dielectric Relaxation Processes in Ethanol/Water

- Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108(23):5007–5015, jun 2004.
- [33] F. Alvarez, A. Alegria, and J. Colmenero. Relationship between the time-domain Kohlrausch-Williams-Watts and frequency-domain Havriliak-Negami relaxation functions. *Physical Review B*, 44(14):7306–7312, 1991.
- [34] Cecilie Ronne and Søren Rud Keiding. Low frequency spectroscopy of liquid water using THz-time domain spectroscopy. *Journal of Molecular Liquids*, 101(1-3):199–218, 2002.
- [35] Bozena Szabat, Karina Weron, and Paulina Hetman. Wait-and-switch relaxation model: Relationship between nonexponential relaxation patterns and random local properties of a complex system. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 75(2):45–52, 2007.
- [36] U. Kaatze, R. Behrends, and R. Pottel. Hydrogen network fluctuations and dielectric spectrometry of liquids. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 305(1-3):19–28, 2002.
- [37] William M Haynes. *CRC handbook of chemistry and physics*. CRC press, 2014.
- [38] John George and Nandhibatla V Sastry. Densities, Dynamic Viscosities, Speeds of Sound, and Relative Permittivities for Water + Alkanediols (Propane-1,2- and -1,3-diol and Butane-1,2-, -1,3-, -1,4-, and -2,3-Diol) at Different Temperatures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 48(6):1529–1539, nov 2003.
- [39] Jalal Basiri Parsa and Mahdiah Farshbaf Haghro. Excess molar volume and viscosity deviation for binary mixtures of polyethylene glycol dimethyl ether 250 with 1,2-alkanediols (C3-C6) at  $T = (293.15 \text{ to } 323.15) \text{ K}$ . *Journal of Chemical Thermodynamics*, 40(5):782–788, 2008.
- [40] G Fytas and T Dorf Müller. Depolarized light scattering studies of liquids: 1,5 - and 2,4 pentanediol. *The Journal of Chemical Physics*, 75(11):5232–5237, 1981.
- [41] Tatiana Lech, Grzegorz Czechowski, and Jan Jadzyn. Viscosity of the Series of 1, n -Alkanediols. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 46(3):725–727, may 2001.
- [42] Nandhibatla V Sastry and Mitesh C Patel. Densities, Excess Molar Volumes, Viscosities, Speeds of Sound, Excess Isentropic Compressibilities, and Relative Permittivities for Alkyl (Methyl, Ethyl, Butyl, and Isoamyl) Acetates + Glycols at Different Temperatures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 48(4):1019–1027, jul 2003.
- [43] Cezary M. Kinart, Magdalena Klimczak, and Wojciech J. Kinart. Volumetric and dielectric characterization and analysis of internal structure of binary mixtures of 2-ethoxyethanol with ethylene glycol, diethylene glycol, triethylene glycol, and tetraethy-

- lene glycol at  $T=(293.15, 298.15$  and  $303.15)$  K. *Journal of Molecular Liquids*, 145(1):8–13, mar 2009.
- [44] Fang Han, Jianbin Zhang, Guohua Chen, and Xionghui Wei. Density , Viscosity , and Excess Properties for Aqueous Poly ( ethylene glycol ) Solutions from (  $298 . 15$  to  $323 . 15$  ) K. *Engineering*, 400:2598–2601, 2008.
- [45] Kuichun Zhang, Jingru Yang, Xuechun Yu, Jianbin Zhang, and Xionghui Wei. Densities and viscosities for binary mixtures of poly(ethylene glycol) 400 + dimethyl sulfoxide and poly(ethylene glycol) 600 + water at different temperatures. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 56(7):3083–3088, 2011.
- [46] R. M. Shirke, Ajay Chaudhari, N. M. More, and P. B. Patil. Temperature dependent dielectric relaxation study of ethyl acetate - Alcohol mixtures using time domain technique. *Journal of Molecular Liquids*, 94(1):27–36, 2001.
- [47] Josef Barthel, Richard Buchner, and Bernhard Wurm. The dynamics of liquid formamide, N-methylformamide, N,N-dimethylformamide, and N,N-dimethylacetamide. A dielectric relaxation study. *Journal of Molecular Liquids*, 98-99:51–69, 2002.
- [48] U. Kaatze and V. Lönnecke-Gabel. Dielectric spectroscopy on binary mixtures of organic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 48(1):45–60, jul 1991.
- [49] Zijie Lu, Evangelos Manias, Digby D. Macdonald, and Michael Lanagan. Dielectric Relaxation in Dimethyl Sulfoxide/Water Mixtures Studied by Microwave Dielectric Relaxation Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(44):12207–12214, nov 2009.
- [50] V. P. Pawar. Dielectric relaxation of propan-1-ol with chlorobenzene, 1,2-dichloroethane, and dimethylene chloride at (288, 298, 308, and 318) k using time-domain reflectometry technique. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 51(3):882–885, 2006.
- [51] M. L T Asaki, A. Redondo, T. A. Zawodzinski, and A. J. Taylor. Dielectric relaxation and underlying dynamics of acetonitrile and 1-ethyl-3-methylimidazolium triflate mixtures using THz transmission spectroscopy. *Journal of Chemical Physics*, 116(23):10377–10385, 2002.
- [52] a C Kumbharkhane, S N Helambe, M P Lokhande, S Doraiswamy, and S C Mehrotra. Structural study of aqueous solutions of tetrahydrofuran and acetone mixtures using dielectric relaxation technique. *Pramana*, 46(2):91–98, feb 1996.
- [53] Th. Dorfmueller, H. Dux, G. Fytas, and W. Mersch. A light scattering study of the

- molecular motion in hexanetriol 1,2,6. *The Journal of Chemical Physics*, 71(1):366–375, 1979.
- [54] Frank Pisacane, J. 1, 2, 4-butanetriol: analysis and synthesis. *Technical Report (Naval Surface Weapons Center Silver Spring MD).*, 1982.

## 第6章

### まとめ

本研究では、異なる空間・時間スケールを念頭に入れた分子ダイナミクスについて、回転・並進の双方の視点から議論した。空間スケールの異なる系として大きい側から並べると食品ゲル、脂質膜分散系、そして低分子量分子液体となり、それぞれ 100 から  $1\mu\text{m}$ 、50nm、1 から 0.1nm 程度を単位とした空間スケールを持つ。食品ゲル、分散系では特に水の分子運動についてのみ着目したが、低分子量分子液体ではこれを発展させ、様々な分子液体について統一的な議論を試みた。

分子の回転・並進運動を捉えるため MHz から GHz 域の誘電分光法と、Pulsed Field Gradient(PFG)-NMR 法を用いた。前者は電場に対する双極子モーメントの応答として分子の回転を、後者は PFG によって位置をマーキングした核スピンの移動によるシグナルの減少として分子の拡散を観測する手法である。それぞれの手法は時間スケールが大きく異なっており、誘電分光法ではピコ秒からナノ秒程度、PFG-NMR 法ではミリ秒から数秒程度の観測時間域を持つ。この観測時間域に伴って観測する空間スケールも異なる。水分子を例に挙げれば、誘電分光法で観測した 8ps の誘電緩和時間は水分子が形成する水素結合ネットワークの動的挙動に起因する特性時間であり、水分子の直径を 2 から  $3\text{\AA}$ (0.2 から 0.3nm)、水素結合の長さを  $3\text{\AA}$ (0.3nm) と仮定すれば最低  $3\text{\AA}$  程度から、さらに相関長を考え  $10\text{\AA}$  程度までの空間スケールでの観測と見積もられる。一方で、PFG-NMR 法で標準的に用いている観測時間域は 20ms であり、水分子の拡散係数  $2.3 \times 10^{-9}\text{m}^2/\text{sec}$  から見積もると  $15\mu\text{m}$  程度である。分子の回転や並進運動は同時に生じる現象であり、それぞれを反映した誘電緩和時間と並進拡散係数にも相関があるかどうか興味深い。一方この様な時間域の違いは結果として、異なる観測空間域におけるダイナミクスを観測可能にし、分子が近傍の構造から受ける束縛や協同運動をも反映する。

食品ゲルのモデルとして用いた豆腐は流体力学的半径が  $6\text{nm}$ <sup>[1]</sup> 程度の大豆たんぱく質である Glycinin(分子量  $M_w=300,000\text{-}350,000$ ) を単位として構成されている。この Glycinin が加熱により変性し 2 価のイオンを架橋剤として凝集構造をとることで豆腐ゲルが形成される。電子顕微鏡観察から豆腐ゲルには 1 から  $100\mu\text{m}$  程度の階層的な小胞構造をとることがわかっている<sup>[2]</sup>。

第4章で用いた食品ゲルでは、誘電緩和時間分布パラメータ  $\beta$  と拡散係数  $D$  の間に明確な相関が認められた。議論している緩和時間は水分子が形成する水素結合ネットワークのダイナミクスに起因することは明らかなため、 $\beta$  は豆腐ゲル構造や表面の Glycinin の残基により乱された水素結合ネットワークの不均一性を表している。一方で拡散係数は  $10\mu\text{m}$  程度の空間スケールを持つ水分子の並進運動から、1 から  $100\mu\text{m}$  オーダーの豆腐ゲル構造を反映している。両者の時空間スケールは決定的に異なっているが、両者には明らかな相関が認められた。このことは誘電緩和時間分布パラメータ  $\beta$  によって観測されたある時空間における豆腐ゲルの構造が、PFG-NMR 測定における時空間スケールまで同様な階層構造性を示しているためと考えられる。

第3章で述べたリポソーム/水分散系に関する研究では、長径方向の長さ  $4\text{nm}$  程度のリン脂質である DPPC により構成された直径  $50\text{nm}$  のベシクル構造を単位としている。リポソーム/水分散液においてはそれぞれ fast 成分、slow 成分とする二種類の水の拡散係数が得られた。拡散係数の温度や濃度に対する依存性から、前者は分散液中の自由水、後者はリポソームを構成する脂質膜に水和した水であると考えられる。過去の研究から、今回の観測時間域である 5 から  $200\text{ms}$  においては、水分子はリポソーム内外を頻繁に行き来していることが示唆されている<sup>[3]</sup>。実際に slow 成分が観測されたことから、脂質膜-水分子間の水和構造自体は今回の研究の観測時間域まで維持されいていることが明らかである。この水和構造は脂質膜の相転移によって顕著な変化を示し、拡散係数の急激な増大として観測された。本研究室における過去の誘電分光測定による報告から<sup>[4,5]</sup> 脂質膜の相転移に伴って水素結合ネットワークが乱され  $\beta$  が減少することがわかっている。誘電分光法においては拡散係数で見られた水和水や自由水の区別はなく、水分子ダイナミクスのゆらぎとして観測されており、脂質膜の相転移がその  $\beta$  の値に大きく影響を与えたものと考えられる。食品ゲルの研究とは異なり、PFG-NMR 法の観測時空間域では二成分の拡散係数が観測されたが、 $\beta$  と拡散係数  $D$  にはやはり関連が認められた。

第5章で述べた低分子量分子液体ではもはやゲルやベシクルといった大規模構造は存在せず、1分子或いはその分子が形成するネットワーク構造が最小単位となる。低分子量分子液体のサンプルとして特に 1 価、2 価、3 価アルコール、エチレングリコール、非水素結合性の有機溶媒、および水を採用し、それぞれの誘電緩和時間と拡散係数を測定した。上述の水素結合ネットワークに起因する誘電緩和 (Debye 過程) は 1 価アルコールと水についてのみ観測されたが、今回の様な小さな単位の空間スケールを持つ系では、この水素結合ネットワークに起因する緩和と系の巨視的な粘性や並進運動を反映した拡散係数には明らかな関連は見られなかった。また、今世紀に入って最近では  $0.1\text{ps}$  域に存在すると言われる緩和過程も拡散係数には関係せず<sup>[6]</sup>、 $1\text{ps}$  域に観測される  $\alpha$  過程と呼ばれる過程の緩和時間のみが拡散係数と対応付けられるとする解釈がなされ、その場合  $\alpha$  緩和も分子周辺の水素結合ネットワークの環境下にはあるが、ネットワーク構造自体の

緩和とは異なる機構によるものであると帰結されることに注意しなくてはならない。さらに、水素結合密度は分子量の変化以上に拡散係数と誘電緩和時間  $\tau_\alpha$  の相関にも影響を及ぼし、この相関が広い時間域に対して階層構造性をもって維持されることが明らかになった。

先に挙げた二つの系では水素結合ネットワークの生成消滅に起因する誘電緩和の不均一性を特徴づける  $\beta$  と水分子の並進拡散係数に関連があることを示した。二つの系はそれぞれ異なる空間スケールの構造を持ち、リポソームでは脂質膜の相転移が  $\beta$  の減少を引き起こし、食品ゲルではゲルの構造そのものが  $\beta$  を減少させる。さらに、前者では脂質膜に水和した水分子について、後者ではゲル構造の階層性を考えることで拡散係数との対応を説明することができた。一方で、最後に挙げた低分子量分子液体のような均一な系では水素結合ネットワークによる緩和よりも短い緩和時間を持つ  $\alpha$  過程と拡散係数を対比させることで、分子の回転・並進に関する議論を行うことができた。

本研究では、異なる空間構造・スケールを持つた3つの系で、異なる時空間スケールを持つ測定手法を用いることで時空間スケールや階層構造性の概念を取り入れた普遍的な議論を提示した。この手法や時空間スケールを取り入れた分子ダイナミクスの議論はソフトマターの物性、そして物性を特徴づける分子の動的構造を理解するための重要な役割を果たすことが期待できる。現在、さらにこれまで用いたものとは異なるゲル系、分散系、生体細胞やその巨視的な構造、高分子水溶液などに対して、同様の議論が適用可能であるかどうかの検証に取り組んでおり、今後、時空間構造や階層構造性を取り入れた議論をより一般的な形で深めていく予定である。

## 参考文献

- [1] R A Badley, D Atkinson, H Hauser, D Oldani, J P Green, and J M Stubbs. the Structure, Physical and Chemical Properties of Soy Bean Protein Glycinin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 412:214–228, 1975.
- [2] Yuzuru Onodera, Tomotada Ono, Katsuhiko Nakasato, and Kyoko Toda. Homogeneity and Microstructure of Tofu Depends on 11S/7S Globulin Ratio in Soymilk and Coagulant Concentration. *Food Science and Technology Research*, 15(3):265–274, 2009.
- [3] D Huster, a J Jin, K Arnold, and K Gawrisch. Water permeability of polyunsaturated lipid membranes measured by  $^{17}\text{O}$  NMR. *Biophysical journal*, 73(August):855–864, 1997.
- [4] S. K. Kundu, S. Choe, K. Sasaki, R. Kita, N. Shinyashiki, and S. Yagihara. Relaxation dynamics of liposomes in an aqueous solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015.
- [5] Yasuyuki Hosoi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, and Shin Yagihara. Dielectric Study of Liposome Dispersion Using Statistical Analysis of Jitter. *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 35(4):861–864, 2010.
- [6] Ruoyu Li, Carmine D’ Agostino, James McGregor, Michael D Mantle, J Axel Zeitler, and Lynn F Gladden. Mesoscopic Structuring and Dynamics of Alcohol/Water Solutions Probed by Terahertz Time-Domain Spectroscopy and Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(34):10156–10166, aug 2014.

## 研究業績

### (1) 発表論文 - 5 件

1. 川口翼, 斉藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”誘電分光法と PFG-SE NMR 法を用いた豆腐ゲルの水構造ダイナミクス”,  
Proceedings of the School of Science of Tokai University 50, 111-119, 2015.  
NAID: 120005677500
2. T. Kawaguchi, R. Kita, N. Shinyashiki, S. Yagihara, M. Fukuzaki,  
”The Bi-modality Diffusion of Water Molecules in Liposome/Water Dispersion Systems  
Analyzed by Pulsed Field Gradient Spin Echo NMR Method”,  
Transactions of the Materials Research Society of Japan, Vol. 41 (2016) No. 4 p.  
359-362.  
DOI: 10.14723/tmrj.41.359
3. Doreen Niether, Tsubasa Kawaguchi, Jana Hovancova, Kazuya Eguchi, Jan K. G.  
Dhont, Rio Kita, and Simone Wiegand,  
”Role of Hydrogen Bonding of Cyclodextrin - Drug Complexes Probed by Thermod-  
iffusion”,  
Langmuir, 2017, 33 (34), pp 8483 - 8492. [IF=3.833]  
DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b02313
4. Tsubasa Kawaguchi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki,  
”Physical Properties of Tofu Gel Probed by Water Translational/Rotational Dynamics”  
Food Hydrocolloids, [IF=4.747] , *in Press*.  
DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.10.025
5. Seiichi Sudo, Youki Suzuki, Fumiya Abe, Yuki Hori, Takahiro Nishi, Tsubasa

Kawaguchi, Hironobu Saito, Shin Yagihara,

”Investigation of the molecular dynamics of restricted water in wood by broadband dielectric measurements”,

Journal of Materials Science, [IF=2.599], *in Press*.

DOI: 10.1007/s10853-017-1824-9

(2) 査読付きプロシーディングス - 2 件

1. Shin Yagihara, Yasuyuki Hosoi, Shyamal Kumar Kundu, Tsubasa Kawaguchi, Seiei Watanabe, Hayato Kamata, Megumi Asano, Fumiya Abe, Yuko Maruyama, Shunsuke Sato, Hironobu Saito, Yosuke Miyamoto, Seiichi Sudo, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Minoru Fukuzaki,

”Dynamic interaction of electromagnetic wave with water molecules observed by broadband dielectric spectroscopy and complementary techniques”,

Proceedings of the 10th International Conference on Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substances (ISEMA2013), pp 27-36.

2. Tsubasa Kawaguchi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki, ”Observation and Complementary Analysis for Water Dynamics of Tofu Gel using PFG-NMR and Dielectric Spectroscopy”,

Proceedings of the 11th International Conference on Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substances (ISEMA2016), pp 369-377.

(3) 学会発表 (国際) - 7 件

1. Shin Yagihara, Yasuyuki Hosoi, Shyamal Kumar Kundu, Tsubasa Kawaguchi, Seiei Watanabe, Hayato Kamata, Megumi Asano, Fumiya Abe, Yuko Maruyama, Shunsuke Sato, Hironobu Saito, Yosuke Miyamoto, Seiichi Sudo, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Minoru Fukuzaki,

”Dynamic interaction of electromagnetic wave with water molecules observed by broadband dielectric spectroscopy and complementary techniques” (Oral),

The 10th International Conference on Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substances (ISEMA2013), Germany, September, 2013.

2. Tsubasa Kawaguchi, Shunsuke Sato, Ayaka Kurose, Yuko Tanaka, Rio Kita, Naoki

- Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki,  
”Molecular Dynamics of Tofu Analyzed by PFG-SE NMR and Broadband Dielectric Spectroscopy”(Poster),  
The 15th IUMRS-International Conference in Asia(IUMRS-ICA 2014), Fukuoka, August, 2014.
3. Tsubasa Kawaguchi, Yasuyuki Hosoi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki,  
”Diffusion of Water in Liposome/Water Dispersion by PFG-SE NMR”(Oral),  
The 15th IUMRS-International Conference in Asia(IUMRS-ICA 2014), Fukuoka, August, 2014.
4. Shin Yagihara, Yuko Maruyama, Hironobu Saito, Yosuke Miyamoto, Tsubasa Kawaguchi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Minoru Fukuzaki,  
”New Analytical Method of Water Structures by Fractal Concept”(Oral), The 15th IUMRS-International Conference in Asia(IUMRS-ICA 2014), Fukuoka, August, 2014
5. Tsubasa Kawaguchi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki,  
”Observation and Complementary Analysis for Water Dynamics of Tofu Gel using PFG-NMR and Dielectric Spectroscopy”(Oral),  
11th International Conference on Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substance (ISEMA2016), Italy, May, 2016.
6. Doreen Niether, Kazuya Eguchi, Tsubasa Kawaguchi, Jana Hovancova, Rio Kita, Simone Wiegand,  
”Thermophoresis of cyclodextrins and cyclodextrin-drug-complexes”,  
Bunsentagung 2017, Germany, May, 2017.
7. Tsubasa Kawaguchi, Yuki Hori, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki,  
”The Relation of Dielectric Relaxation with Translational Diffusion for Typical Alcohols”,  
8th International Discussion Meeting on Relaxations in Complex Systems (IDMRCS8), Poland, July, 2017.

## (4) 学会発表 (国内) - 37 件

1. 八木原晋, 川口翼, 斉藤宏伸, 細井泰之, 喜多理王, 新屋敷直木, 福崎稔, クンドウ・シャマル,  
”生体膜モデルの動的な水構造観測”(Oral),  
第 61 回高分子討論会, 名古屋, 2012 年 9 月.
2. Tsubasa Kawaguchi, Yasuyuki Hosoi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara,  
Minoru Fukuzaki, ”Dynamics of Water Molecules in Liposome/Water Dispersion by  
Dielectric Spectroscopy and PFG-NMR Method”(Oral), The 22th Symposium of MRS-  
Japan, Tokyo, September, 2012.
3. 斉藤宏伸, 川口翼, 佐々木海渡, 岸泰弘, 丸山裕子, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”核磁気共鳴法および誘電分光法を用いた食品水分の解析手法の構築”(Poster),  
平成 24 年度神奈川県ものづくり技術交流会, 神奈川, 2012 年 11 月.
4. 川口翼, 斉藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, ”PFG-NMR 法による多様な  
分散系の拡散係数測定”(Poster), 第 50 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2012 年 12 月.
5. 川口翼, 佐藤駿介, 宮本陽介, 阿部史也, 田中優子, 黒瀬彩加, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原  
晋, 福崎稔, ”核磁気共鳴と誘電分光法を用いた食品評価”(Poster), 平成 25 年度神奈川県も  
のづくり技術交流会, 神奈川, 2013 年 10 月.
6. 川口翼, 佐藤駿介, 黒瀬彩加, 田中優子, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”核磁気共鳴と誘電分光法による豆腐の分子ダイナミクス”(Poster),  
第 51 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2013 年 12 月.
7. 川口翼, 細井泰之, 宮本陽介, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”PFG-NMR 法によるリポソーム/水分散液中における水分子のダイナミクス解析”  
(Poster),  
第 23 回日本 MRS 年次大会 (2013), 神奈川, 2013 年 12 月.
8. 阿部史也, 川口翼, 篠原春香, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”誘電分光法及び PFG-NMR 法による脂質ヒスチジンゲル化剤の会合形成の温度依存  
性”(Poster),  
第 23 回日本 MRS 年次大会 (2013), 神奈川, 2013 年 12 月.

9. 川口翼, 福崎稔, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 井上敬文, 河合朋充,  
”NMR を用いたヒト毛髪中の水分子ダイナミクスの観測”(Poster),  
日本物理学会第 69 回年次大会, 神奈川, 2014 年 3 月.
10. 佐藤駿介, 川口翼, 福崎稔, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 増田治史, 浅原孝之,  
”in vivo 測定法を用いた生体組織の水構造解析”(Poster),  
第 52 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2014 年 12 月
11. 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 大下誠一,  
”マイクロ・ナノバブルが水構造ダイナミクスに及ぼす影響” (Oral),  
日本物理学会第 70 回年次大会, 東京, 2015 年 3 月.
12. 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”PFG-NMR 法によるエマルション系の拡散計測”(Poster),  
第 54 回 NMR 討論会, 千葉, 2015 年 11 月.
13. 齊藤宏伸, 川口翼, 庄司幸平, 高村優, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”相補的測定手法を用いた低分子水溶液中の協同的分子ダイナミクスの研究”(Oral),  
第 53 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2015 年 12 月.
14. 青山剛志, 川口翼, 齋藤徹哉, 清水健太, 庄司幸平, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”敗血症および水素水がネズミ臓器の水構造に与える影響”(Poster),  
第 53 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2015 年 12 月.
15. 堀雄貴, 西堯宏, 齊藤宏伸, 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”広帯域誘電分光法と PFG-NMR 法による木材中の水構造観測と含水率依存性の評価”,  
第 53 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2015 年 12 月.
16. 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”傾斜磁場勾配法を用いた  $^{31}\text{P}$ ,  $^2\text{H}$ -NMR によるリポソーム/水分散系における拡散現象”  
(Oral),  
25th Annual Meeting of MRS-Japan 2015, 神奈川, 2015 年 12 月.
17. 田窪洸祐, 八木原晋, 新屋敷直木, 喜多理王, 佐藤駿介, 川口翼, 栗田太作, 福崎稔, 灰田宗孝,

- 大橋三男,  
”フィリングインに対する前頭葉の NIRS 測定” (Poster),  
25th Annual Meeting of MRS-Japan 2015, 神奈川, 2015 年 12 月
18. 青山剛志, 齊藤宏伸, 川口翼, 清水健太, 八木原晋, 新屋敷直木, 喜多理王, 福崎稔, 浅見耕司,  
”懸濁液中の細胞構造に起因する誘電緩和過程” (Poster),  
25th Annual Meeting of MRS-Japan 2015, 神奈川, 2015 年 12 月
19. 須藤誠一, 鈴木養樹, 阿部史也, 堀雄貴, 西堯宏, 八木原晋, 川口翼, 齊藤宏伸,  
”乾燥過程における皮付き丸太の誘電緩和測定” (Oral),  
第 66 回木材学会大会, 名古屋, 2016 年 3 月
20. 川口翼, 齊藤宏伸, 青山剛志, 里村ベロニカ, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”PFG-NMR 法による食品ゲル中での水の拡散挙動解析” (Oral),  
第 39 回日本バイオレオロジー学会年会, 東京, 2016 年 6 月.
21. 堀雄貴, 川口翼, 齊藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 須藤誠一, 鈴木養樹,  
”PFG-NMR による木材中における水分子の拡散異方性の研究” (Poster),  
第 65 回高分子討論会, 神奈川, 2016 年 9 月.
22. 江口和也, 川口翼, 八木原晋, 新屋敷直木, 喜多理王, Doreen Niether, Jana Hovancova,  
Simone Wiegand,  
”シクロデキストリンとアスピリンの包摂錯体における熱泳動” (Oral),  
第 3 回 FCCA シンポジウム FCCA グライコサイエンス若手フォーラム 2016, 神奈川,  
2016 年 10 月.
23. 江口和也, 川口翼, 八木原晋, 新屋敷直木, 喜多理王, D.Niether, J.Hovancova, and  
S.Wiegand,  
”シクロデキストリンとアスピリンの包接錯体における熱拡散現象” (Poster),  
第 12 回総合医学研究所研修会, 神奈川, 2016 年 10 月
24. 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”リポソーム/水分散液における水分子のダイナミクス解析” (Poster),  
第 55 回 NMR 討論会, 広島, 2016 年 11 月.

25. 青山剛志, 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 伊藤敦, 浅見耕史,  
”細胞分散系の PFG-NMR と誘電分光法による膜損傷に伴う水とイオンの運動性の変化”(Poster),  
第 55 回 NMR 討論会, 広島, 2016 年 11 月.
26. 堀雄貴, 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”さまざまな低分子液体の PFG-NMR 法と誘電分光法における並進および回転拡散の評価”(Poster),  
第 55 回 NMR 討論会, 広島, 2016 年 11 月.
27. 川口翼, 高村優, 堀雄貴, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”液体分子の回転・並進拡散の相補的解析による動的構造の特徴づけ”(Poster),  
第 54 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2016 年 12 月.
28. Yuki Hori, Tsubasa Kawaguchi, Rio Kita, Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara, Minoru Fukuzaki, Seiichi Sudo, Youki Suzuki,  
”Anisotropic Diffusion and Relaxation of Water Molecules in Wood Observed by PFG-NMR”(Poster),  
26th Annual Meeting of MRS-Japan 2016, 神奈川, 2016 年 12 月.
29. 江口和也, 川口翼, 新屋敷直木, 八木原晋, 喜多理王, Doreen Niether, Jana Hovancova, Simone Wiegand,  
”温度勾配を駆動力としたアスピリン/シクロデキストリン包摂錯体の分子輸送現象”(Poster),  
第 40 回バイオレオロジー学会年会, 岡山, 2017 年 5 月
30. 江口和也, 川口翼, 新屋敷直木, 八木原晋, 喜多理王, Doreen Niether, Jana Hovancova, Simone Wiegand,  
”シクロデキストリンを用いた包接錯体のゲスト分子が熱物質拡散現象に与える効果”(Poster),  
第 34 回シクロデキストリンシンポジウム, 名古屋, 2017 年 8 月-9 月
31. 川口翼, 青山剛志, 齋藤徹哉, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 増田治史,  
”拡散 NMR と誘電分光法を用いたマウス臓器の水分子ダイナミクス解析”(Poster),

第 56 回 NMR 討論会, 東京, 2017 年 11 月

32. 堀雄貴, 川口翼, 斉藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 須藤誠一, 鈴木養樹,  
”PFG-NMR による木材中における水分子の異方的な動的挙動の解析”(Poster),  
第 56 回 NMR 討論会, 東京, 2017 年 11 月
33. 川口翼, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔,  
”拡散 NMR 法による不均質系の特徴付け”(Oral),  
第 55 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2017 年 11 月
34. 堀雄貴, 川口翼, 斉藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 須藤誠一, 鈴木養樹,  
”木材中の異方的な水分子のダイナミクスにおける研究”(Poster),  
第 55 回高分子と水に関する討論会, 東京, 2017 年 11 月
35. 八木原晋, 庄司幸平, 川口翼, 斉藤宏伸, 井本大蔵, 喜多理王, 新屋敷直木, 福崎稔,  
”水素結合ネットワークと水系の様々なスケールでのフラクタル解析”(Poster),  
第 27 回 日本 MRS 年次大会, 神奈川, 2017 年 12 月
36. 須藤誠一, 鈴木養樹, 阿部史也, 堀雄貴, 西堯宏, 川口翼, 斉藤宏伸, 八木原晋,  
”広帯域誘電分光による木材中で拘束された水の分子ダイナミクスの解明”(Poster),  
第 27 回 日本 MRS 年次大会, 神奈川, 2017 年 12 月
37. 堀雄貴, 川口翼, 斉藤宏伸, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔, 須藤誠一, 鈴木養樹,  
”PFG-NMR と誘電分光法による木材中における水分子の拡散異方性”(Poster),  
第 27 回 日本 MRS 年次大会, 神奈川, 2017 年 12 月

(5) 受賞 - 4 件

1. 第 51 回高分子と水に関する討論会 奨励賞, 2013 年 12 月
2. 第 54 回高分子と水に関する討論会 奨励賞, 2016 年 12 月
3. 第 40 回バイオレオロジー学会年会 優秀ポスター賞 (共著者として), 2017 年 5 月
4. 第 56 回 NMR 討論会 優秀ポスター賞, 2017 年 11 月

## 謝辞

本研究は東海大学理学部物理学科分子複雑系研究グループ (Research Group of Molecular complex System; RGMS)、八木原研究室にて行ったものです。

はじめに、指導教官として学部生の頃から7年間に渡り多くのことを教えて下さいました同学科 八木原晋教授に深く感謝を申し上げます。また、核磁気共鳴の原理・実践的な知識を懇切丁寧にご教授頂いた東海大学熊本教養教育センター 福崎稔教授に深く感謝申し上げます。お二人には浅学寡聞な私に学問や研究に関して数え切れないほどのことを教えて頂いただけでなく、私生活や人生観に渡ってまで多くのご指導を賜りました。これまでのお二人のご指導がなければ今の私はありません。心より感謝申し上げます。

数多くの丁寧かつ明瞭な議論、研究の作法について沢山のご指導を頂きました、理学部物理学科 新屋敷直木教授に感謝申し上げます。特にガラス転移や液体構造に関して頂いた助言は私の大きな糧となりました。

副指導教官としてご指導頂きました理学部物理学科・東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター 喜多理王教授に感謝申し上げます。数多くの指導、議論の機会のみならず、海外の研究者と共に研究する機会を頂き、とても学びの多い体験をすることができました。

共同機器の利用にあたり様々な形でお助け下さいました、東海大学技術共同管理室高度物性評価施設 宮本泰男様、同化学系機器分析室 小田慶喜様に感謝申し上げます。お二人の助力が無ければ電子顕微鏡や NMR といった高度な装置を活用することは適いませんでした。

ご多忙な中、本論文の審査を快くお受けくださり、多くの助言を頂きました、東海大学情報理工学部情報科学科 黒田輝教授、東京海洋大学食品生産科学部門 松川真吾教授に御礼申し上げます。本論文の審査のみならず、NMR に関する数多くの助言を頂き、より活発かつ精確な研究活動を行

なうことができました。

前述の諸氏のお力添えにより本研究・論文を纏めることができました。改めて深謝の意を表します。不本意ながら誤謬や欠落が見受けられた場合は、全て私の不足の致すところである事をここに明記し、結びとさせていただきます。

最後に、長期に渡って実りの多い学生生活・研究活動を送り、数多くの素晴らしい方々と関わる機会を与えてくれた両親に深く感謝します。