総 合 論 文

Structure and Molecular Mobility of the
Carboxymethylpolysaccharide-Metal Complexes

Takayoshi MATSUMOTO and Hirofumi ZENKOH

*Department of Polymer Chemistry, Kyoto University,
Kyoto 606, Japan*

Structure and molecular mobility of complexes between carboxymethylpolysaccharides (carboxymethylcellulose and carboxymethylchitin) and alkaline-earth metal ions in aqueous systems were studied by means of dynamic viscoelasticity, SAXS and NMR measurements.

The frequency-dependent curves of the dynamic modulus measured with a cone-plate rheometer shift to a longer time-scale region with complex formation and can be superposed to a master curve by only a horizontal shift. This means that the relaxation times lengthen by complexation and that the complexation is an intramolecular rather than an intermolecular process. The SAXS and NMR measurements revealed that the site for complexation is a cavity between the carboxyl group and the hydroxy group attached to the neighbouring residue. A new molecular model for complexation was presented.

Key words: Carboxymethylcellulose / Carboxymethylchitin / Polysaccharide-metal complex / Time-salt superposition / Molecular model of complexation

カルボキシメチル化多糖-金属錯体の構造と分子運動性

松 本 孝 芳・善 光 洋 文*

(原稿受理：1992年6月18日)

1. 結 言

多糖およびその誘導体（以下、多糖類という）は、アルカリ土類金属あるいは遷移金属と錯体を形成することは古くから知られていた^{1)~4)}。その構造については金属イオンと多糖残基上の置換基がキレート構造を形成すると考えられている。アルカリ土類金属イオン当たりの多糖残基の配位数は1あるいは2とされているが、詳細は不明である^{5)~8)}。多糖類は金属イオンとの錯形成によってゲル化するとされている。これは主に系の剛性率が錯形成によって増加することから、錯形成点が架橋点として作用するためであるとされている。しかし、後述するように、レオロジーの観点からはこのゲル化に伴う剛性率の増加は問題を含む。このような背景のもとに、多糖-金属錯体のモデルとして、架橋モデルとペンダントモデルが提案されている⁹⁾。前者は金属イオンが、

異なる高分子鎖に属する多糖残基（実際には置換基）と配位して、錯形成点が分子間架橋として作用するモデル、後者は金属イオンが同一分子鎖上の多糖残基とキレートを形成するモデルである。したがって、後者では錯形成点は、剛性率を増加させるような架橋点としては作用しない。

一方、近年自然環境の保護および経済性等の観点から、水溶性高分子素材の開発に対する社会的要請は強い。したがって、多糖類-金属錯体系の工業的重要性は増加しつつあると言える。このような背景のもとに、ここでは比較的広く用いられ、且つ材料の供給が安定化しているセルロースおよびキチンのカルボキシメチル化物に注目する。カルボキシメチル化セルロース (CMC) およびカルボキシメチル化キチン (CMCh) は、それぞれ D-グルコースおよび N-アセチル-D-グルコサミンが、 β -1, 4 結合した線状多糖である。これらの多糖類では Fig. 1 に示すように、H 原子以外の全ての置換基がエクトリアルに結合している C1 配座が

* 京都大学工学部高分子化学教室 〒606 京都市左京区吉田本町

Fig. 1 Chemical formula of carboxymethylchitin. Each carbon atom is numbered. The meaning of the space S1 is described in section 3.3.

安定である。カルボキシメチル基は、まず6位のC原子に付加したOH基と反応し、置換度の増加につれて2あるいは3位のOH基とも反応するとされている。

当報告では、CMC および CMCh とアルカリ土類金属間の錯形成について、レオロジー特性、光散乱、小角X線散乱 (SAXS) および NMR を用いた研究結果について述べ、それらの結果から導かれる新しい錯モデルを提案する^{10)~13)}。

2. 実験

2.1 試料

使用した CMC (Na 塩), CMC 18 および CMC 36 は、第一工業製薬 (京都) から提供を受けた。また、CMCh (Na 塩) はナカライテスク (京都) より購入した。これらの試料のカルボキシメチル化度 D_s , 光散乱測定より求めた重量平均分子量 M_w を Table I に示す^{11),12)}。これらの高分子を蒸留水あるいは予め調整した所定濃度の塩溶液に溶解させ測定に供した。

Table I. Characteristics of samples.

Sample	D_s	$M_w/10^4$
CMC 18	1.13	22.2
CMC 36	1.31	58.5
CMCh 100	0.869	63.3

2.2 測定

レオロジー測定には、円錐-円板形レオメータ ((Rheometrics Mechanical Spectrometer) を用いた。円錐角は 1.70, 円板半径は 2.5cm, 動的歪振幅は 0.1 である。この歪振幅では、系は線形粘弾性を示す。NMR 測定には FTNMR スペクトロメータ (FX90Q, 日本電子) を用い、飽和回復法によりスピン-格子緩和時間 T_1 を求めた¹¹⁾。SAXS 測定には、6m 点収束型 SAXS カメラ (京都大学超強力X線研究施設) を用いた。X線の波長は 1.542 Å である。

3. 結果および考察

3.1 錯形成に伴う緩和時間の変化

Fig. 2 には、種々の CaCl_2 濃度 (0~0.5M) における CMC 18 の 15% 溶液の動的剛性率 G' および動的損失 G'' の角周波数依存性を示す。これらの曲線は、27~60°C の範囲で時間-温度換算則を適用し、基準温度 40°C における合成曲線である。 a_T はそのときの移動係数である。添加塩濃度の増加につれて、系の G' およ

Fig. 2 Storage G' and loss G'' moduli plotted against angular frequency for 15 wt% aqueous systems of CMC 18 at various concentrations of CaCl_2 .

び G'' は一見増加しているように見える。しかし、これらの曲線を水平に移動させることにより、すなわちちょうど時間-温度の重ね合せと同様の方法で、 G' , G'' とそれぞれ一本の合成曲線に重ねることができる。Fig. 3 には、 CaCl_2 , 0M 基準にして作成した合成曲線を示す。ここで、 a_s はこの重ね合せにおける移動係数である。以後、この重ね合せを時間-塩の重ね合せと呼ぶ。

Fig. 3 Master curves of G' and G'' for the CMC 18 aqueous systems by the time-salt superposition.

Fig. 3 に示されるように、この時間-塩の重ね合せの精度は極めて高い。しかし、ここで注意すべきは、この重ね合せは塩析の効果が顕著になるような高塩濃度 (CaCl_2 では約 1N より高濃度) では適用できない点である。

Fig. 4 には、高分子量の試料 CMC 36 の 15% 溶液に対する時間-塩の重ね合せによる G' および G'' の合成曲線を示す。この系では、 G' および G'' にはゴム状平坦部が観察されるが、この領域でも時間-塩の重ね合せは良好に成立する。以上のことから、CMC-Ca 錯体はゴム状平坦部の高さを増加させるような架橋点としては作用せず、ゴム状平坦部から流動領域にわたる広いタイムスケールで、系の緩和時間を長時間側へ移動させる作用を持つことが解る。これは錯形成に伴い高分子主鎖の運動性が、ちょうど温度を低下させたときと同様に、低下することを意味する。時間-塩の重ね合せは、CMCh 系についても、また移動量はそれぞれ異なるが、他のアルカリ土類金属イオン系でも成立する。

Fig. 4 Master curves of G' and G'' for the CMC 36 aqueous systems by the time-salt superposition.

Fig. 5 には、CMC 18~15% 系に種々のアルカリ土類金属イオンを添加した場合の移動係数 a_s の添加塩濃度依存性を示す。いずれの系でも添加塩濃度の増加とともに a_s は増加する。この図には、ポリアクリル酸ナトリウム PAA ($M_w = 57.0 \times 10^4$) 系に対する CaCl_2 添加による移動係数とともに示す。この系では、 a_s は添加塩濃度の増加とともに低下する。これは、塩添加とともに PAA ポリイオンにおける静電ポテンシャルが遮蔽され、PAA 分子鎖の運動性の増加と関連付けられよう。多糖類の a_s と c_s の関係は、一見して金属イオン種に依存するようである。 a_s は、CMC 系では $\text{Mg}^{2+} < \text{Sr}^{2+} < \text{Ba}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$ の順に、また CMCh 系では $\text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Sr}^{2+} < \text{Ba}^{2+}$ の順に増加する。しかし、 a_s に及ぼすイオン種の効果の違いを観るためには、添加したイオン量ではなく、実際に高分子に吸着（結合あるいは配位）したイオン量との関係に換算する必要がある。そこで、高分子に吸着したイオン量を次のように算定した。CMC 18 および CMCh 100 をそれぞれ 1% になるように、0.03~0.07N の MCl_2 (M は金属イオン) 水溶液に溶解し、透析チューブにいれ蒸留水で透析する。チューブ内液は 30ml、透析外液は 1l である。透析外液の電気伝導度が一定になった時点（5~7 日）で、液の一部を EBT (Erochrome black T) を指示薬として、EDTA (ethylenediamine tetra-acetic acid) で滴定し、透析された金属イオン量を算定した。

Fig. 5 Logarithm of the shift factor a_s plotted against concentration of added salt, c_s , for the aqueous systems of CMC 18 and polyacrylic acid (PAA).

Table II. Fraction of metal ions bound to CMC 18 and CMCh 100.

	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Sr^{2+}	Ba^{2+}
CMC 18	0.529	0.972	0.714	0.915
CMCh 100	0.368	0.421	0.363	0.720

この方法で求めた添加イオン量に対する吸着イオン量の割合 f を、Table II に示す。 f は、CMC 18 系では $\text{Mg}^{2+} < \text{Sr}^{2+} < \text{Ba}^{2+} \sim \text{Ca}^{2+}$ の順に、CMCh 100 系では $\text{Sr}^{2+} \sim \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Ba}^{2+}$ の順に大きくなる。Fig. 6 は、CMC 系および CMCh 系に関する移動係数 a_s の高分子への実際の吸着量 $c_b (=f c_s)$ に対するプロットである。CMC 系の a_s と c_b の関係（破線）は直線で近似されるが、CMCh 系（実線）では、この関係は曲線となる。また、CMCh 系で a_s の急に立ち上がる領域では、塩析のため時間-塩の重ね合せが成立しない。時間-塩の重ね合せが十分精度良く適用できる濃度範囲において、CMC 系および CMCh 系ともに a_s は近似的に金属イオンの種類に依存しない。さらに、この依存性

Fig. 6 Logarithm of the shift factor a_s for various alkaline-earth metals plotted against c_b , the concentration of ion bound to the CMC 18 (....., open symbols) and CMCh 100 (—, filled symbols). Added salts; MgCl_2 (Δ , $\blacktriangle$), CaCl_2 ($\circ$, $\bullet$), SrCl_2 ($\square$, $\blacksquare$), BaCl_2 ($\square$, $\blacksquare$).

は CMC, CMCh 両系において, 余り大きくは異なる。これは錯形成に伴う分子運動の拘束性は, アルカリ土類金属イオン種に依存せず, 高分子への吸着 (配位) 数によって決定されること, および CMC 系と CMCh 系の錯形成過程および構造は, 相互に類似しているであろうこと等を意味する。

3・2 錯形成位置および分子形態

Fig. 7 には, CMCh 100-10% 水溶液の ^{13}C NMR スペクトルを示す。それぞれのピークは Fig. 1 に示したそれぞれの炭素原子に起因する。ここでは, $\sigma=170\sim 180\text{ppm}$ に検出されるカルボキシル炭素 C8 およびカルボニル炭素 C9 に着目し, これらの炭素原子のスピン-格子緩和時間 T_1 の錯形成に伴う変化について述べる。Fig. 8 には, CMCh 100-10%, CaCl_2 添加系における C8 および C9 のスピン-格子緩和時間の温度および添加塩濃度依存性を示す。C8 および C9 の T_1 はともに, 温度の増加につれて僅かに増加する ($\circ$ および $\bullet$)。温度上昇に伴い分子の運動性は増加するとみなせるから, 当実験に用いた試料および測定温度範囲では, T_1^{-1} が分子運動の相関時間に相当するとみなせる。すなわち, T_1 の増加は分子運動性の増加に関係付けられる。C8 の T_1 (Δ) は, 一定温度 (30°C) で CaCl_2 濃度の増加と共に

Fig. 7 ^{13}C NMR spectrum for 10 wt% aqueous solution of CMCh 100 at 50°C . The number of carbon atom is assigned according to the chemical formula of Fig. 1.

Fig. 8 Spin-lattice relaxation time T_1 of carbon atoms of C8 (open symbols) and C9 (filled symbols) for the CMCh 100, 10wt% system plotted against the concentration of CaCl_2 added, c_s , and temperature T .

急激に低下する。一方, C9 の T_1 ($\blacktriangle$) は CaCl_2 濃度に無関係にほぼ一定値を示す。以上のことから, CMCh 100 と Ca イオン間の錯形成によって, カルボキシル炭素 C8 の運動性は低下するが, カルボニル炭素 C9 の運動性はほとんど変化しないと言える。すなわち, C8 は錯形成に関与しているが, C9 はほとんど関与していないことが解る。CMC- CaCl_2 系についてもほぼ同様のことが言える。すなわち, CMC-Ca イオン間の錯形成において, カルボキシル炭素 C8 の運動性は低下するが, C1 および C6 炭素

Fig. 9 Relationship between radius of gyration and the concentration of CaCl_2 added.

の運動性はほとんど変化しない。これらのことから、CMCh および CMC いずれの系でも、アルカリ土類金属イオンとの錯形成点は、カルボキシル炭素に近い位置にあると考えられる。さらに、この錯形成には C3 上の OH 基も関与していることが、FTIR によって確認されている¹⁴⁾。

Fig. 9 には、SAXS によって測定された CMCh 100-CaCl₂ 系の高分子鎖の回転半径 R_G と Ca イオン濃度依存性を示す。溶液は二通りの方法で調製した。一つは、高分子濃度を一定 (0.0714 %) にして塩濃度を変えた系 (○), 他は塩濃度を一定 (0.00161 M) にして高分子濃度を変えた系 (△) である。いずれの系でも 3・1 で述べたレオロジー測定に用いた系と、高分子と Ca イオンの混合比が相同になるように作成してある。図から解るように、回転半径 R_G は Ca イオンの増加とともに増加する。その増加の程度はいずれの溶液調製法でもほぼ等しい。残基当たりの Ca イオン濃度が 1 を越えた辺りで (この Ca イオン濃度は、時間-塩の重ね合わせが適用できなくなる濃度に近い), R_G は急激に低下し 100 Å 程度となる。この値は過剰の塩 ((NaCl, 1M) を添加した系における R_G とほぼ等しい。

3・3 新しい錯体モデル

前節までの実験結果から、カルボキシメチル化多糖とアルカリ土類金属イオン間の錯形成について、次のことが判明した。1) 錯形成は分子間でなく分子内反応である。2) 錯形成位置はカルボキシル炭素に近い。3) 錯形成に伴う緩和時間の伸びは、近似的には金属イオン種に依存せず、錯形成に関与するイオン数のみに依存する。4) 錯形成に伴い高分子鎖の回転半径は増加する。以上の結果を考慮にいれ、錯体の分子モデルについて議論する。

3・1 で述べた粘弾性の緩和時間 τ_p は、次式で与えられる^{15),16)}。

$$\tau_p = \frac{b^2 n^2 \zeta}{6\pi^2 p^2 kT}, \quad (p=1,2,3,\dots) \quad (1)$$

ここで、 n は重合度、 ζ はモノマー当たりの摩擦係数、 b はモノマー当たりの両端間距離の二乗平均の平方根、 k はボルツマン定数、 T は絶対温度である。時間-塩の重ね合わせにおける移動係数 a_s は、ある塩濃度 c_s における τ_p と基準の塩濃度 c_0 における τ_p の比で与えられる。したがって、

$$a_s = \frac{b_s^2 \zeta_s}{b_0^2 \zeta_0} \quad (2)$$

ここで、 b および ζ に関する下付き添字 0 および s は、それぞれ無添加塩系および添加塩系に関する量を示す。この関係は修正 Rouse 理論¹⁷⁾、Graessley 理論¹⁸⁾ および Doi-Edwards 理論¹⁹⁾ においても成立する。すなわち、微視的には a_s は塩添加による b と ζ の変化に関連付けられる。Ferry によれば、 ζ は系の自由体積および特に高分子主鎖結合の回転の束縛に著しく依存する²⁰⁾。 a_s に及ぼす ζ の寄与率を算定するために、添加塩濃度の増加に伴う b^2 の変化に対し、SAXS より求めた R_G^2 の変化を用いる。これは近似的には妥当であろう。

Fig. 10 には、CMC 18 および CMCh 100-CaCl₂ 系に関して移動係数 a_s 、 b_s^2/b_0^2 およびこれらを用いて、式 (2) より計算した ζ_s/ζ_0 の値と c_b の関係を示す。 a_s と c_b の関係は、初期勾配は等しいものの CMC 系の方が CMCh 系より直線部分が広い。 b_s^2/b_0^2 と c_b の関係は、CMC 系および CMCh 系でほぼ一致し、その関係は次式で与えられる。

Fig. 10 Logarithm of the shift factor a_s (Δ , $\blacktriangle$), the ratio of the monomeric mean square end-to-end distance b_s^2/b_0^2 ($\circ$, $\bullet$) and the ratio of the monomeric friction coefficient ζ_s/ζ_0 (.....) plotted against the concentration of adsorbed Ca ions for the systems of CMC 18 and CMCh 100.

$$\log(b_s^2/b_0^2) = 0.31c_b \quad (3)$$

いずれの系でも a_s に対する ζ_s/ζ_0 の寄与は、 b_s^2/b_0^2 の寄与より大きいことがわかる。すなわち、錯形成に伴うモノマー当たりの摩擦係数の増加は比較的大きい。この点および先に述べた1)~4)の結果を考慮にいれて、CMC および CMCh とアルカリ土類金属イオン間の錯形成に対して、Fig. 11 に示す分子モデルを提案

Fig. 11 The molecular model of complexation between CMC and alkaline-earth metal ions. S1 and S2 are complex sites. Alkaline-earth metal ions are shown by spheres with van der Waals radii.

する。図には CMC の場合を示し、またアルカリ土類金属イオンは、van der Waals 半径を持つ球として示してある。

この錯体モデルでは、アルカリ土類金属イオンはカルボキシメチル基のカルボキシル基と、隣接残基の C3 位に付加する OH 基間のスペース (Fig. 11 の S1 および S2) に配位する。CMCh 系では、Fig. 1 に示すように配位可能スペースは S1 のみになる。分子モデルからも解るように、このスペースはアルカリ土類金属イオンの配位に対して適当な広さを持つとともに、いくつかの酸素原子 (Fig. 1 で右肩に * を付けた原子) に囲まれ、比較的电気陰性度も高いと考えられる。

β -1,4 結合の多糖において錯形成がない場合、残基間の回転角は立体障害のため 60° 程度に束縛されている^{6),21)}。金属イオンが S1 あるいは S2 に配位することによって、隣接残基間の回転は拘束される。この回転拘束の程度は近似的に次のように計算される¹²⁾。

主鎖の回りの対称回転ポテンシャルを仮定すると、両端間の二乗平均距離 $\langle r^2 \rangle$ は次式で与えられる^{22),23)}。

$$\langle r^2 \rangle = nb^2 \left(\frac{1 + \cos \theta}{1 - \cos \theta} \right) \left(\frac{1 + \langle \cos \varphi \rangle}{1 - \langle \cos \varphi \rangle} \right) \quad (4)$$

ここで、 θ は結合角、 φ は回転角である。 $\langle \rangle$ は平均を意味する。ここで、回転ポテンシャルを $U(\varphi)$ とすると、 $\langle \cos \varphi \rangle$ は次式で与えられる。

$$\langle \cos \varphi \rangle = \frac{\int_{-\pi}^{\pi} \cos \varphi \exp[-U(\varphi)/kT] d\varphi}{\int_{-\pi}^{\pi} \exp[-U(\varphi)/kT] d\varphi} \quad (5)$$

CMC および CMCh のような分子では、主鎖の回りの回転は立体障害によって束縛されるから、 $U(\varphi)$ として井戸型ポテンシャルを用いることができる。したがって、錯形成前後の $\langle r^2 \rangle$ の比として、次式が成立する。

$$\frac{\langle r_s^2 \rangle}{\langle r_0^2 \rangle} = \left(\frac{1 + \langle \cos \varphi_s \rangle}{1 - \langle \cos \varphi_s \rangle} \right) \left(\frac{1 - \langle \cos \varphi_0 \rangle}{1 + \langle \cos \varphi_0 \rangle} \right) \quad (6)$$

$\varphi_0 = 60^\circ$ および $\langle r_s^2 \rangle / \langle r_0^2 \rangle$ に対して、式(3)における $c_b = 1$ とし求めた b_s^2/b_0^2 を用いると、 φ_s は約 21° となる。この錯体モデルは、カルボキシメチル化多糖と Cu(II) イオン間の錯形成にも適用できる。しかしこの場合、少なくとも一部の錯形成点は分子間架橋点として作用している。詳細は文献 13) を参照されたい。

謝 辞：本研究は(財)化学素材研究開発振興財団の援助を受けて行われた。深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Mills JA, *Biochem Biophys Res Commun*, **6**, 418 (1961/1962).
- 2) Rendlemann JA, Jr. *Adv Carbohydr Chem*, **21**, 206 (1966).
- 3) Tokura S, Nishimura S, Nishi N, *Polym J*, **15**, 597 (1983).
- 4) Goodall DM, Norton IT, *Acc Chem Res*, **20**, 59 (1987).
- 5) Senti FR, Witnauer LP, *J Polym Sci*, **9**, 115 (1952).
- 6) Rees DA, *Adv Carbohydr Chem Biochem*, **24**, 267 (1969).
- 7) Kurita K, Sannan T, Iwakura Y, *J Appl Polym Sci*, **23**, 511 (1979).
- 8) 宮島 徹, 高分子, **39**, 370 (1990).
- 9) Schlick S, *Macromolecules*, **19**, 192 (1986).
- 10) Matsumoto T, Mashiko K, *Polym Eng Sci*, **28**, 393 (1988).
- 11) Matsumoto T, Ito D, *J Chem Soc Faraday Trans*, **86**, 829 (1990).
- 12) Matsumoto T, Zenkoh H, *J Chem Soc Faraday Trans*, **87**, 3841 (1991), *Food Hydrocoll*, **6**, 379 (1992).
- 13) Matsumoto T, Zenkoh H, *J Chem Soc Faraday Trans*, **88** (1992).
- 14) Uraki Y, Tokura S, *J Macromol Sci, Chem*, **A25**, 1427 (1988).
- 15) Rouse RE, Jr, *J Chem Phys*, **21**, 1272 (1953).
- 16) Zimm BH, *J Chem Phys*, **27**, 673 (1956).
- 17) Ferry JD, Landel RF, Williams ML, *J Appl Phys*, **26**, 359 (1955).
- 18) Graessley WW, *J Chem Phys*, **54**, 5143 (1971).
- 19) Doi M, Edwards SF, *J Chem Soc Faraday Trans II*, **74**, 1789, 1802 (1978).
- 20) Ferry JD, *Viscoelastic Properties of Polymers*, Wiley, New York, 3rd ed, 1980.
- 21) 中島章夫, 細野正夫, 高分子の物性, 化学同人, 4 章, 1969.
- 22) Eyring H, *Phys Rev*, **39**, 746 (1932).
- 23) Oka S, *Proc Phys Mach Sci Jpn*, **24**, 667 (1942).