

分光分析化学的手法を用いた塩添加による水の構造化把握に関する基礎的研究

石川 大太郎

福島大学農学群食農学類

概要 我が国には、醤油のように、水への塩添加が重要な食品は数多く存在する。塩の添加は食品の物性や品質に直接関与し、水の構造に対しても影響があることが知られているが、塩による品質変換操作が水の状態変化に与える影響を物理化学的に評価した事例は少ない。

赤外分光やラマン分光などの振動領域の分光情報を利用したイオンによる水の構造状態の把握に関する研究がなされてきた。近年の計算科学的手法はその研究を強くけん引しているが、とはいっても塩添加溶液中でのイオンによる水構造状態への影響はいまだ明確化されたとはいいがたい。そこで本研究では、塩添加食品の本質的な品質評価法確立のための基礎的研究として、塩添加溶液に対して、赤外/遠赤外分光測定を実施し、イオン存在下における水の水和構造変化がスペクトルに与える影響の把握を試み、塩添加溶液の状態評価のマーカーバンドを探索することを目的として実施した。

イオン半径の異なるカチオンを含む塩溶液の濃度を変えたサンプルに対して、水分活性および赤外/遠赤外分光測定を実施した。水分活性は、塩濃度が増加するにつれてすべての塩において低下した。さらに、水のモル分率と水分活性の関係によって溶液の非理想性がイオン半径に対応して変化する結果を得た。4000-900 cm^{-1} 付近の赤外分光スペクトルから、水分に由来する3バンド(3600, 3400 および 3200 cm^{-1} 付近)に分離され、3200 cm^{-1} のバンドは、強度が低下し高波数シフトした。このバンドは構造由来であると考えられ、塩添加による構造の緩和が生じていること、3400 cm^{-1} のバンドは塩によらず強度のみが変化したことから、弱い水素結合状態の水分子が増加したことが示唆された。3600 cm^{-1} のバンドにはほとんど変化がなかったことからフリー種の水分子は状態的にもほとんどイオンの影響を受けていないことが確認された。さらに 900-100 cm^{-1} 付近にいたるブロードな水のバンドが、塩濃度にもなってピークを生じるバンド位置が変化する結果を得た。NaCl 溶液では等吸光度点が生じたことから2成分系として定義可能であると考えられた。低波数帯のバンドでは多数の水分子が協同で振動するモードと考えられることから中赤外領域より構造への影響が直接的である可能性を示した。これらの結果は、遠赤外(900 cm^{-1} 以下)領域のスペクトル挙動が塩溶液内の水の状態評価に有効であることを強く示唆した。

1. 研究背景および目的

我が国には、醤油のように、水への塩添加が重要な食品は数多く存在する。塩の添加は食品の物性や品質に直接関与し、水の構造に対しても影響があることが知られているが、塩による品質変換操作が水の状態変化に与える影響を物理化学的に評価した事例は少ない。

分光分析化学的手法は、簡易・迅速な食品の品質評価法として特に近赤外領域(700-2500 nm)がよく利用されており、醤油などでは公定法としてもすでに認められている。近赤外領域の分光法を利用した品質評価は、基本的にはケモメトリクスと併用して、PLS 回帰式などによって検量モデルを作ることによって実施されている。したがって、食品加

エプロセス中などに水とイオン間で生じている相互作用の変化などを追跡した解析事例はあまりない。

近赤外領域から遠赤外帯(4000-100 cm^{-1})にわたる分光スペクトルは、振動分光領域といわれ、分子振動を反映した情報が得られる。そのため、直接的に水溶液に溶けだしたイオンに対する検出感度は持っていない。水が、水素結合ネットワークによって正四面体構造をとっていることは知られており、これまで多くの研究者によって水構造の動的変化に関する研究がなされてきた。赤外分光やラマン分光などの振動分光領域では、イオンによる水の構造化に関する研究がなされ、量子化学計算の発展にともなう水の水素結合ネットワークにイオンによる影響評価が見いだせる可能性が示されてきた。しかし、特に低波数赤外からテラヘルツ帯に至る 900 cm^{-1} 以下のバンドは領域では、分子振動に加えて、束縛回転が観測されるが、イオンによる水の構造化がこの領域のスペクトルに与える影響やより高波数赤外に観測される水分子の伸縮振動スペクトルとの関連性はいまだ解明されておらず、有効性が示唆されながら利用が阻害されている現状にある。

以上の背景から、本研究では、塩添加食品の本質的な品質評価法確立のための基礎的研究として、塩溶液に対して、広帯域分光測定を実施し、イオン存在下における水の水和構造化がスペクトルに与える影響の解明を試み、塩添加溶液の状態評価のマーカースペクトルを探る。

*本研究では当該分野の慣例に従って、可視・近赤外領域を波長(nm)で、赤外領域を波数(cm^{-1})で記載した。また遠赤外領域は、分野によって定義が異なるが、本報告書では、900 cm^{-1} 以下の波数帯と定義した。

2. 研究方法

2.1 水分活性

塩水溶液試料は LiCl, NaCl, KCl, CsCl, BaCl₂ と CaCl₂を用いた。100 mL の Milli-Q 水に 2, 6, 10, 14, 18, 22 g ずつ溶かしこいで混合し 25°C で保存した。サンプル溶液は、マイクロピペットを用いてサンプル 9 mL を測定用プラスチックに入れ、水分活性計(ノバジナ Labmaster)にセットした。水分活性測定条件は、25°C として、3 連で測定し、その平均を結果として用いた。食品の水蒸気圧を P, 同一の温度、湿度における、純水の蒸気圧を P₀ とすると、水分活性 A_w は

$$A_w = P/P_0$$

P : 水蒸気圧

P₀ : 純水の蒸気圧

で表される。食品または純水の蒸気圧は、食品と純水をそれぞれの密閉容器においた時の気相中の蒸気圧として求められる。平衡状態では、食品中の水分活性は空気中の水分活性と等しく、ほとんどのガスは非常に理想的であるため、空気中の水分の活性は空気中の水蒸気の割合と等しくなる。本研究では理想溶液との状態変化をラウールの法則に基づき解析を行った。ラウールの法則とは、希薄溶液および理想溶液中で成り立つ法則であり、この法則が成り立つ場合、水のモル分率と水分活性値は比例関係を示す。

$$P_i = P_i^* \cdot \chi_i$$

P_i^{*} : 純液体の蒸気圧

χ_i : モル分率

本研究に用いたような塩水溶液では、イオン濃度の上昇にともない、イオンは水分子と水和し、水分子を束縛したり運動を激しくさせたりするため、非理想性が強まり、比例関係に変化が生じることが予想される。そこで、塩濃度およびカチオンの異なる塩溶液の水分活性を測定し、ラウールの法則の適用性から溶液状態の把握を試みた。

2.3 スペクトル測定

塩水溶液試料の赤外分光スペクトルは、ATR ユニット(ATR-ProOne, ダイヤモンドプリズム, 一回反射)を装着した FT/IR6300 (Jasco.Co)を用いて測定した。JASSO FT ソフト:スペクトルマネージャーを用い、測定範囲 4000-10 cm^{-1} , 波数分解能は 4 cm^{-1} , 積算回数は 256 回とした。FT/IR6300 の干渉計は常に真空中に保持し、またサンプル測定、バックグラウンド測定とも試料室内を窒素ガスでパージしながら行った。分光測定は 3 回ずつ行った。また、各塩水溶液試料から得られた赤外スペクトルには前処理として ATR 補正を行い、平滑化及び二次微分処理を行うことで解析に供した。各試料が得られたスペクトルファイルは、テキスト形式のフォーマットに変換し、Unscrambler (CAMO. Co)に転送した。平滑化と微分処理には、サビツキー-ゴーレイ(Savitzky Golay)法を用いた。サビツキー-

ゴーレイ法は、平滑化や数値微分を適用したいデータ点 (x_0, f_0) とその前後数点 (x に対して等間隔で得られているものとする) に対して、最小二乗法による高次式近似を行い、得られた高次式 $u(x)$ の x_0 における値および微分値を採用するものである。今回の研究では、スムージング波数範囲は、任意に決定し、スムージングの次数は 2 次とした。

3. 研究結果

3.1 水分活性によるイオンの水和特性評価

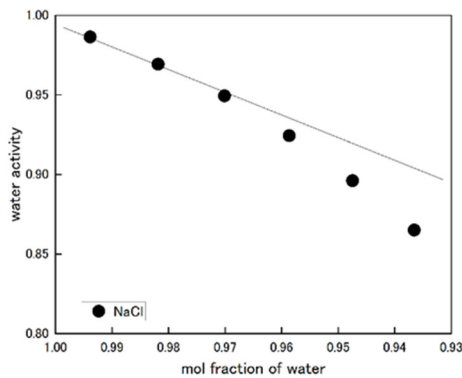
理想溶液では、ラウールの法則にしたがい、水のモル分率と水分活性値は比例関係を示す。しかし実際の水溶液では、イオン濃度の上昇にともない、イオンは水分子と水和し、水分子を束縛したり運動を激しくさせたりするため、比例関係の直線からは外れる。すなわち水溶液中での相互作用の有無に依存して塩溶液を特徴づけることが可能である。そこで本研究でも供試したすべての塩水溶液に対して、水のモル分率と水分活性との関係から、ラウールの法則の適用性を検討した。一例として、NaCl 溶液と CsCl 溶液の変化を図 1 に示す。NaCl 溶液では、水分活性 0.98 から 0.96 付近まで水のモル分率があがると水分活性が減少する負の関係にあったが、0.96 以下で、直線近似からずれ始め、ずれ幅は水分活性 0.93 以降、次第に拡大した。一方、CsCl 溶液では、水分活性 0.98 から 0.94 の付近で水のモル分率との直線的な関係が認められた。その他の塩についても、すべての塩で塩濃度の上昇にともない水分活性は減少したが、ラウールの法則から外れ始める塩濃度は塩の種類によって異なっていた。

ここで、イオン濃度と水分活性との関係がラウールの法則からはずれはじめる点に着目し、イオン間での相互作用が起き始める最小半径を算出した。この最小半径は、つまりイオン間の水和可能範囲が重なりあう点であり、以後この最小半径のことを水和圏半径と呼ぶことにする。算出した結果、この塩の種類ごとに異なる水和圏半径の大小関係は、イオン自身の半径の大小関係と一致していることが明らかになった。

3.2 塩添加水溶液の赤外スペクトル

4000-1000 cm^{-1} の純水の赤外スペクトルと塩溶液のスペクトルの一例を図 2 に示す。塩溶液は、NaCl 22% の濃度である。3600-3200 cm^{-1} 付近に OH 伸縮振動に由来するバンドが確認された。塩溶液では、高波数側にピークが生じ、バンド幅も急峻であった。透過手法で取得された場合、このバンドはサチュレーションを起こしてしまうことから、3600-3200 cm^{-1} 付近のバンドは、ATR 法によって取得せざるを得ないと考えられた。1600 cm^{-1} 付近には、HOH の変角振動に由来するバンドが確認された。このバンドでも塩溶液のバンド強度の方が純水より高かったが、波数位置には違いはなかった。一方 1000 cm^{-1} 以下から 100 cm^{-1} 付近にかけてブロードなバンドが確認された。強度は、塩溶液純水とも吸光度 0.3 程度であったが、興味深いことに、高濃度の NaCl 溶液では、純水のバンドに比べて顕著に低波数側にピークを示した。さらに 100 cm^{-1} 付近に小さなバンドが生じたが、これは並進運動に由来するバンドであると考えられるが、塩の場合と純水の場合でほとんど値に差異がないことが示された。

(a)



(b)

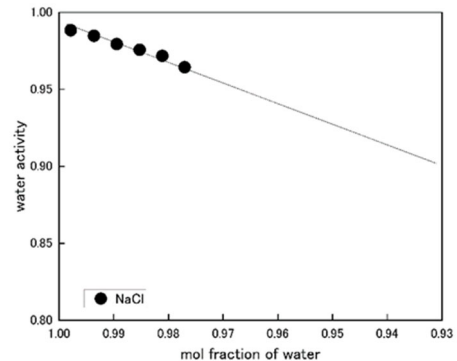


Figure 1 Relationships between water activity and mol fraction of water in (a) NaCl solution and (b) CsCl solution

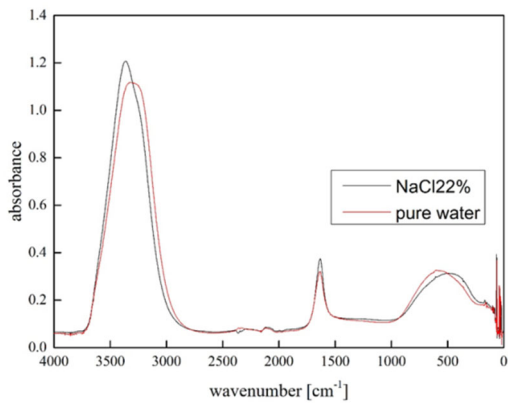


Figure 2 IR spectra in the 4000-100 cm^{-1} of pure water and 22% NaCl solution

NaCl 溶液の 3600-3200 cm^{-1} 付近の OH 伸縮振動に由来するバンドの濃度ごとの変化を図 3 に示す。この領域には、3200 cm^{-1} と 3390 cm^{-1} 付近に強い吸収が生じた。さらに、3617 cm^{-1} 付近にも小さなバンドの存在が確認された。2つの特徴バンドの挙動について詳細に調査を行ったところ、3200 cm^{-1} 付近のバンドは、わずかに強度を下げながら、高波数シフトする傾向にあった。また、3390 cm^{-1} 付近のバンドは、波数位置に変化はなかったが、イオン濃度に対応して徐々に強度が増加する結果となった。3200 cm^{-1} 付近のバンドシフトは、他の塩溶液でも確認されたが、挙動はやや異なるようである。すなわち、NaCl 溶液では、濃度 18%程度までは、わずかな高波数シフトであったが、その後急激に高波数側にシフトする可能性が示唆された。また、KCl では、濃度 15%程度まで徐々に波数が高波数側へ移動し、その後、ある波数位置で横ばいとなった。これは、上昇の程度は異なるが、LiCl および CsCl も同様であった。一方、CaCl₂ および BaCl₂ では、バンドシフトはほとんど生じなかった。このバンドの強度変化は、先に述べたように、NaCl 溶液では、濃度増加にともなって、徐々に強度が低下する傾向にあった。また、KCl 溶液においても低下したが、CsCl やその他の塩溶液では、強度変化はわずかであった。

3400 cm^{-1} 付近のバンド挙動については、今回供試したすべての塩溶液において、波数位置に変化は認められなかった。強度変化について、供試した溶液のうち、CsCl を

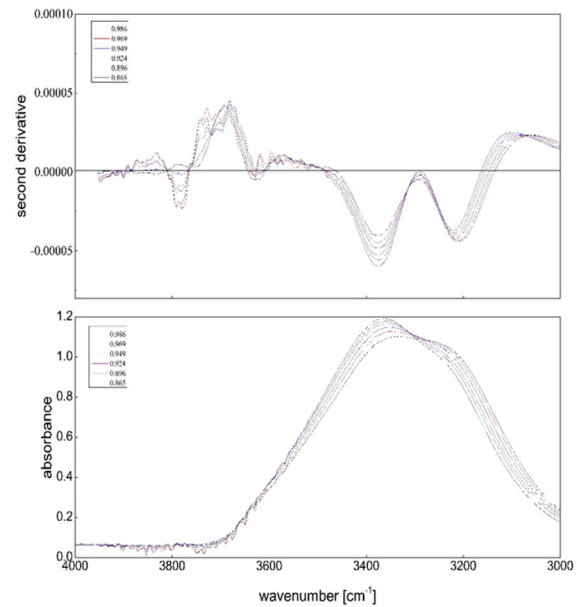


Figure 3 Absorbance and second derivative spectra of NaCl solution with different water activity

除いたものは、イオン濃度の増加にともなって二次微分強度も増加する傾向にあった。

3. 3 遠赤外領域 (900-100 cm^{-1}) の挙動

NaCl 溶液の濃度毎の 900-100 cm^{-1} 付近の吸光度変化を図 4 に示す。900-200 cm^{-1} 付近にかけてブロードなバンドが確認された。このバンドは、高水分活性(低塩濃度溶液)では、634 cm^{-1} 付近にピークを生じ、水分活性が下がるにつれて強度の低下がみられた。さらに、水分活性が低くなるにつれて、ピークを生じるバンドが、400 cm^{-1} 付近に移動した。この際、バンド強度変化はほとんど認められず、バンド全体は、等吸収点をもつ二成分系の溶液と類似の挙動であった。興味深いことに、LiCl では、高波数側のバンドは NaCl に比べて変化が少なく、低波数側のバンドが低水分活性(塩濃度増加)になるにつれて増加する傾向となった。反対に、KCl では、低波数側のバンドは、ほとんど変化がなかったが、高波数側のバンドが、水分活性が低下するにつれて徐々に小さくなる結果となった。CsCl では、水分活性が変化してもバンドの変化はほとんどなくバンド自体も単一のピークを生じた。BaCl₂ および CaCl₂ 溶液は、低波数側のバンドが塩濃度とともに増加する LiCl と類似したスペクトル挙動となった。

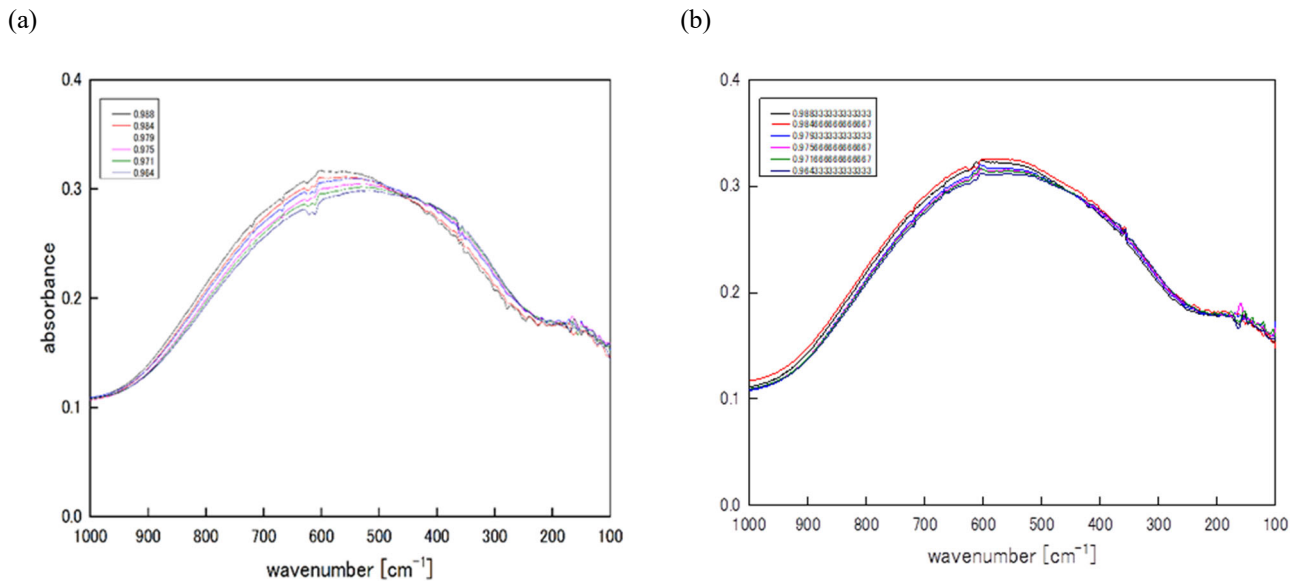


Figure 4 Absorbance in the 1000-100 cm^{-1} region of (a) NaCl and (b) CsCl solution with different water activity

4. 考察

水分子の溶液中の挙動については、近距離では水同様正四面体配位が存在し、隙間が空いた構造が形成されている可能性が古くから研究されている^(1,2)。しかし、ある水の状態を説明できるとはいっても溶液中の水の状態についてはいまだ明確になっていない点が多い。水の状態を評価するため、赤外/ラマン分光法を用いた解析が多くなされているが、近年の量子科学計算の発展により、水の構造を分光学的に明らかにする試みが現在も、盛んに行われている⁽³⁻⁶⁾。先に示した通り、赤外領域の水のスペクトルは非常に強いので、通常 ATR 法が主に利用されている。これまでの 3600-3200 cm^{-1} 付近のバンド挙動を調査した事例では、温度変化に対応したスペクトルが主で、二次微分を行うと、この領域は本研究の結果同様 3 つのバンドに分離され、H-O-H 逆対称伸縮振動と対称伸縮振動による 2 本のバンドの重なりから成り立っていると報告されている⁽⁷⁾。また、高波数域の小さなバンドは、水素結合の非常に弱いバンドと考えられる。しかし、ATR 法では、単純に面積比を利用した分率の算出はできないことに留意が必要であると考えられる。ラマン分光法を用いた調査事例では、Sceats et al や安元は、4000-3000 cm^{-1} 付近は、2 成分からなり、2 つのバンドのうち低波数側のバンド (3200 cm^{-1} 付近) は強く偏光しており、水素結合によりカップリングした集団的な OH 伸縮振動バンド (コレクティブ) であること

を示した^(8,9)。先行事例では、コレクティブバンドは、塩濃度上昇とともに低下した。本研究においても、塩濃度の増加とともに、バンド強度が下がっていることから、このバンドはコレクティブバンドであることが確かめられ、かつ、イオン添加により塩濃度が上昇すると面積強度が減少することから、イオン添加によって水素結合が切断されている可能性が示唆された。本研究ではこのバンドが高波数シフトする傾向が得られたが、イオンが水素結合切断に寄与したことから、構造状態に緩和が生じたことで、自由度が増した可能性が示唆された。今回供試した CaCl_2 や BaCl_2 においてシフトが明確でなかった点については、今後の検討課題である。一方、3400 cm^{-1} 付近のバンドは、CsCl 溶液で、わずかに強度変化が小さかったものの、供試したその他のサンプルでは、ほとんど強度が同程度で、すべて濃度増加とともに強度も増す結果となった。その際にバンドシフトは発生しなかった。このバンドは、弱い水素結合に由来するバンドであると考えられるが、切断され自由になった水分子が弱い水素結合することで濃度依存的に強度が上昇していく傾向にあると考えられた。3600 cm^{-1} 付近の最も水素結合が弱いと考えられる第 3 のバンドは、その有無に関してもいまだ解明には至っていないが、今回 3 バンドがある可能性は示唆されているので、その仮定の下で考えると、イオンの種類によらずイオンの添加は弱い水素結合の水分子にはほとんど影響を及ぼさないことが示された。

900 cm^{-1} 以下の遠赤外領域では、純水では1つのブロードなバンドが存在するが、塩溶液では2つのバンドに分離した。純水中でのバンド挙動は、Ashihara et al は、量子科学計算により、このバンドは、束縛回転振動モード (Libration mode) に帰属され、10 個から 100 個の分子が協同的に動く分子間振動であると報告した⁽¹⁰⁾。塩溶液中でバンドが分離したことは、これらの協同した水素結合状態へのイオンの影響が考えられた。NaCl では、低波数バンドの強度は顕著な変化がなかった。高波数側が弱い水素結合部分にイオンが作用し、結合が分離された可能性が示唆される。また、低波数側では、イオンへの配向性がそろふことで、強度が序々に増加した可能性が示唆された。この結果は、各カチオン種によって異なり、NaCl は、配向性の増加と水素結合ネットワーク切断の影響が拮抗しているが、Li⁺溶液では、配向性の増加として構造化に寄与する影響が強いことが示された。反対に K⁺では、高波数側の変化が顕著に大きく、構造化に対しては負の方向に強く働く可能性が示された。CsCl 溶液では、高波数位置のバンドはわずかに強度が減少する程度であった。すなわちバルクの水構造に対してイオンはわずかに寄与していると考えられた。これらの結果は、ラウールの法則によって示した非理想性に対応しており、CsCl は理想溶液の状態に類似していたと考えられる。その他の溶液に対しても高波数側のバンドの減少は水のモル分率の減少に対応しておりラウールの法則から外れる濃度で低波数側のバンドが顕著になる可能性を示唆した。以上の結果は、900 cm^{-1} 以下の束縛回転振動モードの挙動を利用することで、塩溶液の状態を評価可能であることを強く示唆している。このバンドは、測定の困難さからこれまであまり解析対象とされていなかった。本助成によって水溶液系食品評価への有効性が示されたことから今後新たな分光領域として提案可能であると考えられた。

5. 今後の課題

今回の研究では、ATR 法を用いた検討を実施したが、本来であれば、透過法によるスペクトル挙動解析が不可欠である。しかし、3200 cm^{-1} 付近の OH 伸縮振動領域は、透過法での測定ではサチュレーションを起こしてしまい適

用が難しい。透過法の適用が可能である点も遠赤外領域の利点であることから、続けて透過法によるデータの蓄積を行い幅広いサンプルへの適用性検証を行っていく予定である。さらに、今回の研究では、イオンの影響を受けた場合の赤外、遠赤外領域のバンドの基礎的なスペクトル挙動を明確化することを目的としたため、カチオンのみを変えた溶液を使った検討を実施した。しかし、アニオンも水の構造に影響を与えることが知られている。遠赤外領域のスペクトル挙動を整理するため、今後ホフマイスター系列の溶液に対して遠赤外スペクトルを取得し、構造化とスペクトル変化の考察から遠赤外領域の利用可能性を探っていく必要がある。

6. 文献

1. カウズマン・アイゼンバーグ: 水の構造と物性 (関集三・松尾隆裕訳), みすず書房, 1975
2. 鈴木啓三: 水の話・十講 [その科学と環境問題], 化学同人, 1997.
3. 田巻 繁, 松永 茂樹, 日下部 征信: 水・水溶液系の物性, 近代科学社 Digital, 2020
4. D. A. Schmidt and K Miki, Structural Correlations in Liquid Water: A New Interpretation of IR Spectroscopy, *J. Phys. Chem. A* 111, 10119-10122, 2007.
5. H. Okajima, M. Ando, H. Hamaguchi, Formation of "Nano-Ice" and Density Maximum Anomaly of Water Bull. *Chem. Soc. Jpn*, 91, 991-997, 2018.
6. 濱口宏夫, 分光研究, 分子からの手紙を読み解く 68, 15-23, 2019.
7. B. Czarnik-Matusiewicz, S. Pilorz, J. P. Hawranek, *Anal. Chim. Acta*, 544, 15, 2005.
8. J. L. Green, A. R. Lacey, and M. G. Sceats*, Spectroscopic Evidence for Spatial Correlations of Hydrogen Bonds in Liquid Water, *J. Phys. Chem.* 90, 3958-3964, 1986
9. 安中雅彦: 水系での高分子の構造転移, *高分子*, 58, 82-85, 2009
10. 芦原聡: 2. 赤外非線形分光法で観る水の振動・構造ダイナミクス, *Electrochemistry*, 82(9), 762-765 (2014).

Fundamental Study on the Evaluation of the Water Structure in Salt Solutions by Spectroscopic Method

Daitaro Ishikawa

Faculty of Agricultural Sciences, Fukushima University

Summary

It is known that the addition of salt is directly related to the physical properties and quality of foods and also has an effect on the structure of water. However, in our best knowledge the effect of quality modification by salt addition on the structure of water is not fully understanding physiochemically. Researches have been reported on the evaluation for the structural state of water by ions using vibrational spectroscopy such as infrared spectroscopy and Raman spectroscopy. Especially, the quantum chemical calculation method has strongly contributed to the progress. Nevertheless, it is hard that the effects of ions in salt-added solutions on the water structure have been clarified yet. Therefore, in this study, as the fundamental study for developing quality evaluation method of salt-added foods, infrared / far-infrared spectra in the 4000-100 cm^{-1} region were obtained on salt-added solutions with different concentration. Finally, the purpose of this study was to search for a marker band for evaluating the state of the salt-added solution.

Water activity decreased in all solution as the salt concentration increased. The linearity between water activity and the mole fraction of water decreased. This trend; the non-ideality of the solution changed according to the ionic radius. In infrared region in 4000-900 cm^{-1} , the band due to HOH stretching vibration mode was observed in the 3600-3200 cm^{-1} region. In this study, it is found that the band consisted of three bands; around 3200, 3400, and 3600 cm^{-1} . A band at 3200 cm^{-1} due to structured water was shifted to higher wavenumber region and the intensity decreased. The band position at 3400 cm^{-1} due to weak hydrogen bonding did not change for concentration and the intensity of this band increased. In far infrared region, a broad band was observed in the 900-100 cm^{-1} and the peak position of this band changed to lower wavenumber in high concentration sample. The band of NaCl solution has iso-absorbance points so that the solution was defined as two components system. The change in peak position corresponded to the non-ideality of solution described by Raoult's law. Consequently, the results obtained in this study strongly suggested that the spectral behavior in the far infrared (below 900 cm^{-1}) region is effective in evaluating the state of water in salt solutions.