

学術論文

マイクロ波パルス照射時のグルコース水溶液の屈折率からの分子挙動 の考察

Molecular Behaviour from Refractive Index of Glucose Aqueous Solution during Pulse Microwave Irradiation

高井 貴宏¹、是枝 壮太¹、朝熊 裕介^{1*}、Anita Hyde²、Chi Phan²、田上 周路³
Takahiro Takai¹, Souta Koreeda¹, Yusuke Asakuma^{1*}, Anita Hyde², Chi Phan², Shuji Taue³

1. 兵庫県立大学大学院工学研究科化学工学専攻
 2. Department of Chemical Engineering, Curtin University
 3. 高知工科大学大学院システム工学群
1. 〒671-2280 兵庫県姫路市書写 2167
 2. CDT 250 Miri, Sarawak, Malaysia, 98009
 3. 〒782-8502 高知県香美市土佐山田町宮ノ口 185

1. 2167 Shosha, Himeji, Hyogo 671-2280, Japan
2. CDT 250 Miri, Sarawak, Malaysia, 98009
3. 185, Miyanakuchi, Tosayamada-cho, Kami-shi, Kochi, 782-8502, Japan

corresponding author*, e-mail address: asakuma@eng.u-hyogo.ac.jp

キーワード: 屈折率、分散、凝集

Keywords: refractive index, intermolecular interaction, glucose

Abstract

In previous study, it was found that the refractive index of pure water is lower during the microwave irradiation because hydrogen bond network collapses due to the strong vibration and the rotation. In this study, refractive index of glucose aqueous solution was measured during the microwave pulse irradiation. When irradiation of pulse mode was carried out, the refractive index increased step-wisely due to the quick response of microwave. Because the temperature dependence of the refractive index of the aqueous solution is negative, the microwave effect for intermolecular structure, which is closely related with refractive index, was confirmed. In the case of the higher concentration, the refractive index increased during the irradiation because the intermolecular structure between aggregated glucose molecules and water molecules is changed. In particular, molecular structure caused by the irradiation was not fully re-constructed during the interval. For example, pulse irradiation mode can maintain molecular structure caused by microwave for a long time when the interval is 20-60 seconds.

1. 緒言

マイクロ波は、迅速な応答性や熱効率などの加熱特性に加えて、化学反応に関する特殊な効果が報告されている。多くの場合、反応経路に影響を与え反応生成物の収率に関連する。そのため、マイクロ波特有の現象である熱暴走やホットスポットによる局所的な温度分布は化学組成に影響する。そのため、マイクロ波照射中の分子レベルでの不均一性や分子間相互作用を理解することが重要となる。

今回注目した屈折率は、最も研究されている物性値の1つである。例えば、ダイヤモンドからわかるように、高い屈折率は強い分子結合性を示すことがわかる。このように、屈折率は原子や分子の結合性に関係している。同様に、水溶液の場合も分子結合性と関連する。特に、純水の屈折率は水素結合が強いため、同程度の分子量の溶媒と比較的しても大きくなる。屈折率だけでなく、密度、粘度、熱容量、表面張力などの水の特異な物性は、主に分子の結合性に大きく依存している。このように、これらの特異性は、気象現象や地球物理現象、さらには、私たち人間を含む生命現象にも大きな影響を与えている。

このような経緯から、マイクロ波照射中の溶液中の分子の結合性が屈折率測定によって解明できるのではないかと考え、照射中に溶媒の屈折率が測定できる装置を作成した[1]。これまでの関連研究において、純水の屈折率はマイクロ波照射時間や出力とともに減少することを発見した。極性分子の回転と振動が水素結合ネットワークの崩壊を引き起こしたと考えられる。以前の研究で得られたマイクロ波照射中の水の表面張力の特異性は[2]、照射中の水素結合数と水和構造の変化として新たに説明できた。理論上、水の水素結合数は四面体構造の4であるものの、実際の水素結合数は、シミュレーションから室温で3.59と予想され[3]、放射光測定でも水の構造の不均一性が確認されている[4]。マイクロ波照射により、マイクロ波はより水素結合数が4より少ない欠損した場所で吸収され、継続的な照射により水素結合ネットワークの崩壊が促進されていくと考えた。つまり、そのネットワーク構造の継続的な崩壊は空隙やナノバブルとして照射中に進行していく。

なお、著者が所有している照射中にナノ径が測定できる装置(DLS: Dynamic Light Scattering)では、照射によってナノバブルの生成が確認されている[5]。一方で、マイクロ波照射中の水中の水素結合ネットワークの崩壊は、反応速度に関連する分子拡散および頻度因子に影響を与えると予想され、マイクロ波の非熱効果の解明に不可欠となる。そこで、本研究では、マイクロ波照射時の水溶液の屈折率に着目し、溶質分子の結合性を検討した。

まず、マイクロ波照射中の分子拡散を検討するため、身近で報告例の多い糖を選択した。特に、生体系においては、単糖類であるグルコースや二糖類であるスクロースの水への溶解時の分子挙動は、生体細胞の代謝過程における最も基本的な生化学的・物理化学的相互作用であるため重要である。つまり、アミノ酸や糖などの生体分子は、分子内水素結合よりも水分子と単糖との間で形成される分子間水素結合が重要であり、その水和構造は体内での溶解機能に影響を与える。このように、グルコースは自然界で最も重要な単糖として、水中での実験やシミュレーションに関する研究が数多く報告されている[6]。そこで、最も身近な糖であり、その構造は体内で重要な役割を果たすことから、本研究では、グルコースが溶質として選択された。また、グルコースは、ブドウ糖溶液として様々な濃度のNaClが含まれる場合、生理食塩水として医療分野で使用される。このように、水中でのグルコース分子とNa⁺イオンおよびCl⁻イオンとの分子間相互作用は非常に重要となることから、NaClを含むグルコース水溶液も検討した。

現在、生体分子の水溶液に対するマイクロ波の影響は、食品加工で調査されている。マイクロ波エネルギーは共有結合を切断するのに十分ではないため、マイクロ波効果は熱放散として扱われることが多いものの[7]、マイクロ波はタンパク質の分子構造を変化させることができ[8,9]、熱応力 [8] と熱拡散 [9,10]に対する特異的な現象が非熱効果として報告されている。さらに、マイクロ波加熱中のグルコース構造の研究が調査されており、マイクロ波加熱下の超臨界水中のグルコースの高温ガス化で非熱効果が観察されている[11]。

一方で、分子動力学シミュレーション [12,13] および変旋光実験 [14]では、グルコース分子に対する非熱効果は確認されていない。このように、生体分子に関して多くのマイクロ波の関連研究が行われているにもかかわらず、非熱効果の存在は完全には確認されていないのが現状である。従って、マイクロ波による極性分子の回転による直接的な効果はすぐに消滅するため、非熱効果を証明するには、照射中のその場測定による信頼性のあるデータが必要となる。そこで、本研究では、マイクロ波照射中のグルコース水溶液の屈折率を測定し、照射中の水和構造や再構築過程などの動的な分子挙動を予測した。

2. 実験装置

最初に、光ファイバー法による水溶液の屈折率測定の原理を説明する。Fig.1に光ファイバー内の光路を示す。通常、黒で示すように光は漏れ出すことはないものの、コーティングや角度により光は漏れ出す(エバネッセント光)。この Goos-Hänchen 効果を利用することで、周囲溶媒の屈折率が測定できる[15,16]。この光ファイバーは、主に石英でできており耐電磁環境性能を有しているため、電磁波中でも放電の心配はなくマイクロ波照射中の測定に適している。図中赤色の波が示すように、もしマイクロ波の効果や温度などにより周囲の溶媒の屈折率が変化すれば、その光路は大きく変化する。Fig.2のように、光ファイバーが貫通した測定セルをマイクロ波照射炉に設置して、種々の溶液や照射モードに対して屈折率の測定を行う。また、上部より光ファイバー温度計を挿入し、溶液の温度を測定した。この時、本実験の照射条件では、溶液の温度が沸点以下であることを確認している。なお、本装置から得られる屈折率のデータの妥当性は、既報により確認済である[1]。屈折率は照射中および照射後を通して、0.1秒ごとに記録される。Table 1に実験条件を示す。過去の研究か

ら、マイクロ波照射エネルギーは 4000 J として、連続照射の場合の基準の出力、照射時間の条件として 200 W, 20 s が選択された(Table 1, No.1)。この条件を基準にパルス照射条件として、インターバル(非照射時間)(No.2) や出力(No.3)を変更した。なお、グルコースの濃度は高濃度側の 2.0 mol/L とし、変旋光が終了して平衡に達した水溶液を使用している。さらに、グルコース水溶液に様々な濃度の NaCl が含まれている場合の屈折率も調査した(Table 1, No.4)。

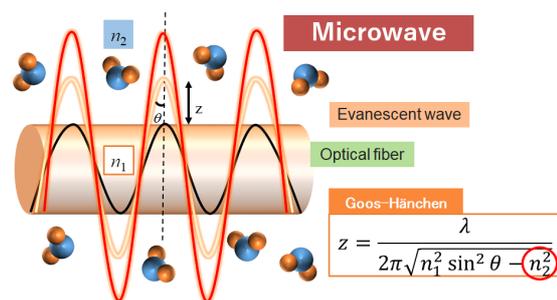


Fig. 1: Theory of evanescent around optical fiber for refractive index measurement

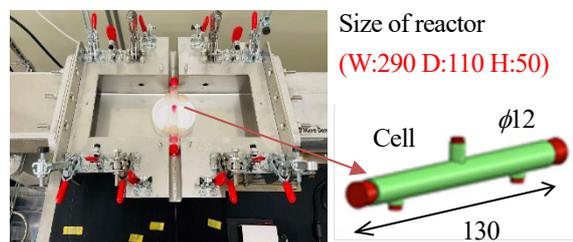


Fig. 2: Measurement system of refractive index during microwave irradiation

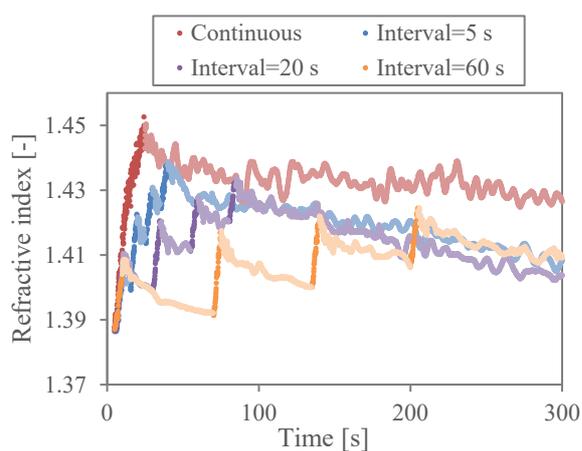
3. 結果と考察

Fig.3(a)に、実験条件 Table 1 の No.1, 2 の連続およびパルス照射において、マイクロ波照射中、照射後のグルコース水溶液の屈折率を示す。それぞれ、異なるインターバル(非照射時間)時の屈折率データを示し、濃いプロ

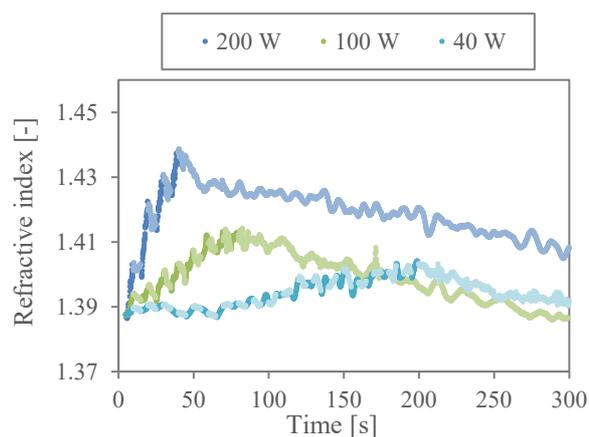
Table 1 Operating conditions

	Power [W]	Irradiation time [s]	Interval [s]	Cycle number	NaCl concentration, C [mol/l]
No.1	200	20	-	1	0
No.2	200,	5	5, 20, 60	4	0
No.3	40, 100, 200,	5	5	20, 8, 4	0
No.4	200	5	5	4	0, 0.01, 0.05

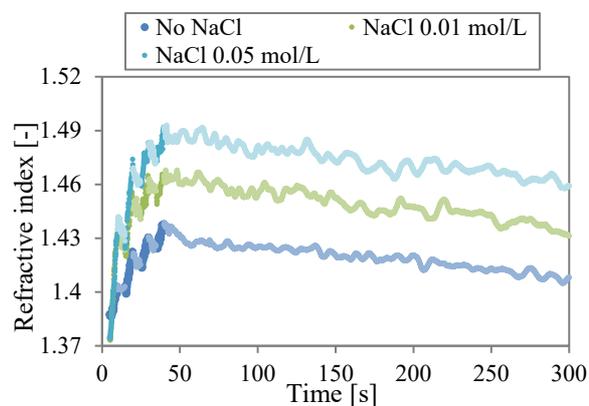
ットは照射中、薄いプロットは非照射時もしくは照射後を示す。いずれの照射間隔においても、照射時に屈折率は上昇し、非照射時に回復する。また、溶液の屈折率はマイクロ波に瞬時に応答していることがわかる。一般に、当研究室において、水や水溶液の屈折率の温度依存性は小さく、アッペ屈折率計におけるグルコース水溶液の屈折率の実測値は、温度とともにやや低下することを確認している。そのため、マイクロ波は水分子もしくはグルコース分子どちらに吸収されやすいのかは不明であるものの、マイクロ波照射時における屈折率の上昇は、分子振動による熱効果ではなく、マイクロ波による効果と言える。次に、Fig.3(b)に、Table 1, No.3で示した出力変更時における屈折率の履歴を示す。同様に、濃いプロットが照射中、薄いプロットが非照射時の屈折率を示している。(a)と同様に、マイクロ波の照射時に応答して屈折率が階段状に大きくなっている。総照射時間に対する屈折率増加割合をみると、200 Wは40 W照射に比べて、約13倍程度、屈折率を上昇させる効果があり、短い照射時間であっても高出力が効果的である。最後に、Table 1, No.4で示したNaCl添加の影響をFig.3(c)に示す。NaClを含むグルコース水溶液も同様に、マイクロ波の影響を受け屈折率は上昇し、照射後、回復していく。



(a) Interval



(b) Power

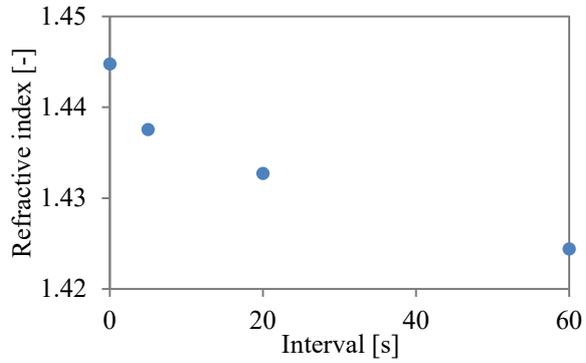


(c) NaCl addition

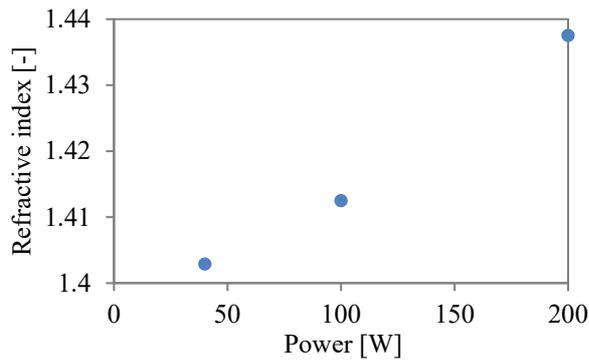
Fig. 3: Refractive index of glucose solution during and after microwave irradiation

Fig.3の3つのグラフから得られた現象を考察するために、各照射モードにおける屈折率の最大値と、その最大値と初期値間において回復量が50%となったときの時間を、Fig.4およびFig.5に示す。なお、それぞれの横軸はパルス間隔および照射出力、NaCl濃度であり、連続照射の場合はインターバル0としてプロットした。まず、Fig.4のパルス照射直後の屈折率の最大値では、インターバル中にある程度屈折率が回復することから、パルス間隔が長くなるにつれてその最大値が低下する。また、高出力や高NaCl濃度で最大値が大きくなった。一方で、Fig.5の回復時間では、連続照射やパルス間隔が短い場合や出力が大きい場合、照射前の分子状態に戻る時間が長くなることを示している。特に、200 Wとある程度の出力があれば、100-200 sの間マイクロ波の効果を維持できることを示している。つまり、パルス照射時間も含めると、維持できる効果は長くなり、パルス

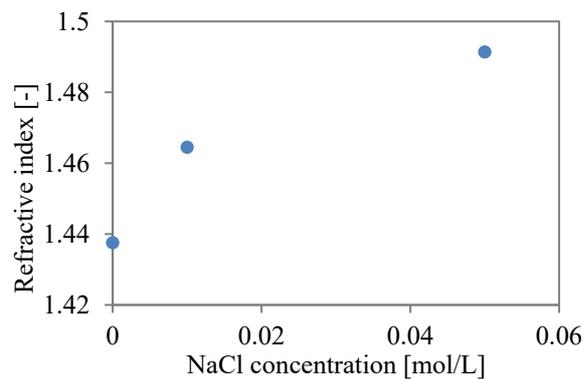
照射は効果的であることがわかる。一方で、低出力の場合、マイクロ波による分子の回転が十分でなく、屈折率に及ぼす効果が小さくなり、さらに、高 NaCl 濃度の場合、回復時間が長くなるため注意が必要となる。



(a) Interval

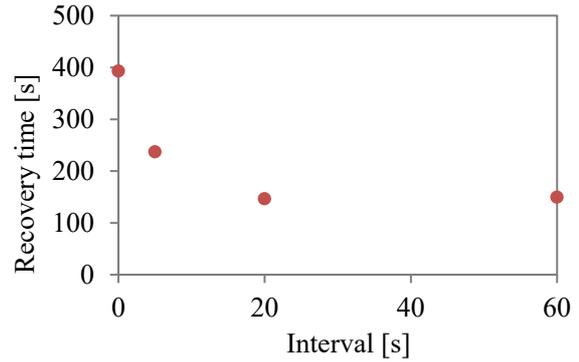


(b) Power

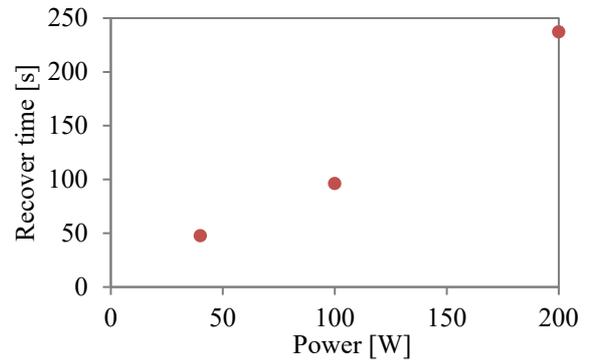


(c) NaCl addition

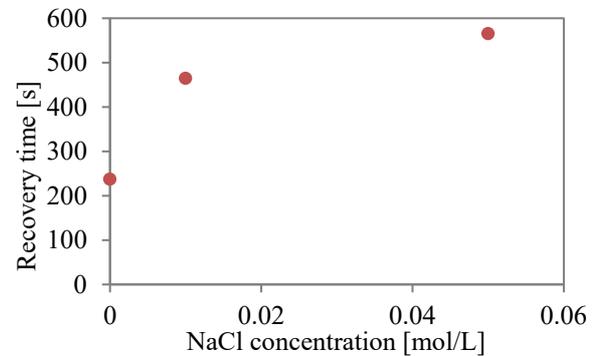
Fig. 4: Refractive index just after microwave irradiation



(a) Interval



(b) Power



(c) NaCl addition

Fig. 5: Time for 50% recovery of refractive index

純水やグルコースが低濃度の場合(1.5 mol/L 以下)、水溶液の屈折率は照射中低下し、ゆっくりと回復していく。前述したように、屈折率は分子結合性と関連しており、照射により結合が弱くなったことを意味している。つまり、照射による水分子の回転により、水素結合ネットワークの崩壊したことが原因と考えられる[1]。今回のように、グルコースを高濃度にした場合(2 mol/L)、マイクロ波照射中に屈折率が上昇し、照射後ゆっくりと

元の値に戻る逆の傾向がみられた。グルコース分子は極性を示し、より高濃度の場合、凝集して水溶液中に存在しやすくなる。つまり、このような 2 成分系の場合、水-水間相互作用(w-w)、水-グルコース間相互作用(w-g)、グルコース-グルコース間相互作用(g-g)と、組成によってこれらの割合が異なる[17]。今回のグルコース 2 mol/L はグルコース-水の分子数比は約 1:25 であり、6 員環であるグルコースの大きさや置換基に OH 基が多く含まれることを考えると、グルコースが高濃度の場合、g-g 相互作用が強く影響することがわかる。照射中に屈折率が大きくなることは、照射により結合性が強くなることを意味するため、グルコース分子間に存在する水分子がマイクロ波によって排除され、脱水分子となる g-g 結合の割合が増加したためであると考えられる。なお、前述のように通常加熱では水溶液の屈折率はわずかな減少を示すため、マイクロ波照射が引き起こす屈折率の増加はマイクロ波の特有の効果となる。つまり、通常加熱による水分子やグルコース分子の熱振動のみでは g-g 結合の増加は困難であることがわかる。また、照射後、水分子が再配置していき、w-g 相互作用が回復していくためには、100s 単位の時間が必要であることがわかった。一方で、このグルコース分子間からの脱水分子の影響として、Na⁺や Cl⁻イオンの影響が強いと考えられる。例えば、グルコース水溶液に、高濃度の NaCl が含まれる時、g-g 結合間に Na⁺や Cl⁻イオンが架橋の役割を果たすことで、照射による g-g 間の脱水分子を促進したと考えられる。さらに、その照射後からの回復時間が長くなることから、NaCl 添加により強固となった g-g 間への水分子の移動・再配置に時間を要したと考えられる。マイクロ波照射中のイオンの影響では、Tanaka らは分子動力学法による考察が挙げられる[18]。その結果より、吸収されたマイクロ波エネルギーの約 30% が、水分子を再配置するための分子間エネルギーとして蓄えられること予想しており、十分に、グルコース付近の水和を移動させる可能性がある。また、Cl⁻イオンは水分子に対してより摩擦を発生させ、水分子間の水素結合を弱くする予想している。イオンではないものの、今回用いたグルコース分子も、水分子のネットワーク(クラスター構造)の単位格子に収まらないぐらい大きく、OH 基など極性置換基も多い

ため、水分子のネットワーク構造に欠陥を作り、マイクロ波によって水和分子をグルコースから切断できる可能性がある。今後、より分子鎖の長い多糖類水溶液でのマイクロ波照射中の屈折率測定や、分子シミュレーションなどを駆使し[19]、マイクロ波照射中の g-g および w-g 相互作用の検証が期待される。

5. 結論

本研究では、グルコース水溶液に対して、マイクロ波照射中の屈折率を種々の照射モードで測定した。照射中の屈折率は瞬時に応答し増加した。これは、通常加熱の屈折率は温度とともに低下するため逆の傾向を示すことから、マイクロ波特有の現象と考えられる。この原因として、グルコース分子間に存在する水分子の脱離が考えられる。その後、照射後に水分子がグルコース分子間に戻り、屈折率が半分程度回復するまでの時間は 100-200 s 程度となり、マイクロ波効果の持続性を示した。

引用文献

- [1] Y. Asakuma, T. Maeda, T. Takai, A. Hyde, C. Phan, S. Ito, S. Taue, *Microwaves reduce water refractive index*, *Sci Rep.* 12 (2022) 11562. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15853-9>.
- [2] H. Parmar, M. Asada, Y. Kanazawa, Y. Asakuma, C.M. Phan, V. Pareek, G.M. Evans, *Influence of Microwaves on the Water Surface Tension*, *Langmuir.* 30 (2014) 9875–9879. <https://doi.org/10.1021/la5019218>.
- [3] W.L. Jorgensen, J.D. Madura, *Temperature and size dependence for Monte Carlo simulations of TIP4P water*, *Mol Phys.* 56 (1985) 1381–1392. <https://doi.org/10.1080/00268978500103111>.
- [4] Y. Harada, J. Miyawaki, H. Niwa, K. Yamazoe, L.G.M. Pettersson, A. Nilsson, *Probing the OH Stretch in Different*

- Local Environments in Liquid Water, *J Phys Chem Lett.* 8 (2017) 5487–5491. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcelett.7b02060>.
- [5] Y. Asakuma, T. Munenaga, R. Nakata, Observation of bubble formation in water during microwave irradiation by dynamic light scattering, *Heat and Mass Transfer.* 52 (2016) 1833–1840. <https://doi.org/10.1007/s00231-015-1703-3>.
- [6] R. Song, D. Chen, C. Suo, Z. Guo, Ab initio investigation of the first hydration shell of glucose, *Carbohydr Res.* 496 (2020) 108114. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108114>.
- [7] A. Shazman, S. Mizrahi, U. Cogan, E. Shimoni, Examining for possible non-thermal effects during heating in a microwave oven, *Food Chem.* 103 (2007) 444–453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.024>.
- [8] D.F. George, M.M. Bilek, D.R. McKenzie, Non-Thermal effects in the microwave induced unfolding of proteins observed by chaperone binding, *Bioelectromagnetics.* 29 (2008) 324–330. <https://doi.org/10.1002/bem.20382>.
- [9] P. Shaw, N. Kumar, S. Mumtaz, J.S. Lim, J.H. Jang, D. Kim, B.D. Sahu, A. Bogaerts, E.H. Choi, Evaluation of non-thermal effect of microwave radiation and its mode of action in bacterial cell inactivation, *Sci Rep.* 11 (2021) 14003. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93274-w>.
- [10] I.-S. Woo, I.-K. Rhee, H.-D. Park, Differential Damage in Bacterial Cells by Microwave Radiation on the Basis of Cell Wall Structure, *Appl Environ Microbiol.* 66 (2000) 2243–2247. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2243-2247.2000>.
- [11] Y.-M. Zhang, J.-L. Li, J.-P. Wang, X.-S. Yang, B.-Z. Wang, ReaxFF MDSs-based studies on gasification of glucose in supercritical water under microwave heating, *Int J Hydrogen Energy.* 41 (2016) 13390–13398. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.05.158>.
- [12] Y. Tao, B. Yan, N. Zhang, M. Wang, J. Zhao, H. Zhang, D. Fan, Do non-thermal effects exist in microwave heating of glucose aqueous solutions? Evidence from molecular dynamics simulations, *Food Chem.* 375 (2022) 131677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131677>.
- [13] Y. Tao, B. Yan, N. Zhang, M. Wang, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen, D. Fan, Dielectric determination of glucose solutions under microwave fields via a novel molecular dynamics simulation approach, *J Food Eng.* 316 (2022) 110844. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110844>.
- [14] M. Damm, C. Nussold, D. Cantillo, G.N. Rechberger, K. Gruber, W. Sattler, C.O. Kappe, Can electromagnetic fields influence the structure and enzymatic digest of proteins? A critical evaluation of microwave-assisted proteomics protocols, *J Proteomics.* 75 (2012) 5533–5543. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.0>

Manuscript received: Jun. 20, 2023

Revised: Nov. 7, 2023

Accepted: Nov. 17, 2023

- 43.
- [15] R. Oe, T. Minamikawa, S. Taue, H. Koresawa, T. Mizuno, M. Yamagiwa, Y. Mizutani, H. Yamamoto, T. Iwata, T. Yasui, Refractive index sensing with temperature compensation by a multimode-interference fiber-based optical frequency comb sensing cavity, *Opt Express*. 27 (2019) 21463. <https://doi.org/10.1364/OE.27.021463>.
- [16] R. Oe, S. Taue, T. Minamikawa, K. Nagai, K. Shibuya, T. Mizuno, M. Yamagiwa, Y. Mizutani, H. Yamamoto, T. Iwata, H. Fukano, Y. Nakajima, K. Minoshima, T. Yasui, Refractive-index-sensing optical comb based on photonic radio-frequency conversion with intracavity multi-mode interference fiber sensor, *Opt Express*. 26 (2018) 19694. <https://doi.org/10.1364/oe.26.019694>.
- [17] M.E. Gallina, P. Sassi, M. Paolantoni, A. Morresi, R.S. Cataliotti, Vibrational Analysis of Molecular Interactions in Aqueous Glucose Solutions. Temperature and Concentration Effects, *J Phys Chem B*. 110 (2006) 8856–8864. <https://doi.org/10.1021/jp056213y>.
- [18] M. Tanaka, M. Sato, Microwave heating of water, ice, and saline solution: Molecular dynamics study, *J Chem Phys*. 126 (2007). <https://doi.org/10.1063/1.2403870>.
- [19] T. Suzuki, The hydration of glucose: the local configurations in sugar–water hydrogen bonds, *Phys. Chem. Chem. Phys*. 10 (2008) 96–105. <https://doi.org/10.1039/B708719E>.