

(様式第5号)

X線CTによる油脂の結晶組織の観察 Study on microstructure of fats by X-ray microtomography

石塚一吹¹、田沼萌¹、藤崎聡美¹、大西清美²、藤田尚也²、米山明男³、吉本則之¹
Ibuki Ishizuka, Tanuma Moe, Fujisaki Satomi, Onishi Kiyomi, Fujita Naoya, Akio
Yoneyama, Yoshimoto Noriyuki

¹岩手大学理工学部、²日清オイリオグループ株式会社、²九州シンクロトロン光研究センター、

Iwate University, The Nissin OiliO Group, Ltd., SAGS-LS

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開〔論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表〕が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

1. 概要（注：結論を含めて下さい）

トリアシルグリセロール（TAG）は食用油脂の主成分であり、特にチョコレート等の油脂製品の特性は主にTAGの結晶構造、組織及び物性によって決定される。そのためTAGの微細組織や温度にともなう相挙動を知ることは、油脂製品の品質制御のために極めて重要な情報となる。今回は食用油脂の微細組織の解明を目的として、X線CT法による油脂組織の観察を試みた。結果としてモデル物質であるPPP/ODOの造影剤を用いた観察で明確な液体と固体のコントラストを得ることができ、さらにチョコレート主成分であるココアバターについても液体領域の形状を示す画像を初めて得ることができた。

(English)

Triacylglycerol (TAG) is a major component of edible fats and oils, and properties of chocolate in particular are mainly determined by the crystal structure, microstructure, and physical properties of TAG. Therefore, knowledge of the microstructure and temperature-dependent phase behavior of TAG is extremely important for quality control of fat and oil products. In this study, we attempted to observe the microstructure of fats and oils by X-ray computed tomography (CT) in order to elucidate the microstructure of fats and oils. As a result, a clear contrast between liquid and solid was obtained using the model substance PPP/ODO with a contrast agent, and images showing the shape of the liquid region were also obtained for the first time for cocoa butter, the main ingredient of chocolate.

2. 背景と目的

チョコレートの主成分はトリアシルグリセロール(TAG)と呼ばれる油脂であり、チョコレート全体の融点や口溶けなどのテクスチャーは主にTAG結晶の構造、組織及び物性によって決定される。TAG結晶には少なくとも6種の結晶多形が知られており、チョコレート製品は第5番目の多形（準安定多形）の状態販売されている。チョコレートの貯蔵過程における温度変動などの要因により、TAG結晶の融解と再結晶化、または最安定相への相転移が起ると、ブルーミングと言われる不良が発生する。ブルーミングが発生するとチョコレートの表面の白化とともに口溶けが悪くなり商品としての価値を失うため、ブルーミングを抑制する技術の開発が必要であるが、その発生のメカニズムは明らかになっていない。

チョコレートに使われる油脂は、TAG分子を構成する3本の脂肪酸鎖の二重結合数や鎖長が異なった混合物であり、融点の低いTAG分子成分が常温で液体として多結晶中に含まれている。この結晶組織中に含

まれる液体成分は 30℃で 20%程度存在することが NMR の測定により明らかになっているが、その存在状態や組織構造は全く不明である。組織中の液体が固体（結晶）の相転移に深く関与していると考えられ、その存在状態と温度依存性を X 線 CT を用いて明らかにすることによりブルーミングなどの油脂製品の抱える問題を解決できると考えている。

申請者らはこれまでに行った光学顕微鏡や AFM による表面形状の温度変化を観察より、油脂中に含まれる液体成分は毛細血管のように網の目状に配置し、石垣状の固体成分の隙間に存在しているものと推測している。ブルーミングは液体と固体の界面で起こる結晶相間の相転移（固相転移や溶液媒介相転移）によることが X 線回折実験によりすでに判明しており、組織中の液体成分の分布構造の解明により、チョコレートに起こるブルーミングのメカニズムが解明されることが期待できる。

本課題は、X 線 CT により油脂試料の内部構造を観察して表面観察より示唆された油脂試料内の組織構造（例えば低融点 TAG 分子の凝集構造）と融解挙動の観察により、ブルーミング発生メカニズムを明らかにすることを目的としている。この実験によって得られる知見は、チョコレートおよびチョコレートを含む菓子食品や油脂製品一般の品質制御のために、極めて重要な情報となる。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

食用油脂の組織構造の研究は、材料組織内の液相と固相の電子密度の差が小さく X 線の線吸収係数の差も極めて小さいため計測が難しい。したがって、これまで実験的に明らかにした例はない。今回、放射光の X 線 CT を用いることで、油脂試料の組織構造の空間分布を初めて明らかにしようとするものである。放射光を必要とする理由として、1) 顕微鏡等の観察から油滴径は 10 μm 程度と考えられるため、3 μm 程度の空間分解能が必要であること、2) これまでに実施、報告されている食品分野の実施例が示すとおり試料内の X 線線吸収係数の差が少なく、通常の実験室系の白色光源を用いた X 線 CT 装置では識別が難しいが、高輝度単色 X 線光源を用いた放射光 X 線 CT では、より小さな X 線吸収係数差を検出できることが挙げられる。さらに、今回は、X 線吸収係数の高いヨウ素を含む造影剤を用いて検討を行い、詳細な組織の観察の可能性を検討した。

3.1. 試料

油脂試料として天然油脂であるココアバター(CB)と代替油脂(CBR)、モデル系である ODO /PPP の 3 種類に対しそれぞれに造影剤濃度の異なる試料を用意した。

3.2. 実験方法

実験は SAGA-LS, BL07 に自作の試料温調ステージ (図 1) を持ち込んで実施した。試料は $\phi 2\text{ mm}$ カプトンチューブに挿入し架台に固定した。使用した X 線のエネルギーは 12 keV、CT 計測時間は約 1 h/1 サンプル (2 秒露光 \times 1500 枚) であった。

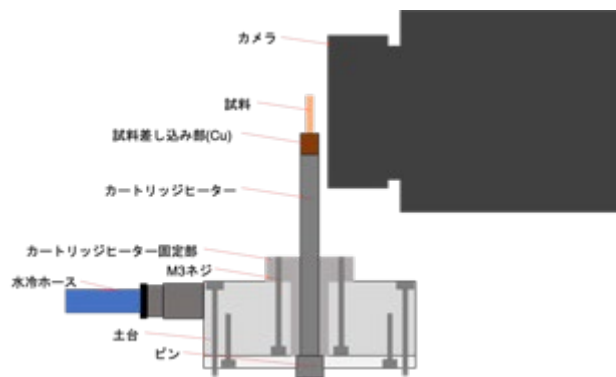


図 1 CT ステージの概略図

4. 実験結果と考察

ODO/PPP + 造影剤

X 線 CT で得られた ODO/PPP の断面像を図 2 に示す。X 線の線吸収係数の大きい部分は白く、吸収係数の小さい部分は黒く観察される。CT 像の X 線の吸収が小さい (黒い) 部分は固体脂(PPP)と考えられ、さらに白く造影されている部分は液油(ODO)と考えられる。このことから造影剤は狙い通り液油側に偏在していると考えられる。また、PPP の樹枝状結晶の形状を CT 像で詳細に観察することができた。

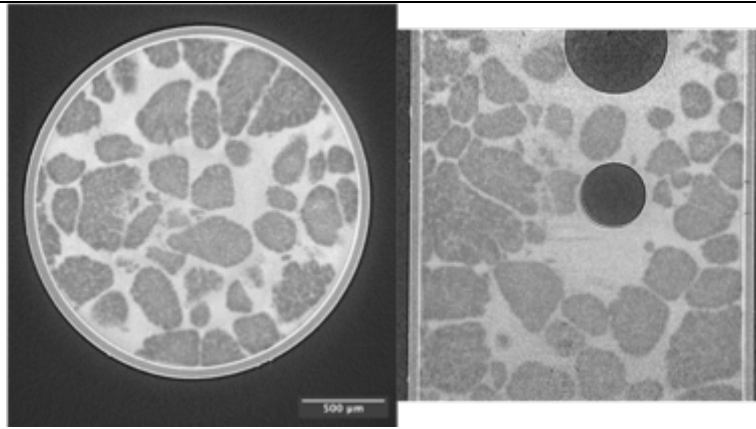


図2 ODO/PPP+造影剤のCT像。xy断面(左)とxz断面(右)

CB+造影剤

X線CTで得られた23℃時のCB (seed 剤なし) の断面像を図3に、28℃時の断面像を図4に示す。温度の上昇によって白く造影されている部分が増えたため、液油の存在比率が上昇したことが示された。また、像からはマーブル模様の組織が観察できた。この組織の乱れはブルーミング発生に起因すると考えられる。seed 剤とは、第5番目の多形(準安定多形)を出現させるための手法(テンパリング)で用いられる。外部から結晶核である seed 剤を添加するため、従来の温度調整によるテンパリングよりも安定して準安定多形を出現させることができる。今回のCBのX線CT実験では、seed 剤の有無の比較を行った

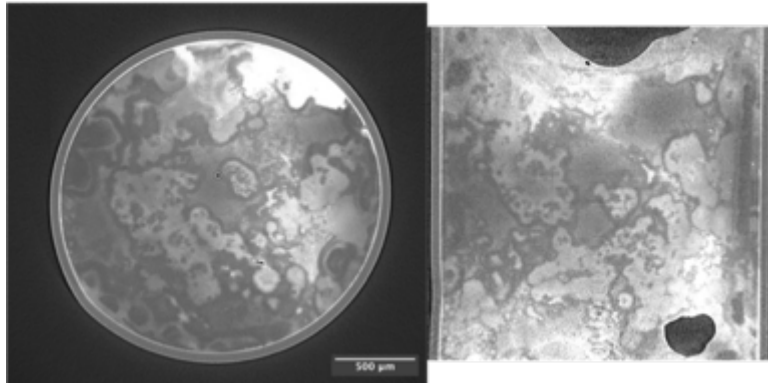


図3 CB (seed 剤なし)+造影剤のCT像(23℃)。xy断面(左)とxz断面(右)

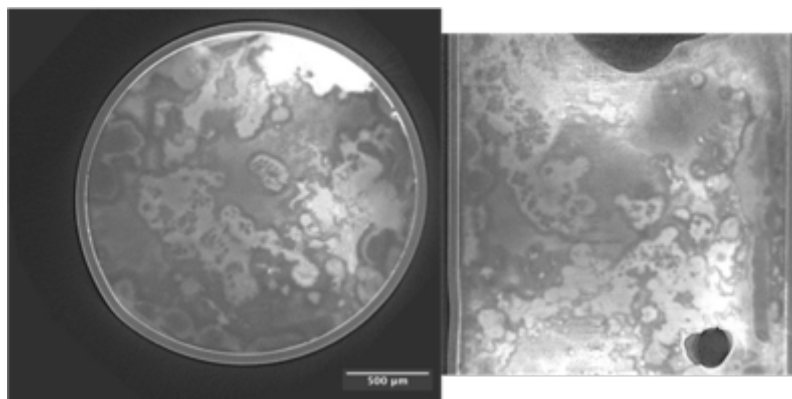


図4 CB (seed 剤なし)+造影剤のCT像(28℃)。xy断面(左)とxz断面(右)

CBのseed 剤ありの試料のX線CTで得られた23℃のCBの断面像を図5に、28℃時の断面像を図6に示す。造影剤による明確なコントラストを得ることに成功した。これらの画像からは固体脂の隙間に液油が存在する様子が確認された。また、23℃から28℃に温度を上昇させると、試料内に存在した黒い部分や空隙が消失し白いコントラストが生じた。これは試料の温度上昇により固体脂が融解し、その一部の油脂が空隙を充填したためと考えられる。

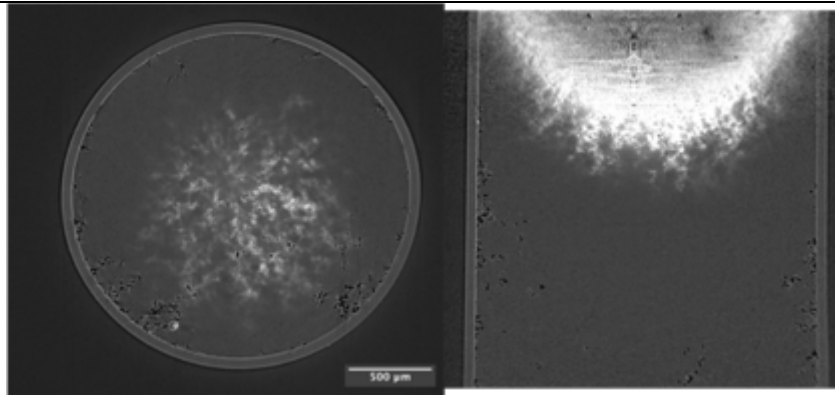


図5 CB+造影剤のCT像(23°C)。xy断面(左)とxz断面(右)

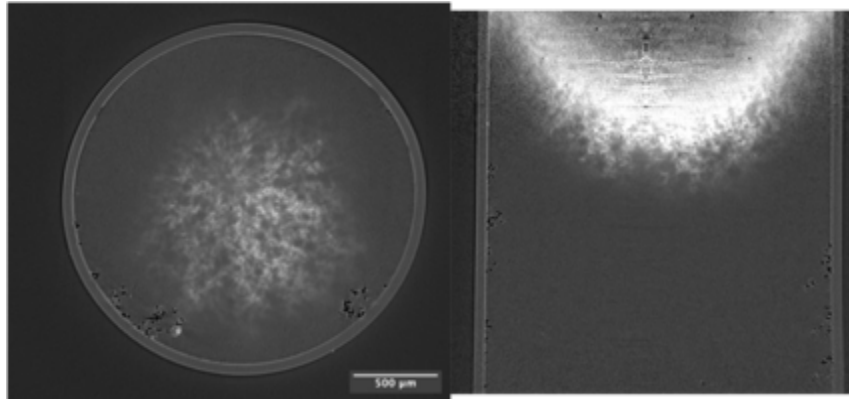


図6 CB+造影剤のCT像(28°C)。xy断面(左)とxz断面(右)

5. 今後の課題

今回は食用油脂の微細組織の解明を目的として、X線CT法による油脂組織の観察を試みた。結果としてモデル物質であるPPP/ODOの造影剤を用いた観察で明確な液体と固体のコントラストを得ることができ、さらにチョコレート主成分であるココアバターについても液体領域の形状を示す画像を初めて得ることができた。さらに位相拡散法についても有望な結果が得られた。今後は、PPP/ODOに関して造影剤の最適濃度を求めるとともに、ココアバターの固化条件による組織の変化をX線CT法によって明らかにする課題に取り組むと同時にその温度依存性を明らかにすることで、チョコレート内の液体分布の構造を明らかにする課題に取り組む。

6. 参考文献

- Yusei Sasaki, Kazuo Yamamoto, Satoshi Anada, Tsukasa Hirayama and Noriyuki Yoshimoto, Direct visualization of electric potential distribution in organic light emitting diode by phase-shifting electron holography, Appl. Phys. Express **14** 075007, 2021.
- 八瀬清志, 吉本則之ら、分子の薄膜化技術 -有機EL, 有機トランジスタ, 有機太陽電池などの有機薄膜デバイス作製技術に向けて-, コロナ社 (2020) .

7. 論文発表・特許 (注: 本課題に関連するこれまでの代表的な成果) なし。

8. キーワード (注: 試料及び実験方法を特定する用語を2~3) 油脂、微小組織、X線CT

9. 研究成果公開について (注: ※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末(2021年3月31日)となります。)

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文（査読付）発表の報告

（報告時期：2024年 4月）