

2014B1650

BL46XU

食品中の油脂結晶構造マイクロ分布評価を目的とした
マイクロビーム X 線回折技術の開発 II
Development of Micro Beam X-ray Diffraction Technique
for Analyzing Micro Distribution of Crystal Structure of Fat in
Food Materials II

佐藤 眞直
Masugu Sato

高輝度光科学研究センター
Japan Synchrotron Radiation Research Institute

食品分野での新規産業利用ニーズ開拓を企図して、マーガリンやマヨネーズのような加工油脂製品におけるエマルジョン油滴中の油脂結晶構造分布評価技術としての顕微 X 線技術を BL46XU で開発するため、2014A 期に立ち上げた X 線マイクロビーム形成装置を活用したマイクロビーム X 線回折測定技術の検証を行った。本課題で検討した結果を基に、試料の測定位置の観察・調整に X 線同軸光学顕微鏡を活用した測定装置を立ち上げ、約 2 μm 径のビームサイズの X 線マイクロビームを用いて数 100 μm 程度のサイズのエマルジョン油滴中の油脂結晶構造分布評価に成功した。

キーワード：食品、油脂結晶、エマルジョン、X 線マイクロビーム X 線回折

背景と研究目的：

マーガリンやマヨネーズのような加工油脂食品の製造技術において、油脂と水溶液成分の乳化組織（エマルジョン）の分散状態の安定性は食味の制御や品質の安定性向上において重要な課題である。このエマルジョンの相分離の引き金となる油滴もしくは水滴の合一を制御・抑制する鍵となるのが、油脂結晶相の分布形態である。例を挙げると、冷凍食品においてお好み焼きのようなマヨネーズを用いた食品だと、解凍する過程においてマヨネーズのエマルジョンが壊れ相分離してしまうという問題があり、冷凍→解凍過程でもエマルジョンを安定化させる技術の確立が求められている。このような課題を解決するにはエマルジョンが不安定化する過程でどのように油滴もしくは水滴が壊れて合一し、相分離するのかを検証する必要がある。この検証において注目すべき点は、合一を防いでいる油脂結晶の分布（融点の違う相の分布、結晶配向分布、等）の変化である。この分布を評価するには油脂結晶相を同定する必要があるが、これは顕微鏡観察などの形態観察では難しく、結晶構造評価が可能な X 線回折測定を用いることが効果的である。そこで我々は、上述のような食品分野の新規放射光利用ニーズの開拓を行うことを目的として、産業利用 III ビームライン BL46XU においてエマルジョンの油滴サイズ(数 10~数 100 μm)程度の局所領域の顕微 X 線回折(XRD)測定を行う技術の開発を行った。2014A 期には、フレネルゾーンプレート (FZP) を用いた X 線マイクロビーム形成装置の立ち上げを行い、X 線エネルギー 12.4 keV でビームサイズ約 2 μm のマイクロビーム形成に成功した[1]。今回の実験では光学顕微鏡を用いた試料上の照射位置制御技術の検証を行い、本装置を用いたマイクロビーム X 線回折測定によるファットスプレッドのエマルジョン油滴中の油脂結晶構造分布評価への応用を試みた。

実験：

X 線のエネルギーは 12.4 keV に設定した。フロントエンドスリットの開口サイズを 0.1 mm (水平) × 0.5 mm (垂直) にセットし、X 線ミラーによる高調波除去 (ミラー角 3 mrad) を行った。2014A 期に立ち上げたマイクロビーム形成装置[1]の光学系は FZP 直前に直径 100 μm の Au 製センターストップを設置し、焦点位置 (試料位置) の約 5 cm 上流側に FZP の 1 次回折光以外を遮蔽するための開口直径 50 μm のピンホール (Order Selecting Aperture: OSA) を設置した。FZP の焦点距離は約 1250 mm であった。使用した FZP の仕様は下記のとおりである。

- ・吸収体：1.4 μm 厚 Ta
- ・ゾーン構造：直径 660.6 μm 、最外殻線幅 188 nm、最内殻直径 22.27 μm 、ゾーン数 880

図 1 に金ワイヤーによるナイフエッジスキャンによる集光ビーム径評価の結果を示す。赤点で示した微分プロファイルが示すように、今回の実験では約 10 μm 径程度までしか集光することができなかった。この原因については実験後に別途検討したところ、仮想光源としているフロントエンドスリットの位置がずれていたことに起因することが判明した。その後フロントエンドスリットの位置を適切に調整することにより安定的に約 2 μm に調整することができるようになった。2015A 期に行った本装置を用いたユーザー実験時のビームプロファイルを図 2 に示す。

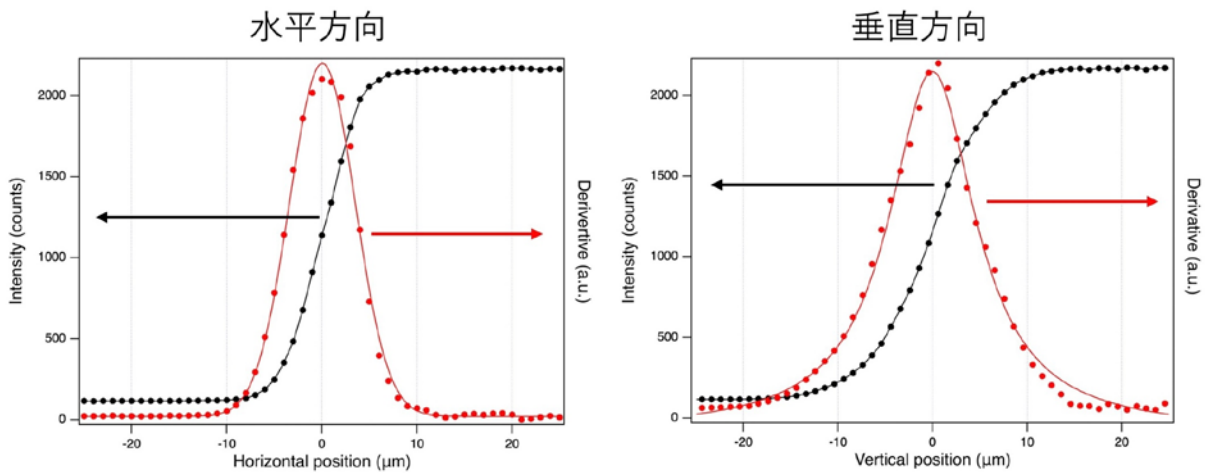


図 1. 本課題実験実施時の FZP 焦点位置における集光ビームのナイフエッジスキャンの透過強度プロファイル（黒点）とその微分プロファイル（赤点）。

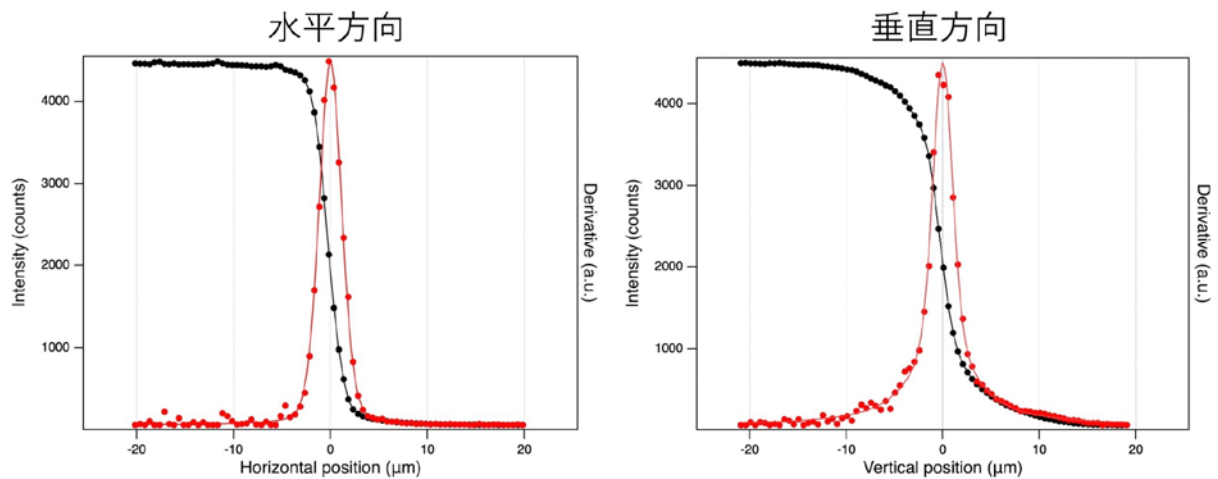


図 2. 2015A 期のユーザー実験時（2015 年 4 月実施。フロントエンドスリット位置調整済み）の FZP 焦点位置における集光ビームのナイフエッジスキャンの透過強度プロファイル（黒点）とその微分プロファイル（赤点）。

図 3 に今回開発した試料照射位置制御に光学顕微鏡を用いたマイクロビーム X 線回折装置の概念図、図 4 に外観写真を示す。試料観察用の光学顕微鏡を光軸がマイクロビームと平行になる様にビームの横に設置する。試料の位置を調整、走査する x、y、z の並進軸を持つ試料ステージは、図 3 に示すように大型の自動並進ステージ（試料ステージ移動用ステージ）により、「顕微鏡観察位置」と「ビーム照射位置」に移動する。この試料ステージ移動用ステージ上の「顕微鏡観察位置」と「ビーム照射位置」は、試料ステージ上の試料を「顕微鏡観察位置」で観察した時に顕微鏡画像

の中心位置に示される試料上の位置が、試料ステージを「ビーム照射位置」に移動した時にビーム位置と一致するように設定される。すなわち、「顕微鏡観察位置」で試料上の観察位置を顕微鏡の画像中心位置に一致するように試料ステージの xyz 軸で調整した後、試料ステージを「ビーム照射位置」に移動すれば、観察位置にマイクロビームを照射することが可能になる。この装置を用いた測定手順は以下の通りである。

実験手順 1：試料ステージを顕微鏡観察位置に移動し、顕微鏡画像を見ながら画像の中心位置を基準に試料の観察範囲を決定し、その画像を記録する。
 実験手順 2：試料ステージをビーム照射位置に移動し、先に記録した顕微鏡画像を見ながら、画像の中心位置を基準に試料ステージで試料位置を制御して目的の観察位置にビームを照射して、X 線回折パターンを測定する。

X 線回折パターンの測定には、大型 2 次元ピクセル検出器 PILATUS2M を用いた。試料位置から検出器までの距離（カメラ長）は約 570 mm に設定し、参照試料のペヘン酸銀の X 線回折パターンでカメラ長を校正した。

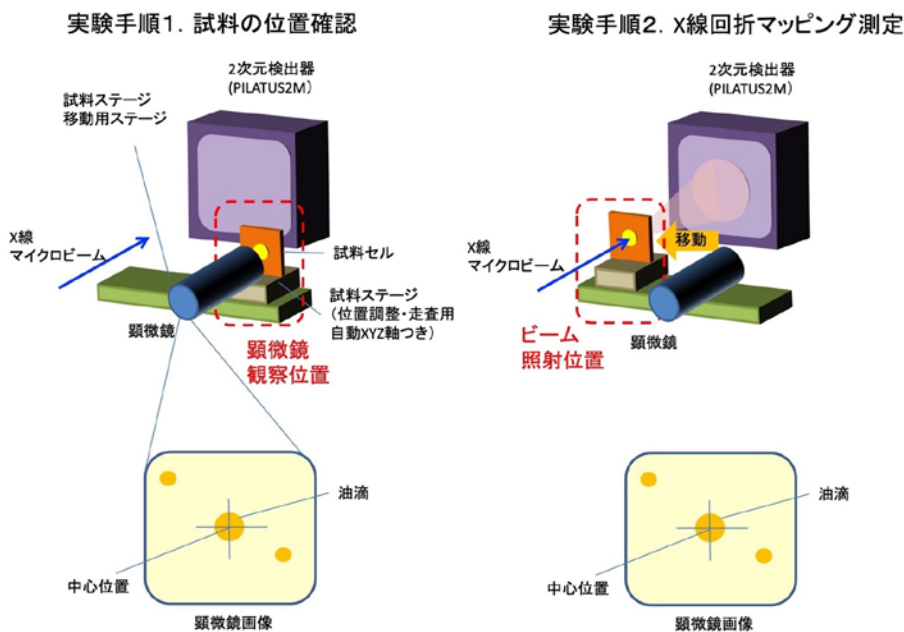


図 3. マイクロビーム X 線回折装置の概念図

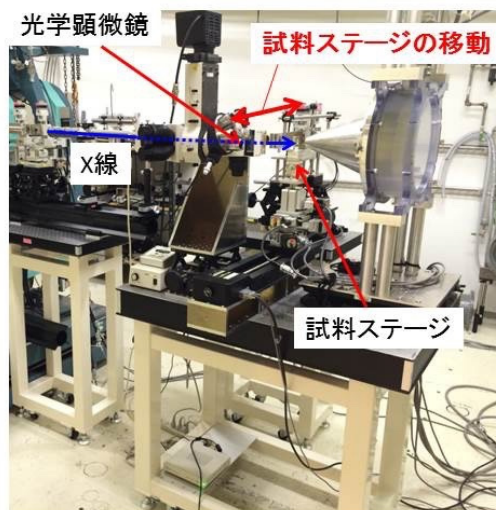


図 4. マイクロビーム X 線回折装置の外観写真

結果および考察：

今回の実験では測定試料としてファットスプレッド（油脂成分 80 %以下のマーガリン類）を用い、この試料をリンカム社製顕微鏡観察用試料加熱・冷却システムにセットして、試料温度を冷蔵庫内温度と同等の 5°C に維持し、試料ステージに取り付けて測定を行った。図 5 に測定したファットスプレッド中の結晶化した油滴の光学顕微鏡画像（左）と、油滴周辺の X 線回折パターン（右）の位置依存性を示す。X 線回折パターンの位置依存性は 10 μm ステップで照射位置を捜査して測定したものである。この右図において X 線回折パターン中にファットスプレッドを構成するトリアシルグリセロールの結晶相の、ラメラの 3 鎖長構造に起因する回折プロファイルが認められる個所を識別して紫色の着色領域として示しており、これが油滴の領域と対応していると考えられる。これに対し、光学顕微鏡画像で油滴の存在領域と判定していた領域は点線で示す領域であり、約 20 μm 程度のずれが生じていることがわかる。これは試料ステージを「顕微鏡観察位置」から「ビーム照射位置」に移動したときに試料ステージの位置にずれが生じたと考えられる。この問題を解決するには、試料位置観察の手順で試料ステージの移動を伴わない X 線同軸顕微鏡の導入を検討する必要がある。

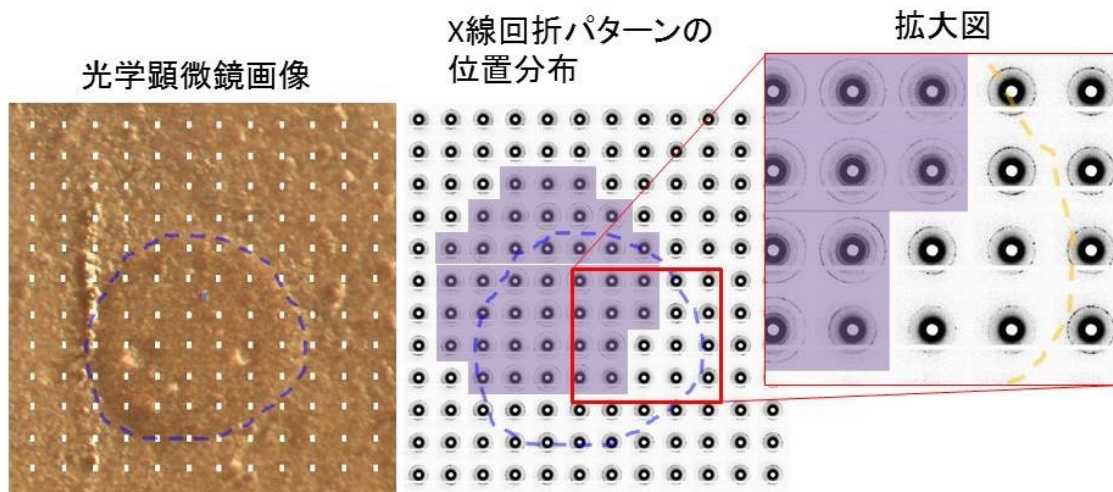


図 5. ファットスプレッドのエマルジョン油滴の光学顕微鏡画像（左）と X 線回折パターンの位置依存性（右）。光学顕微鏡画像中の白点が照射位置として決定した位置。

その後の技術検討状況：

今回の実験で判明した装置の技術的課題をもとに、2015 年度 X 線同軸光学顕微鏡を導入し、改良版のマイクロビーム X 線回折装置を立ち上げた。図 6 にその外観図を示す。導入した光学顕微鏡（オリオン光学製）は測定試料の上流側（OSA のすぐ上流側）に設置され、対物レンズ（焦点距離約 50 mm）で捉えた試料の可視光像は、対物レンズの上流側に設置されたミラーで光軸を 90° 上方に変えて、上方に設置した CCD カメラ上に結像されて観察される。対物レンズとミラーには X 線を通すピンホール（2 mm 径）が設けられており、対物レンズと同じ光軸上から X 線を試料に照射することができる。OSA は遮蔽板のサイズがピンホールと同じサイズのものを採用したため、OSA を退避しなくても試料の観察が可能となっているため、試料の照射位置の観察と X 線回折測定を同時に行うことができる。図 7 にこの改良したマイクロビーム X 線回折装置を用いて測定したショートニング（植物油を原料としたクリーム状の固形食用油脂。マーガリンから水分、添加物を除去したもの）中の粗大結晶粒の結晶相分布を測定した結果を示す。実験条件はマイクロビームの光学条件は上記の実験と同じで、図 2 で示したビームプロファイルはこの実験の時のものである。検出器も同じ PILATUS2M を用いており、カメラ長は約 400 mm に設定して、カメラ長の較正は参照試料のベヘン酸銀の X 線回折パターンを用いて行った。図 7 の光学顕微鏡画像（左）の点線で示している領域が粗大結晶粒であり、右図の X 線回折パターンの位置分布の図に示している点線の領域と対応している。右図下部に示すように点線の領域内で確認されている、ショートニングを構成するトリアシルグリセロールの結晶相について、紫色の着色領域で観測されるラメラの 3 鎖長構造に起因する回折プロファイルが点線の領域外では観測されておらず、光学顕微鏡画像で観察される粗大結晶粒の位置と X 線回折マッピングデータの位置依存性の相関がよく一致し

ていることが示されている。

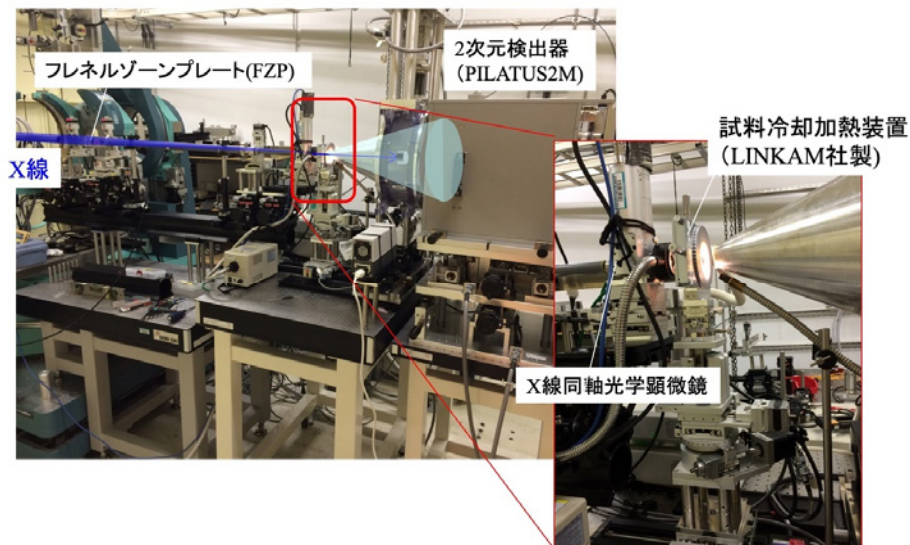


図 6. X 線同軸光学顕微鏡を導入して改良したマイクロビーム X 線回折装置の外観図

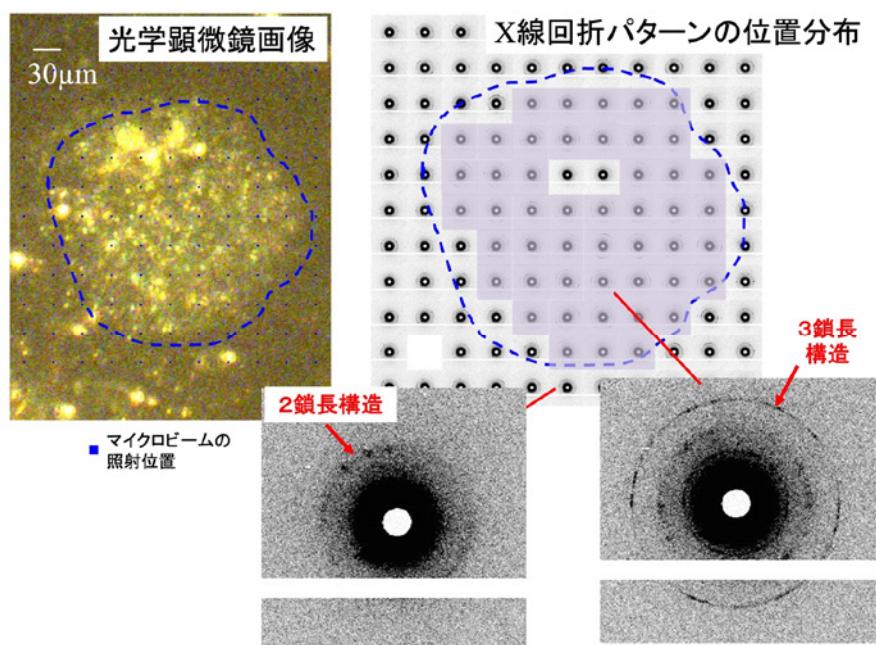


図 7. ショートニング中の粗大結晶粒の光学顕微鏡画像（左）と X 線回折パターンの位置依存性（右）。光学顕微鏡画像中の青点が照射位置として決定した位置。

これにより X 線同軸光学顕微鏡を導入したマイクロビーム X 線回折装置によってこの試料に対するマイクロビーム照射位置の正確な制御が可能になったことが確認できた。

本装置はその後、食品分野だけでなく化粧品分野（生体試料／皮膚、毛髪の構造分布）、高分子材料分野（ゴムの亀裂周辺の結晶分布）等にも応用された。

謝辞：

今回の技術開発において使用したテスト測定用のサンプルは広島大学、上野聡教授よりご提供いただいた。ご協力に謝意を表する。

参考文献：

[1] 佐藤真直、SPring-8/SACLA 利用研究成果集, **11**(5), 322 (2023) (課題番号：2014A1577) .