

X線 CT によるセファデックスゲル・ビーズ中に 形成される氷晶の形状解析

X-ray CT Analysis of Ice Crystal Shape Formed in Sephadex Gel Beads

村勢 則郎^a, 佐藤 優希^a, 平内 亨^b, 河原 俊雄^b, 上野 洋平^b, 入江 謙太郎^b,
佐藤 眞直^c, 梶原 堅太郎^c, 佐野 則道^c
Norio Murase^a, Yuki Sato^a, Toru Hirauchi^b, Toshio Kawahara^b, Yohei Ueno^b, Kentaro Irie^b,
Masugu Sato^c, Kentaro Kajiwar^c, Norimichi Sano^c

^a東京電機大学, ^b(株)日清製粉グループ本社, ^c(公財)高輝度光科学研究センター
^aTokyo Denki University, ^bNisshin Seifun Group Inc., ^cJASRI

ゲル状食品の冷凍保存を念頭に、食品モデルとして架橋デキストランであるセファデックスを用い、X線CTによりゲル・ビーズ内に生成する氷晶の観察を試みた。急速凍結ではいずれの架橋密度のビーズ内においても氷晶の存在を確認することはできなかったが(氷晶サイズ < 1 μm)、緩速凍結では、適度な架橋密度のG25ゲル・ビーズ内に直径10 μm程度の氷晶の存在を示唆するスポットが確認された。G25ゲルでは凍結後の昇温過程で結晶化する水の存在が知られているが、昇温結晶化に対応する氷晶と思われるスポットも観察された。

キーワード： X線CT、セファデックス、ゲル・ビーズ、凍結、氷晶形状解析

背景と研究目的：

ゲル状食品の冷凍保存において、生成する氷晶のサイズ・形状は品質に大きな影響を及ぼす。そして、氷晶のサイズ・形状はゲルを構成する高分子の架橋密度や網目構造に依存する。本課題では、セファデックス(架橋デキストラン)ゲルを食品モデルとして、X線CTを用いてゲル・ビーズ中に生成する氷晶のサイズ・形状の架橋密度依存性を明らかにする。セファデックスゲルで得られた知見を基に、冷凍パスタの保存中における氷晶の粗大化機構を明らかにし、制御する手掛かりをつかむことを目的としている[1]。

放射光を用いたX線CTによる冷凍食品中の氷晶観察技術は、佐藤らによりビームラインBL19B2のX線イメージング装置を使用して開発されており[2]、その応用も進んでいる[3]。本研究では、この技術を利用して、ゲルクロマトグラフィーの担体として用いられているセファデックスのゲル・ビーズ網目構造内に生成する氷晶の観察を試みた。

前回の測定(2015A1852)においては、試料ステージ回転中にキャピラリー内でゲル・ビーズが移動したため、円形状の二次元画像を得ることができなかった[4]。本測定においては、測定中のゲル・ビーズ移動を抑え、円形状の二次元画像が得られるように試料調製を工夫した。

実験：

試料として用いたセファデックスゲルは直径が100 μm程度のビーズ状を呈しており、含水率が50 w/w%になるように試料調製を行なった。架橋密度は高い順にG10 > G25 > G50である。内径0.7 mm、長さが約10 mmの石英製キャピラリーに、2~3 mmの長さになるように試料を銅線で押込んで密に詰め、測定中の水分蒸発を防ぐ目的で両端をグリースでシールした。

X線CT実験はBL46XUにおいて行った。キャピラリーに入った試料は条件を変えて凍結させた。急速凍結は-80°Cのフリーザーを用いて行い(冷却速度：約60 °C/min)、緩速凍結は-30°Cのフリーザーを用いて行った(冷却速度：約6 °C/min)。また、緩速凍結した試料を、寒剤(KCl - 氷; 共融点:-10.7°C)を使用して-6~-7°Cまで昇温した後、-30°Cのフリーザーで再び緩速凍結(再凍結)した試料を用いた測定も行った。凍結した試料の入ったキャピラリーは粘土で試料ホルダーに固定し、直ぐに試料ホルダーをビームラインBL46XUの実験ハッチ内に設置された回転ステージにセットした。試料ホルダーに液体窒素蒸気を吹き付けて試料を凍結状態に保持した。すなわち、熱電対(クロメル-アルメル)を用いて温度を測定し、吹き付ける液体窒素蒸気量を供給配管のバルブの開口を手動で制御することによ

り、約 -30°C ($-23\sim-35^{\circ}\text{C}$) に温度を保った。X 線のエネルギーは 12.4 keV に設定し、高調波除去のため X 線ミラーをミラー角 3.56 mrad に設定した。凍結試料を連続あるいはステップワイズに回転させながら透過 X 線画像データを CCD カメラで測定した。X 線のビームサイズは $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$ で、試料から CCD カメラまでのカメラ長は 10 cm 、ステップスキャンでの測定間隔は 0.5° (再構成に用いた画像数 : 361) で、連続スキャンでの回転速度は $1.2\text{ }^{\circ}/\text{s}$ (再構成に用いた画像数 : 259) である。また、透過 X 線画像データの画素サイズは $0.37\text{ }\mu\text{m}$ 、露光時間は 250 ms である。

結果および考察 :

測定した透過 X 線画像データから Filtered back projection 法により再構成したセファデックスゲル試料の断層画像の一例を Fig.1 に示す。氷晶はゲルマトリックスより X 線吸収率が低いため黒く観察される。図より、ビーズ断面は円形であり、キャピラリーへの試料の詰め方を工夫することで、前回の実験で問題となっていた測定中のビーズ移動は抑えられたことが確認できた。急速凍結した試料では、架橋密度によらずビーズ内に黒い部分は見えず、氷晶は確認されなかった (氷晶サイズ $< 1\text{ }\mu\text{m}$)。しかし、G10 ではビーズ外に吸収されずに残っていた水に由来する氷晶が観察された (Fig.1)。架橋密度が高いため、膨潤度が低く吸水しづらいことによると考えられる。

緩速凍結した G10 試料でもビーズ外に残っている水に由来する氷晶が観察されたが、ビーズ内に氷晶を確認することはできなかった (Fig.2 left)。G25 試料では、ビーズ表面近傍に直径 $10\text{ }\mu\text{m}$ 程度の黒いスポットが見られた (Fig.2 right)。

G25 ゲルでは凍結後の昇温過程で結晶化する水の存在が知られているが [5]、昇温結晶化の完了温度 ($-6\sim-7^{\circ}\text{C}$) まで昇温して再凍結させた試料では、ビーズ内部にも黒いスポットが見られた (Fig.3 middle)。また、緩速凍結した試料を回転ステージ上で昇温し $-5\sim-10^{\circ}\text{C}$ に温度保持して測定した場合にも、ビーズ内部に黒いスポットが観察された (Fig.3 right)。したがって、G25 ゲル・ビーズ内部に見られたスポットは昇温結晶化してできた氷晶によるものである可能性がある。しかし、G25 より架橋密度の低い G50 ゲルにおいては、回転ステージ上で昇温した場合でもビーズ内にスポットは観察されなかった。

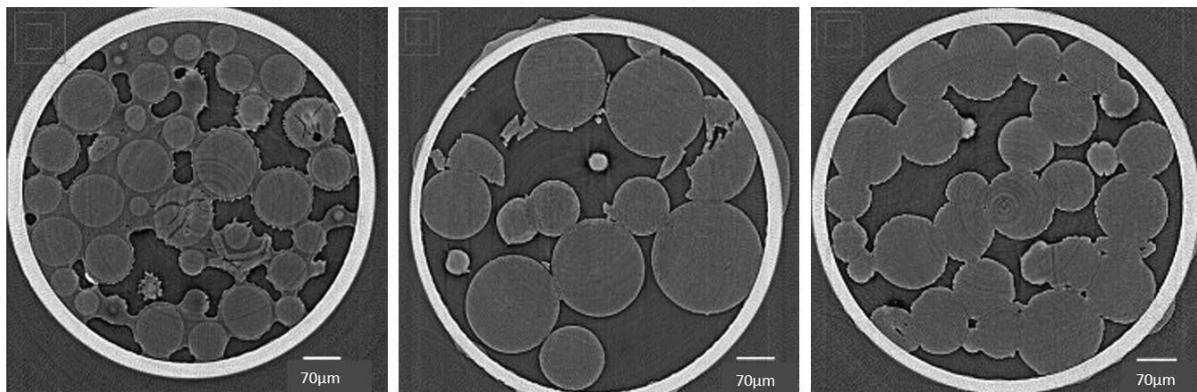


Fig.1. Two-dimensional X-ray CT images of rapidly frozen Sephadex beads. Left: G10; middle: G25; right: G50. (Continuous scan).

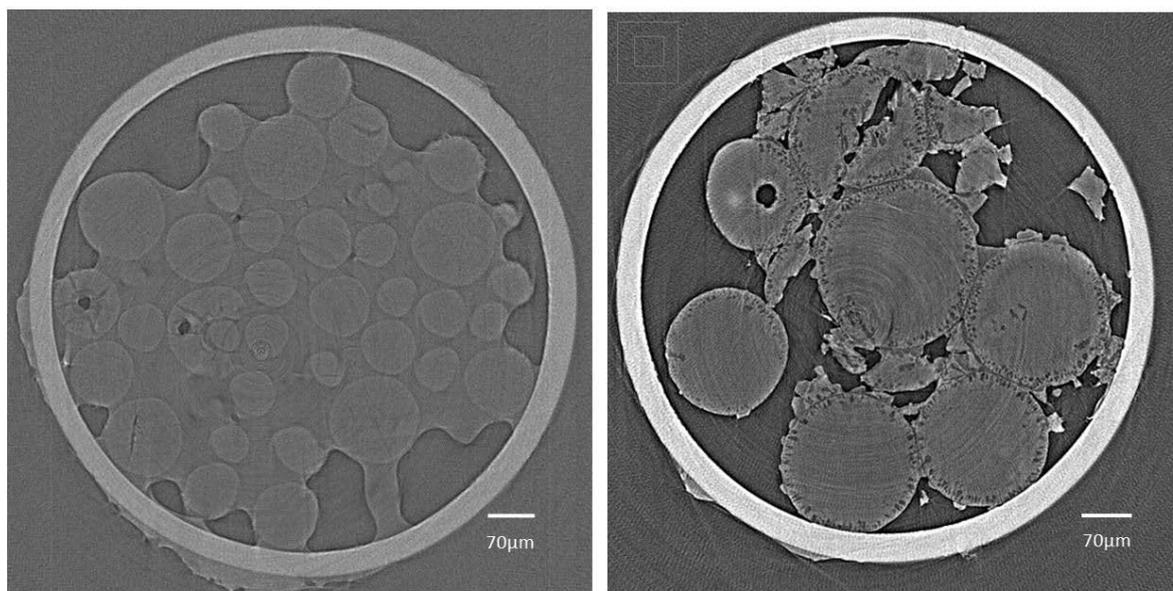


Fig.2. Two-dimensional X-ray CT images of slowly frozen Sephadex beads. Left: G10 (continuous scan); right: G25 (step scan).

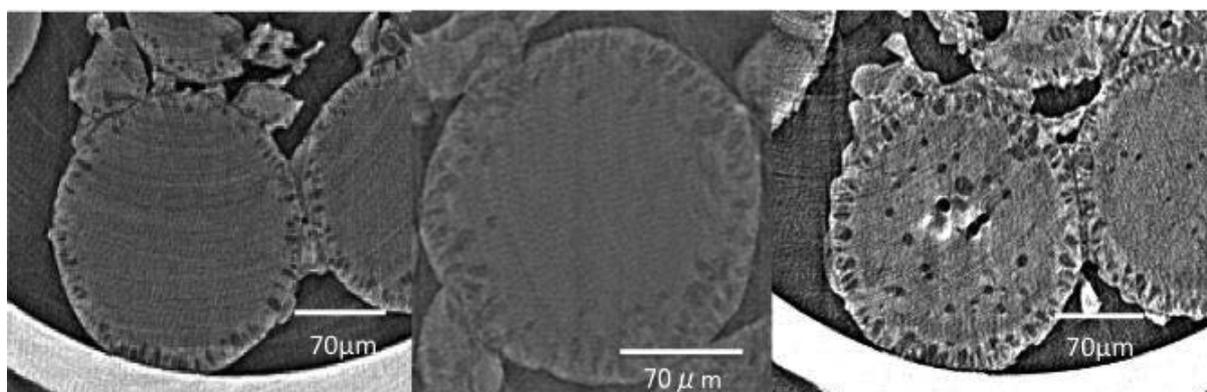


Fig.3. Two-dimensional X-ray CT images of slowly frozen Sephadex G25 beads. Left: slowly frozen; middle: slowly refrozen after rewarming at -6 to -7°C ; right: rewarmed and kept at the temperature between -5 and -10°C on the sample stage. (Step scan).

今後の課題：

G25 ゲル試料において、緩速凍結した試料の温度を上昇させるとビーズ内にスポットが観察されるようになった。このスポットは、これまでに得られた知見と照らし合わせると、昇温結晶化で生成した氷晶によるものである可能性がある[6]。しかし、再現性の有無、架橋密度の異なる G10 や G50 ゲルの凍結状態でビーズ内にスポットが観察されない理由など、結論を下す前に確認すべき点がある。試料調製法の改良と共に、より厳密な温度制御による測定を重ねて、その真偽を明らかにする必要がある。

参考文献：

- [1] 鳥井昭良 他、日本食品科学工学会大会講演集, **61**, 104 (2014).
- [2] 佐藤眞直、梶原堅太郎、利用課題実験報告書, 2013B1847.
- [3] 小林りか 他、平成 26 年度 産業新分野支援課題・一般課題(産業分野)実施報告書(2014A), 2014A1788.
- [4] 村勢則郎 他、平成 27 年度 産業新分野支援課題・一般課題(産業分野)実施報告書(2015A), 2015A1852.
- [5] N. Murase et al., *J Phys Chem.* **90**, 5420 (1986).
- [6] N. Murase et al., *CryoLetters*, **25**, 227 (2004).