

令和4年度

仙台市既設放射光施設活用事例創出事業（トライアルユース）

液状食品・飲料の X線散乱測定適用の検討

東北大学発ベンチャー企業



株式会社

東北アグリサイエンスイノベーション

Tohoku AgriScience Innovation Co., Ltd.

駒井三千夫 、 黒澤康之

企業名・代表者	株式会社 東北アグリサイエンスイノベーション（略称TuASI） 代表取締役社長 駒井三千夫		
住 所	〒980-8572 仙台市青葉区荒巻字青葉468-1 農学系総合研究棟E409		
業 種	研究開発、研究支援	事業内容	食品・サプリメントの開発、 農学領域の研究支援、 次世代放射光施設の活用支援
法人設立日 及び沿革	2018年 8月 7日 東北大学農学研究科の教職員・OBが出資し設立。現在に至る。		
会社概要 (基盤技術・強 み)	東北大学農学研究科の技術シーズ（特許やノウハウ）の実用化が目的の会社。2名が東北大学名誉教授、1名が農学研究科教授、1名が味の素(株)OBで構成。健康栄養や新規食品関連の特許技術を有している。次世代放射光施設ナノテラスと隣接する企業として、農学研究科とともに同施設の活用推進を指向している。令和2年度仙台市トライアルユース事業、令和3年度宮城県あいちトライアルユース事業に参画した。		

東北大学発ベンチャー企業



株式会社 東北アグリサイエンスイノベーション

Tohoku AgriScience Innovation Co., Ltd.

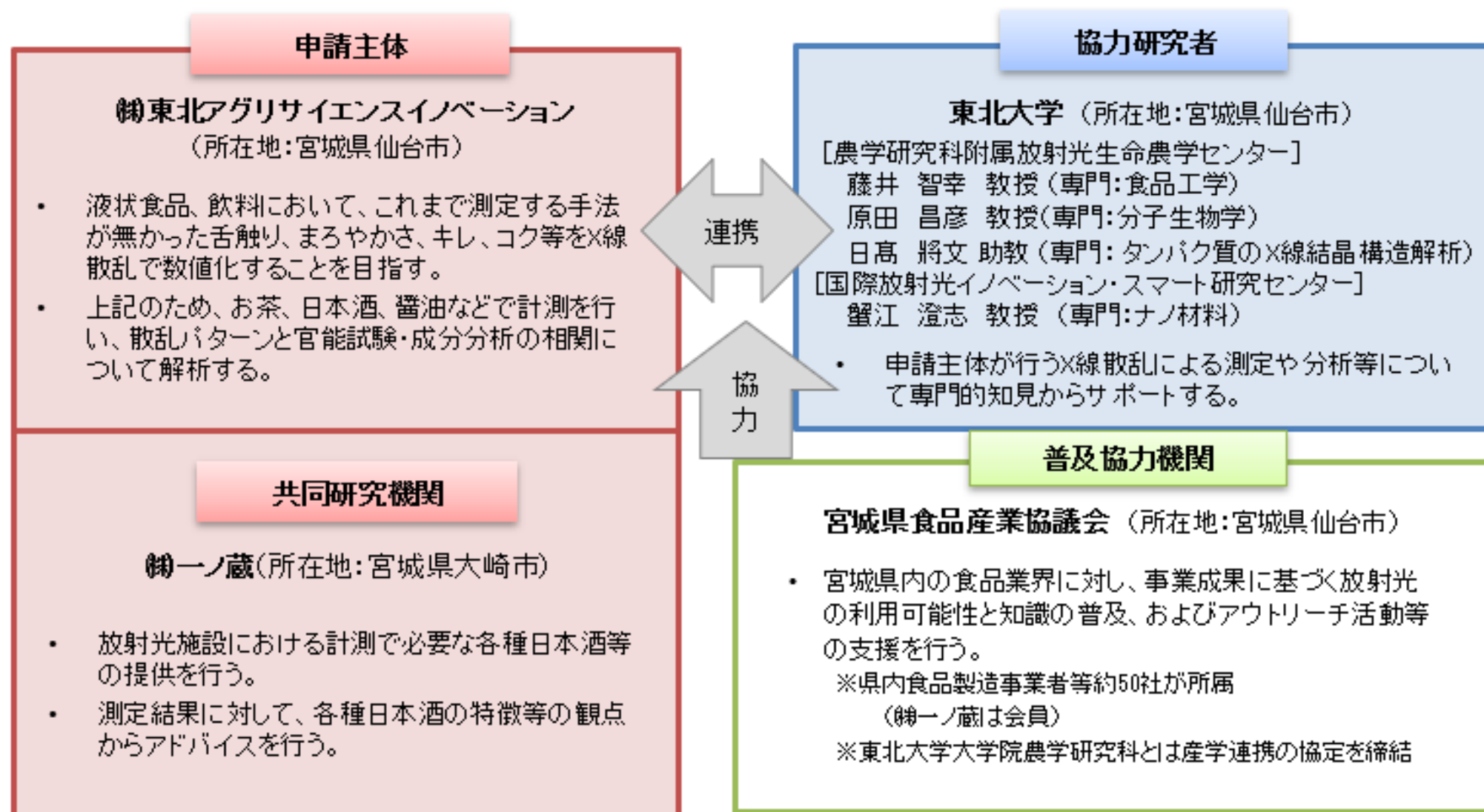
【業務内容】

- 健康維持サプリメントの研究開発・販売
- タキシフォリン（純度90%品）の販売
- 健康栄養成分の調査・研究
- 次世代放射光分析の支援と測定代行 などを通じ

超高齢化社会における健康寿命の延伸に貢献いたします。



実施体制



背景・目的

食品のテクスチャーや風味には、nm ~ μm の大きさを持つ粒子の粒径分布が関わっていると考えられている。我々はX線散乱を使い日本酒に含まれる粒子分布を調べたところ、熟成による味の変化と粒径分布変化に相関する可能性を見出した。

一方で、このようなX線散乱の分析が、他の液状食品・飲料について適用可能なものであるのか調べられていないため、仙台市トライアルユースの機会を得て測定した。

本報告の内容

緑茶飲料4点、醤油19品について大型放射光施設SPring-8 BL19B2に於いて令和5年2月7日・8日にX線散乱を測定したので報告する。

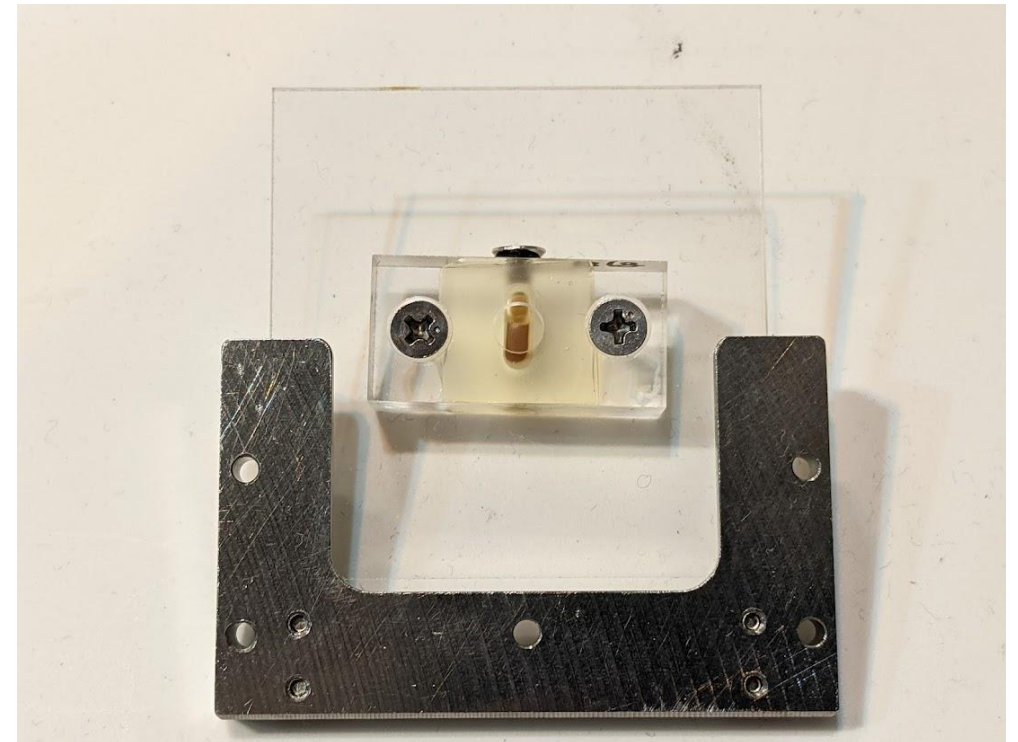
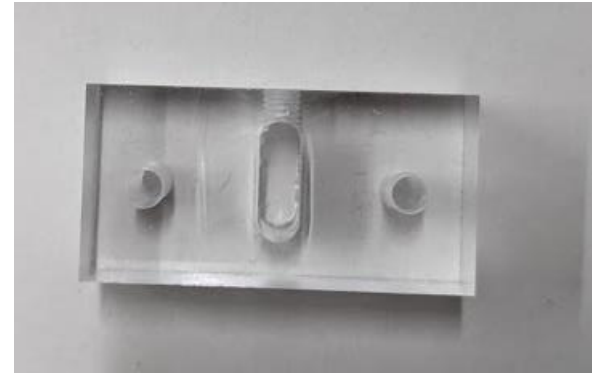
液体試料用セル

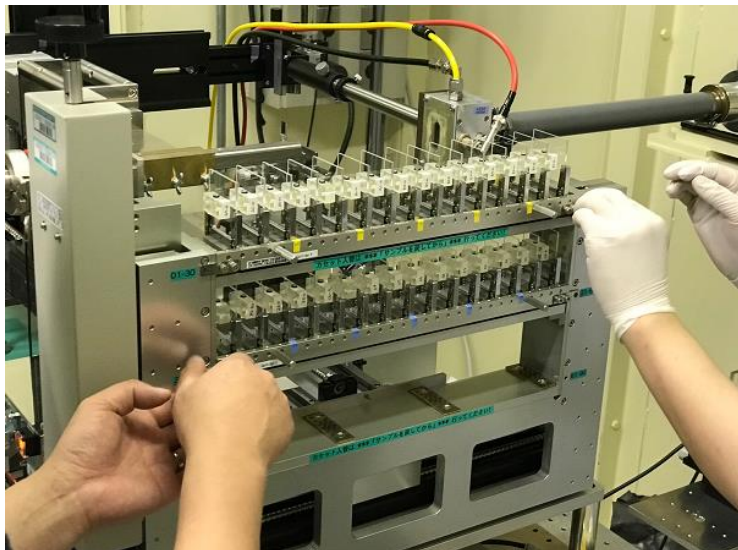


BL19B2の自動測定装置（ハミングボード）用に開発したアクリル製のセル。

散乱体の少ない液状食品でも光路長10 mmとすることで散乱強度を得ることができる。

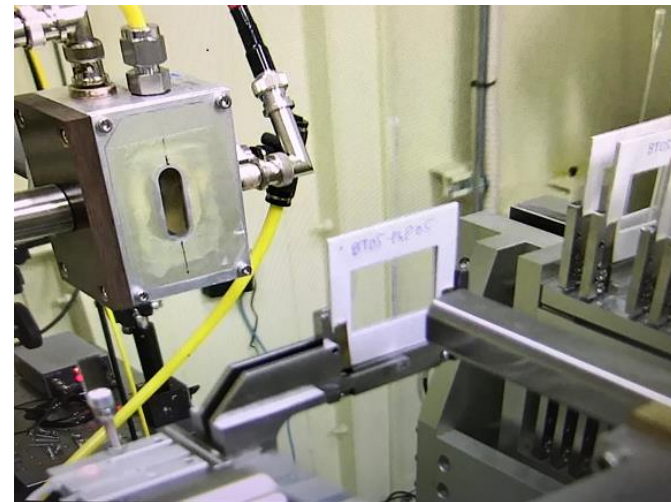
1回の測定に60サンプルをセットし、自動測定に供することが可能。





サンプルホルダーを
自動供給装置に固定
する作業

自動供給装置に
サンプルホルダーを
4個セット完了



自動運転でサンプル
ホルダーからサンプ
ルをアームが抜き取
る様子



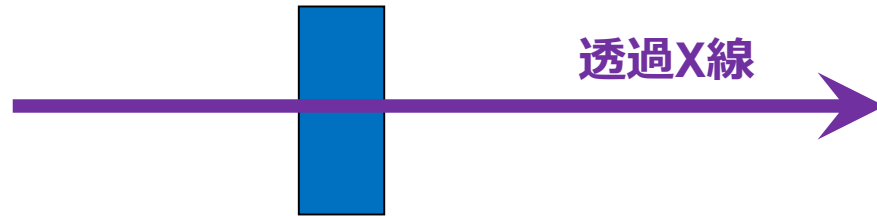
2本のアームが閉じて
サンプルを挟み、ホ
ルダーからサンプ
ルを抜き取る

散乱とは

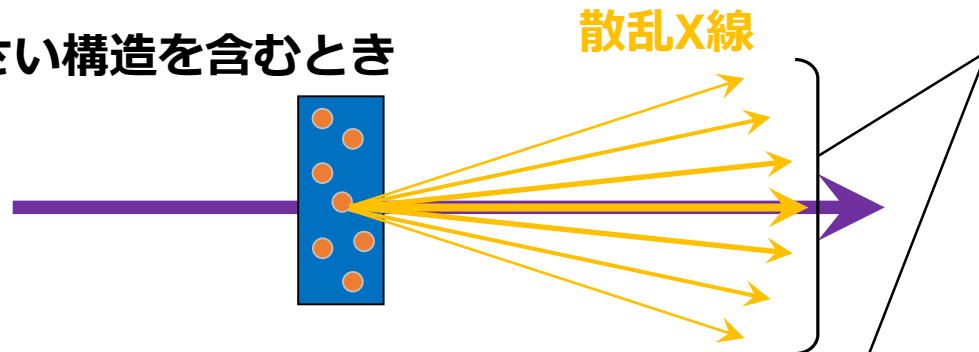
<宮城県産業技術総合センター提供>

試料にX線を照射すると、試料内部の不均一構造
(フィラー, 相分離, 空孔など) を反映した**散乱X線**が発生する

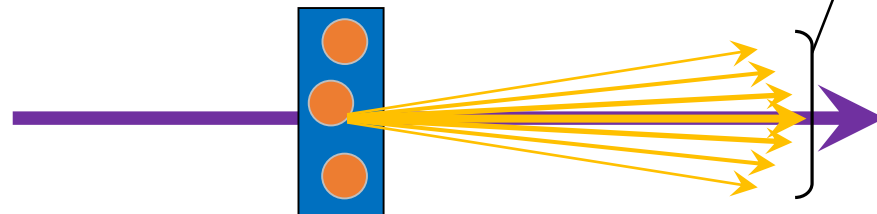
試料が一様なとき



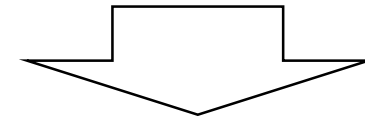
小さい構造を含むとき



大きい構造を含むとき



大きい構造であるほど、
散乱X線の広がり角が小さくなる
また、形状・サイズ分布・濃度によっても角度依存性が変化する

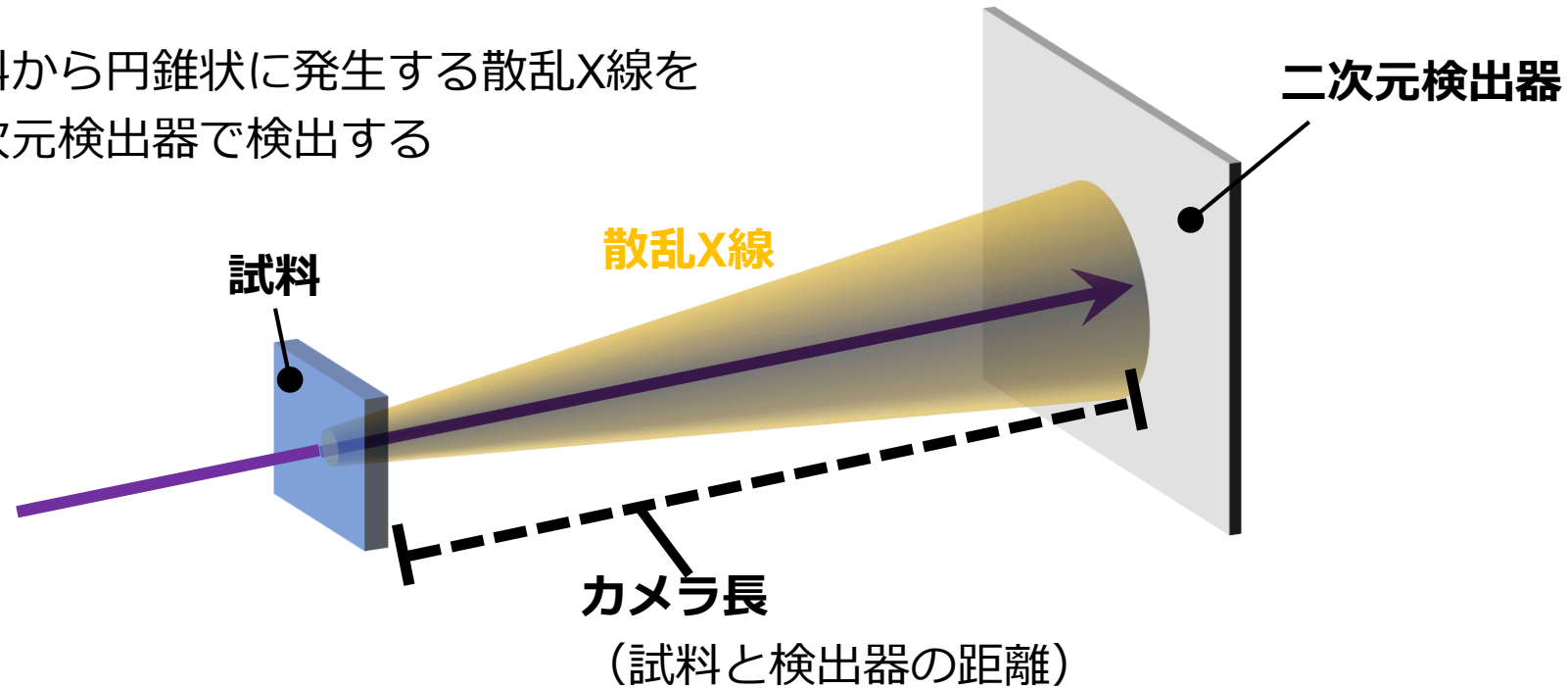


**散乱X線の角度依存性から
試料内部の構造情報がわかる**

X線散乱について

<宮城県産業技術総合センター提供資料を改編>

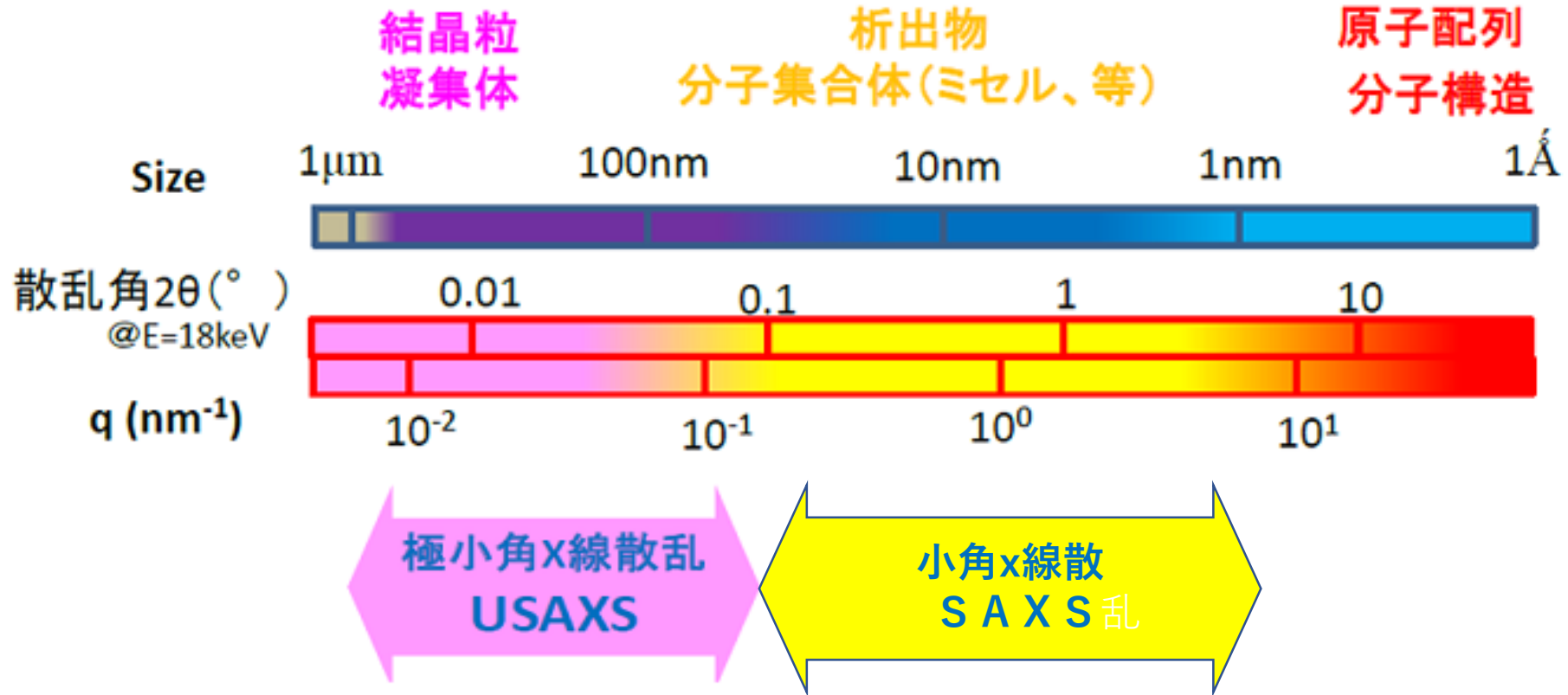
試料から円錐状に発生する散乱X線を
二次元検出器で検出する



- ・ 広がり角がおおむね 10° 以下の散乱X線が（または、それを捉える実験自体が）**X線小角散乱 [SAXS, Small Angle X-ray Scattering]**と呼ばれる
- ・ 試料と検出器の距離を長くすれば、SAXSより小さい角度の散乱を見分けるのに有利
→ **より大きな内部構造を観測できる** これが、
X線極小角散乱 [USAXS, Ultra Small Angle X-ray Scattering]と呼ばれる

SPring-8、BL19B2のカメラ長： SAXSは0.7~3m, USAXSは41m

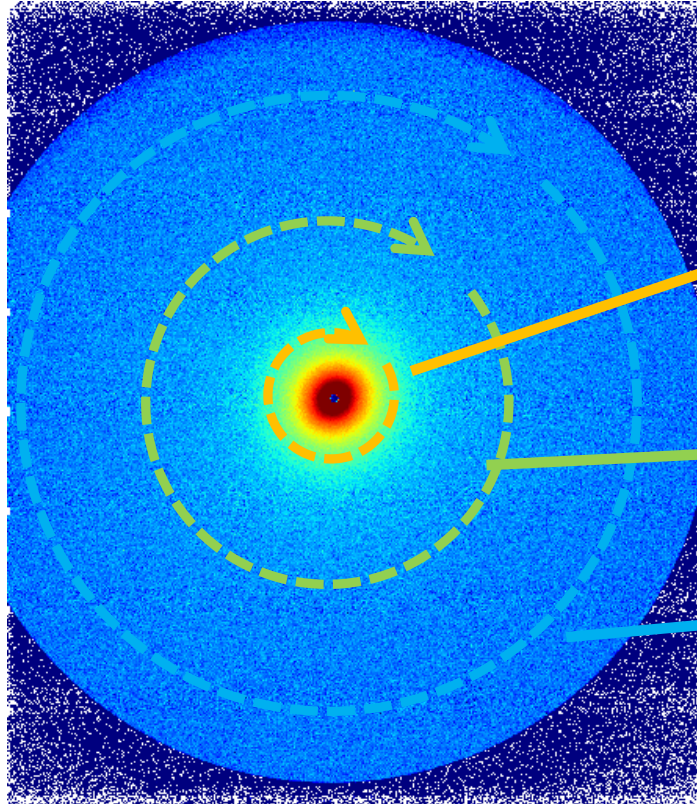
USAXS、SAXS の測定領域



<(公財)高輝度科学研究所「産業利用ビームライン BL19B2でのX線小角散乱実験」を改編>

実際に得られるデータ

二次元検出器の生データ (Tiffファイル)



円周上の平均強度

散乱角 or 波数
(中心からの距離より算出)

使用したX線の波長

波数とは...

$$q = (4\pi / \lambda) \sin(\theta)$$

で定義される値。
単位は長さの逆数。

実空間の長さ d とは
 $d = 2\pi / q$
の対応関係をもつ。

二次元データでは取扱いが難しいため、円環平均をとり、
横軸：散乱角(2θ) or 波数(q), 縦軸：散乱強度の一次元データに変換する。

X線散乱の測定条件とデータ解析

測定条件

	SAXS	USAXS
エネルギー (keV)	18	18
カメラ長 (m)	3	41
露光時間(秒)	90*	180**

*30秒×3回

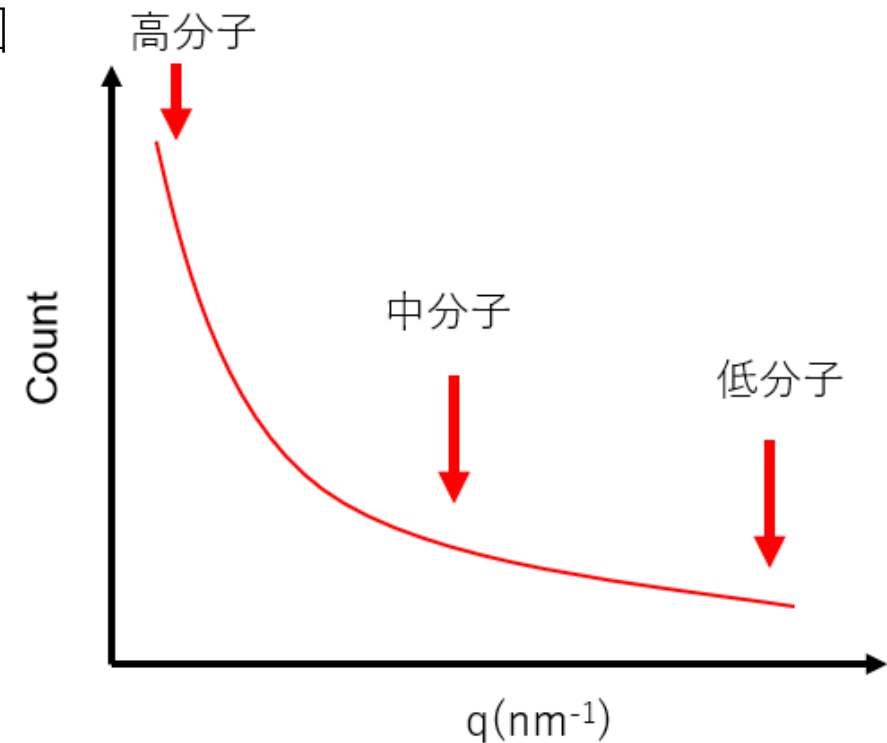
**60秒×3回

データ解析

縦軸：散乱強度 Count

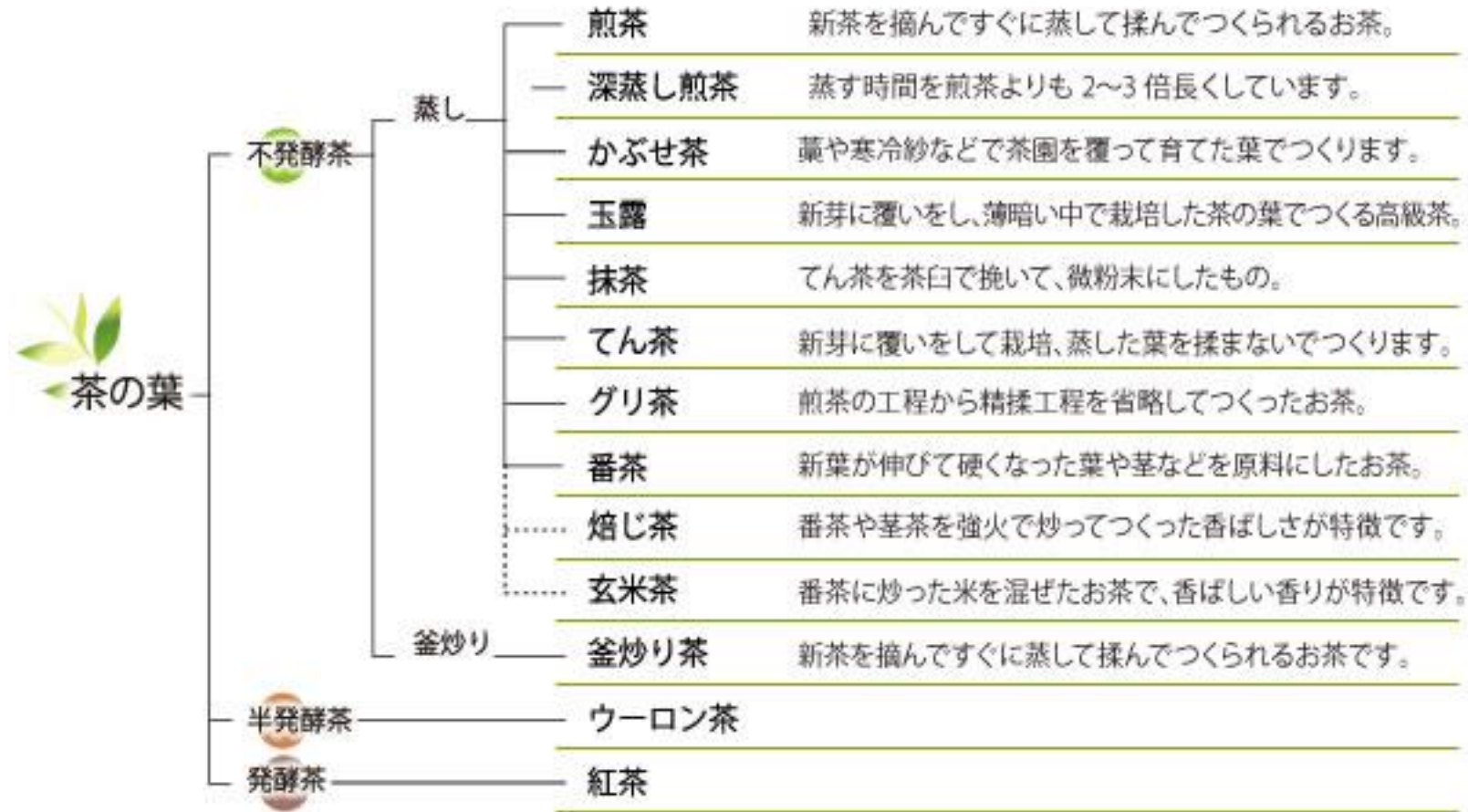
横軸：波数 $q(\text{nm}^{-1})$

q が大きいほど粒子サイズが小さい。本報告では、粒子の大小を食品成分と関連付けて理解し易くするため、SAXSの結果については高分子、中分子、低分子と表現した。



測定サンプル ①お茶

一口に『お茶』と言っても、製法や煎れ方で様々な種類がある。



測定サンプル①お茶

今回は、代表的な市販緑茶飲料（ペットボトル）4品について、
動的光散乱法（DLS）ラボ機 及び、**小角X線散乱（SAXS）、極小角X線散乱（USAXS）** を測定し、製品の違いが散乱の違いに現れるかを観察した。

測定試料

試料	お茶A	お茶B	お茶C	お茶D
特徴 (担当者評価)	透明、 すっきり した味	甘味・コ ク味あり、 沈澱	すっきり した味、 沈澱	濁り、 抹茶の風 味あり

市販緑茶飲料の測定結果

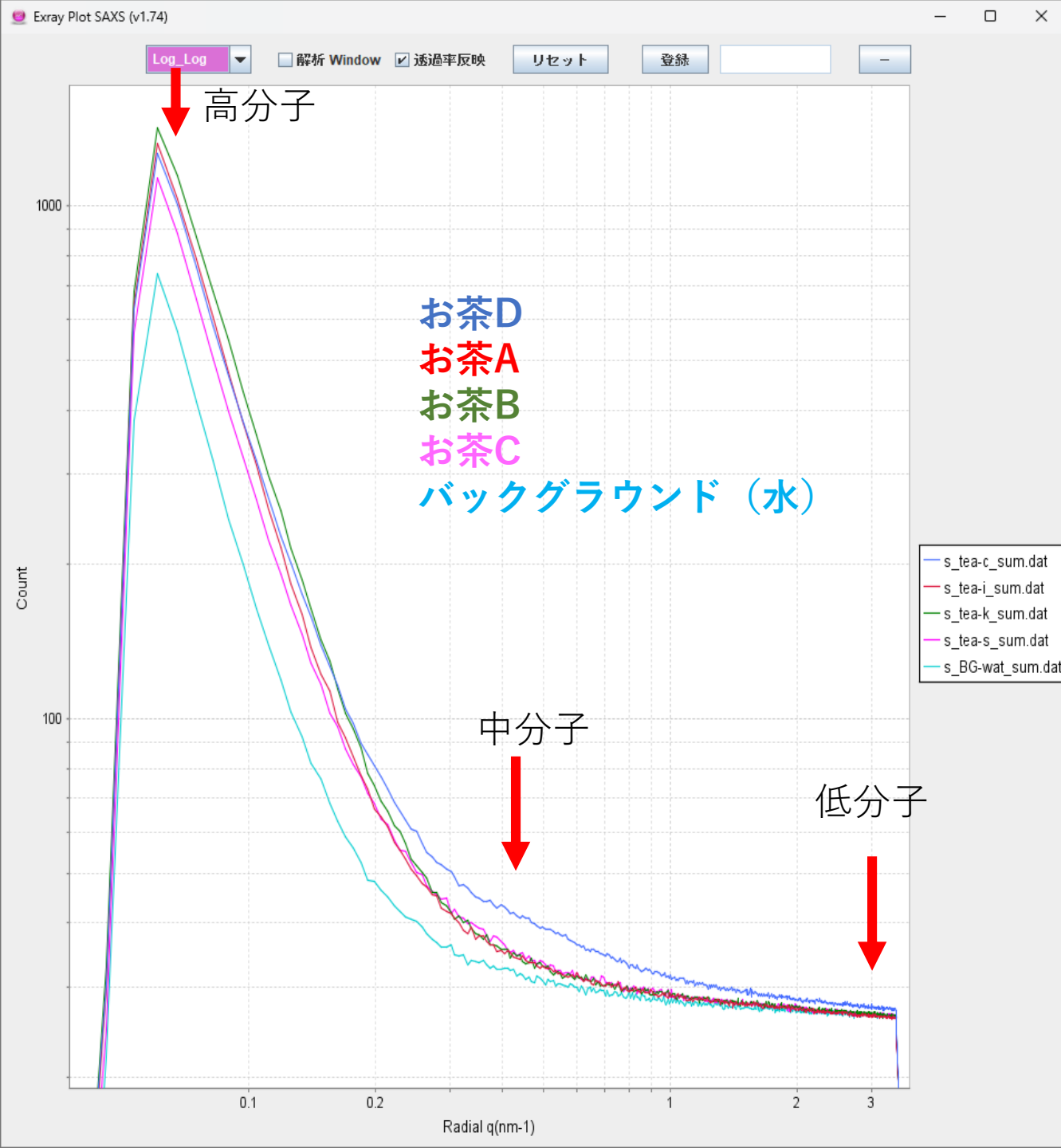
動的光散乱法（DLS）による散乱強度分布測定

4種類の市販緑茶飲料について、DLS測定を行って得られた自己相関関数をヒストグラム法で解析した結果、

お茶Aには $0.30\ \mu\text{m}$ 程度の粒子のみ認められたのに対し、他の**お茶B**、**お茶C**、**お茶D**には、 $0.21\sim 0.27\ \mu\text{m}$ 程度の一次粒子、 $1.3\sim 2.0\ \mu\text{m}$ 程度のクラスター、 $72\sim 74\ \mu\text{m}$ 程度の巨大凝集体の存在が示唆された。

このことから、**お茶A**は固液分離によってサブミクロン粒子より大きな粒子が除去されていることが示された。

さらに詳細に検討すると、**お茶A**と**お茶B**では数十ナノメートル程度のナノ粒子は観測されなかったのに対し、**お茶C**と**お茶D**では 60nm 程度のナノ構造が認められたがその存在は不安定であった。



緑茶飲料のSAXS測定結果

4種類の市販緑茶飲料ではいずれも低分子はほとんどない。

お茶Dは広い範囲で散乱が強い。

お茶Bは中分子から高分子にかけて散乱が強い。

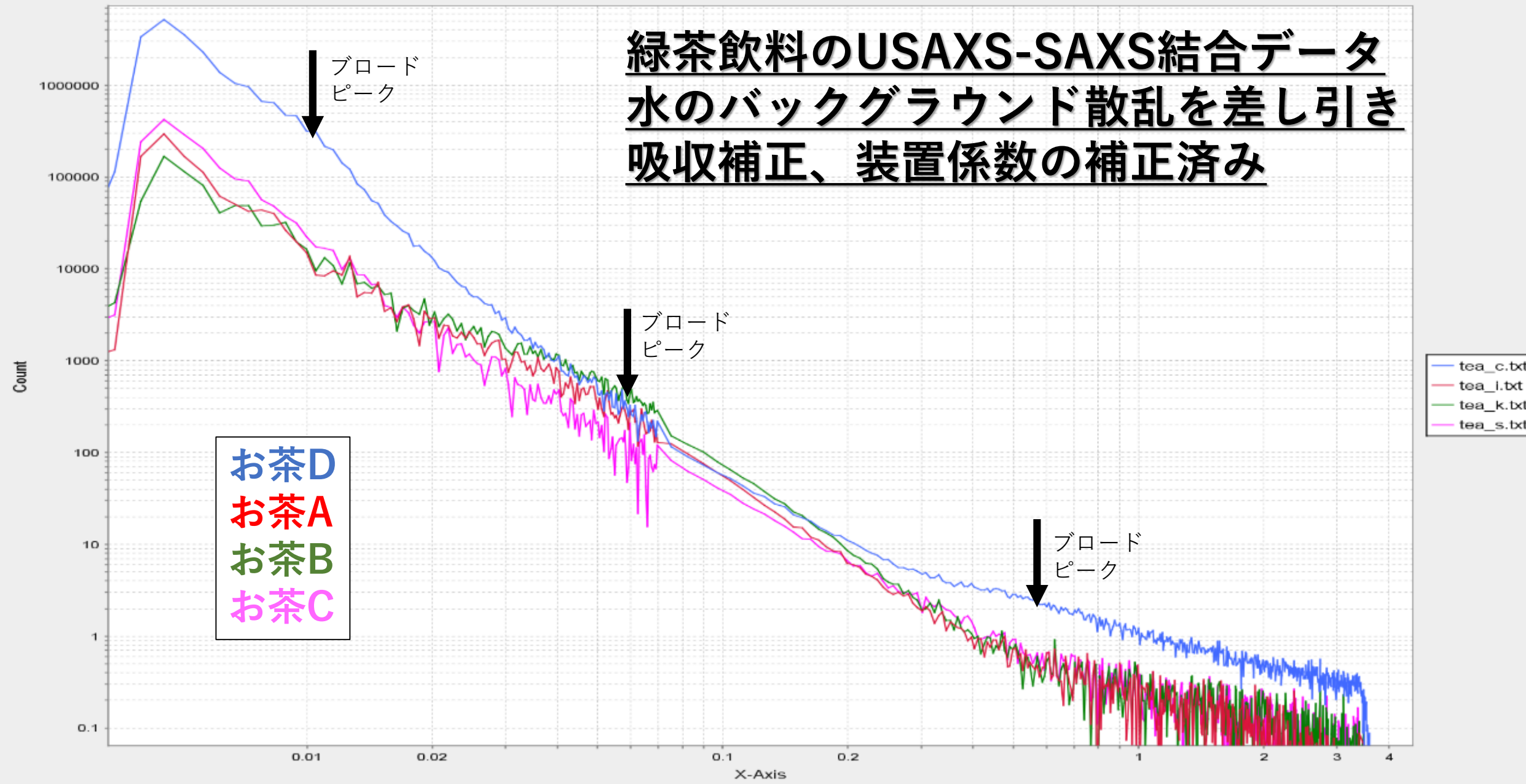
お茶Cは散乱が少ない。

お茶Aは散乱光が平均的にみえる。

DLS測定によってその存在が示されたサブミクロン粒子のナノ構造をSAXSによって評価できる可能性を示すことができた。

お茶Dでは、サブミクロン粒子の内部にナノ粒子が存在していることが示唆された。これ以外の緑茶試料では粒子的構造は認められなかった。

緑茶飲料のUSAXS-SAXS結合データ 水のバックグラウンド散乱を差し引き 吸収補正、装置係数の補正済み



市販緑茶飲料の粒子解析

	SAXS		USAXS		DLS			
	10~ 20 nm	60 nm	0.10~ 0.30 μm	0.5~ 1.0 μm	60 nm	0.21~ 0.30 μm	1.3~ 2.0 μm	72~ 74 μm
お茶A	×	×	○	×	×	○	×	×
お茶B	×	×	○	×	×	○	○	○
お茶C	×	×	△	×	△	○	○	○
お茶D	○	×	×	○	△	○	○	○

○：有、△：不安定、X：無し

USAXS-SAXSによって、DLSでは明確に区別できなかったサブミクロン粒子の構造をより詳細に解析できることが示された。

測定サンプル②醤油

醤油は、濃口（こいくち）醤油（約84%）、淡口（うすくち）醤油（約13%）が市場の主流だが、他に溜（たまり）醤油、再仕込（さいしこみ）醤油、白（しろ）醤油がある。

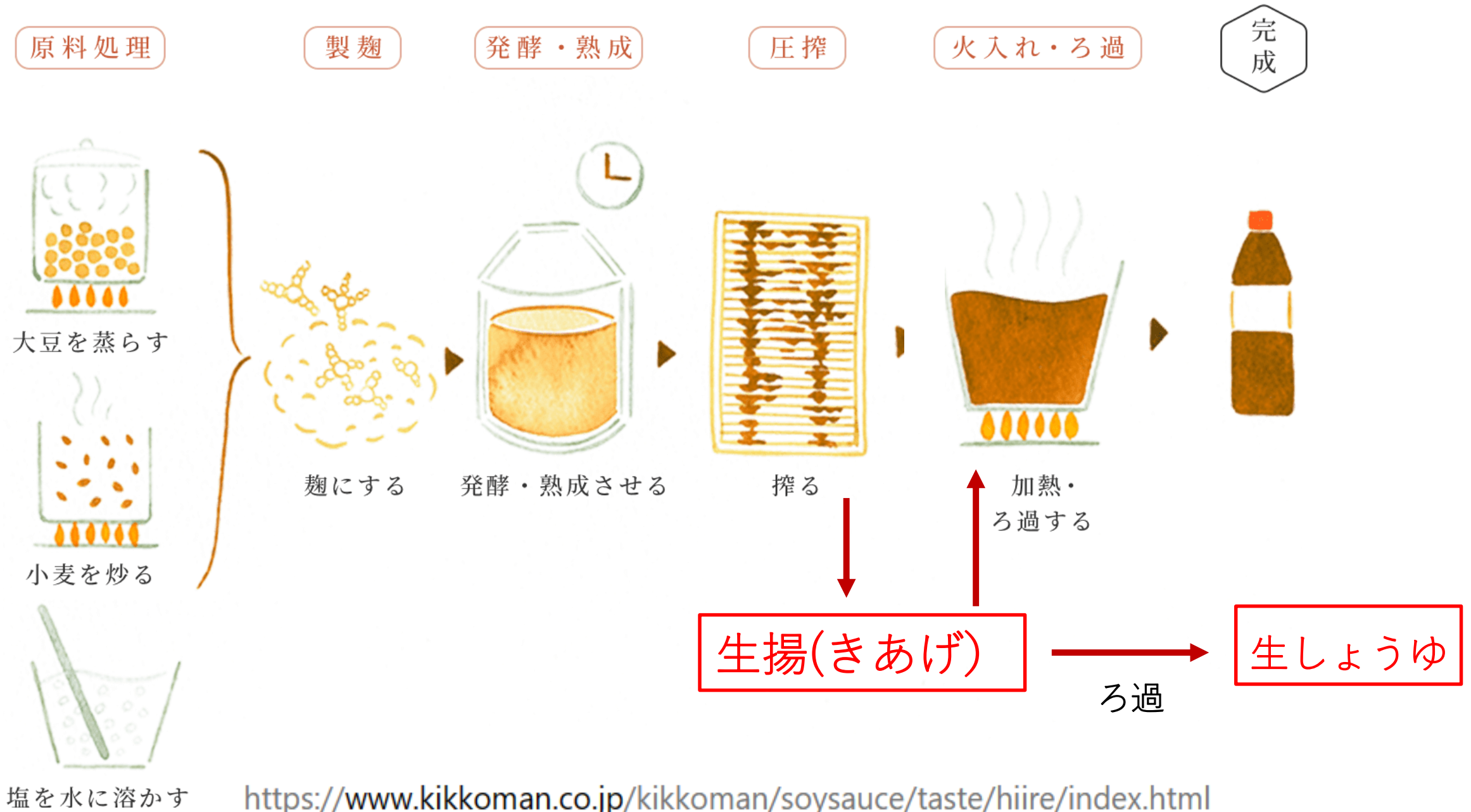
濃口醤油の原料は加工脱脂大豆が一般的だが、まろやかさを謳うため丸大豆を原料とした丸大豆醤油があり、さらにまろやかな味わいのだし醤油も市場に流通している。各種醤油のX線散乱（SAXS,USAXS）を測定し、特徴を観察した。

最近の市場に定着してきた生（なま）醤油は、加熱殺菌を行わずしぼりたての香味を継続して楽しめるように、空気に触れないような二重構造容器に入れて酸化による劣化を防いでいる。

今回は、生醤油に強制的に空気接触を行い、X線散乱を使って分子レベルの形状の変化を観察した。



製造工程



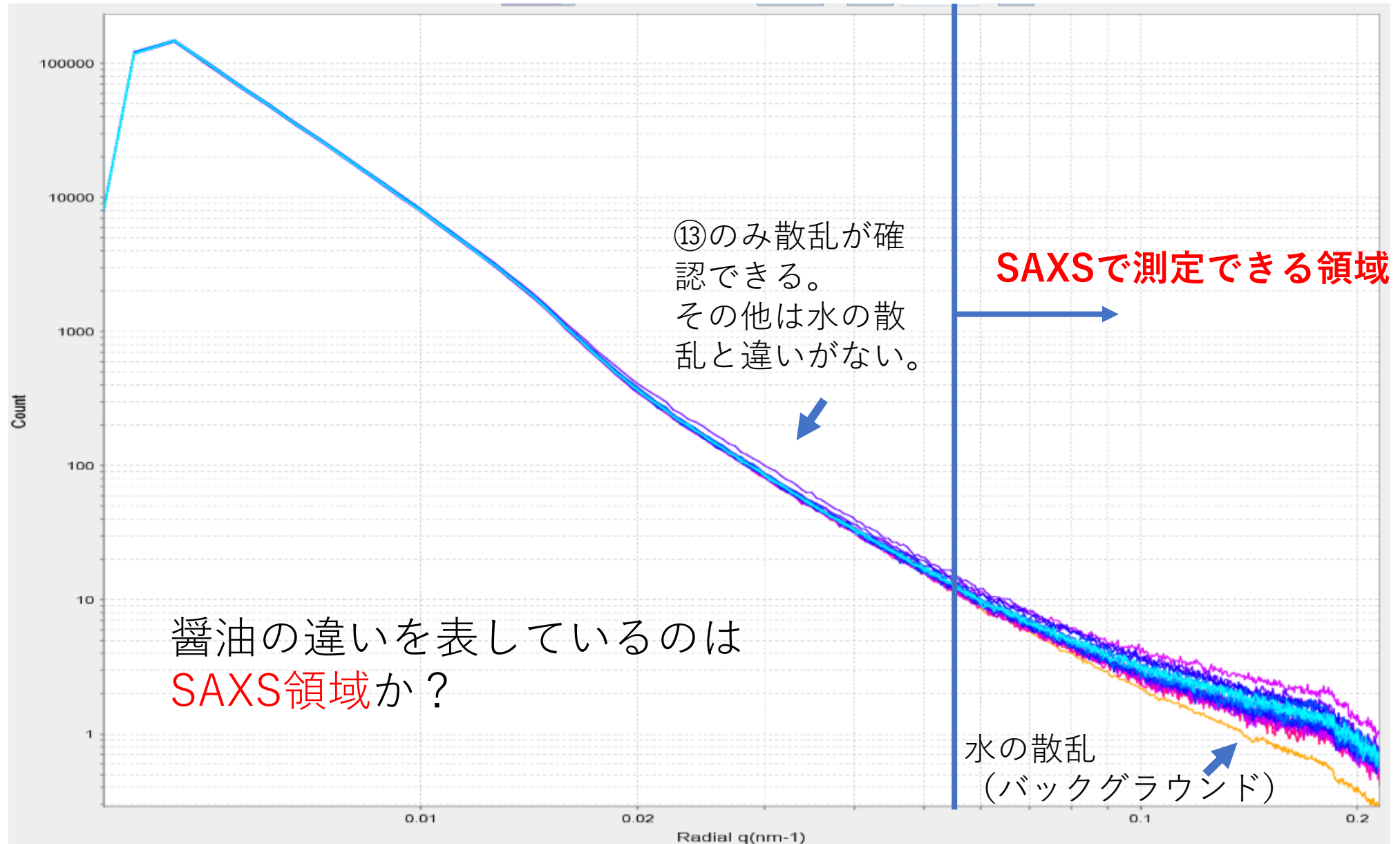
測定試料

しょうゆの分類は醤油情報センターHPを参照した。

しょうゆの分類	特徴	試料名	原材料
濃口 (こいくち)	しょうゆ出荷量の約84%を占める最も一般的なしょうゆ。塩味、深いうま味、まろやかな甘味、さわやかな酸味、味をひきしめる苦味が特徴。 生揚（きあげ）を火入れ することにより、深みのある赤橙色、キレのある味わい、しょうゆらしいしっかりした香りのしょうゆとなる。 脱脂加工大豆を使用する製品よりも、丸大豆を使用した製品がまろやかと言われる。	①こいくち（基準）	脱脂加工大豆、小麦、食塩、大豆／アルコール
		②こいくち丸大豆	大豆、小麦、食塩
		③こいくち低温長時間熟成	脱脂加工大豆、小麦、食塩、大豆
		④こいくち調味料・甘味料	脱脂加工大豆、食塩、小麦／アルコール、調味料(核酸)、甘味料(ステビア)
		⑤こいくち丸大豆みりん	大豆、小麦、食塩、みりん／アルコール
		⑥こいくち生（非加熱）	脱脂加工大豆、小麦、食塩
		⑩こいくち本醸造・甘口	脱脂加工大豆、小麦、食塩、砂糖混合ぶどう糖果糖液糖 /アルコール、調味料（アミノ酸等）、甘味料（甘草）
		⑪こいくち混合醸造・甘口	アミノ酸液、脱脂加工大豆、小麦、食塩、調味料（アミノ酸等）、甘味料（サッカリンNa）、カラメル色素、保存料（パラオキシ安息香酸）
		⑫こいくち減塩	脱脂加工大豆、小麦、食塩／アルコール、ビタミンB1

再仕込み (さいしこみ)	他のしょうゆは麴を食塩水で仕込が、生揚げしょうゆで仕込む。色・味・香ともに濃厚。	⑬再仕込み	大豆、小麦、食塩／アルコール
		⑭再仕込み	大豆、小麦、食塩／アルコール
淡口 (うすくち)	しょうゆ出荷量の約13%を占める。関西発祥。食塩は通常の10%増。素材の持ち味をいかすために、色や香りを抑えたしょうゆ。	⑮うすくち	食塩、脱脂大豆、小麦
白 (しろ)	愛知県碧南市発祥。うすくちしょうゆよりもさらに淡く琥珀色のしょうゆ。甘味が強く独特の香りあり。	⑯しろ	小麦、食塩、大豆/アルコール、ビタミンB1
溜 (たまり)	主に中部地方でつくられる色の濃いしょうゆ。とろ味と濃厚なうま味、独特な香りが特徴。	⑰たまり	大豆、小麦、米、食塩、糖類、(砂糖、液糖、ブドウ糖) 水飴、本みりん/アルコール、調味料 (アミノ酸等)
だし入りしょうゆ	しょうゆにあらかじめ鰹節、昆布などのうま味成分を合わせた簡便な調味料です。だししょうゆ、昆布しょうゆ、土佐しょうゆなどの名称で商品化され、つけ・かけ用から調理用まで、幅広く使われている。	⑱だししょうゆ	しょうゆ、砂糖、みりん、食塩、かつお節、まぐろ節、酵母エキス、小麦発酵調味料、昆布/アルコール、ビタミンB1
		⑲だししょうゆ	しょうゆ、砂糖、食塩、米発酵調味料、たん白加水分解物、かつお節エキス、かつお節粉末、酵母エキス、/ソルビトール、調味料 (アミノ酸等)、アルコール、カラメル色素、ビタミンB1

しょうゆ19品のUSAXS測定



醤油の分類とSAXS測定

試料 ※すべて火入れあり

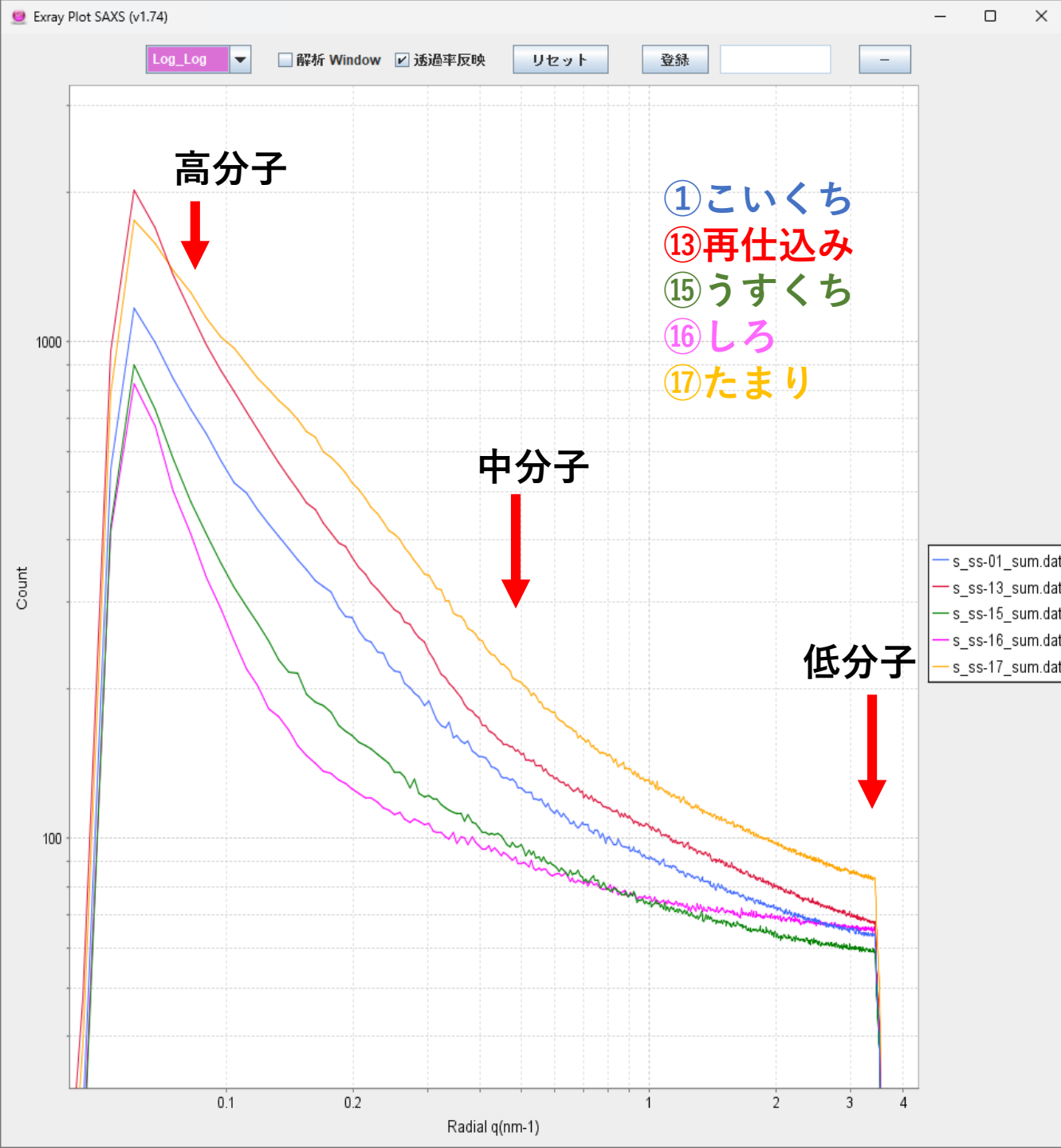
①こいくち（基準）（加工脱脂大豆、小麦、大豆、食塩）

⑬再仕込み（大豆、小麦、食塩）

⑮うすくち（食塩、脱脂大豆、小麦）

⑯しろ（小麦、食塩、大豆）

⑰たまり（大豆、小麦、米、食塩、糖類、水飴、本みりん）



しょうゆの分類とSAXS測定

低分子：

⑰たまり

∨

⑬再仕込み、⑯しろ、①こいくち

∨

⑮うすくち

中分子：

⑰たまり

∨

⑬再仕込み

∨

①こいくち

∨

⑮うすくち

∨

⑯しろ

高分子：

⑬再仕込み

∨

⑰たまり

∨

①こいくち

∨

⑮うすくち

∨

⑯しろ

こいくち各種のSAXS測定

※食品原材料、加工条件

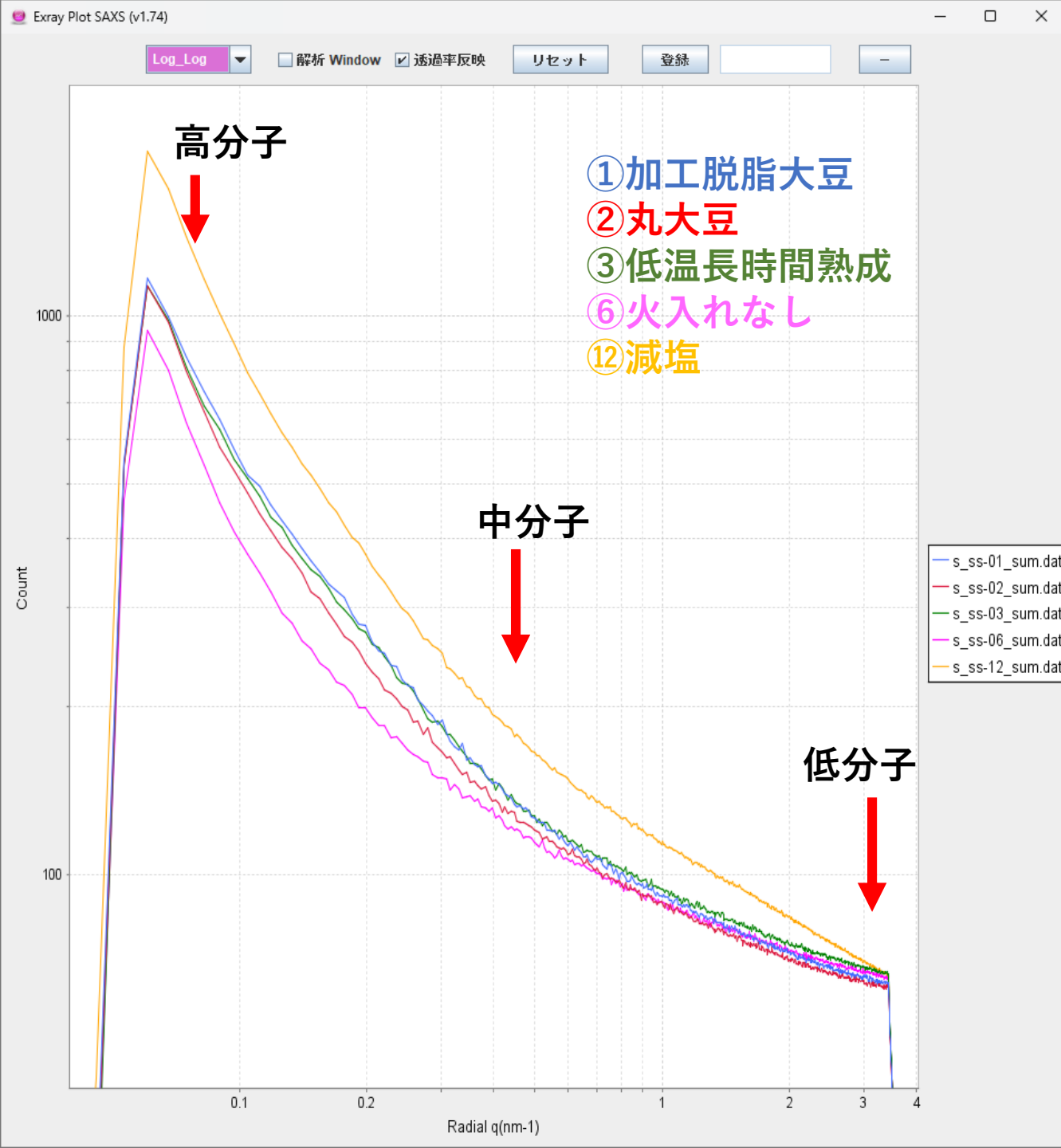
①加工脱脂大豆 （基準、火入れあり）

②丸大豆 （火入れあり）

③低温長時間熟成 （加工脱脂大豆、火入れあり）

⑥火入れなし （加工脱脂大豆、生しょうゆ）

⑫減塩 （加工脱脂大豆、火入れあり）



こいくち各種のSAXS測定

低分子：
ほぼ同じ

中分子：
⑫減塩

⇓
①加工脱脂大豆
③低温長時間熟成
⇓
②丸大豆
⇓
⑥火入れなし

高分子：
⑫減塩
⇓
①加工脱脂大豆
②丸大豆
③低温長時間熟成
⇓
⑥火入れなし

①加工脱脂大豆
②丸大豆
③低温長時間熟成
はほぼ同じ
パターンだが、

②丸大豆が中
分子が若干少
ない。

調味資材添加しょうゆのSAXS測定

①基準 (こいくち、火入れあり)

④調味料(核酸)、甘味料(ステビア)

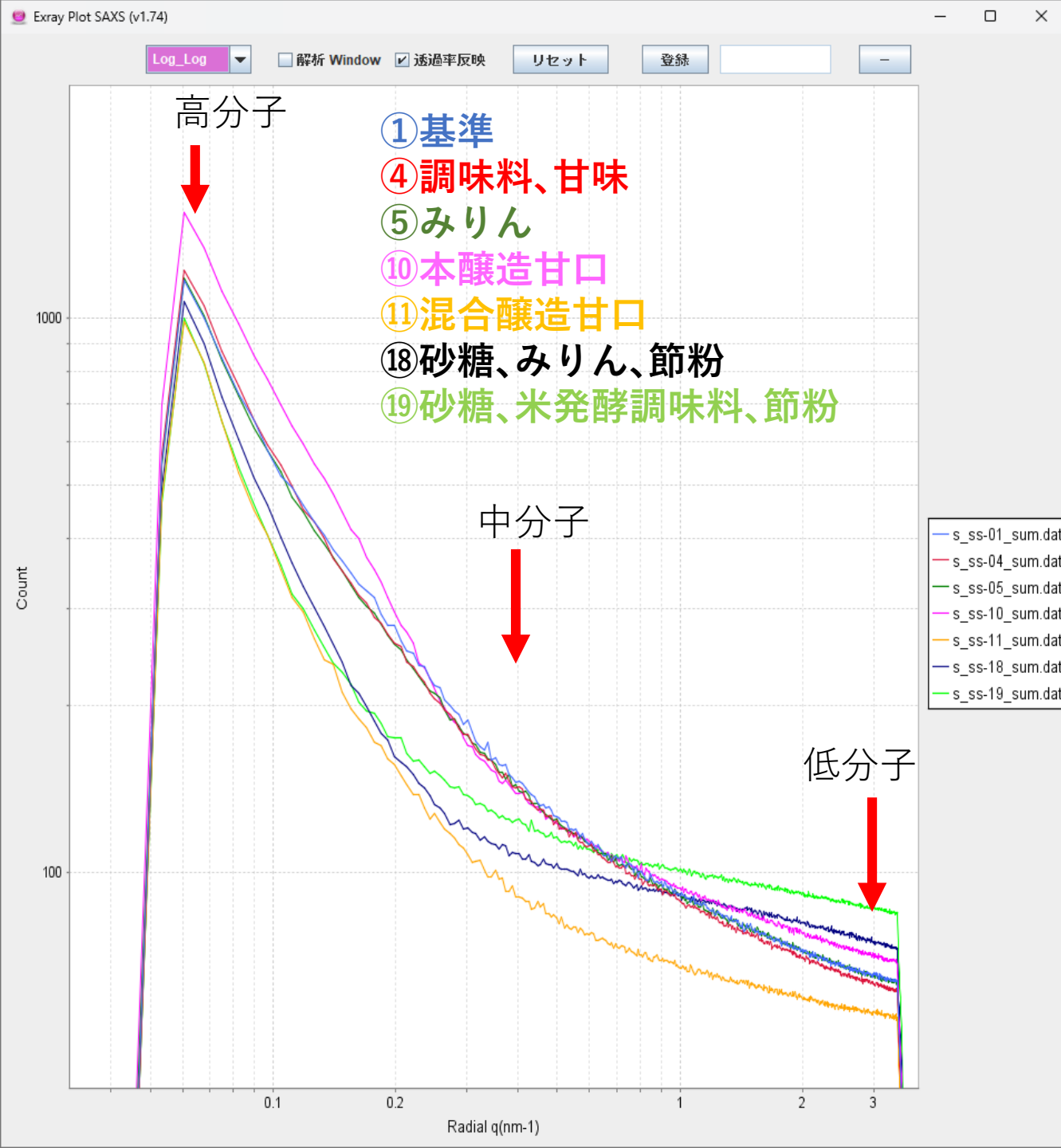
⑤みりん

⑩本醸造甘口(砂糖混合ぶどう糖果糖液糖、調味料(アミノ酸等)、甘味料(甘草))

⑪混合醸造甘口(アミノ酸液、調味料(アミノ酸等)、甘味料(サッカリンNa))

⑱砂糖、みりん、節粉、かつお節、マグロ節、酵母エキス、
小麦発酵調味料、昆布 (⑱だししょうゆ)

⑲砂糖、米発酵調味料、節粉、米発酵調味料、たんぱく加水分解物、
かつお節エキス、ソルビトール、調味料(アミノ酸等) (⑲だししょうゆ)



低分子：

⑱砂糖、米発酵調味料、節粉



⑱砂糖、みりん、節粉



⑩本醸造甘口



①基準

④調味料、甘味 ⑤みりん



⑪混合醸造甘口

中分子：

①基準

④調味料、甘味

⑤みりん

⑩本醸造甘口



⑱砂糖、米発酵調味料、節粉



⑱砂糖、みりん、節粉



⑪混合醸造甘口

高分子：

⑩本醸造甘口



④調味料、甘味

①基準

⑤みりん



⑱砂糖、みりん、節粉

⑲砂糖、米発酵調味料、節粉

⑪混合醸造甘口

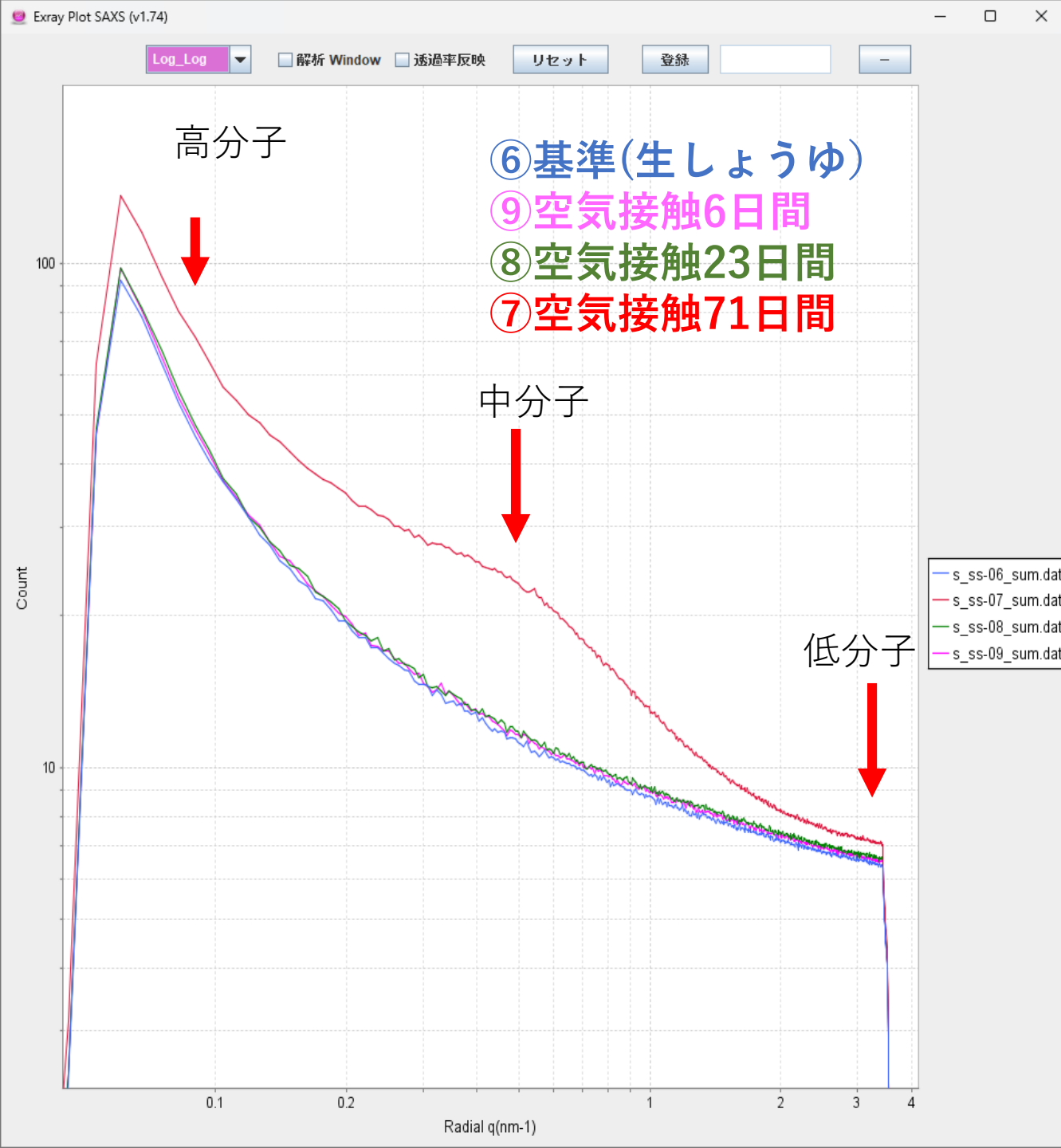
⑪は粒子が少ない。
砂糖が入ると低分子が多く
高分子が少ない。
①④⑤はほぼ同じだが①の
中分子がわずかに多そう。

強制空気接触 生しょうゆのSAXS測定

こいくち、火入れなしの⑥基準(生しょうゆ)を三角フラスコに入れ密封し、室温(10°C~20°C)にてマグネティックスターラーで攪拌し、空気を試料に強制的に接触させた。

X線散乱測定日の直近まで6日間、23日間、71日間攪拌した。試験管に満注しSPring-8に送り、測定に供した。





強制空気接触生しょうゆの SAXS測定

⑧空気接触23日間までは、
⑥基準と差は無かったが、
⑦空気接触71日間で高分子、
中分子が増加した。

<官能特性>

⑦は⑥基準に比べ外観の赤
み、軽い香りが消失し、苦
味・渋味が強くなった。

(担当者評価)

まとめ

○緑茶飲料4品のうちX線散乱を生じたのは1品で、これには動的散乱 (DLS) 領域の粒子は見られなかったため、固液分離によりサブミクロン粒子が除去されていることが示された。他の3品は特徴的なX線散乱は得られなかったが、 $0.21\sim 0.27\ \mu\text{m}$ 程度の1次粒子、 $1.3\sim 2.0\ \mu\text{m}$ のクラスター、 $72\sim 74\ \mu\text{m}$ の巨大凝集体の存在が示唆された。

○緑茶飲料のUSAX-SAXS測定によって、DLSでは明確に区別できなかったサブミクロン粒子の構造をより詳細に解析できることが示された。

○しょうゆのUSAXS測定で散乱が認められたのは19品中1品で、その他は水の散乱と大差なかった。SAXS測定でしょうゆの違いによる散乱パターンが得られた。

○しょうゆの分類別SAXS測定では高分子・中分子・低分子の強度においてそれぞれ特徴あるパターンを示した。濃口しょうゆ各種の比較でも、高分子・中分子・低分子の強度においてそれぞれ特徴あるパターンを示した。火入れしない生しょうゆは高分子・中分子が最も少なかった。

○調味資材配合によって、高分子・中分子・低分子のX線散乱強度は変化した。
脱脂大豆を徹底的に加水分解されたアミノ酸液を主原料とするものは、高分子・中分子・低分子の強度が他の試料に比べて最も低かった。

○生しょうゆを強制的に空気に接触させると、71日間で高分子・中分子のX線散乱強度が高まった。特に中分子の増加は顕著であった。空気酸化が進み、しょうゆ成分の重合による高分子化が進行したものが考えられた。

今後の課題

- (1)本報告内容を食品業界と共有化し、産業利用の可能性を探る。
- (2)緑茶飲料・日本酒を温度調節しながらのSAXS測定が、温度調節機器の不調で実施できなかつたため、再チャレンジ。
- (3)X散乱測定が未検討の液状食品（例：油脂、出し汁 等）についてX線散乱測定。

謝 辞

(公財)高輝度光科学研究センター

大坂恵一様 、 伊藤華苗様

大坂様及び伊藤様には、放射光測定準備・放射光測定でお世話になりました。

東北大学大学院農学研究科

藤井智幸 教授 、 日高將文 助教

東北大学 国際放射光イノベーション・スマート研究センター

蟹江 澄志 教授

藤井先生、日高先生、及び蟹江先生には放射光測定・解析でお世話になりました。