

## 令和 6 年度仙台市 NanoTerasu トライアルユース事業 事例報告書

### 1 課題名

X 線散乱を用いた大豆加工品（豆乳）の構造解析

### 2 測定にあたっての体制（社外委託先を含め記載）

研究代表機関：太子食品工業株式会社（測定試料の検討・調製、ナノテラス測定の実施）

共同研究機関：東北大学農学研究科（ナノテラス測定の統括・実施・解析）

原田昌彦（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

村松淳司（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

高山裕貴（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）

日高將文（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

尾間由佳子（東北大学大学院農学研究科）

利用施設：3GeV 高輝度放射光施設 NanoTerasu BL08W・BL08U

### 3 背景と測定目的

#### ○背景

大豆は、かつて日本食の基本的な要素であった。しかし近年、日本では動物性食品の消費が急増している。それでもなお、大豆製品は日本食における重要な要素として残っており、過去 40 年間、大豆製品は日本における 1 日のタンパク質摂取量の約 10%を占めている。今後の世界人口の増加から、タンパク質源の確保はますます重要な課題となっており、世界的に持続可能なタンパク質源を開発する必要がある。

太子食品工業（株）（以下、太子食品）の事業内容は、主に伝統的な大豆食品の製造である。製品開発においては、豆乳中に含まれるタンパク質、脂質、ミネラルなどの構造を把握することが不可欠である。しかしながら、これまでの製法は伝統的な手法に依存しており、科学的根拠が不足していることが課題となっていた。未解明の構造を明らかにすることで、加工方法の革新につながることを期待できる。さらに、豆乳や豆腐の加熱過程における構造変化のメカニズムを解明することも重要である。この研究により、加熱による構造変化の理解を深め、エネルギー消費を抑えた製造工程に役立てることができる。

これらの課題に取り組むために、X 線散乱を用いた豆乳の構造解析が有効と考えられる。X 線散乱は、材料の構造や組成を非破壊的に解析するための強力な手法であり、豆乳中の構成成分やその相互作用を、希釈することなく詳細に調査することが可能である。これにより、豆乳や豆腐のみならず、広く一般的な食品コロイド（牛乳、卵など）の機能性や品質向上に向けた新たな知見を得ることが期待される。

先行研究や太子食品の取り組みにおいて、電子顕微鏡や工業用 X 線 CT、放射光 X 線 CT を用いたマイクロメートルレベルの豆腐の構造解析が行われてきた。しかし、これらの技術では測定可能なサンプルの範囲が非常に限られていることが課題であった。さらに、先行研究からは豆乳中にナノメートルレベルの粒子が存在することが明らかになっており（図 1）、高解像度の分析が求められていた。したがって、豆腐の品質向上や新たな製品開発のためには、ナノスケールでの詳細な構造解析が望まれている。

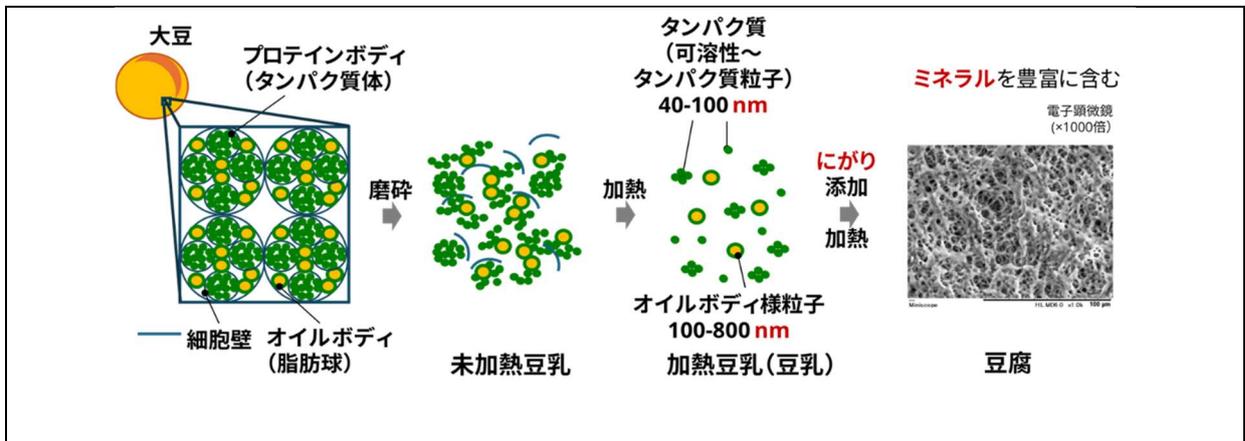


図1 大豆・豆乳・豆腐のナノスケール構造とミネラル

○測定目的

本課題では、小角 X 線散乱 (SAXS) と X 線吸収微細構造 (XAFS) を用いて、豆乳および豆腐のナノ構造とミネラル成分の化学状態を解析することを目的とした。

① 小角 X 線散乱を用いた豆乳・豆腐のナノレベルの構造解析

豆腐の食感に関連するナノメートルレベルの構造情報を取得するため、温度条件を調整しながら豆乳と豆腐の小角散乱測定を検討した。これにより、実際に食べる際の温度における豆乳や豆腐の構造や、製造工程中における大豆中のタンパク質や脂質の凝集挙動を評価することが可能となり、豆乳や豆腐の食感とその構造との関係についての考察が期待される。

② X 線吸収端微細構造 (XANES) を用いたミネラルの化学状態分析

豆腐製造に使用される凝固剤 (にがりなど) のミネラル成分、特にマグネシウムの化学状態を解析するため、NanoTerasu の SX (軟 X 線) ビームラインを使用した XAFS 測定を実施した。この手法では、マグネシウムのような軽元素の吸収端を高感度で解析することが可能であり、食品内部のミネラル成分の化学状態について詳細な情報を得ることができる。他の施設では困難とされる軟 X 線領域での高精度測定により、豆乳と豆腐の構造特性と凝固過程におけるミネラルの役割について、新たな知見を得ることが期待できる。

4 測定方法 (測定手法、測定セットアップ、使用ビームラインなど)

① 小角 X 線散乱 (SAXS) を用いた豆乳・豆腐のナノレベルの構造解析

豆乳の内部構造や相互作用を調べるため、豆乳および凝固剤 (にがり、酸) で凝固した豆腐を用いて、測定を実施した。

<使用ビームライン> BL08W

<測定セットアップ> 液体用ホルダー 2×2 (アントンパール社製) (図2) に、カプトン膜を窓材として O リングとスペーサーを乗せ、液体 (豆乳) もしくは固体 (豆腐) の試料を入れ、カプトン膜と O リングで封止し、ねじ止めした。試料をセットしたホルダーは、真空デシケーターを用いたリークテスト (図3) を実施し、試料モレがないことを確認した。ホルダーを装置にセット (図4) して真空脱気するのに 10 分、測定は 1 試料あたり 1~3 分程度であった。

<測定条件> X 線エネルギー : 8.1 keV  
 試料から検出器までの距離 : 1,600 mm  
 温調ユニット使用

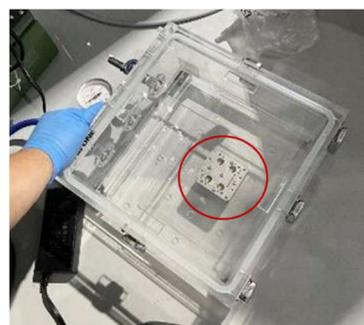


図2 SAXS/WAXS 液体用ホルダー<sup>③</sup> 図3 真空デシケーターによるリークテスト

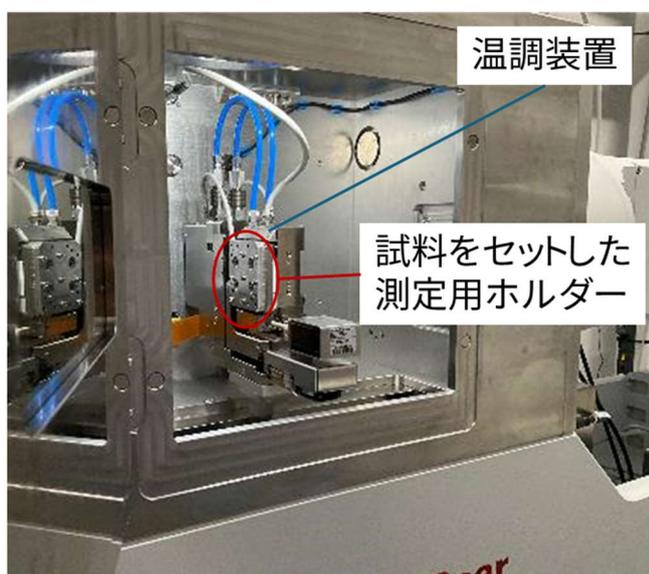


図4 測定装置内部の様子

② X線吸収端微細構造 (XANES) を用いたミネラルの化学状態分析

豆腐中のマグネシウムの化学状態を調べるため、真空乾燥した豆腐2種、比較としてアオサを用いて、測定を実施した。

<使用ビームライン> BL08U

<測定試料の準備> ①の SAXS とは異なり、試料が真空条件での測定となるため、水分が多い豆腐は前処理を実施した (図5)。凝固剤 (にがり: 塩化マグネシウム6水和物) が多いきぬ豆腐 (太子食品製) と凝固剤が少なめのおぼろ豆腐 (他社品) を、少量とり、真空デシケーター中で5日間乾燥した。

<測定セットアップ> 乾燥した試料2種とアオサは、金属プレートに両面テープでそのまま固定した。金属プレートは、同時に5つまで装置にセットでき、装置へのセットは NanoTerasu のスタッフをお願いした (図6)。真空排気に1~1.5時間、試料の測定時間は約10分、金属プレート取り出しのため大気圧に戻す際は30分程度の時間を要した。真空乾燥の豆腐は、完全に水分が抜けきっていないこともあり、真空排気に時間がかかった。

<測定条件> Mg (マグネシウム) 分析の場合、1,290 eV→1,350 eV まで0.5 eV ごとに各1秒間 X 線照射 (約10分) した。

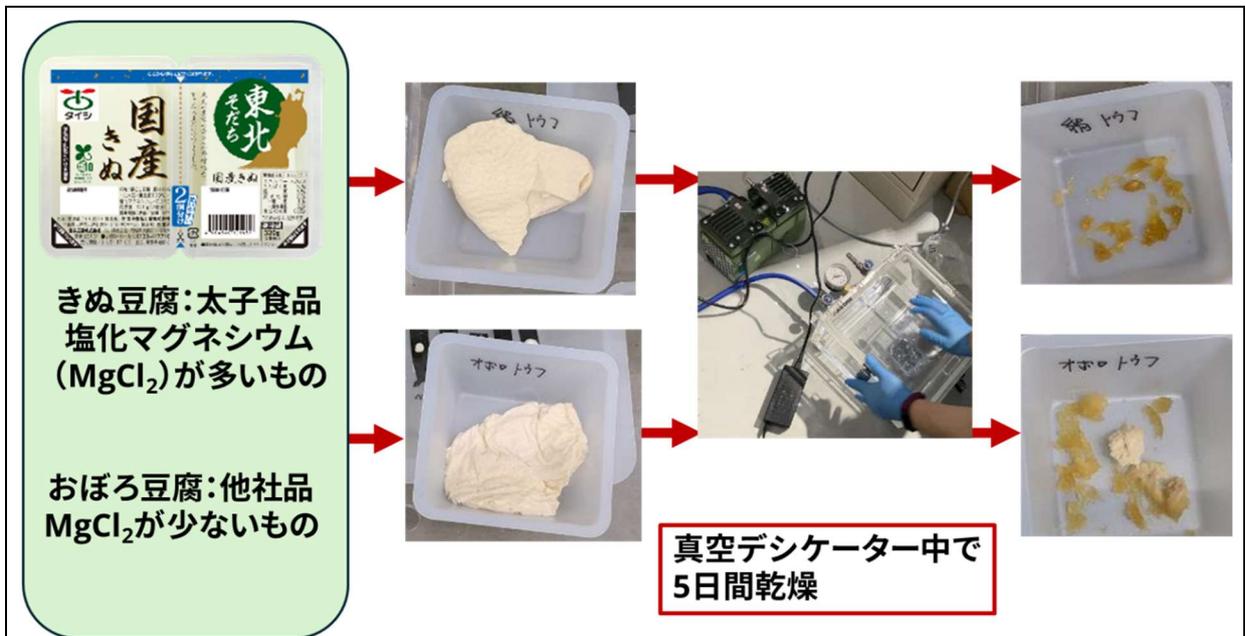


図5 水分が多い測定試料の前処理

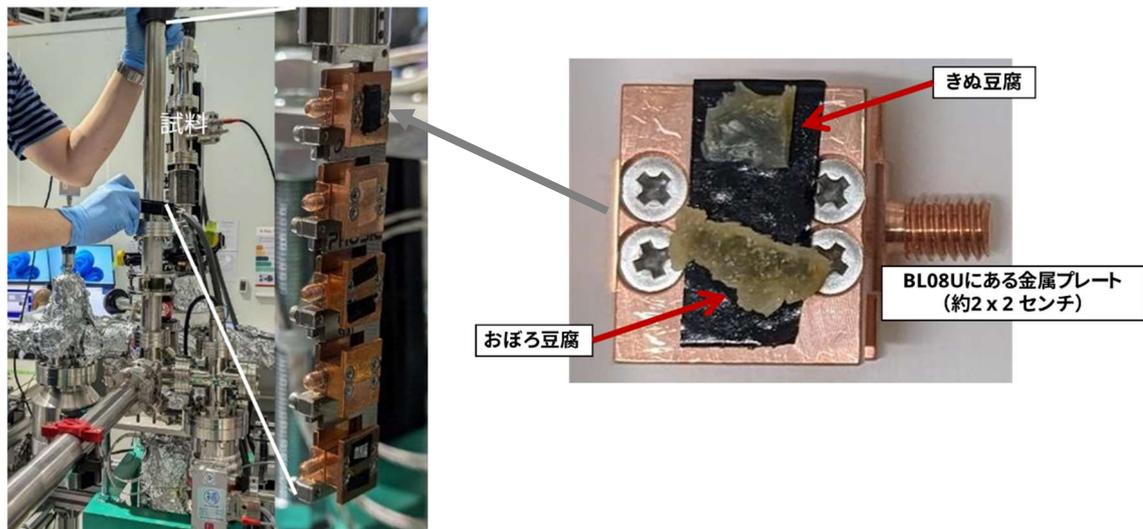


図6 測定試料のセット (左:装置へのセットの様子、右:測定試料の状態)

5 結果及び考察 (代表的なグラフや図を用いて分かりやすく説明すること)

① 小角 X 線散乱 (SAXS) を用いた豆乳・豆腐のナノレベルの構造解析

豆乳の温度変化に応じた構造の違いについて、10℃、30℃、50℃、70℃、90℃での測定を実施した。豆乳は同一試料であり、温度は10℃から昇温し、測定温度に到達して5分間安定後に測定した。SAXSの測定によって得られた二次元散乱パターン(画像データ)は、中心からの距離に相関する値(散乱ベクトル  $q$ )を横軸、中心からの距離が同一の円周上の散乱強度を平均化した散乱強度を縦軸とする一次元プロファイルに変換した。一次元化の結果、散乱ベクトル  $q$  に対する散乱強度のプロットが得られた(図7)。

SAXSにおいて、散乱ベクトル  $q$  と粒子のサイズ(構造サイズ)は密接に関係している。この関係は、 $d = 2\pi/q$  で示され、ここで  $d$  は粒子の特徴的なサイズや周期性を表す。

この関係を使うことで、散乱強度プロットから試料中の粒子や構造の空間スケールを推定でき、例えば  $q=1 \text{ nm}^{-1}$  の場合、対応する構造サイズは  $d \approx 6.28 \text{ nm}$  となる。散乱強度が特定の  $q$  値で顕著に増加する場合、その  $q$  に対応するサイズ  $d$  の構造体が試料中に多く存在していることを示す。図7において、 $q=0.1 \text{ nm}^{-1}$  に検出される構造体は、温度による変化が見られなかった。一方、 $q=1 \text{ nm}^{-1}$  に検出される構造体は、温度が高くなるにしたがって散乱 X 線強度が低下した。このことから、10 nm 程度の構造（粒子構造や周期構造の可能性）が、高温になると少なくなっていることが分かった。豆乳に含まれる粒子は主にタンパク質と脂質で構成されている。これらの粒子は温度によって構造が変化し、その変化が豆乳や豆腐の食感に影響を与える可能性が考えられた。

豆腐の凝固状態に応じた構造の違いについて、原料豆乳および凝固剤としてにがりと酸を用いて凝固した豆腐を試料として測定を実施した（図8）。測定温度はいずれも  $10^\circ\text{C}$  とし、豆腐の水分は75%に調製した。赤矢印で示したように、 $q$  が  $0.1 \text{ nm}^{-1}$  より小さい範囲で、凝固による散乱 X 線強度の増加が認められた。これは、数百 nm の大きさを持つ構造が増加したことを示している。また、 $q=0.1 \text{ nm}^{-1}$  付近（青矢印）では、にがり凝固の豆腐と酸凝固の豆腐で顕著な違いが見られた。このことから、凝固方法によって豆腐内部のナノレベルの構造が異なることが明らかになった。今回は  $10^\circ\text{C}$  での測定であったが、NanoTerasu の装置では温度変化を測定可能であり、豆乳や豆腐の食感変化を官能試験データと組み合わせて評価できる可能性がある。

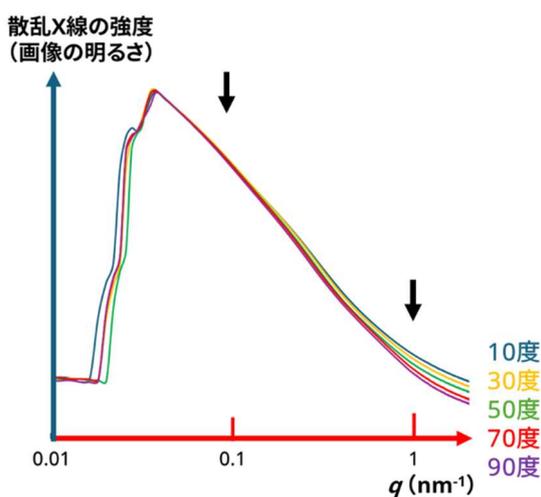


図7 豆乳の温度変化に応じた SAXS 構造解析

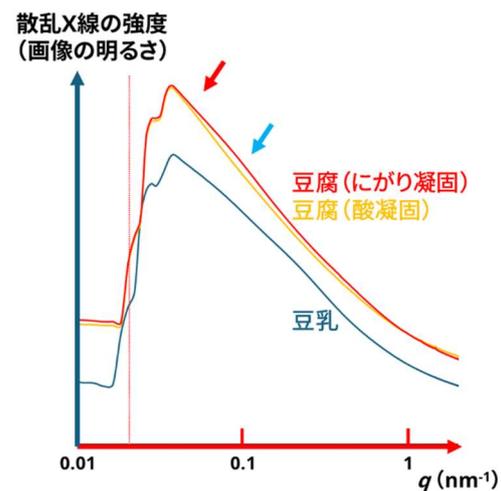


図8 豆乳および豆腐の SAXS 構造解析

## ② X 線吸収端微細構造 (XANES) を用いたミネラルの化学状態分析

豆腐には、原料である大豆由来のマグネシウムと、凝固剤（にがり）由来のマグネシウムが含まれている。今回の測定対象である2種類の真空乾燥豆腐には、それぞれ異なる割合で原料由来と凝固剤由来のマグネシウムが含まれていると考えられる。試料の豆腐に少しずつエネルギーを変化させて X 線を照射し、発生した蛍光 X 線の強度をエネルギーごとに検出した。この結果を、横軸を照射 X 線エネルギー、縦軸に蛍光 X 線の強度をとったグラフとしてプロットすることで、豆腐に含まれるマグネシウムの化学状態を示す図（図9）を得た。測定の結果、きぬ豆腐の蛍光シグナルが、おぼろ豆腐よりも強いことが確認された。このことは、きぬ豆腐の方がおぼろ豆腐よりも多くのマグネシウム量を含んでいることを示している。また、測定によって凝固剤として使用された塩化マグネシウム由来のシグナルを捉えることができた。

蛍光シグナル強度を規格化し、シグナルの形状を比較することで、食品内部に含まれるマグネシウムの化学状態について検討した (図 10)。豆腐に含まれるマグネシウムのシグナルは、きぬ豆腐とおぼろ豆腐の間で大きな違いは認められなかった。この点については、真空化処理がマグネシウムの化学状態を本来の状態から変化させた可能性があり、さらなる検証が必要である。さらに、マグネシウムを豊富に含む食品の代表としてアオサのマグネシウムを分析した結果、アオサと豆腐ではマグネシウムのシグナルが異なることが確認された。このことから、アオサと豆腐に含まれるマグネシウムには化学状態の違いがあると考えられる。本課題では、マグネシウムのシグナル強度および規格化による形状比較を行うことで、XANES を用いた食品内部のマグネシウムの化学状態を解明する手法の有効性が示された。

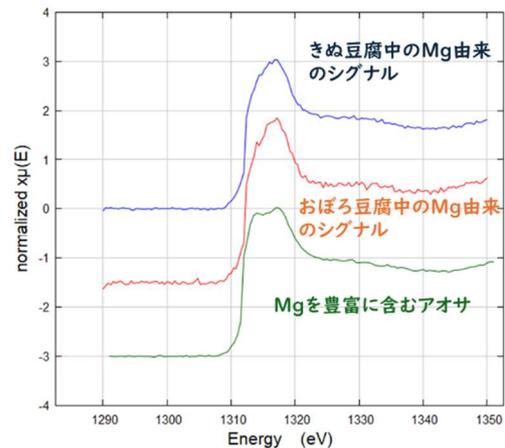
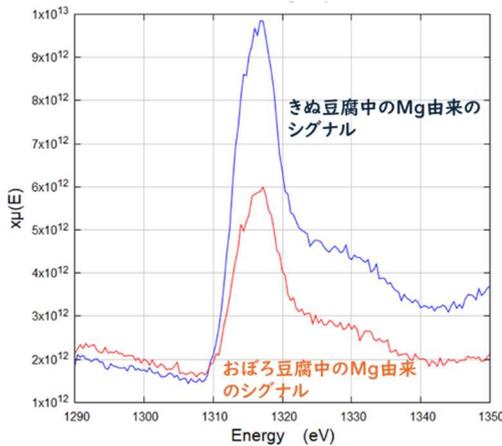


図 9 豆腐のマグネシウムの XANES スペクトル 図 10 豆腐とアオサの XANES スペクトル

## 6 今後の課題

### ○SAXS データの解析精度向上

本課題の SAXS 測定データは、線グラフで比較可能で、試料間の違いを把握しやすい。また、既存の分析機器では不可能であった濃厚状態の豆乳や豆腐のナノ構造を比較評価することができた。一方、散乱から粒子の平均サイズや体積分率を定量的に明らかにするためには、豆乳や豆腐の内部構造について、顕微鏡観察などの測定データに基づくモデル化とモデルフィッティング解析を行う必要がある。これにより、豆乳や豆腐のナノ構造の詳細をより正確に評価できることを目指したい。

### ○温度変化の影響の詳細解析

SAXS 測定で観察された構造変化について、温度依存性のさらなる解析が求められる。タンパク質および脂質成分の寄与を分離して評価することで、温度が粒子構造や周期構造に与える影響を定量的に理解することを検討していきたい。また、この変化が豆乳や豆腐の食感にどのように関係するかを明らかにするため、官能試験と連動した研究に取り組む。

### ○凝固方法による構造の違いの評価

SAXS 測定で示された、にがり凝固と酸凝固によるナノ構造の違いについて、粒子間相互作用や凝固条件の違いを反映した詳細なモデルの構築を目指したい。また、凝固剤の種類や添加量を変化させた追加測定を行い、豆腐のナノ構造形成メカニズムの解明を進めていく。

### ○XANES における前処理影響の検証

NanoTerasu を活用することで、特に SX-XAFS によりマグネシウムの吸収端近傍の微細構造を明確に捉えることができた。ただし、マグネシウムの化学状態評価では、真空乾燥などの

前処理が化学状態に与える影響について十分に検証が行われていない。今後、異なる前処理方法を比較し、処理による化学状態の変化を評価する実験を行っていく。また、前処理なしの生の試料を用いた測定や、湿潤状態を維持したまま測定可能な手法の開発も実施したい。

○食品成分の多様性に基づく化学状態の比較

XANES 測定で示されたアオサと豆腐のマグネシウムの化学状態の違いについて、マグネシウム以外のミネラル（例：カルシウムやカリウム）も含めたさらなる分析が必要である。特に、複数の食品サンプルを対象に化学状態を比較し、食品内部のミネラル状態を総合的に評価する手法を確立することを目指す。

これらの課題を解決することで、SAXS および XANES を活用した食品内部構造や化学状態の解析精度を向上させ、NanoTerasu の活用による更なる研究の進展を目指したい。

7 参考文献

- 1) T. Ono, M. Takeda and S. Guo: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1165 (1996).
- 2) Malvern Panalytical : X 線散乱, SAXS, bio-SAXS, USAXS, WAXS, <https://www.malvernpanalytical.com/jp/products/technology/xray-analysis/xray-scattering> (閲覧 25 年 2 月).
- 3) 一般財団法人光科学イノベーションセンター : ビームライン情報, [https://www.phosic.or.jp/equipment/BL08W\\_SAXS/BL08W\\_SAXS.html](https://www.phosic.or.jp/equipment/BL08W_SAXS/BL08W_SAXS.html) (閲覧 25 年 2 月).
- 4) 藤井澄明, 西辻祥太郎, 竹中幹人, 長谷川博一 : 高分子論文集, **66**, 612 (2009).
- 5) 大沼正人, 鈴木淳市 : 電気製鋼, **79**, 217 (2008).
- 6) 那須田祐子, 大沼正人, 古坂道弘, 原かおる, 石田倫教 : 日本食品科学工学会誌, **67**, 186 (2020).
- 7) 佐藤信浩, 杉山正明, 裏出令子 : 大豆たん白質研究, **20**, 57 (2017).
- 8) 佐藤信浩, 裏出令子, 杉山正明 : 大豆たん白質研究, **22**, 40 (2019).
- 9) 吉村親, 赤澤典子, 佐川了, 駒木玲子, 世良耕一郎, 伊藤じゅん : NMCC 共同利用研究成果報文集, **13**, 186 (2005).
- 10) 堀野俊郎, 岡本正弘 : 中国農業試験場研究報告, **10**, 1 (1992).
- 11) C. Karunakaran, C. R. Christensen, C. Gaillard, R. Lahlali, L. M. Blair, V. Perumal, S. S. Miller and A. P. Hitchcock: *PLoS One*, **10**, e0122959 (2015).
- 12) T. Yoshimura, Y. Tamenori, N. Iwasaki, H. Hasegawa, A. Suzuki and H. Kawahata: *J. Synchrotron Rad.*, **20**, 734 (2013).
- 13) L. Dien, P. Mingsheng and T. Murata: *Can. Mineral.*, **37**, 199 (1999).
- 14) S. A. T. Redfern, O. Branson and E. Read: *J. Phys. Conf. Ser.*, **849**, 012011 (2017).