

令和5年度仙台市既存放射光施設活用事例創出事業
(トリアルユース) 発表資料

「超小角/小角散乱の温調測定による
寒天ゲルのゾル-ゲル構造の解析」

企業概要

会社名 伊那食品工業株式会社

代表取締役社長 塚越英弘

設立 1958年 6月18日

本社
長野県伊那市西春近5074

工場
沢渡工場／北丘工場／藤沢工場

所在地 支店
東京／名古屋／大阪

営業所
札幌／仙台／さいたま／長野／
岡山／福岡



事業紹介



業務用製品



家庭用製品



ふれあいサービス



農園事業
(有限会社ばばな農園)



清酒事業
(米澤酒造株式会社)



園芸事業
(ハマ園芸株式会社)



寒天とは

- 寒天はテングサ属 (*Gelidium*)、オゴノリ属 (*Gracilaria*) などの紅藻類を熱水抽出して得られる多糖類で、約400年前に山城国 (京都府) 伏見にて製造方法が発明されました。
- 寒天の物性をコントロールすることで幅広い用途に合わせた食感や機能を作り出しています。

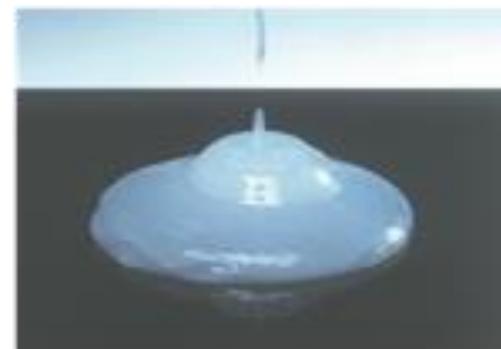
一般用	和菓子用	ところてん用	みつ豆用
ウルトラ寒天	即溶性タイプ	高粘弾性寒天	超高強度寒天
培地用寒天	錠剤用寒天	日本薬局方寒天	医薬部外品用寒天



高強度寒天



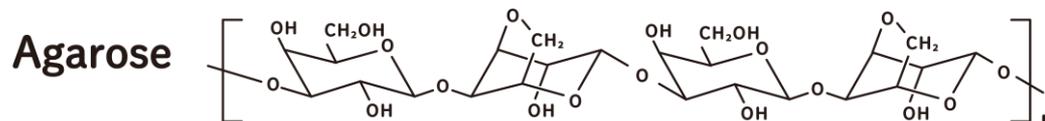
高粘弾性寒天



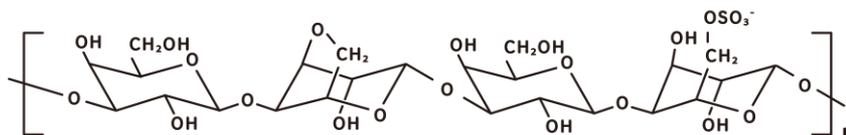
低強度寒天

寒天の化学構造

アガロース

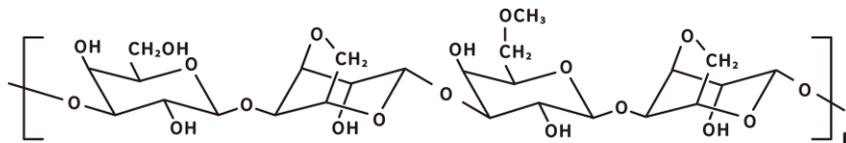


Sulfate 硫酸基

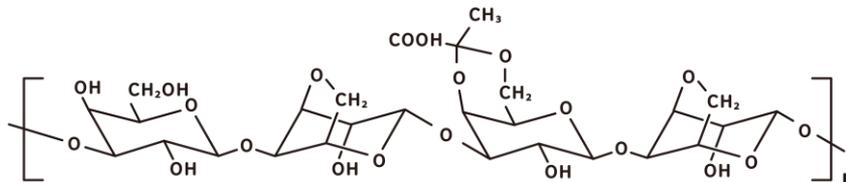


アガロペクチン

Methoxy メトキシ基



Pyruvate ピルビン酸基

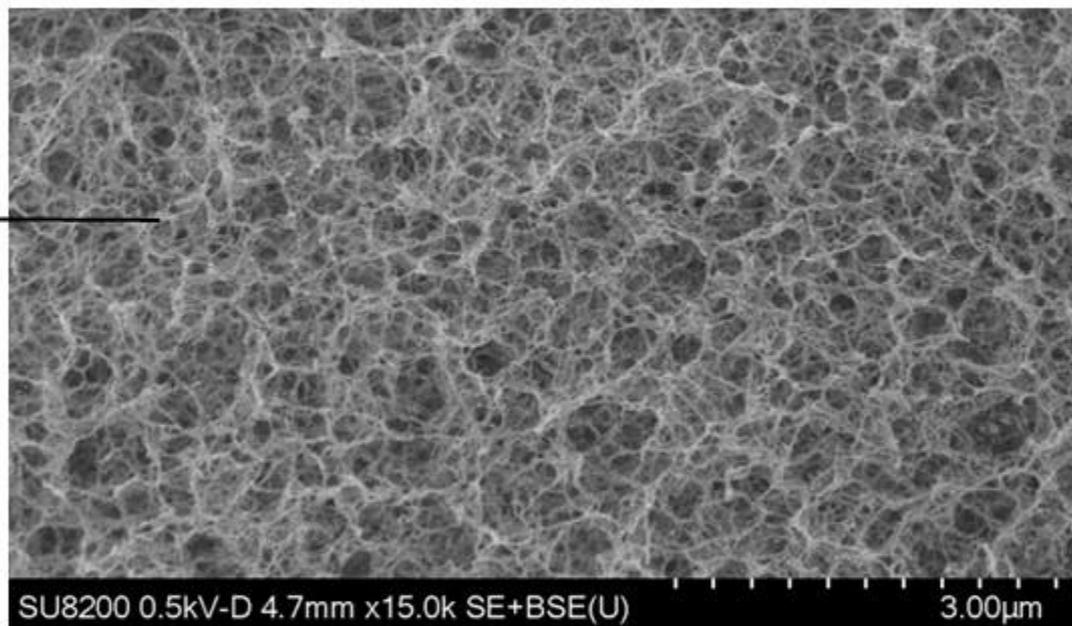
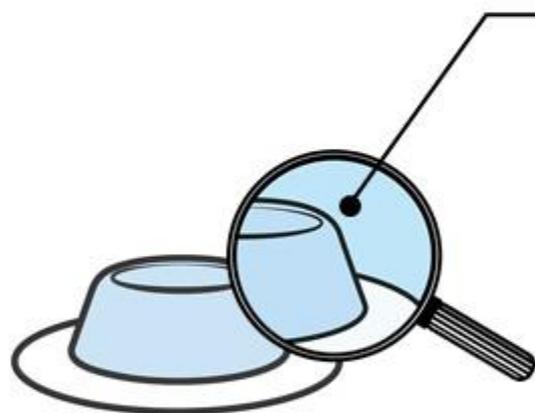


POINT

ガラクトースを基本骨格としており、中性のアガロースとイオン性のアガロペクチンが含まれます

寒天の成分について

- ▶ 走査型電子顕微鏡による
拡大写真 (10,000 倍)

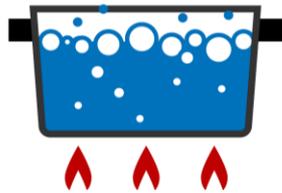


POINT

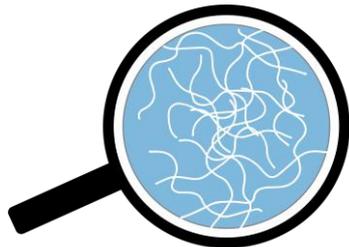
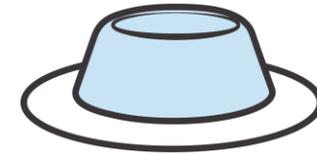
寒天は強固な網目構造をとることで水を抱えゲル化しています

寒天のゲル化特性

ゾル（液体）



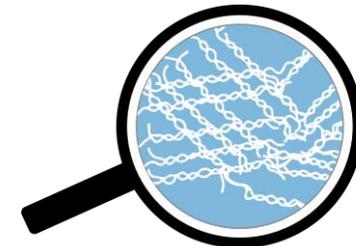
ゲル（固体）



ランダムコイル



二重らせん



3次元ネットワーク

POINT

寒天は、加熱すると溶け、冷却すると固まります（ゾル-ゲル転移）
寒天のゲルは、加熱すると再びゾルへと変化し、熱可逆性を有します

Carbohydrate Polymers 236 (2020) 115655



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Carbohydrate Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol

Advanced structural characterisation of agar-based hydrogels: Rheological and small angle scattering studies

Marta Martínez-Sanz^{a,*}, Anna Ström^b, Patricia Lopez-Sanchez^c, Svein Halvor Knutsen^d, Simon Ballance^d, Hanne Kristine Zobel^d, Anna Sokolova^e, Elliot Paul Gilbert^{e,f}, Amparo López-Rubio^a

^a Food Safety and Preservation Department, IATA-CSIC, Avda. Agustín Escardino 7, 46980, Paterna, Valencia, Spain

^b Dept. Chemistry and Chemical Engineering, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden

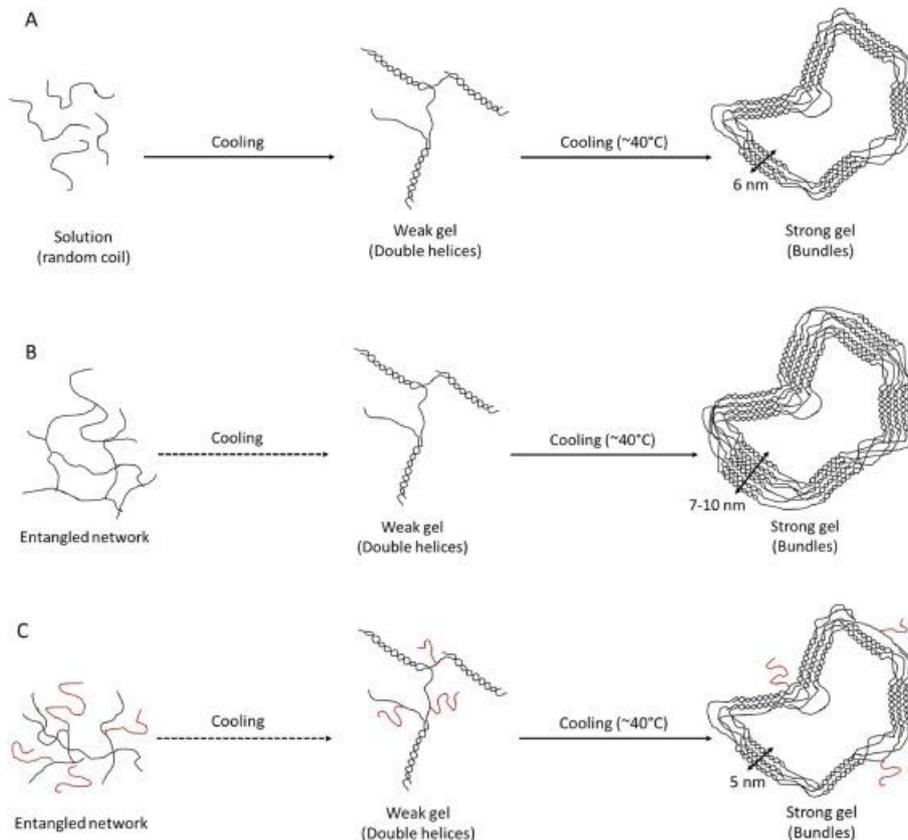
^c Agrifood and Bioscience, RISE Research Institutes, SE 41273, Gothenburg, Sweden

^d Nofima AS, Norwegian Institute of Food, Fisheries and Aquaculture Research, Ås, Norway

^e Australian Centre for Neutron Scattering, Australian Nuclear Science and Technology Organisation, Locked Bag 2001, Kirrawee DC, NSW 2232, Australia

^f The Australian Institute for Bioengineering and Nanotechnology and Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, The University of Queensland, Brisbane, QLD 4072, Australia

放射光を使った寒天の研究事例



Scheme illustrating the proposed nanostructure of different agar-based hydrogels in their initial "solution" state and after being subjected to cooling ramps. (A) Commercial agar, (B) HW and HW-US agar-based extracts and (C) NaOH+HW and NaOH+HW-US agar-based extracts.

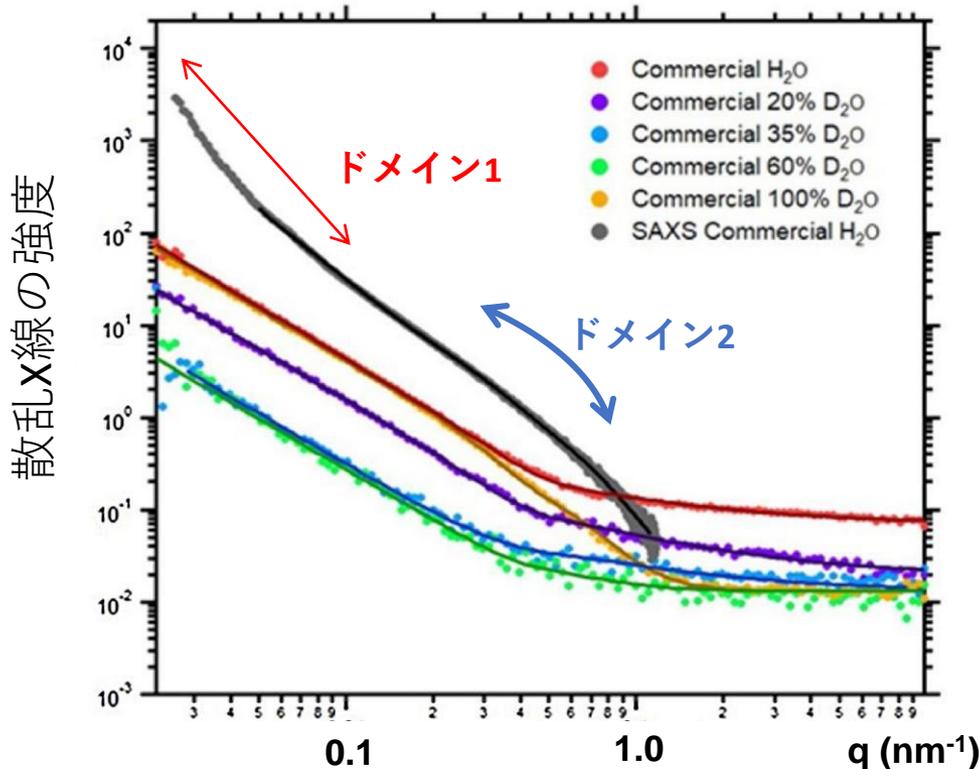
中性子散乱、レオロジー評価、スペインのALBA放射光施設を使った小角X線散乱を組み合わせて分析した結果、ゲルの構造形成過程モデルが提唱された。



本事業の目的

SPring-8やNanoTerasuでも同様の分析ができるか検証する。

放射光を使った寒天の研究事例



散乱X線の強度

散乱ベクトル (構造の大きさの目安)
構造 大 ← → 小

『Advanced structural characterisation of agar-based hydrogels: Rheological and small angle scattering studies』のデータの表示を一部改変した図。

黒線で示されたものが、商用アガロースのSAXSデータ。

この論文では、アガロースゲルのSAXSの特徴として以下のポイントが挙げられていた。

本測定で注目するポイント

ドメイン1 : $q = 0.023 \sim 0.15 \text{ nm}^{-1}$ の範囲 (赤矢印) で、べき乗挙動を示す。
→ **網目構造に相当**

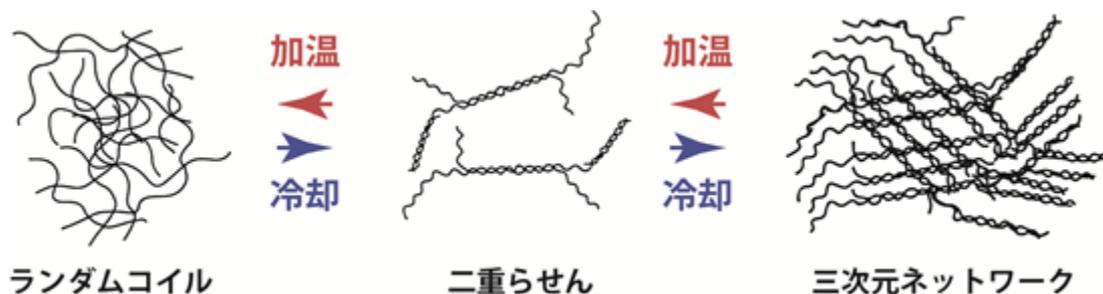
ドメイン2 : $q = 0.15 \sim 1 \text{ nm}^{-1}$ の範囲で肩状の曲線 (青矢印) が見られる。
→ **二重らせん構造に関連**



SPring-8やNanoTerasuの測定と比較

本試験の目的

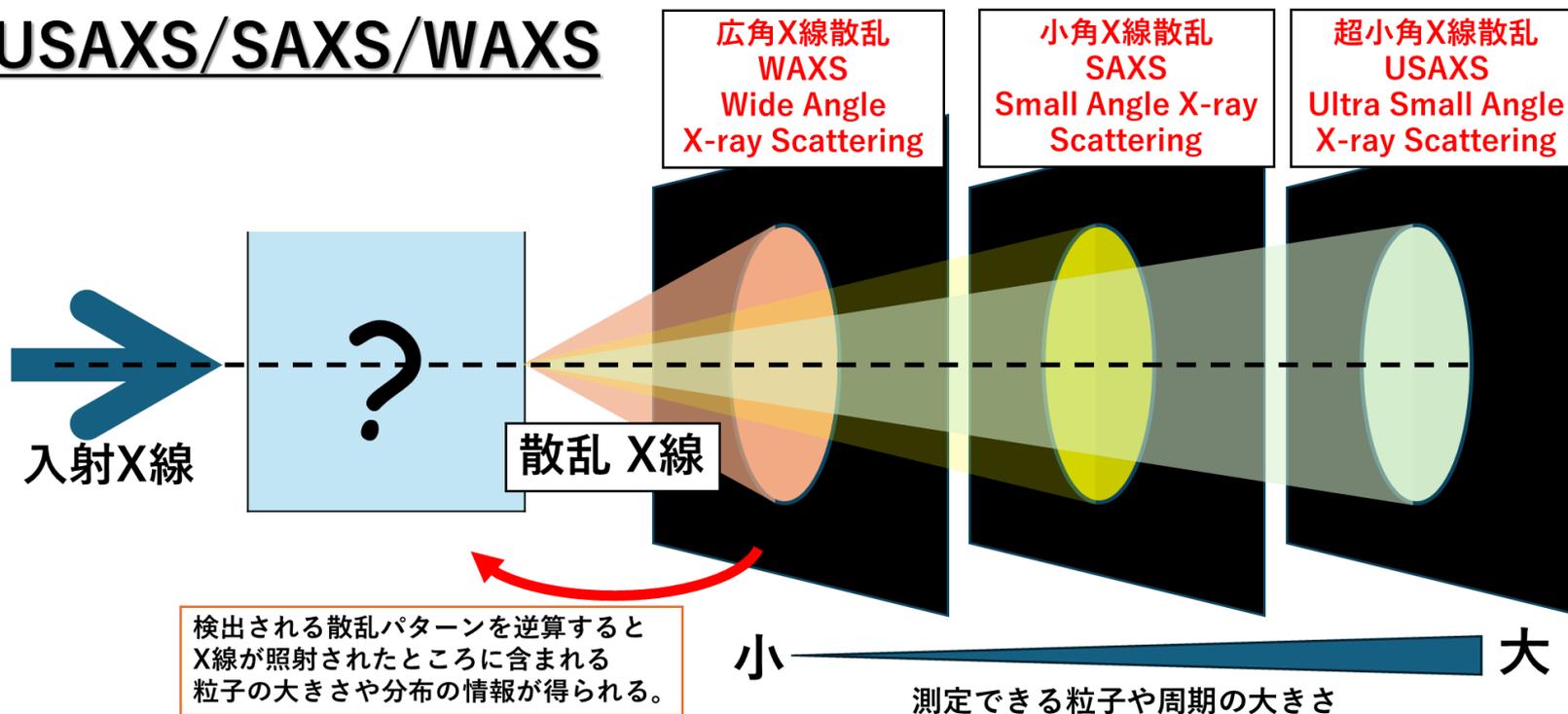
寒天のゾル-ゲル転移について、構造の変化をナノレベルで解き明かす



- 寒天内部の構造が高温時（ゾル）と低温時（ゲル）でどのように変化しているのかを直接観察することで、商品開発のための基盤を獲得したい。
- 各温度条件（低温、ゲル-ゾル転移する温度）で寒天の構造にどのような変化が起こるかについて、超小角散乱/小角散乱で調べることができるのか検討する。

X線を用いたナノレベルの構造解析

USAXS/SAXS/WAXS



試料と検出器の距離を変えることで、測定できる構造情報の範囲が変わります。

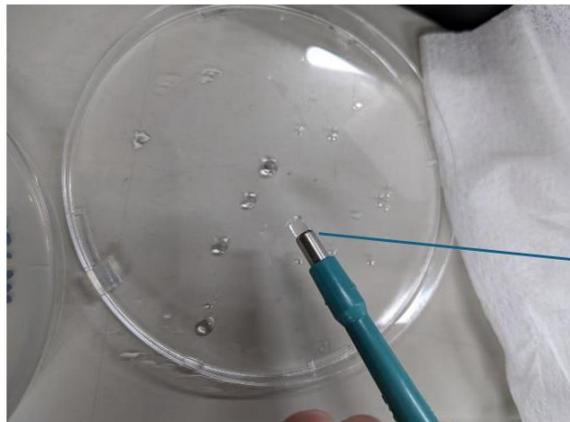
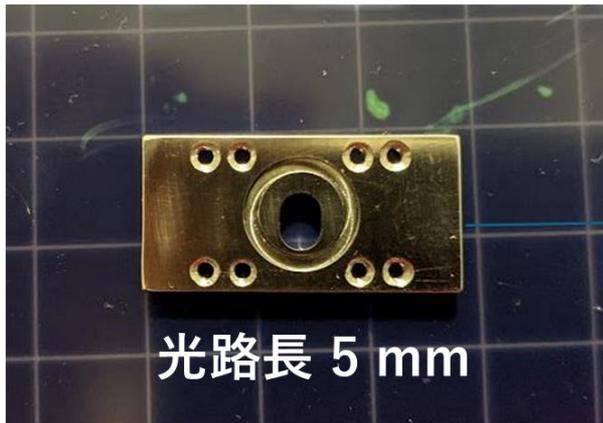
SPring-8のBL19B2ではSAXS（検出器距離：3 m）とUSAXS（検出器距離：42 m）

NanoTerasuのBL08Wでは、SAXS（検出器距離：1600 mm）とWAXS（検出器距離：80 mm）を測定できます。

測定の方法：SPring-8 BL19B2

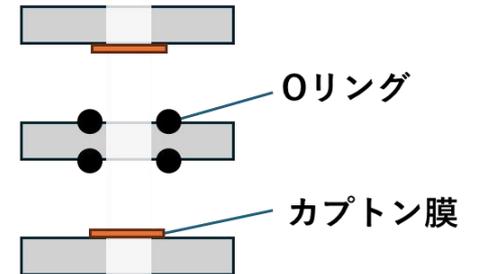
測定セル@SPring-8 BL19B2

試料セルは3枚構成になっています

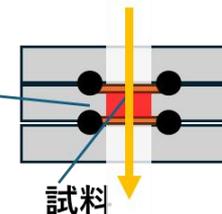


シャーレ上で5ミリ厚で固めた寒天を、器具を使って3ミリ径でくりぬいたものをセルの中に入れた。

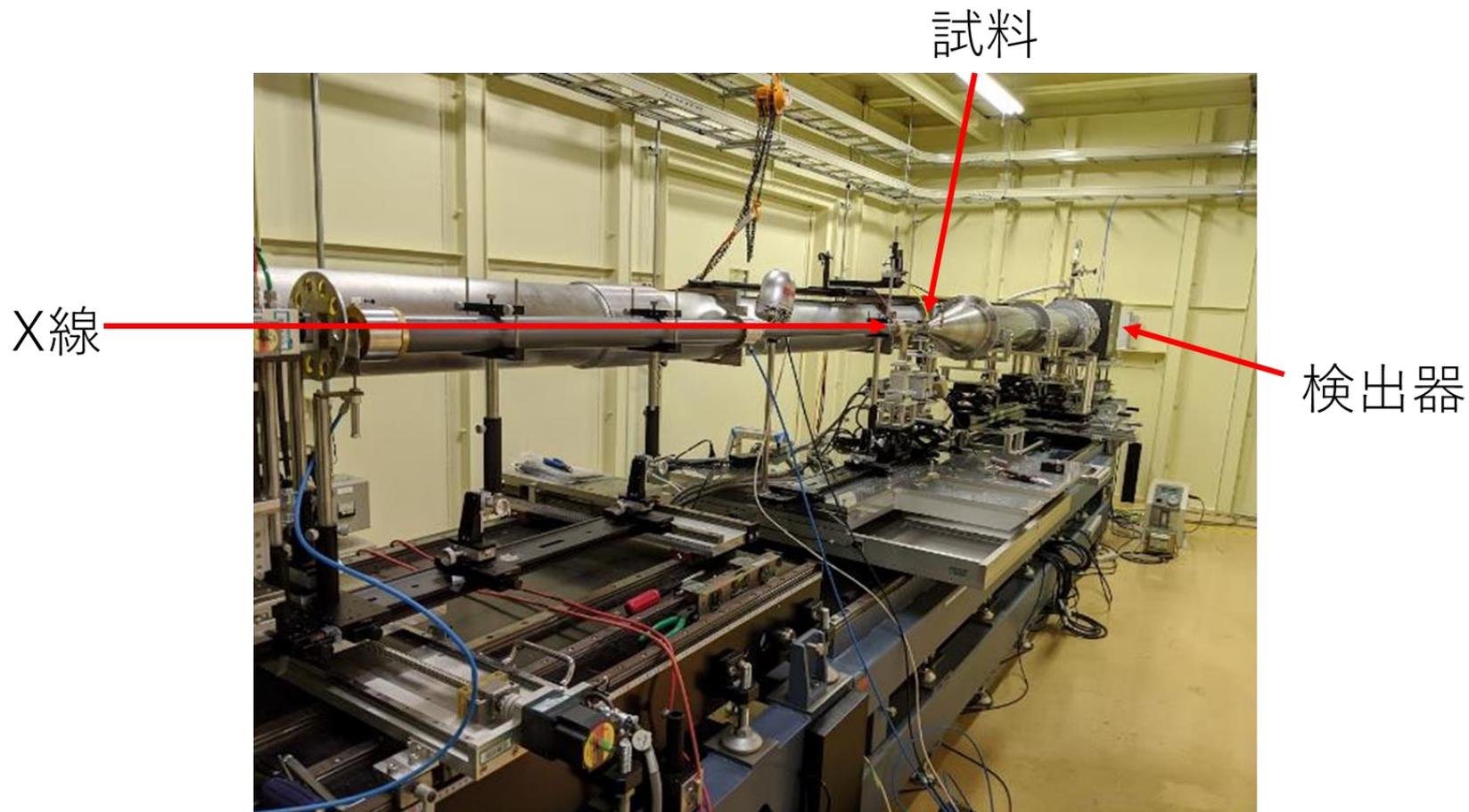
横から見た図



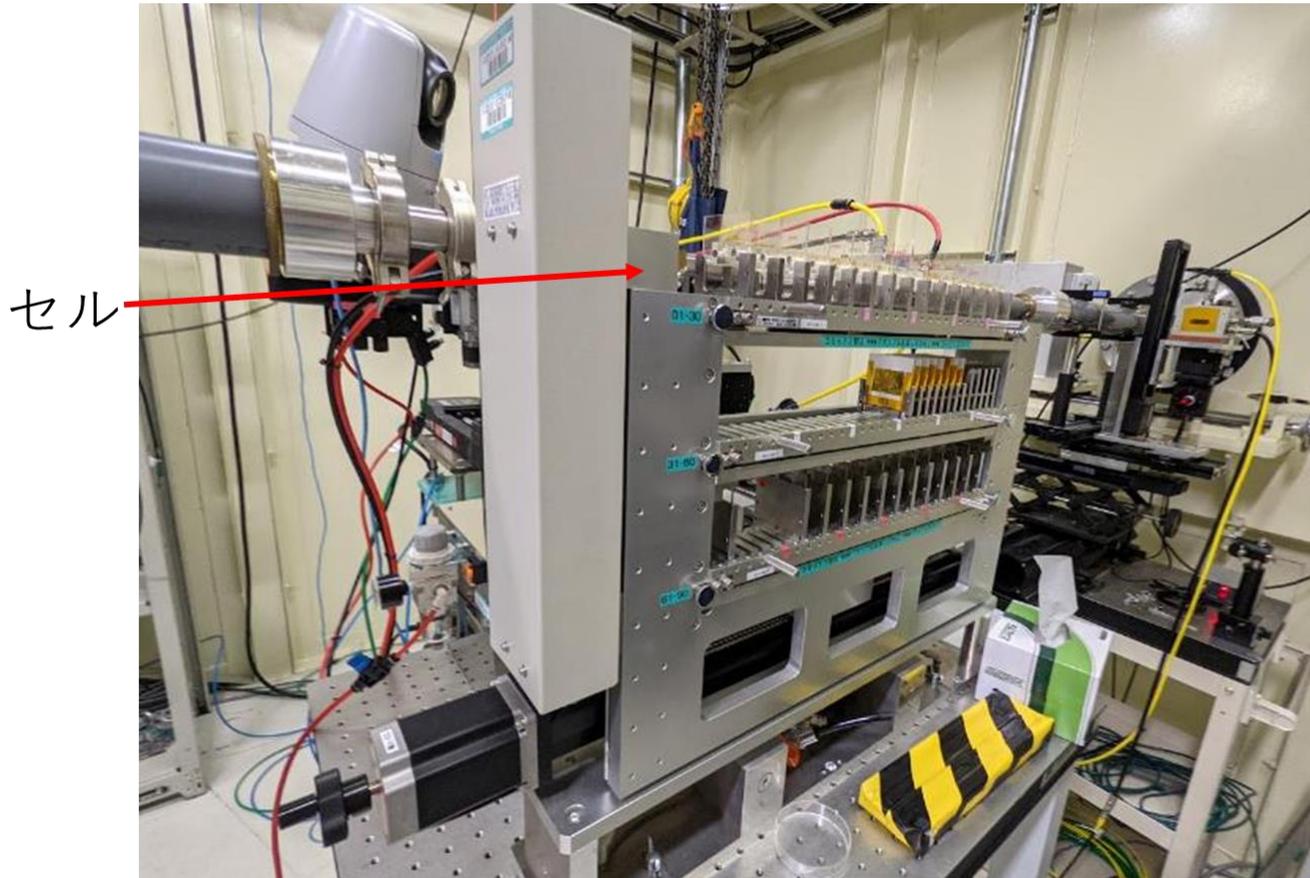
X線



Spring-8 : BL19B2



Spring-8 : BL19B2 ハミングボードシステム



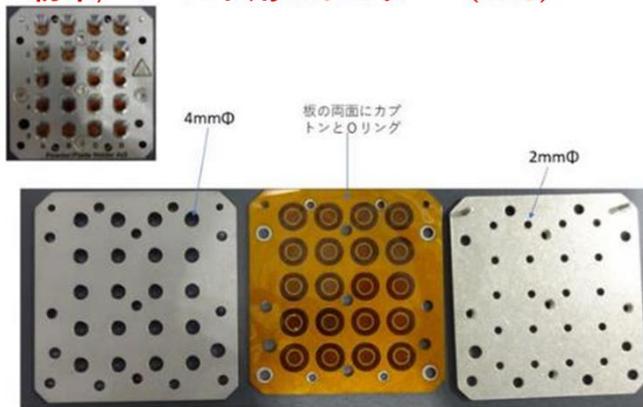
試料台にセットされた試料は、ハミングボードシステムで自動的に測定位置にセットされます。

1回の測定で、90試料のセットが可能です。

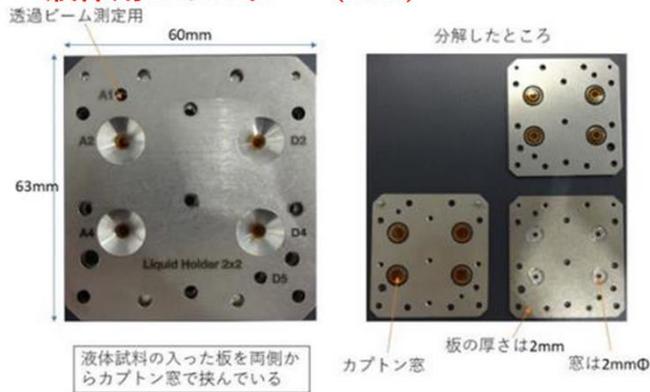
測定の方法：NanoTerasu BL08W SAXS

NanoTerasu：ビームライン（測定用セル）

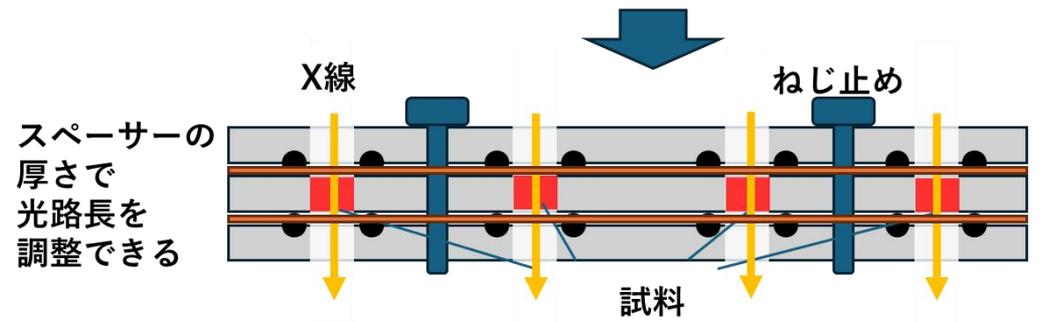
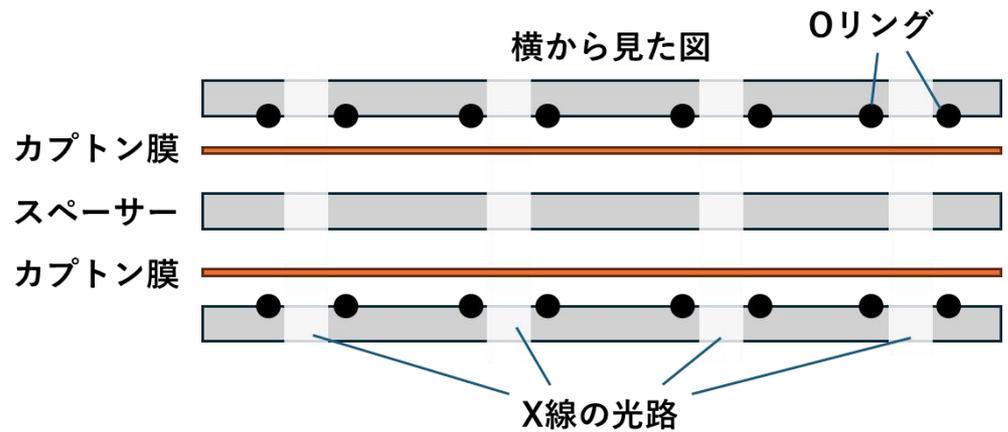
粉末/ペースト用のホルダー（4X5）



液体用のホルダー（2X2）



試料セルは3枚構成になっています



NanoTerasu BL08W SAXS

ビームライン (測定用セル)



セルは真空中に置かれます。
試料はOリングでシールされているので
大気圧条件になります。



セルを真空中に置いても試料がリークしないか
事前に確認してからセットします。

NanoTerasu BL08W 測定サイクル

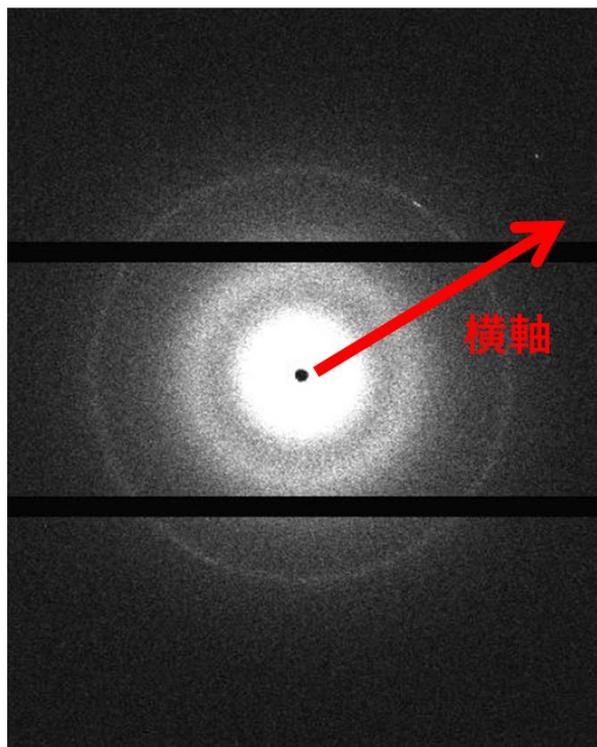
- 試料封入（10～20分）
- 真空エバポレーターを使ったリークテスト（5分）
- 試料を装置にセット・真空脱気（10分）
- 測定（1試料あたり1～3分）
- 4試料についてSAXSとWAXSを測定するのに約30分
- 1サイクル 1～1.5時間

測定条件

- X線のエネルギーは8.1 keV
- 試料から検出器までの距離はSAXSは1600 mm、WAXSは80 mmとして測定した。
- 温調装置を使って温度を制御しながら測定を行った。

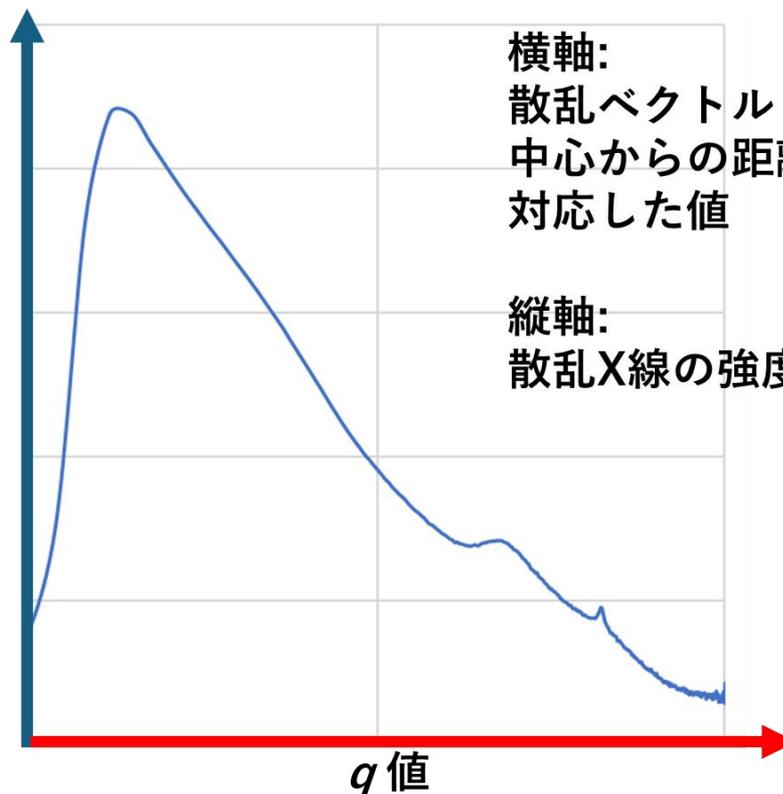
データの見方 散乱データと一次元化

測定データの一次元化



測定データは画像として得られる
明るいところが散乱光

散乱X線の強度
(画像の明るさ)



一次元化で評価

測定試料と測定の内容

本測定で注目するポイント

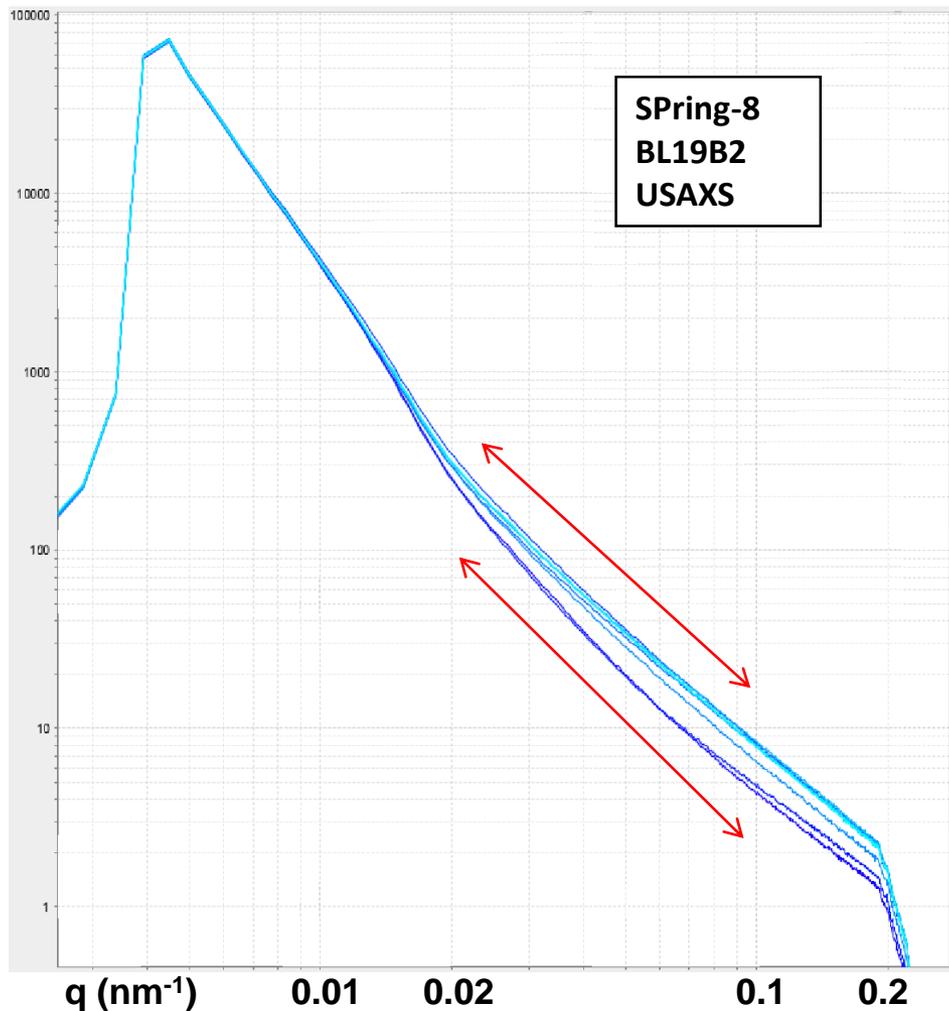
- ① $q = 0.023 \sim 0.15 \text{ nm}^{-1}$ の範囲の『べき乗挙動（グラフの傾きの違い）』
網目構造に関連する情報
 - 製法や原料が異なる寒天について、SPring-8のBL19B2のUSAXSとNanoTerasuのBL08WのSAXSを用いて測定

- ② $q = 0.15 \sim 1 \text{ nm}^{-1}$ の範囲で肩状の曲線
二重らせんに関連する情報
 - 製法や原料が異なる寒天について、NanoTerasuのBL08WのSAXSを用いて測定

- ③ 加熱、冷却による変化をNanoTerasuのBL08WのSAXSを用いて測定

測定結果①

① ドメイン1： $q = 0.023 \sim 0.15 \text{ nm}^{-1}$ の範囲の『べき乗挙動（グラフの傾きの違い）』



寒天A~H（濃度1.5%）について測定

寒天ごとに挙動が異なる

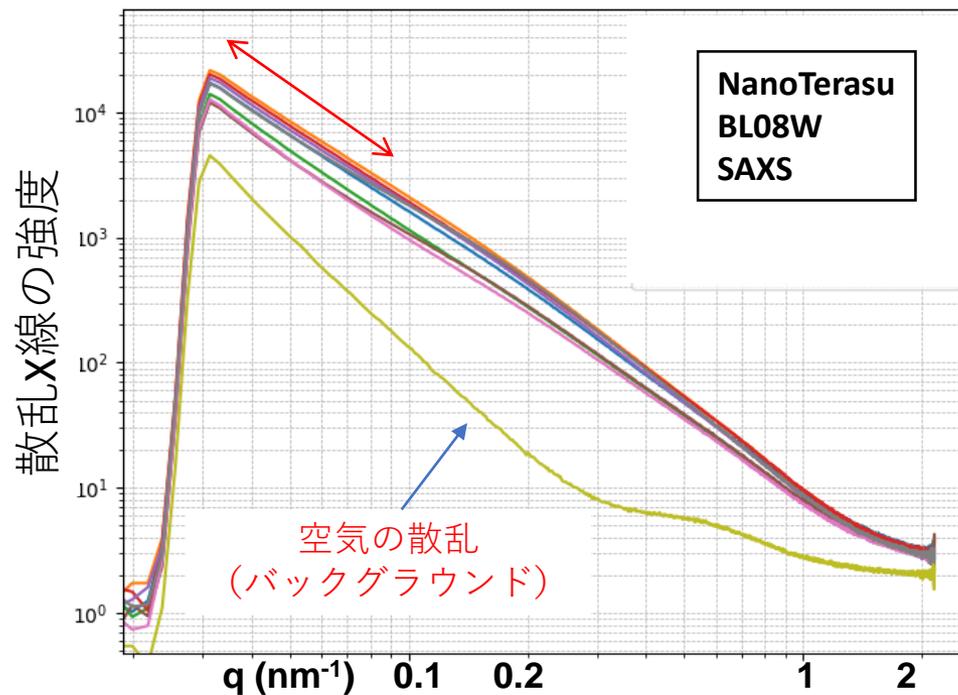
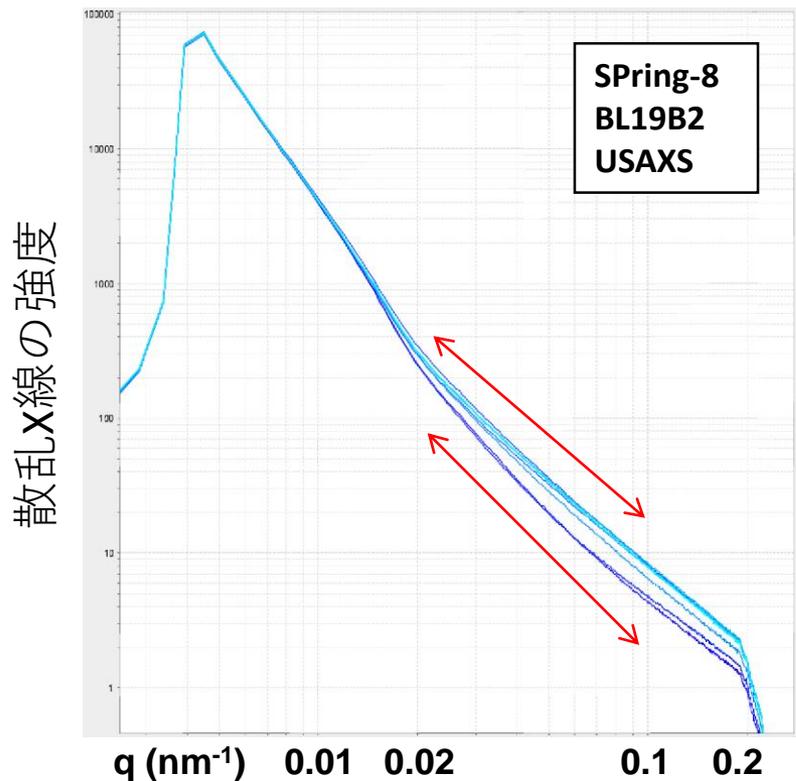
横軸 q と構造の大きさには
(大きさの目安) $= 2\pi/q$
の関係があることから、
 $q = 0.02 \sim 0.1 \text{ (nm}^{-1}\text{)}$ の散乱が示している構造
の大きさは **60 ~ 300 nm** に相当する。

寒天の階層構造のうち、試料ごとの網目構造の違いを反映していると考えられる。

測定結果①

① ドメイン1 : $q = 0.023 \sim 0.15 \text{ nm}^{-1}$ の範囲の『べき乗挙動 (グラフの傾きの違い)』

寒天A~H (濃度1.5%) について測定

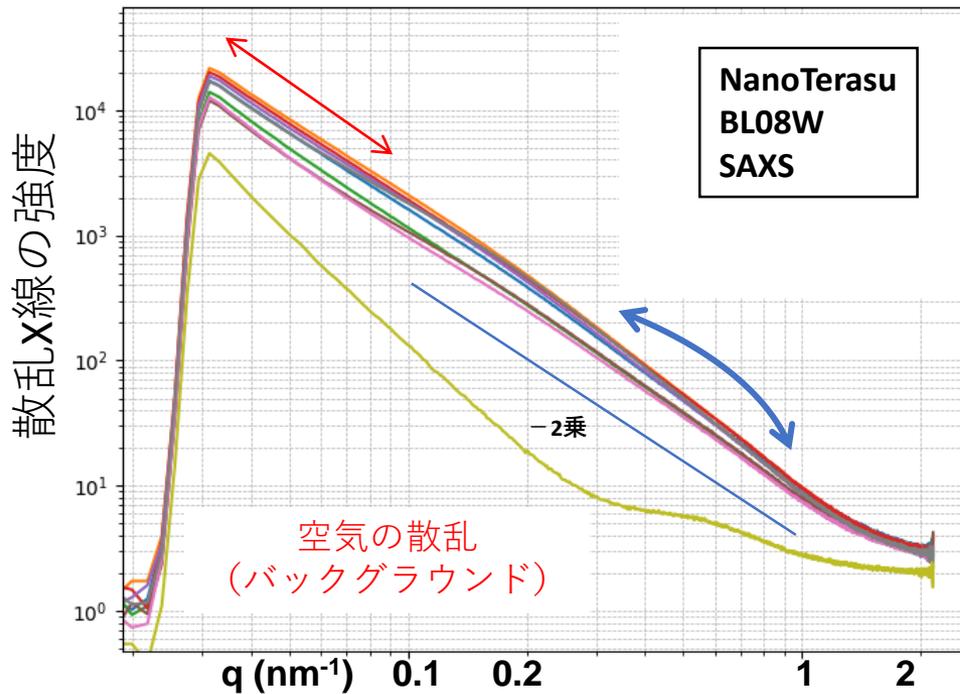


$q = 0.02 \sim 0.1 \text{ (nm}^{-1}\text{)}$ の寒天ごとに異なる散乱の挙動は、NanoTerasuの測定でも確認することができた。

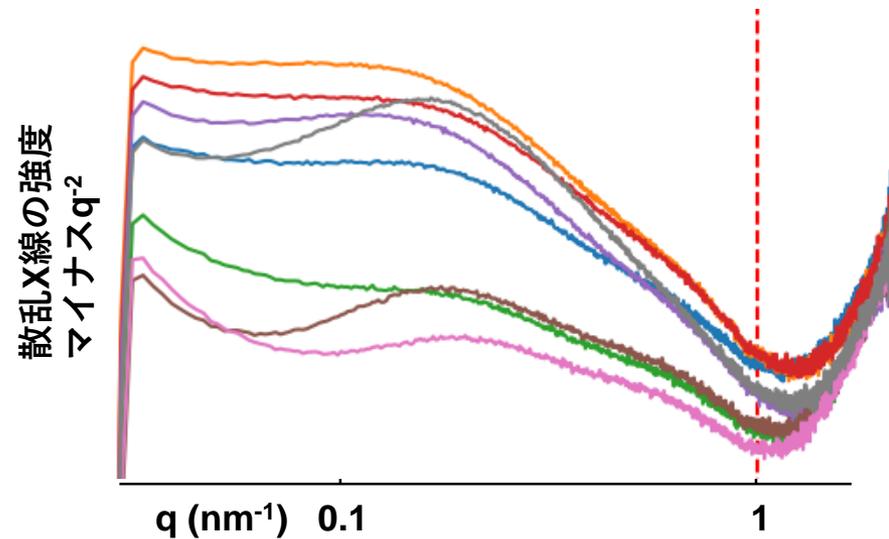
測定結果②

② ドメイン2 : $q = 0.15 \sim 1 \text{ nm}^{-1}$ の範囲で肩状の曲線

寒天A~H (濃度1.5%) について測定



-2乗をバックグラウンドとして差し引き、肩状の曲線の違いを分かりやすくしたものの。



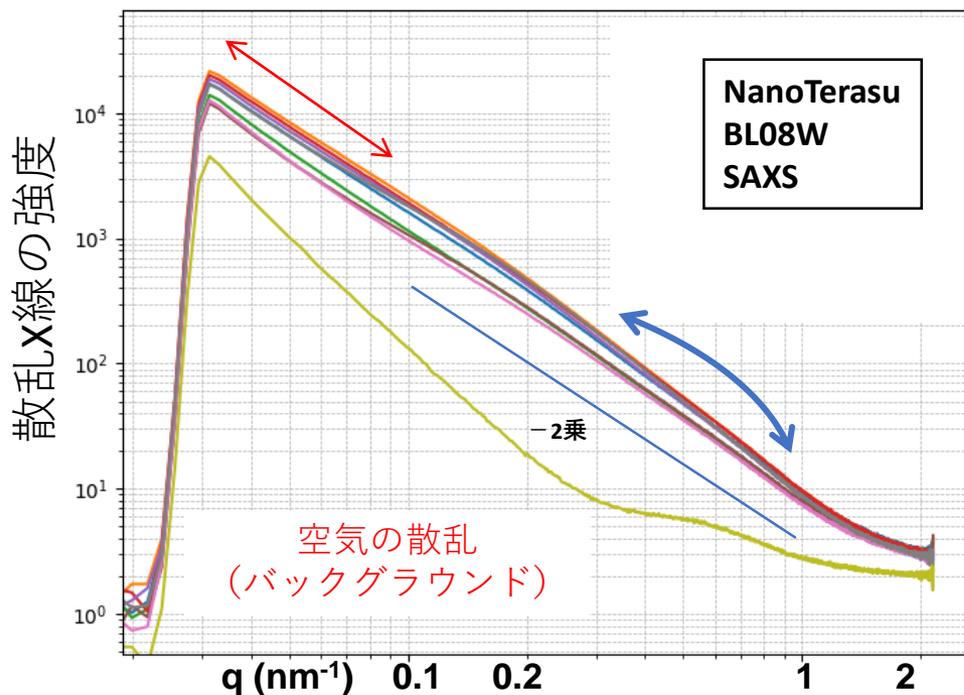
ピークの位置の違い
→2重らせんが束化した時の太さに関連

このような違い（束化の太さの違い）が見られるということは、寒天の種類によって束化構造が違うことを意味している可能性がある。

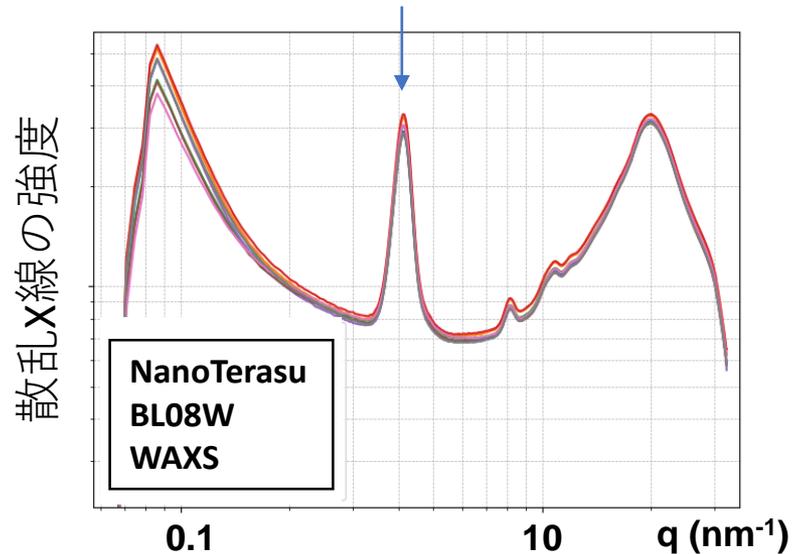
測定結果②

② ドメイン2 : $q = 0.15 \sim 1 \text{ nm}^{-1}$ の範囲で肩状の曲線

寒天A~H (濃度1.5%) について測定



測定に用いたカプトン膜由来のピーク



WAXSには特徴的な散乱は見られない。

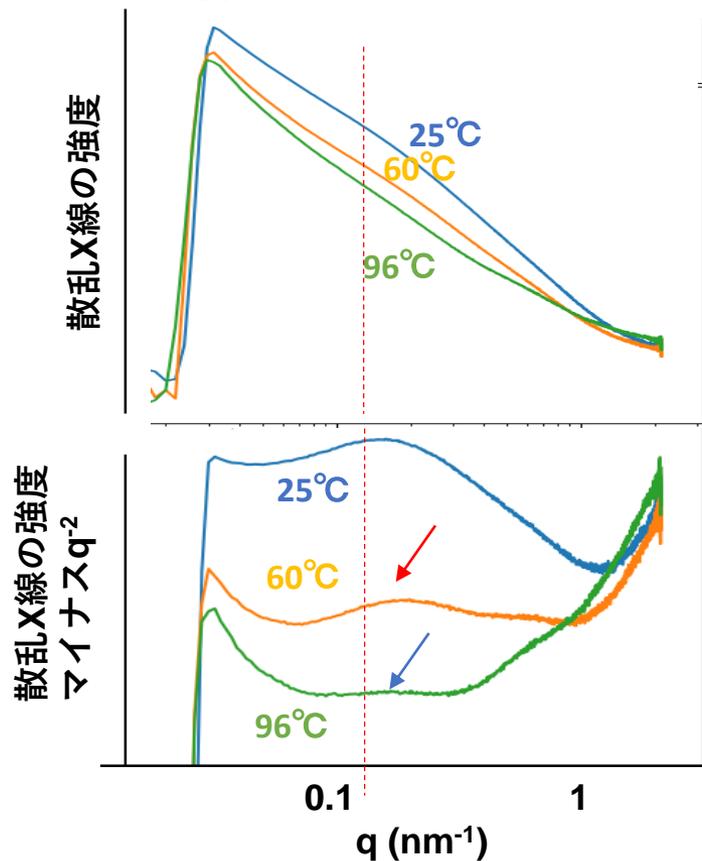


寒天の構造解析にはSAXSの測定で十分かもしれない。

測定結果③

③ 加熱による散乱の変化 (NanoTerasu BL08W SAXS)

寒天H (濃度1.5%) を25→60→96°Cに加熱



25°C → 60°Cでは、ドメイン1： $q < 0.1$ の散乱の大きな減少が見られた。

一方で、ドメイン2： $q = 0.15$ 付近（赤点線）の曲線は残っていた（赤矢印）。

↓

網目構造が消失した一方で、束化構造は維持されている

60°C → 96°Cではドメイン2： $q = 0.15$ 付近の曲線も消失（青矢印）

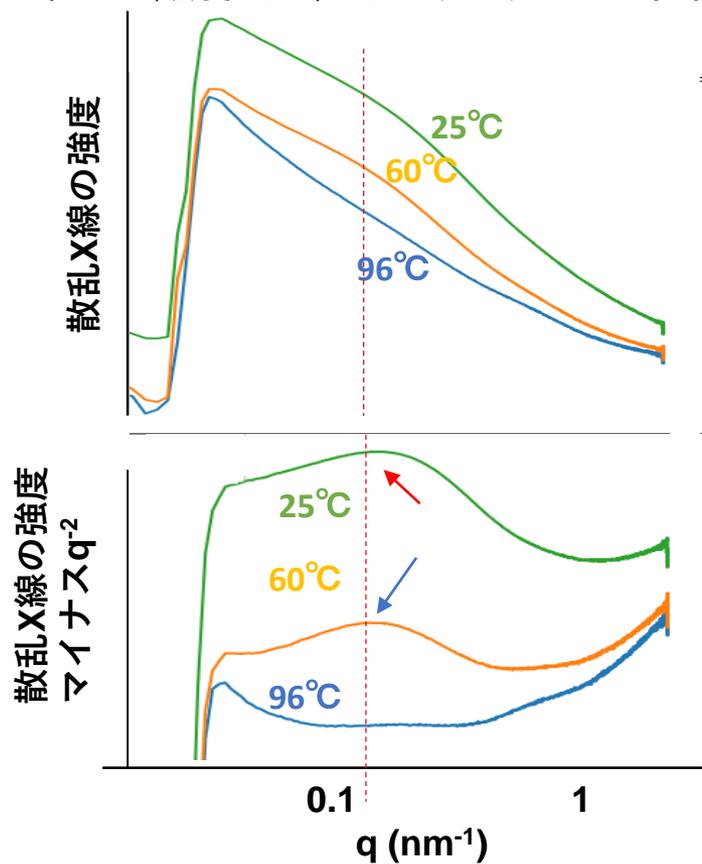
↓

束化構造も消失

測定結果③

③ 冷却による散乱の変化 (NanoTerasu BL08W SAXS)

寒天H (濃度1.5%) を96→60→25°Cに冷却



96°C → 60°Cでは、 $q = 0.15$ 付近 (赤点線) に曲線が現れた (青矢印)。

↓

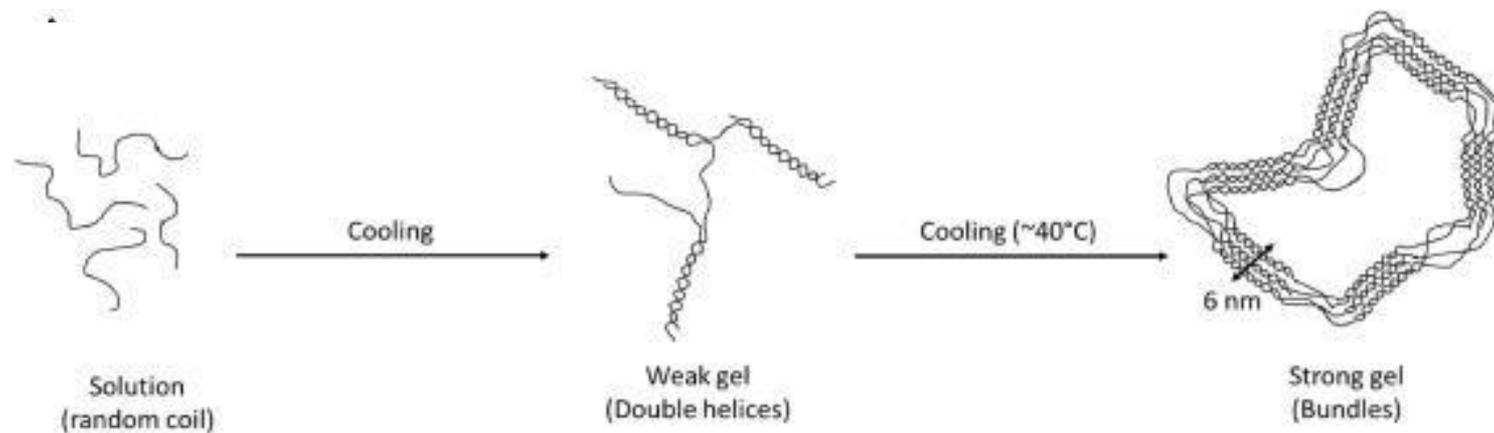
束化構造の形成が測定できている可能性。

60°C → 25°Cで散乱強度が増加 (赤矢印)

↓

二重らせんも秩序ある構造をとることでゲル化が起こっていることを観測している可能性。

まとめ



小角X線散乱（SAXS）を含む実験から提唱された上図のゲル化モデルについて、SPring-8やNanoTerasuの装置を使った実験でも矛盾しない測定データを得ることができ、寒天のゲル化に対する具体的なイメージが湧いた。

SPring-8やNanoTerasuの装置を使うことで、様々な原料や製法で作られた寒天の性質の違いや、添加物を加えた時の影響などを、ナノレベルの構造に基づいて解明することが期待できる。

NanoTerasuの測定では、一回の試料セットでSAXSとWAXSの両方が測定できるため、より小さな構造を比較するのに有効であった。

謝辞（敬称略）

- 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）
- SPring-8, NanoTerasuのスタッフのみなさま