

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, 植竹 由紀^a, 平内 亨^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 Uetake^a, Toru Hirauchi^b, Kentaro Irie^b, Masugu Sato^c, Kentaro Kajiwara^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。架橋密度の違いによってセファデックスゲル・ビーズの凍結形態および生成する氷晶の形状・分布は異なることが明らかになった。また、G25ゲルにおいて、室温から1°C/minで緩速冷却すると数μmの氷晶の生成が観察され、冷却後の昇温過程における結晶化（昇温結晶化）した後は15–20μm程度の大きな氷晶の生成が確認できた。

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。また、セファデックスG25ゲルのDSC測定（示差走査熱量測定）で観測される水の昇温結晶化による発熱ピークに着目して、昇温結晶化の際に生成する氷晶の形状を解析する[1]。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[2, 3]。

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[4]、その応用も進んでいる[5]。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。

生成する氷晶のサイズは冷却速度に依存する。しかし、前回の測定（2015B1924）においては冷却速度を制御していなかった。このため、凍結状態で得られた二次元画像の再現性に問題があった[6]。本測定においては、プログラムフリーザーを使用して冷却・昇温速度を制御し、信頼性の高い画像データが得られるように努めた。

実験：

試料として用いたセファデックスゲルは直径が100μm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。外径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プログラムフリーザーを使用して20°Cから–40°Cまで1°C/minで冷却し、–73°Cのフリーザーあるいはドライアイスの入った発泡スチロール容器内に保持して凍結状態を保った。また、G25ゲルにおいては、凍結したゲル・ビーズを昇温結晶化の完了温度（約–9°C）近傍まで1°C/minで昇温したのち、同じ速度で再冷却して再凍結させた試料でも観測を行った。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凍結した試料をセットし、液体窒素蒸気を吹き付けて凍結状態を保持

した。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調節することにより温度を -35 – -45 °Cに制御した。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。試料ステージ下流側にはX線 CCDカメラを設置した。凍結試料を連続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 mm × 1 mm、試料から CCDカメラまでのカメラ長は25 mm、連続スキャンの回転速度は1.2 %sである。また、透過X線画像データの画素サイズは0.35 μm、露光時間は250 ms、再構成に用いた画像数は259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 線線吸収係数が小さいため、より黒く観察される。ゲル・ビーズの凍結形態および生成する氷晶の形状・分布は架橋密度に依存することが確認された。すなわち、G10 ゲルは個々に独立して存在する傾向が強く、ビーズ外に氷晶の存在が確認された。架橋密度が高いため吸水しにくいと考えられる。また、ビーズを横切って発達した大きな黒い部分が観察されることがあったが、X 線線吸収係数の値から、これは氷晶によるものではなく凍結時にビーズが壊れてできた間隙に入った空気によるものと思われる。G25 ゲルの場合はビーズ内にスポット状に直径が数 μm 程度の小さな氷晶が観察された。このようなスポットは急速冷却（約 60 °C/min）の場合には観察されなかったことから（研究報告 2015B1924）、緩速凍結したことによるものと考えられる。壊れたビーズが見られたのはキャピラリーに銅線で試料を詰めたときに加えた力で壊れたものと思われる。G50 ゲルにおいては、ビーズ内に氷晶の生成を示唆する黒い部分は確認できなかった。ビーズ同士が接合しやすいのは架橋密度が低いことに起因している。昇温結晶化完了温度（約 -9 °C）の近傍から再凍結させた G25 ゲルの断層画像を Fig.2 に示す。昇温結晶化の際に、直径 15–20 μm 程度の粗大化した氷晶が形成されることが明らかになった。架橋密度の他に、冷却・凍結条件によりゲル・ビーズ内に生成する氷晶のサイズ・形状は異なることが確認された[7]。

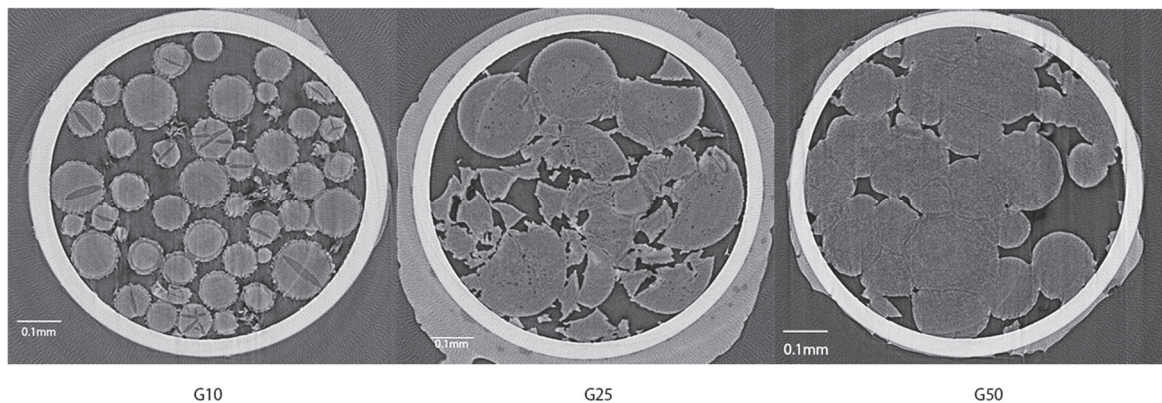


Fig. 1 Two-dimensional X-ray CT images of slowly frozen Sephadex gel beads. Left: G10; middle G25; right: G50. Cooling rate: 1 °C/min.

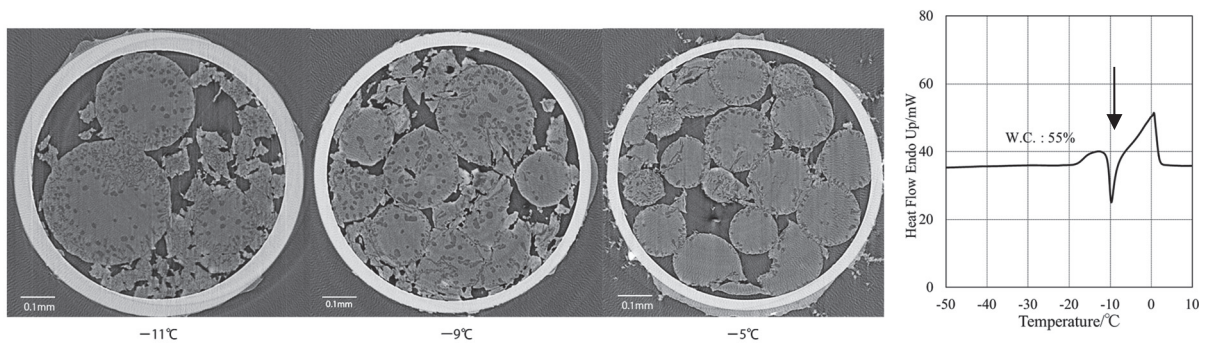


Fig. 2 Two-dimensional X-ray CT images observed with frozen Sephadex G25 gel beads rewarmed to/above the temperature of the appearance of an exotherm due to ice crystallization (-9 °C)

followed by slow re-cooling, together with the typical corresponding DSC rewarming trace. Starting temperature of re-cooling: left $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$, middle $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, right $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Arrow in the DSC figure indicates the exotherm due to ice crystallization.

今後の課題：

緩速凍結した G25 ゲル試料において、ビーズ内に氷晶によるものと思われるスポットが観察された。また、昇温結晶化の際にサイズの大きな氷晶が生成することも明らかにできた。しかし、架橋密度の異なる G10 や G50 ゲルの凍結状態で、ビーズ内に氷晶の存在が確認できていない。さらに実験を重ねて測定結果の信頼性を高めると同時に、X 線線吸収係数の詳細な解析により、凍結状態の架橋密度依存性を明らかにする必要がある。

参考文献：

- [1] N. Murase *et al.*, *J. Phys. Chem.* **90**, 5420 (1986).
- [2] 入江謙太郎 他、平成 27 年度 利用課題実験報告書(2015B), 課題番号 2015B1782.
- [3] 平内亨 他、日本食品科学工学会大会講演集、Vol.63, pp. 143(2016) .
- [4] 佐藤真直、梶原堅太郎、平成 25 年度 利用課題実験報告書(2013B), 課題番号 2013B1847.
- [5] 小林りか 他、平成 26 年度 利用課題実験報告書(2014A), 課題番号 2014A1788.
- [6] 村勢則郎 他、平成 27 年度 利用課題実験報告書(2015B), 課題番号 2015B1924.
- [7] N. Murase *et al.*, *CryoLetters*, **25**, 227 (2004).