

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05519

研究課題名（和文）量子ドットの粒子追跡法を用いた食品ゲルの構造変化の計測

研究課題名（英文）Particle tracking method for the measurement of structural change in food-related gels using quantum dots

研究代表者

榎 靖幸 (Maki, Yasuyuki)

九州大学・理学研究院・准教授

研究者番号：50400776

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：試料中に分散させたコロイド粒子（プローブ粒子）の運動の解析により試料の構造・物性の空間的不均一性を計測する粒子追跡法を利用した、食品関連ゲルの微視的な構造・物性の緩やかな経時変化（エイジング）の計測方法を検討した。プローブ粒子のゲル網目への吸着における粒子の表面構造と大きさの影響を明らかにした。例えば量子ドットのような、数10 nm以下の蛍光微粒子は、ゲル化後のエイジングにおけるゲルの構造・物性変化を測定するためのプローブ粒子として有効であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食品は熱力学的に非平衡状態なので、その微視的構造は時間と共に変化する。これによって離水などが生じ、おいしさに関わる食感や呈味成分の放出に影響を及ぼすことがある。本研究は、粒子追跡法の食品関連分野への展開の可能性を明らかにするものであり、これによって離水などの現象の物理的解釈が進むことにより、食品加工法の改良等に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the method for the measurement of slow structural and property changes (aging) at the micron scale of food-related gels using particle tracking analysis. In the particle tracking method, the analysis of the motion of colloidal particles (probe particles) suspended in a sample reveals spatial inhomogeneity of the structure and mechanical properties of the sample. The effect of the surface structure and the size of the probe particles on the adsorption of the particles to the gel network was clarified. Fluorescent particles which are smaller than several tens of nanometers, such as quantum dots, were shown to be effective as probe particles for the measurements of the changes in structure and properties of gels during the aging after the gelation.

研究分野：高分子溶液・ゲル

キーワード：食品 ゲル ソフトマター 粒子追跡法

1. 研究開始当初の背景

食品は通常、熱力学的には非平衡状態であり、食品の微視的構造は時間とともに変化する。これによって離水などが生じ、美味しさに関わる食感(テクスチャー)や呈味成分の放出へ影響を及ぼすことがある。

物理学では、ゲルやコロイド分散系など柔らかく変形しやすい物質をソフトマターと総称する。多くの食品はソフトマターの一種とみなすことができる。また、非平衡ソフトマターの時間経過に伴う緩やかな変化はエイジングと呼ばれる。先述の食品の構造・物性の変化は、ソフトマターのエイジングとして捉えることができると考えられる。従って、ゲルのエイジングの新たな研究手法は、食品の美味しさや機能の経時変化(劣化)の評価への応用の可能性がある。

粒子追跡法は、ソフトマター中に分散させたコロイド粒子(プローブ粒子)の運動を顕微鏡下で観察し、その軌跡の解析によって粒子の媒質であるソフトマターの特性を評価する手法である。例えば、ブラウン運動するプローブ粒子の平均二乗変位からソフトマターの粘弾性を調べることができる(粒子追跡マイクロレオロジー)。通常のマクロなレオロジーでは物体の平均的な粘弾性が測定されるのに対し、マイクロレオロジーでは局所的なレオロジーの空間分布が測定できるため、空間的に不均一な構造を示すことが多い食品関連物質へ応用することの有用性が近年指摘されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、粒子追跡法を利用して、食品に関連するゲルの非平衡状態の構造・物性変化(エイジング)を計測することである。エイジングにおいてゲルが離水するような場合、ゲルのマクロな形状変化を伴うため、通常のマクロレオロジー測定でエイジング過程を計測することは難しい場合があるが、粒子追跡法では測定対象のマクロな形状変化の影響を受けにくいという利点がある。

ゲルのエイジングにおいては離水が生じることがあるが、これは重力による溶媒とゲルの網目の相対運動により生じ、ゲルの網目の摩擦係数によって支配されると考えられる。従って、エイジングの計測においては、局所的な粘弾性特性に加え、網目を満たす溶媒の拡散・輸送特性とその空間的な不均一性の評価が重要であると考えられる。

通常の粒子追跡マイクロレオロジー測定では、プローブ粒子として数 100nm から 1 μ m の粒径のコロイド粒子が用いられる。これはゲルの網目構造より大きいため、網目の弾性と溶媒の粘性の寄与を両方含んだ粘弾性特性が検出される。これに対し、本研究ではゲルの網目より小さい数 nm から数 10nm の粒径のプローブ粒子を利用して、網目の中の溶媒の拡散・輸送特性を詳しく調べることが目標とした。

網目の中の粒子の運動を測定する場合、網目分子への粒子の吸着が問題となる。ゲルの網目と粒子の間の相互作用は、粒子の表面構造やサイズの影響を受けると考えられる。これについて明らかにすることが本研究における課題の1つである。

また、プローブ粒子の粒径が光の波長よりも小さい場合には、蛍光顕微鏡を用いて蛍光粒子を観察する必要がある。エイジングの研究では長時間の観察が必要となる場合もあるため、蛍光粒子の光褪色への対策も必要であると考えられる。そこで、本研究では光褪色に強いとされている量子ドットをプローブ粒子として利用することを検討した。量子ドットはナノサイズの半導体結晶で、電子が微小空間内に閉じ込められることによる量子サイズ効果により、特徴的な光学的特性を示すことが知られている。

3. 研究の方法

試料にプローブ粒子を 10⁻³-10⁻⁴wt%程度添加したものをホールスライドガラスに載せ、カバーガラスで封入したものを顕微鏡観察に用いた。または、プローブ粒子を添加した試料をガラスボトムディッシュとシリコンスペーサーを組み合わせることで作製したウェルに入れ、顕微鏡で観察した。

観察には倒立蛍光顕微鏡または倒立型共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)を用いた。蛍光顕微鏡観察ではCMOSカメラを用いて動画を24-33fpsで記録し、CLSM観察では1fpsで画像を記録した。粒子の軌跡の解析にはImageJ(FIJI)を用い、重心の平均二乗変位(MSD)を計算した。

4. 研究成果

(1) 粒子追跡マイクロレオロジーによるゼラチンのゲル化の観察

ゼラチンは動物の皮膚などのコラーゲンを変性・加水分解して得られるタンパク質で、ゲル化剤として食品によく用いられる。ゼラチンゲルは弾性率が緩やかに経時変化するエイジングを示す。プローブ粒子として 600nm のポリスチレン粒子を用いて、魚鱗由来ゼラチンのゲル化過程を粒子追跡マイクロレオロジーで調べた。ゾル状態からゲル状態への変化は粒子の MSD の挙動の変化により記述された。全粒子の時空間相関関数はゲル化前にはガウス型であったが、ゲル化後には非ガウス型になった。非ガウス型の時空間相関関数は、ゲルの弾性率の空間的不均一性に起因すると考えられた。粒子の重心位置の計測精度の限界のため、ゲル化後のエイジングについて詳細に調べることはできなかった。

(2) 粒子追跡法によるコラーゲン多管構造ゲル形成過程の観察

コラーゲンの酸性溶液を中性のリン酸緩衝液で透析すると、直径数 100 μm の多数の管状構造が配向したゲル（多管構造ゲル）が形成される。コラーゲン多管構造ゲルは、筋肉と同様にマイクロメートルオーダーの異方的な組織を形成するため、その構造形成の原理は特徴的な食感をゲルに付与する手法として応用できる可能性がある。ポリエチレングリコール（PEG）で表面修飾した 500nm の蛍光ポリスチレン粒子を用いてゲル形成過程の粒子追跡法実験を行った。MSD の解析により、ゲル化直前にコラーゲンと溶媒の相互拡散に由来する巨視的な流動が発生することが示された。また、ゲル化による流動性の喪失とほぼ同時に、MSD の挙動は主に弾力的なものと流体的なものに二種類に分岐した。これは多管構造形成によるもので、弾力的な MSD はコラーゲンゲル相中の粒子に、流体的な MSD は管構造内部の流体相中の粒子に起因すると考えられた。CLSM 観察により、プローブ粒子は濃厚相（ゲル相）により多く存在するが、希薄相（流体相）にも存在することを確認した。

多管構造ゲル中のプローブ粒子の局在に対する粒子の表面特性とサイズの影響について CLSM 観察により調べた。上述の PEG 化粒子に加え、粒子表面に COOH 基、NH₂ 基を持つ粒子、及び牛血清アルブミン（BSA）で被覆した粒子と比較したところ、PEG 化粒子ではゲル相と流体相の両方に存在するが、それ以外の粒子ではゲル相のみに局在することがわかった。粒子のゲル相への局在は、粒子がコラーゲン繊維に吸着するためであり、PEG 化粒子では粒子表面の PEG の立体斥力がコラーゲン繊維への吸着を阻害するのに効果的であったと考えられた。また、サイズの異なる PEG 化粒子で比較すると、粒子サイズが小さいほど流体相により多く存在することがわかった。網目中の溶媒の拡散挙動を調べる際に粒子の網目への吸着を防止するためには、粒子表面の制御が重要であること、粒子径がより小さい方が吸着を低減できる可能性があることが示された。

(3) 粒子追跡法への量子ドットの応用の検討

表面に COOH 基を持つ CdSeS/ZnS 量子ドット（直径 6nm）をゼラチン水溶液に添加し、乾燥させてフィルムにしたものを CLSM で観察すると、粒子の像を得ることができた（Fig.1）。しかし、ゼラチンゲル及びアガロースゲルに量子ドットを添加した場合には、粒子を観察することができなかった。非常に小さい量子ドットは、ゲルの網目中の拡散が非常に速いため、顕微鏡観察で明瞭な像を観察することが難しかったと考えられる。量子ドットを添加したアガロースゲルの動的散乱を測定した。量子ドットの拡散に起因すると考えられる自己相関関数の緩和が観察され、見かけの拡散係数を算出することができた。アガロース濃度増加に伴い、拡散係数が減少すること（Fig.2）、時間経過に伴って拡散係数が徐々に減少すること（Fig.3）がわかった。量子ドットは粒子径が非常に小さいためか、アガロースの網目への吸着の影響はそれほど大きくないと考えられた。このため、顕微鏡観察のための条件設定が厳しいが、ゲルのエイジングを粒子追跡法で調べる際に、量子ドットはプローブ粒子として将来的には有望である可能性が示された。また、フィルム中の粒子が観察できることから、可食性フィルムの形成や溶解の過程の評価などには利用できるかもしれない。

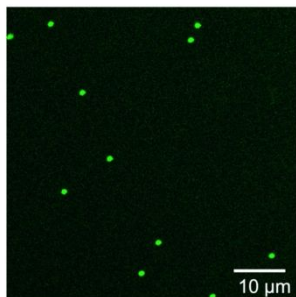


Fig. 1. ゼラチンフィルム中の量子ドットのCLSM像。

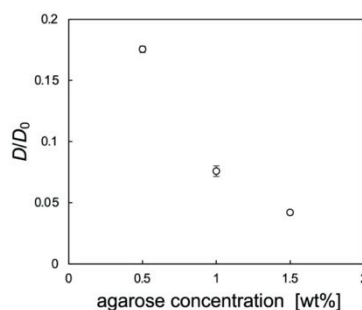


Fig. 2. アガロースゲル中の量子ドットの相対拡散係数のアガロース濃度依存性。Dはゲル中、D₀は水中の拡散係数である。

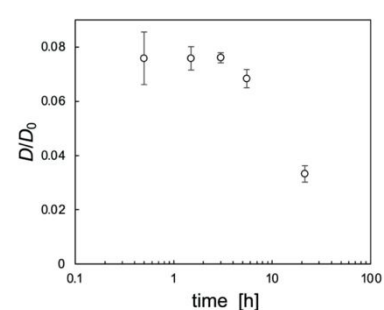


Fig. 3. アガロースゲル中の量子ドットの相対拡散係数の時間依存性。Dはゲル中、D₀は水中の拡散係数である。

(4) 粒子追跡法によるアガロースゲルのエイジングの観察

アガロースは海藻由来の多糖類で、食品のゲル化剤として広く用いられている。アガロースのゲルは時間経過により離水が生じるなどのエイジング挙動を示す。直径 50nm の蛍光ポリスチレン粒子を添加したアガロースゲルを CLSM で観察し、粒子の運動を調べた。表面に COOH 基を持つ粒子ではブラウン運動が観察されず、アガロースの網目に吸着していると考えられた。表面を BSA で被覆した粒子を用いると、ゲル化直後では粒子の活発なブラウン運動が観察されたが、1 日後は粒子の運動が大きく抑制されていた。粒子の運動の経時変化はアガロースゲルのエイジングによる構造変化に起因すると考えられるが、網目構造の幾何学的な特性の変化に伴う粒子の運動性の低下によるものか、網目構造の変化による粒子の吸着の促進によるものかは現時点では不明である。

(5) 粒子追跡法を用いた温度応答性ブロック共重合体水溶液のレオロジー

食品のゲルは相分離などにより白濁し、非常に大きな空間的不均一性を示すことが多いが、一見透明な合成あるいは天然のゲルもある程度の構造不均一性を有すると考えられている。一方、動的な架橋構造を持つゲルでは比較的均一な構造を示す可能性がある。Mebiol Gel[®]は、親水性の PEO ブロックと温度応答性の PNIPA-co-BMA ブロックからなる温度応答性ブロック共重合体で、その溶液は低温ではゾル状態であるが、温度上昇により温度応答性ブロックが動的な架橋構造を形成するためにゲル状態になる。プローブ粒子として 500nm の蛍光ポリスチレン粒子を用いて Mebiol Gel[®]水溶液の粒子追跡マイクロレオロジー測定を行った。温度上昇によって溶液の流動性が減少するのに伴い、粒子の拡散が抑制された。また、MSD のばらつきの指標としての各粒子の MSD の標準偏差と平均値の比は温度にあまり依存せず、全粒子の時空間相関関数も温度によらずガウス型であったため、比較的空間的に均一なゲルが形成されることが示された。

(6) 粒子追跡マイクロレオロジーの食品への応用可能性

実際の食品に対する粒子追跡マイクロレオロジーの適用を試みた。オクラの粘質物にはペクチンなどの多糖類が含まれており、これにより特徴的なレオロジー特性が生じると考えられる。刻んだオクラを水中に浸漬して得た溶出液に 500nm の蛍光ポリスチレン粒子を添加して粒子追跡マイクロレオロジー測定を行った。得られた MSD は粘弾性流体に典型的な挙動を示し、全粒子の時空間相関関数から溶液は比較的均一であることが示された。また、マヨネーズは食酢と食用油の水中油滴エマルジョンであり、内油相比が非常に高いため、油相が密にパッキングした状態になっている。市販のマヨネーズに 500nm の蛍光ポリスチレン粒子を添加して粒子追跡マイクロレオロジー測定を行った。得られた MSD から大多数の粒子は運動が制約されて動けないことがわかった。表面に COOH 基を持つプローブ粒子を用いたため、粒子は水相に取り込まれ、密にパッキングされた油相の間にトラップされることで、弾性体中のような MSD の挙動になったと考えられた。ごく少数の粒子は流体中の拡散に近い挙動を示しており、粒子が運動可能な比較的大きい水相領域がわずかに存在することを示唆した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yasuyuki Maki, Masahiko Annaka	4. 巻 110
2. 論文標題 Gelation of fish gelatin studied by multi-particle tracking method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food Hydrocolloids	6. 最初と最後の頁 105525
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.foodhyd.2019.105525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junta Yonemoto, Yasuyuki Maki, Isabel Koh, Kazuya Furusawa, Masahiko Annaka	4. 巻 22
2. 論文標題 Formation of multi-channel collagen gels investigated using particle tracking microrheology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 3819-3826
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biomac.1c00666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 榎 靖幸	4. 巻 50
2. 論文標題 粒子追跡マイクロレオロジーと食品のレオロジーへの応用可能性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 月刊ファインケミカル	6. 最初と最後の頁 33-40
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 榎靖幸、米本純太、安中雅彦、古澤和也
2. 発表標題 粒子追跡法を用いた多管構造コラーゲンゲル形成のレオロジー
3. 学会等名 第44回日本バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 遠藤周、横靖幸、安中雅彦
2. 発表標題 粒子追跡法によるミクロな厚みの流体のレオロジー
3. 学会等名 第44回日本バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junta Yonemoto, Yasuyuki Maki, Masahiko Annaka
2. 発表標題 Formation of Multi-Channel Collagen Gels Studied by Particle Tracking Microrheology
3. 学会等名 Grand Views of Soft and Liquid Matter Physics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米本純太, 横 靖幸, 安中雅彦, 古澤和也
2. 発表標題 粒子追跡法による多管構造コラーゲンゲル形成過程の観察
3. 学会等名 第43回日本バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米本純太, 横 靖幸, 安中雅彦
2. 発表標題 温度応答性ブロック共重合体水溶液のレオロジー
3. 学会等名 第42回日本バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横 靖幸
2. 発表標題 粒子追跡法による生体高分子の構造形成のその場観察
3. 学会等名 MRMフォーラム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎涼平, 横 靖幸, 安中雅彦
2. 発表標題 コラーゲンの多管構造ゲル形成における懸濁コロイド粒子の挙動
3. 学会等名 第45回バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

分散系物理化学研究室webページ http://www.scc.kyushu-u.ac.jp/softmatter/

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------