

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870469

研究課題名(和文) 融液成長する油脂結晶表面の分子レベルその場観察

研究課題名(英文) In situ observation of triacylglycerol single crystal melt growth

研究代表者

本同 宏成 (Hondoh, Hironori)

広島大学・生物圏科学研究科・講師

研究者番号：10368003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：新しく開発された光学顕微鏡を用いて、様々な温度において結晶表面におけるステップの前進速度を測定することで、油脂結晶のステップ前進速度の過冷却度依存性を初めて測定することができた。その結果、過冷却度に応じて単調に速度が増加するのではなく、過冷却度が大きくなると、成長は抑制された。また、得られた結晶の外形から結晶学的方位およびステップの方向を決定した結果、方向に応じて成長速度が異なることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the surface of triacylglycerol single crystals with novel optical microscopy. The temperature dependency of step velocity was directly determined from the step movement. The step velocity did not show monotonic increasing with supercooling but it was depressed at the higher supercooling. Beside, the difference on step velocity of which moving toward different crystallographic directions was observed.

研究分野：食品物理

キーワード：光学顕微鏡 油脂結晶 結晶成長 その場観察 融液成長

1. 研究開始当初の背景

油脂結晶は食品の固さや舌ざわりといった特性を左右する重要な固形成分である。ホイップやマーガリンなどの油脂食品中では、油脂結晶がネットワークを形成することにより、安定性や展延性、粘弾性が生まれ、食品として好ましい性質が生まれる。従って食品中における油脂の結晶化、特に結晶形態と核形成の制御は、よりおいしい食品を作り出すために非常に重要である。油脂はグリセリンに炭化水素鎖が3本結合した構造をしているが、炭化水素鎖の自由度が高いため、様々な結晶多形をとることが知られる。このため、単結晶育成が困難であり、結晶構造解析例も少ない。このような要因から、油脂の結晶成長に関して、特に分子レベルでの理解はほとんど進んでいない。近年、電子顕微鏡により、油脂結晶のラメラ構造が観察され、その観察結果を基に食品中の油脂の階層構造が提案された。しかしながら電子顕微鏡観察は、出来上がった結晶を取り出して観察する手法であり、油脂結晶がどのように成長するのか、動的な描像は不明であった。

2. 研究の目的

融液成長する結晶表面の分子レベル観察例はなく、結晶-融液界面の研究は、シミュレーションが主である。本研究では、実際に結晶-融液界面のステップを“その場”観察することで、その成長機構を分子レベルで明らかにする。特に以下の4点に着目して研究を進める。1. ステップ速度の過冷却度依存性。結晶成長研究の最も基礎的なデータである成長速度を精密に測定する。2. 結晶の異方性による成長速度の違い。油脂は分子形状が異方的なためその結晶の対称性も低く(空間群 P-1), (001)面内であっても、方向によりステップ速度が異なることが期待される。結晶構造を基に成長速度の異方性を議論し、分子形状がステップダイナミクスに及ぼす影響を明らかにする。3. 結晶異方性によるステップ形状の違い。2と同様に、ステップの形状も異方的となることが期待される。2と併せて分子形状の影響を明らかにする。4. 無転位結晶表面上における二次元核成長。高過冷却度における油脂結晶の成長機構を明らかにする。現在はラセン転位が導入された種結晶を用いているが、無転位の結晶を作製し種結晶として用いることで、結晶表面における二次元核成長および表面の荒れについて観察する。同時に高過冷却度の成長により、結晶欠陥がどのように導入されるかを明らかにする。食品製造時と同様の高過冷却度において成長させることで、実際の食品中における油脂の結晶成長を再現する。

3. 研究の方法

申請者は新規な光学顕微鏡レーザー共焦点微分干渉顕微鏡(LCM-DIM)を用い、有機溶媒中の油脂単結晶が成長する過程を、初めて

分子レベルで観察した。この顕微鏡は、共焦点顕微鏡に微分干渉機能を付加したもので、原子間力顕微鏡や電子顕微鏡と異なり、試料に非接触かつ非破壊でありながら高さ方向に原子レベルの分解能をもつ。このため、観察する系に擾乱を与えることなく測定が可能で、結晶成長の“その場”観察に最適な手法である。そこで、油脂の単結晶を育成し、融液中で成長する結晶表面をLCM-DIMを用いて分子レベルで“その場”観察する。種結晶の育成が本研究の最大の課題であるが、温調ステージを作製し、顕微鏡下で観察しながらテラメイトで種結晶を育成することで種結晶育成に最適な結晶を得る。観察に適した厚みのある種結晶を育成後、ラセン転位由来のステップの前進速度を測定することで、低過冷却下でのステップ速度の1. 過冷却度依存性および、2. 結晶方位依存性、3. ステップモルフォロジーを明らかにする。また無転位の種結晶を育成し観察に用いることで、高過冷却度における4. 二次元核成長速度の過冷却度依存性を明らかにする。得られたステップダイナミクスについて結晶構造から議論することで、分子および結晶構造の異方性が成長速度の異方性に及ぼす影響について明らかにする。

4. 研究成果

本研究では以下の4つの点を目的として研究を行った。

1. ステップ速度の過冷却度依存性。2. 結晶の異方性による成長速度の違い。3. 結晶異方性によるステップ形状の違い。4. 無転位結晶表面上における二次元核成長。1および2に関しては、1年目に達成することが出来た。様々な温度において結晶表面におけるステップの前進速度を測定することで、目的1を達成した。ステップ速度を測定した結果、過冷却度に応じて単調に速度が増加するのではなく、過冷却度が大きくなると、成長速度は抑制された。また、得られた結晶の外形から結晶学的方位を決定し、ステップの方向を分類した結果、方向に応じて成長速度が異なることが明らかとなった(2)。このことから、結晶への分子の取り込み速度が、結晶中の分子の傾きにより異なることが示唆された。3のステップ形状に関しては、現在のところ有為な差は見られていないが、結晶の対称性を考慮すると妥当な結果である。4. 無転移結晶の育成については、融点近傍における詳細な結晶成長観察から、非常に困難であることが明らかとなった。油脂は分子レベルで構造が異なる結晶多形を多く持つことが知られているが、最安定型の多形と近い融点を持つ準安定多形の存在が示唆された。すなわち、単結晶育成のために過冷却を大きくすると準安定多形が成長し、その後最安定多形へと転移することで結晶欠陥が導入されることを意味する。しかしながら、そもそもこの準安定相の存在は新たな知見であり、今

後，油脂結晶の複雑な多形現象を理解するためには重要な発見である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 8件)

1. 本同宏成, 基礎講座 脂質 (第3回) - 脂質の物理的性質 - 査読なし, オレオサイエンス, 15, 2015, p79-82.

2. Wataru Saburi, Hiroaki Rachi-Otsuka, Hironori Hondoh, Masayuki Okuyama, Haruhide Mori, Atsuo Kimura, Structural elements responsible for the glucosidic linkage-selectivity of a glycoside hydrolase family 13 exo-glucosidase, FEBS letters, 査読有り, 589, 2015, 865-869.

3. Momoko Kobayashi, Wataru Saburi, Daichi Nakatsuka, Hironori Hondoh, Koji Kato, Masayuki Okuyama, Haruhide Mori, Atsuo Kimura, Min Yao, Structural insights into the catalytic reaction that is involved in the reorientation of Trp238 at the substrate-binding site in GH13 dextran glucosidase, FEBS letters, 査読有り, 589, 2015, 484-489.

4. Eriko Ikeda-Naito, Hironori Hondoh, Satoru Ueno, Kiyotaka Sato, Mixing Phase Behavior of

1,3-Dipalmitoyl-2-Oleoyl-sn-Glycerol (POP) and

1,2-Dipalmitoyl-3-Oleoyl-rac-Glycerol (PPO) in n-Dodecane Solution, Journal of the American Oil Chemists' Society, 査読有り, 91, 2014, 1837-1848.

5. Masayuki Okuyama, Takuya Yoshida, Hironori Hondoh, Haruhide Mori, Min Yao, Atsuo Kimura, Catalytic role of the calcium ion in GH97 inverting glycoside hydrolase, FEBS letters, 査読有り, 588, 2014, 3213-3217.

6. Hoyo Mizobe, Tomoyuki Tanaka, Naoko Hatakeyama, Toshiharu Nagai, Kenji Ichioka, Hironori Hondoh, Satoru Ueno, Kiyotaka Sato, Structures and Binary Mixing Characteristics of Enantiomers of 1-Oleoyl-2, 3-dipalmitoyl-sn-glycerol (S-OPP) and 1, 2-Dipalmitoyl-3-oleoyl-sn-glycerol (R-PPO), Journal of the American Oil Chemists' Society, 査読有り, 90, 2013, 1809-1817.

7. 上野 聡, 本同宏成, エマルション中の油脂結晶化におけるミクロ構造解析, 化学工学, 査読なし, 77, 2013, p95-99.

8. 上野聡, 本同宏成, 佐藤清隆, 脂質の準安定相結晶化と応用開発, 結晶成長学会誌, 査読なし, 40, 2013, p244-252

〔学会発表〕(計 27件)

1. 石橋ちなみ・本同宏成・上野聡, 長期冷凍保存下における O/W エマルション不安定化に及ぼす要因の解明, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 平成 27 年 3 月 28 日, 岡山大学 津島キャンパス (岡山県岡山市)

2. 本同宏成, 上野聡, モルフォロジー解析による油脂結晶不安定多形の構造予測, 日本物理学会第 70 回年次大会, 平成 27 年 3 月 22 日, 早稲田大学早稲田キャンパス (東京都新宿区)

3. 本同宏成, チョコレートの結晶化, 第 44 回日本結晶成長学会, 平成 26 年 11 月 8 日, 学習院大学 (東京都豊島区)

4. H. Fujiwara, H. Hondoh, A. Ichigi, H. Arakawa, S. Ueno, Effect of Seed Crystals on the Crystallization of Palm Olein, 12th Euro Fed Lipid Congress, 2014 年 9 月 15 日, Montpellier (France)

5. M. Tsuchiya, H. Hondoh, M. Shiota, L. Tanaka, S. Ueno, Orientation in Granular Crystal Formed in Fat Spread, 12th Euro Fed Lipid Congress, 2014年9月14日, Montpellier (France)
6. T. Deguchi1, H. Hondoh1, S. Arima2, A. Ogawa2, S. Ueno1, Effect of combination of sucrose fatty acid ester and polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters on stability of O/W emulsion, 1st Asian conference on oleo science, 2014年9月8日, Sapporo (Japan)
7. K. Takahashi1, H. Hondoh1, H. Uehara2, S. Ueno1, Solubility measurement of POP and SOS crystals in triolein, 1st Asian conference on oleo science, 2014年9月8日, Sapporo (Japan)
8. H. Mizobe1, K. Sunagawa2, N. Hatakeyama1, T. Nagai1, K. Ichioka1, H. Hondoh2, S. Ueno2, K. Sato2, Structures and binary mixing characteristics of 1,2-dipalmitoyl-3-oleoyl-sn-glycerol (sn-PPO) / 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-sn-glycerol (POP) and 1,2-dipalmitoyl-3-oleoyl-rac-glycerol (rac-PPO) / (POP), 1st Asian conference on oleo science, 2014年9月8日, Sapporo (Japan)
9. Y. Muraio1, H. Hondoh1, Y. Miyamoto2, S. Ueno1, Effect of polyglycerol fatty acid esters on crystallization of palm oil due to a difference in storage temperature, 1st Asian conference on oleo science, 2014年9月8日, Sapporo (Japan)
10. 浜本志帆 1・本回宏成 1・山根晋哉 2・芦田泰三 2・原田健一 2・上野聡 1, トリラウリンに対するソルビタン脂肪酸エステル添加効果の解明, 日本油化学会第53回年会, 平成26年9月9日, ホテルロイトン札幌 (北海道札幌市)
11. 關 宏樹・本回宏成・上野聡, パーム油の結晶化に及ぼすジアシルグリセロールの添加効果, 日本油化学会第53回年会, 平成26年9月9日, ホテルロイトン札幌 (北海道札幌市)
12. 高木麻祐子 1・本回宏成 1・路川聡一 2・坂本千夏 2・平井優太 2・上野聡 1, ココアバターとココアバター代用脂の相挙動の解明, 日本油化学会第53回年会, 平成26年9月9日, ホテルロイトン札幌 (北海道札幌市)
13. 石橋ちなみ・本回宏成・上野聡, 冷凍-
- 解凍下におけるマヨネーズの品質劣化に及ぼす油脂および氷結晶の影響, 日本油化学会第53回年会, 平成26年9月9日, ホテルロイトン札幌 (北海道札幌市)
14. 土屋美紀 1, 本回宏成 1, 塩田 誠 2, 岩澤 愛 2, 上野 聡 1, パーム油含有ファットスプレッド中に発生する粗大結晶の配向の観察, 日本食品科学工学会第61回大会, 平成26年8月30日, ホテルニューオータニ博多 (福岡県福岡市)
15. 藤原春菜 1, 本回宏成 1, 榎木あゆみ 1, 荒川 浩 2, 上野 聡 1, パームオレインの分別結晶化における種結晶の添加効果, 日本食品科学工学会第61回大会, 平成26年8月30日, ホテルニューオータニ博多 (福岡県福岡市)
16. 本回宏成 1, 佐崎元 2, 佐藤清隆 1, 古川義純 2, 上野聡 1, トリアシルグリセロール結晶の融液成長その場観察, 第43回日本結晶成長学会, 平成25年11月7日, 長野市生涯学習センター (長野県長野市)
17. H. Hondoh, G. Sazaki, K. Sato, Y. Furukawa, S. Ueno, Kinetic Study of Trilaurin Crystal Growth, 11th Euro Fed Lipid Congress, 2013年10月29日, Antalya (Turkey)
18. T. Deguchi, S. Matsumoto, H. Hondo, S. Ueno, K. Sato, S. Arima, A. Ogawa, Effect of the Additives and Emulsifiers on the Stability of O/W Emulsion, 11th Euro Fed Lipid Congress, 2013年10月29日, Antalya (Turkey)
19. 本回宏成, 佐崎元, 佐藤清隆, 古川義純, 上野聡, 油脂単結晶の結晶成長その場観察, 日本油化学会第52回年会, 平成25年9月5日, 東北大学川内北キャンパス (仙台市宮城県)
20. 村尾友紀, 上鶴哲也, 本回宏成, 宮本, 上野聡, W/O エマルションの結晶化におけるポリグリセリン脂肪酸エステルの添加効果, 日本油化学会第52回年会, 平成25年9月5日, 東北大学川内北キャンパス (仙台市宮城県)
21. 濱本志帆, 本回宏成, 山根晋哉, 芦田泰三, 原田健一, 上野聡, パーム油に及ぼすソルビタン脂肪酸エステルの添加効果, 日本油化学会第52回年会, 平成25年9月5日, 東北大学川内北キャンパス (仙台市宮城県)
22. 出口貴久, 松本慎太郎, 本回宏成, 有馬哲史, 小川晃弘, 佐藤清隆, 上野聡, 乳化剤とシヨ糖脂肪酸エステルの組み合わせが及

ぼす O/W エマルションの安定性への効果，日本油化学会第 52 回年会，平成 25 年 9 月 4 日，東北大学川内北キャンパス（仙台市宮城県）

23. 森行和哉，本回宏成，佐藤裕紀，近藤貴子，鈴木敦，長島啓一，古谷野哲夫，岡屋英二，佐藤清隆，上野聡，せん断応力下におけるココアバター結晶の多形転移現象の可視化，日本食品科学工学会第 60 回記念大会，平成 25 年 8 月 30 日，実践女子大（東京都日野市）

24. 泉川沙耶，越智雅史，本回宏成，黒須充春，小杉新，古谷野哲夫，佐藤清隆，上野聡，O/W 乳化チョコレートにおけるせん断応力印可の影響，日本食品科学工学会第 60 回記念大会，平成 25 年 8 月 30 日，実践女子大（東京都日野市）

25. 山崎健太，本回宏成，上野聡，SEM-EDX を用いたチョコレート中の油脂移行経路の可視化，日本食品科学工学会第 60 回記念大会，平成 25 年 8 月 31 日，実践女子大（東京都日野市）

26. H. Hondoh¹, G. Sazaki², K. Sato¹, Y. Furukawa², and S. Ueno¹, Molecular Level Observation of Growing Steps on Fat Crystal, 104th American Oil Chemists' Society Annual Meeting, 2013 年 4 月 30 日, Montréal (Canada)

27. S. Ueno, S. Itatani, and H. Hondoh, Morphology and Physical Properties of High Melting Fractions of Milk Fat, 104th American Oil Chemists' Society Annual Meeting, 2013 年 4 月 30 日, Montréal (Canada)

〔図書〕(計 1 件)

上野 聡，本回宏成，日本油化学会，界面活性剤評価・試験法 2.3.3 結晶構造，相転移，油化学会編纂，2015，p142-146

〔その他〕

ホームページ等：
<http://www.hiroshima-u.ac.jp/gsbs/soshiki/seibutsukino/syokubutsu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本回 宏成 (Hondoh Hironori)
広島大学大学院生物圏科学研究科・講師
研究者番号：10368003