

令和3年度 宮城県放射光利用実地研修：
(あいちトライアルユース)成果報告会 < 2022年2月7日 >

製造条件が異なる日本酒のナノスケール構造の解析
(日本酒の分子構造の小角X線散乱 (SAXS) による計測)

株式会社 東北アグリサイエンスイノベーション
(TuASI (Tohoku AgriScience Innovation, Co., Ltd.))
駒井三千夫、黒澤康之、藤井智幸

<指導: 宮城県産業技術総合センター(材料開発・分析技術部):
伊藤桂介、曾根 宏 >

企業等名	株式会社 東北アグリサイエンスイノベーション（略称TuASI）		
住 所	〒980-0845 仙台市青葉区荒巻字青葉468-1、レジリエント社会構築イノベーションセンター504		
業 種	研究開発、研究支援	事業内容	食品・サプリメントの開発、 農学領域の研究支援、 次世代放射光施設の活用支援
法人設立日 及び沿革	2018年 8月 7日 東北大学農学研究科の教職員・OBが出資し設立。現在に至る。		
会社概要 (基盤技術・強 み)	東北大学農学研究科の技術シーズ（特許やノウハウ）の実用化が目的の会社。2名が東北大学名誉教授、1名が農学研究科教授、1名が味の素(株)OBで構成。健康栄養や新規食品関連の特許技術を有している。次世代放射光施設と隣接する企業として、農学研究科とともに同施設の活用推進を指向している。		

株式会社 東北アグリサイエンスイノベーション (概要)

(代表取締役 駒井三千夫)

- 天然物フラボノイド：タキシフォリンを活用した食品・サプリメントの開発・販売
(➡「タキシフォリン+植物由来ビタミン様成分」のサプリメントを製品化中)
 - タキシフォリン90%品の販売
 - 健康栄養成分の調査・研究
 - 次世代放射光分析の支援と測定代行
- などを通じ、超高齢化社会における健康寿命の延伸に貢献いたします。

タキシフォリンと健康の関係は、ドキュメンタリー番組「健康寿命120歳をめざす
タキシフォリンの奇跡」(23分)をご覧ください。 <https://youtu.be/9IBUVZD7iNE>



弊社へのお問い合わせは、弊社ホームページのお問い合わせフォームからお願いいたします。 <https://tu-asi.wixsite.com/index>



【タキシフォリンのご紹介】(株)DHQラビートル技術資料より引用)

製法：シベリアのカラマツからエタノール抽出で生産されます。

安全性試験：急性毒性試験・亜慢性試験・慢性毒性試験・生殖発生毒性試験・変異原性試験・遺伝毒性試験・細胞毒性試験等は実施済み(ロシア・欧州)。

安全性認証：2005年 日本 厚生労働省：食品として承認、食品表示名称「カラマツ形成層・木部抽出物」

2009年 米国 FDA：GRAS認証

2016年 欧州 EFSA：Novel Food and Novel Foods Ingredients 認証

機能性

タキシフォリン

抗酸化力・抗糖化力

抗炎症作用
血流改善作用

予防

糖尿病

認知症

肺炎

高血圧

肝臓病

腎臓病

心臓病

癌

ウイルス

改善

抗酸化力

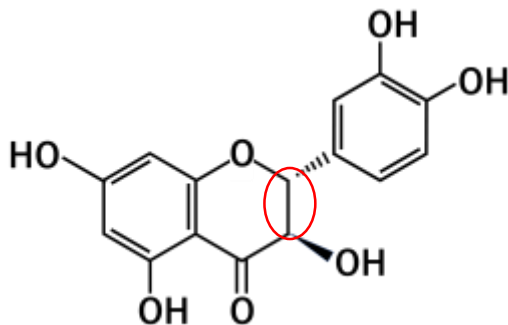
酸素ラジカル消去能:ORAC値の比較
(Oxygen radical absorption capacity)

(Brunswick Laboratories、米国)

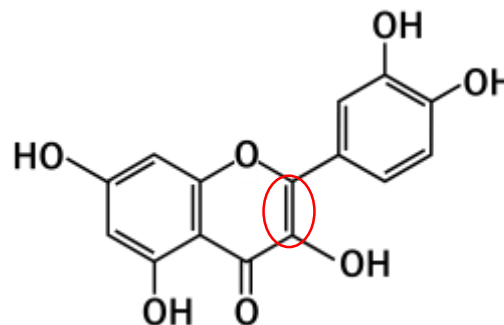
物質名	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
タキシフォリン90%品	15,155
ケルセチン	10,900
ビタミンC	2,100
ビタミンE	1,300

化学構造

タキシフォリン(ジヒドロケルセチン)



(ケルセチン)



日本酒や醸造飲料の風味の違いを、放射光を用いた解析によって解明しようとする取り組みが増えてきた。

農水産・生命科学・医療

日本酒造りの「経験と勘」を定量化したい!

株式会社一ノ蔵相談役・宮城県食産業協議会会長 浅見紀夫さん



軟水と硬水では日本酒の味や発酵期間が異なる等、経験的には知られていても、**メカニズムの解明**がされていない現象は伝統産業にも多くあります。この違いが放射光で解析できれば、水質の違いを際立たせる商品の多様な開発が、科学的な根拠に基づいて可能になることを期待します。

放射光

↑↓ 2019年05月07日公開 (産業技術総合研究所東北センター)

放射光で測れます! 水の研究も新展開を見せています!!

東京大学 原田慈久教授は水との相互作用に着目し、「日本酒に超音波をかけると、まるやかになる」ことを放射光で確かめています。ウイスキーの熟成具合やワインの産地を調べた事例も。



真木祥千子さん
(東北大学講師)

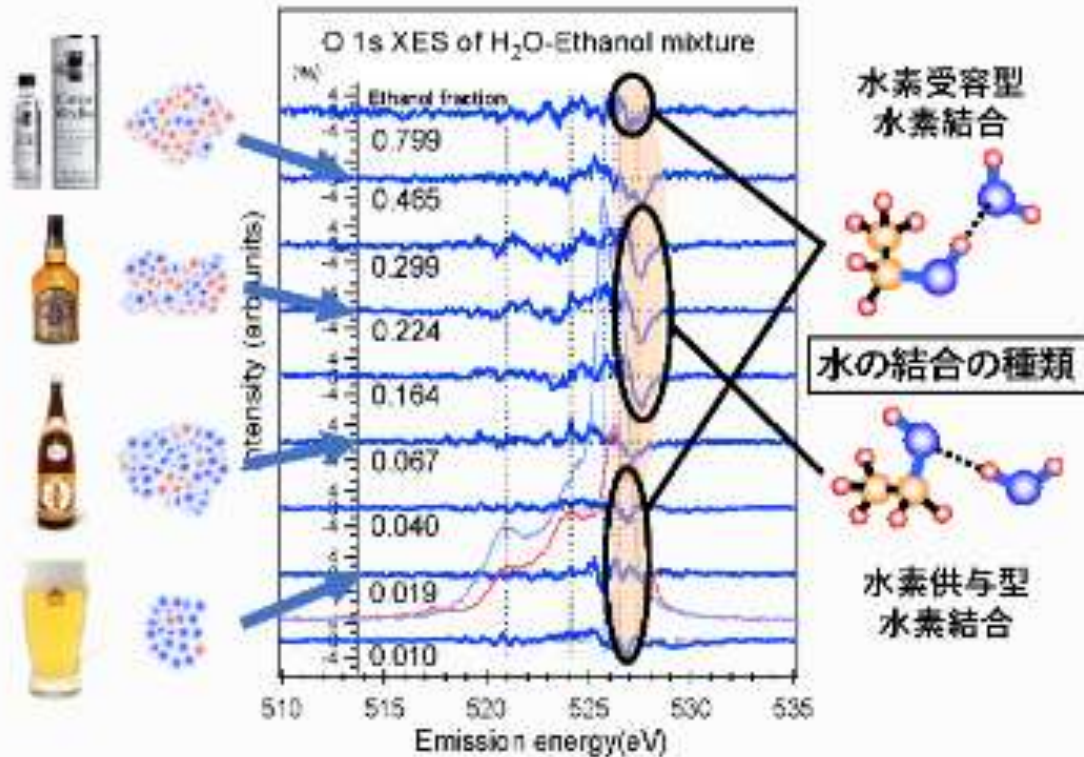
< 東京大学・原田慈久教授の講演サイトより抜粋 >

2019年05月07日公開 (産業技術総合研究所東北センター)

応用事例 2 : アルコールの“旨味”をナノで量る

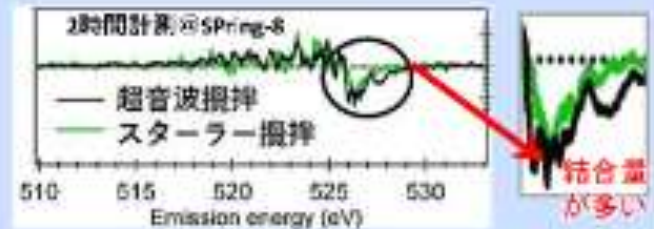
日本酒の濃度を境に支配的な水の結合の種類が変化

日本酒が最も水とエタノールが均一に混ざらない



「超音波をかけて混合を促進するとお酒がまろやかになる」という説を軟X線分光で検証

超音波で水素供与型水素結合を強化? → まろやかさの電子指標



東北放射光では分単位で計測可能に
→ 超音波の最適条件の探索に利用



熟成年数の増加に伴い散乱強度が増大した

→凝集構造のサイズが揃ってくる?! (ウイスキー)

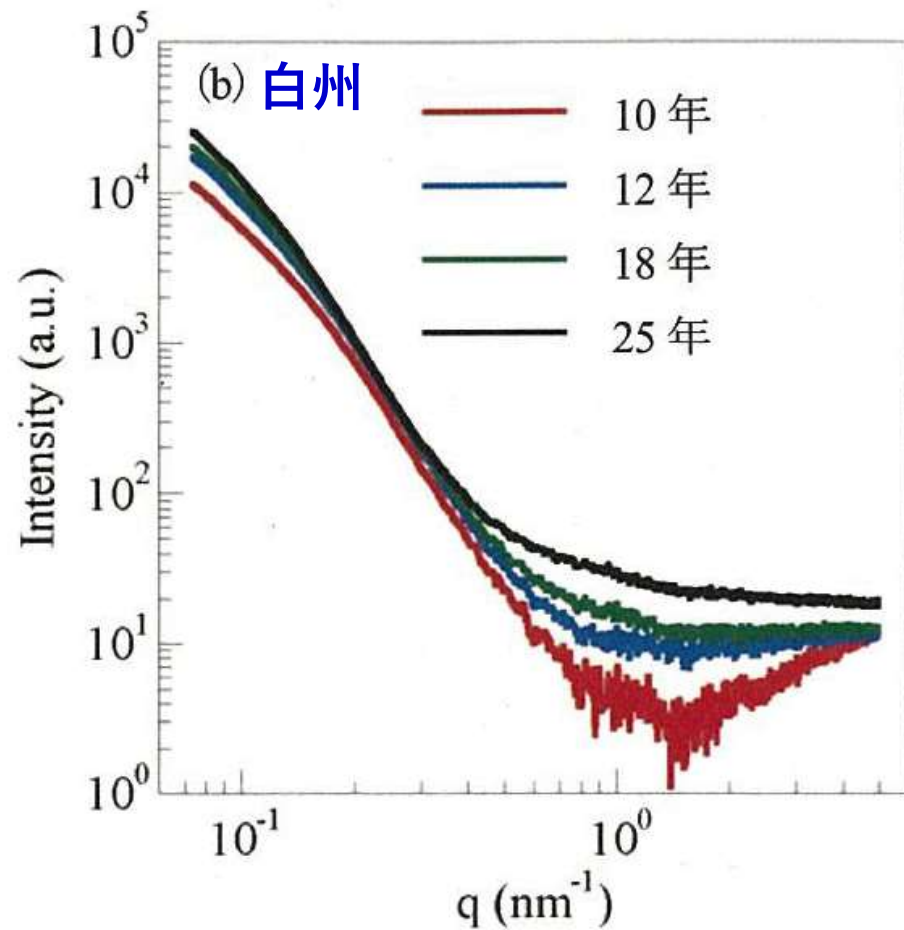
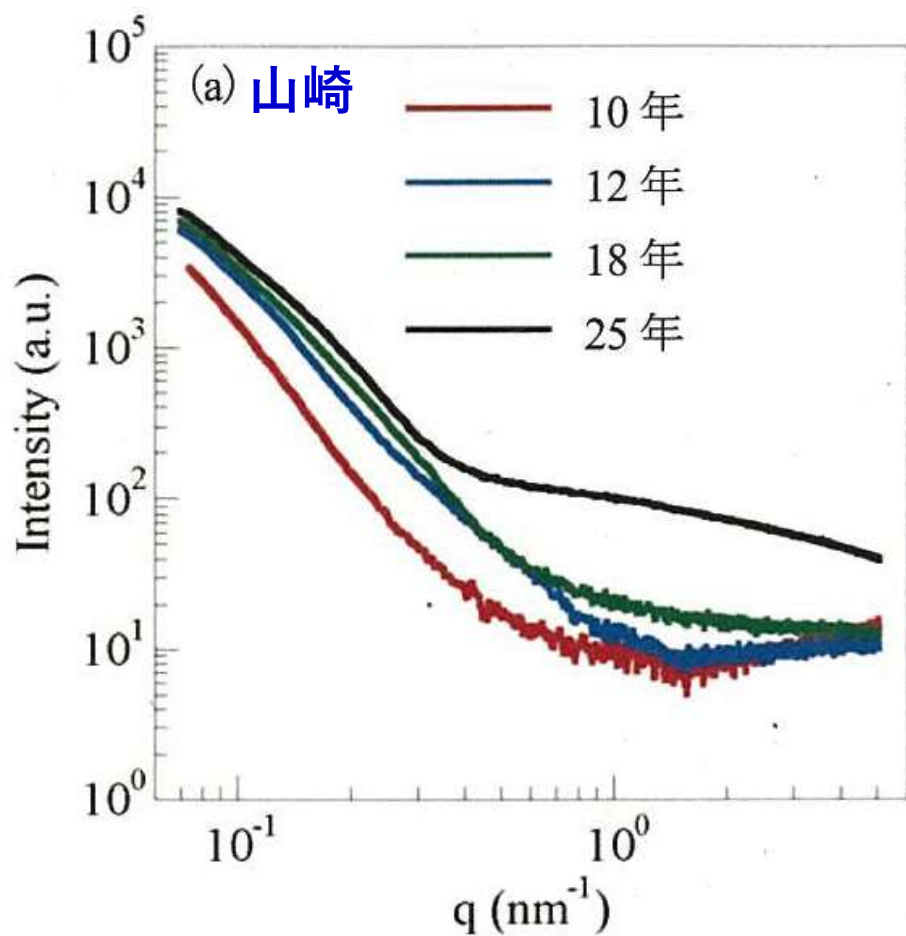


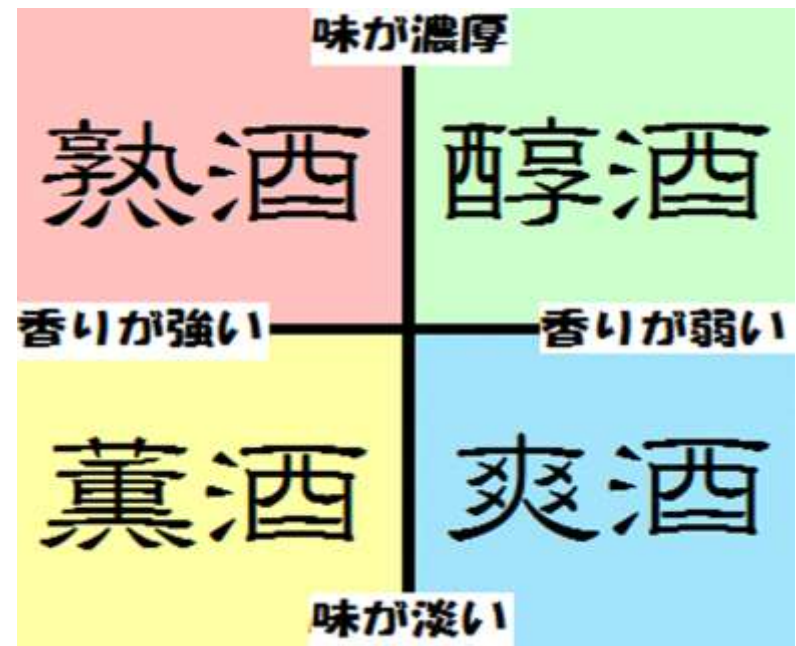
図2. 熟成年数の異なるウイスキーの散乱プロファイル。

(a);シングルモルトウイスキー「山崎」、(b);シングルモルトウイスキー「白州」。

<中村典子 (サントリー(株)) ほか：SPRING-8 報告集、2014A1522より抜粋>

<研修に参加する動機>

最近、酒造会社から日本酒の風味評価についての業務依頼があったことが動機の一つ。



<味と香りの強さで表わす日本酒の大まかな4つの分類> ☞

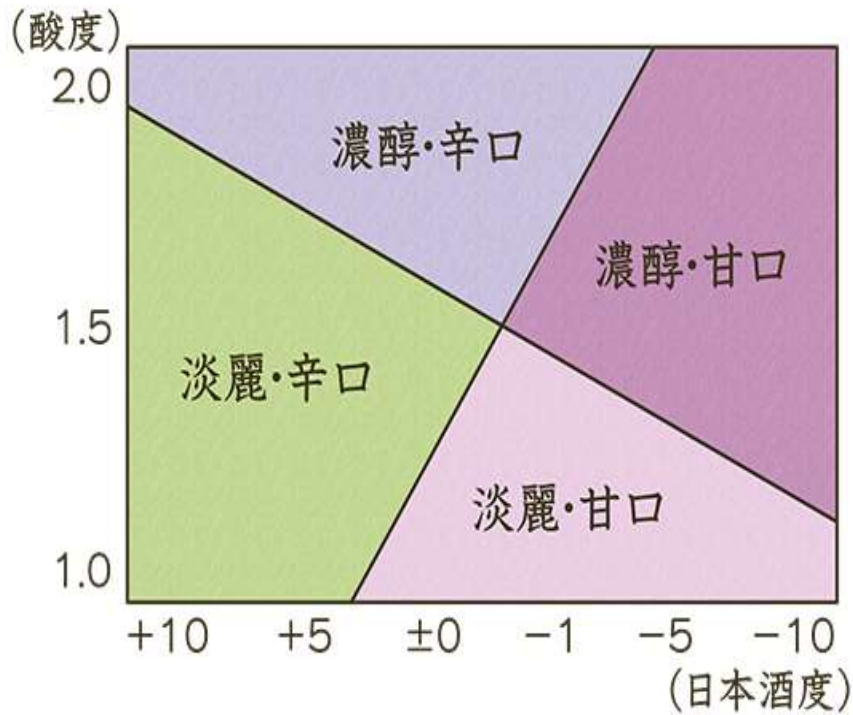
「まろやかさ」や「おいしさ」に関連すると予測される事項

○水とアルコールの結合状態＝水素結合等の分子状態の解析、

○ナノレベルの微粒子の存在の有無の解析、

○硬水・軟水の違いによる日本酒の評価に及ぼす共存元素

これらの指標を、放射光解析によって解明したい。



製造現場での日本酒の基本的風味評価は、**日本酒度(ふひょう)・酸度(滴定法)・アミノ酸度(滴定法)・アルコール度(比重)・グルコース濃度**が一般的である。最近では**GC-Olfactometry**や**メタボローム解析**が進み、**熟成香の化学的解明**等も進んでいる。

＜研修内容＞

あいちシンクロトロン 光センター 及び 実験風景



(「あいちシンクロトロン光
センター」ホームページより)

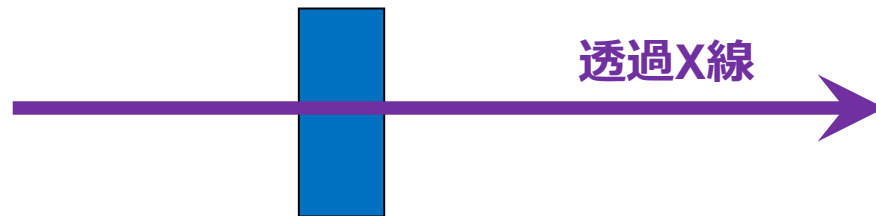
ビームライン	名称	測定手法
BL1N2	軟X線XAFS・光電子分光 II	軟X線XAFS 超軟X線XAFS 光電子分光
BL2S1	単結晶X線回折(名古屋大学)	単結晶X線回折
BL5S1	硬X線XAFS I	硬X線XAFS 蛍光X線
BL5S2	粉末X線回折	粉末X線回折
BL6N1	軟X線XAFS・光電子分光 I	軟X線XAFS 光電子分光
BL7U	真空紫外分光	真空紫外分光 超軟X線XAFS 光電子分光
BL8S1	薄膜X線回折	X線反射率 薄膜表面回折
BL8S2	X線トポグラフィ・X線CT (愛知県)	X線トポグラフィ X線CT
BL8S3	広角・小角X線散乱	広角・小角散乱
BL11S2	硬X線XAFS II	硬X線XAFS 蛍光X線

散乱とは

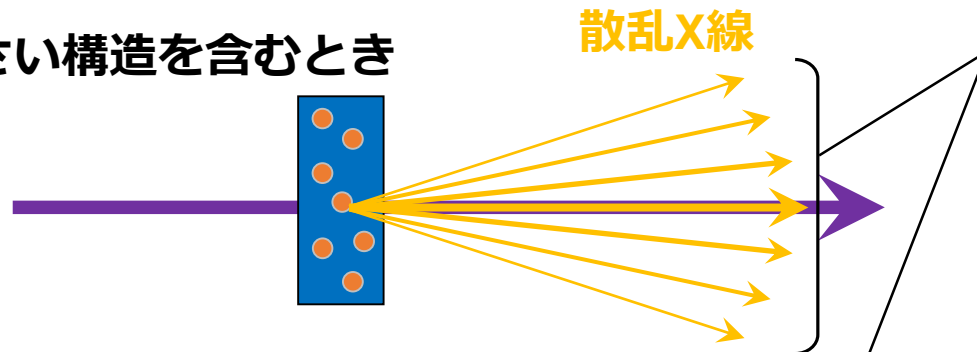
<宮城県産業技術総合センター提供>

試料にX線を照射すると、試料内部の不均一構造
(フィラー、相分離、空孔など)を反映した**散乱X線**が発生する

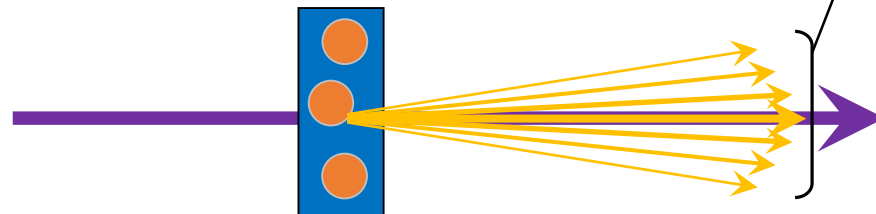
試料が一様なとき



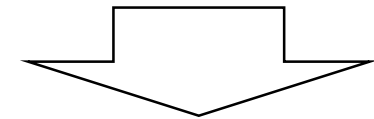
小さい構造を含むとき



大きい構造を含むとき



大きい構造であるほど、
散乱X線の広がり角が小さくなる
また、形状・サイズ分布・濃度によっても角度依存性が変化する

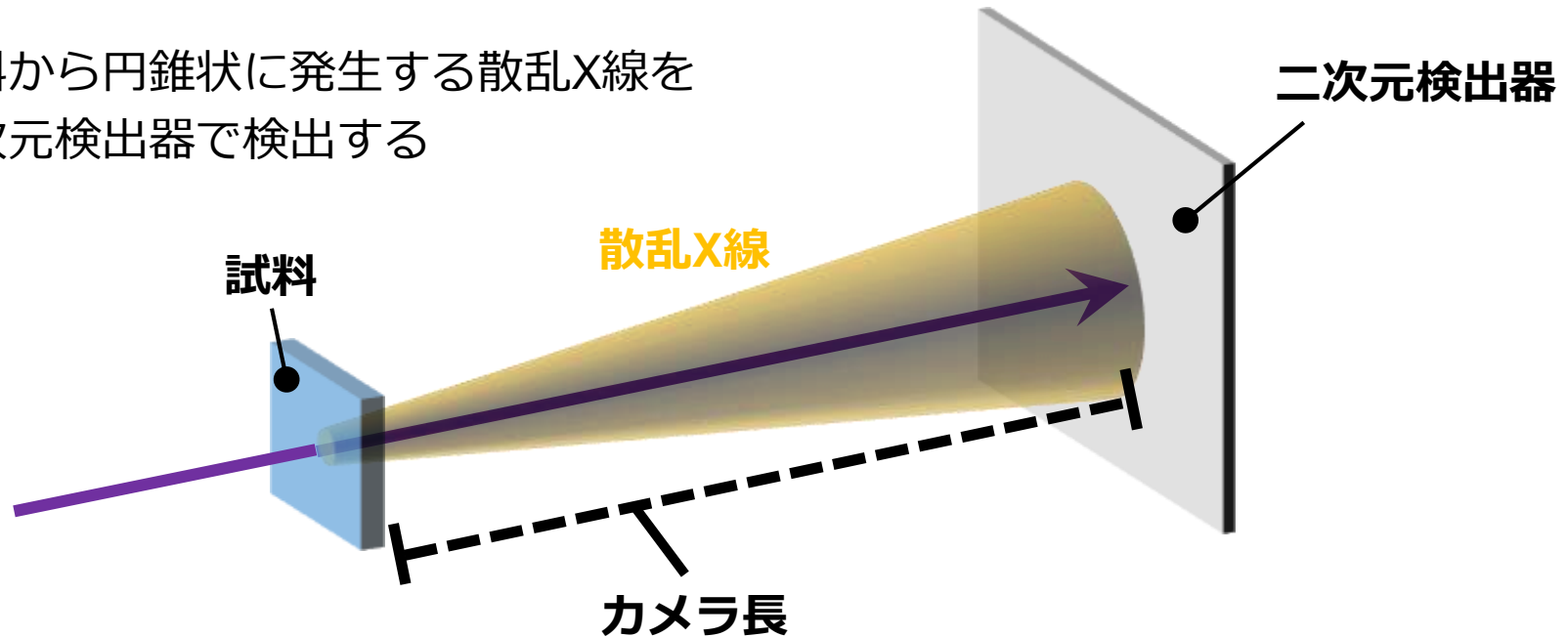


**散乱X線の角度依存性から
試料内部の構造情報がわかる**

実験配置の模式図

<宮城県産業技術総合センター提供>

試料から円錐状に発生する散乱X線を
二次元検出器で検出する



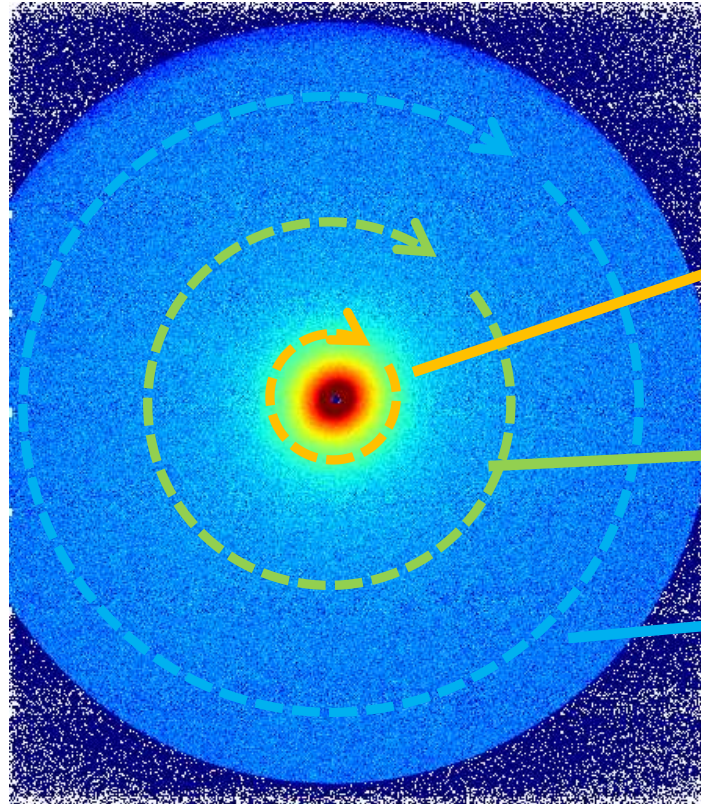
(試料と検出器の距離。2～4 mが主流。)

- ・ 広がり角が**おおむね 10° 以下**の散乱X線が（または、それを捉える実験自体が）**X線小角散乱 [SAXS, Small Angle X-ray Scattering]**と呼ばれる
- ・ 試料と検出器の距離を長くとれば、小さい角度の散乱を見分けるのに有利
→ **より大きな内部構造を観測できる**

放射光SAXSでは、1~100 nmの構造がターゲットとなる

実際に得られるデータ

二次元検出器の生データ (.stlファイル)



円周上の平均強度

散乱角 or 波数
(中心からの距離より算出)

使用したX線の波長

波数とは...

$$q = (4\pi / \lambda) \sin(\theta)$$

で定義される値。
単位は長さの逆数。

実空間の長さ d とは
 $d = q / 2\pi$
の対応関係をもつ。

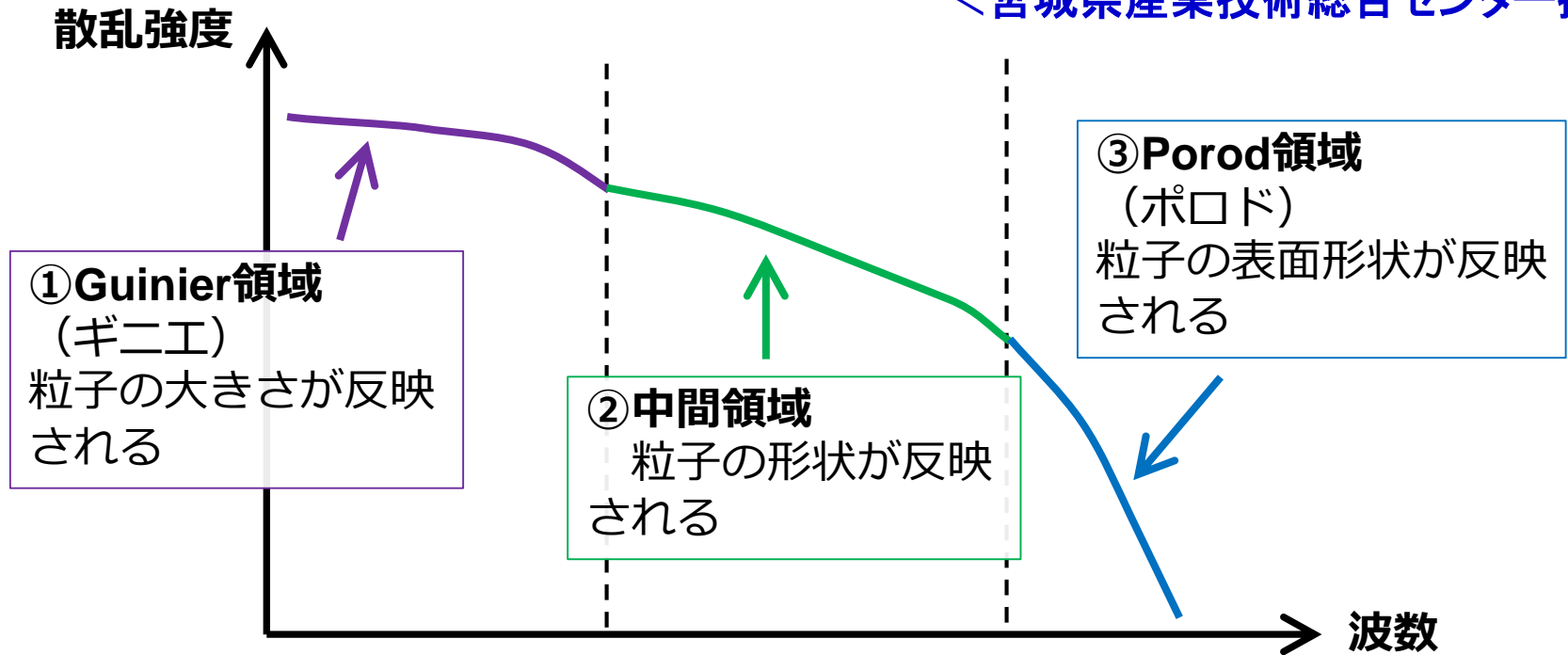
二次元データでは取扱いが難しいため、円環平均をとり、
横軸：散乱角(2θ) or 波数(q)、縦軸：散乱強度の一次元データに変換する。

あいちSRが実施するのはこの作業まで。 <宮城県産業技術総合センター提供>

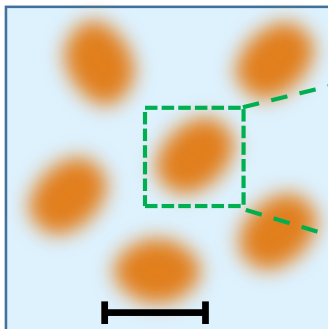
※高度な測定（配向性試料など）を行う際には、この作業も自前で行う必要がある

散乱プロファイルの典型的な形状

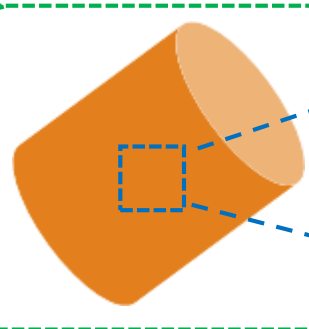
<宮城県産業技術総合センター提供>



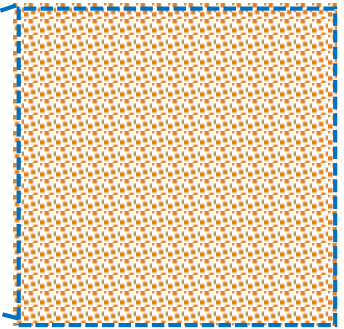
平均サイズがわかる



形がわかる



表面形状がわかる



分析試料

(株)一ノ蔵様のご協力をいただき、熟成年数の異なる原酒を入手し、タンク貯蔵時に使用の活性炭を除去するため、 $0.45\mu\text{m}$ のフィルターでろ過し、液体のまま放射光分析に供した。

測定対象は「招膳」原酒。熟成期間2年、3年、4年、5年間。

- 純米酒・速醸酀
- 精米歩合: 85%
- アルコール: 18.1~18.7%
- 日本酒度: -14 ~ -9
- 酸度: 4~4.8

※製品は割水し、アルコール15% →
熟成期間は3年以上



併せて、製法の異なる熟成酒(仮称:純米酒(きもと))の原酒、熟成期間 0年、1年、2年間の測定もおこなった。

- 純米酒・生酀
- 精米歩合: 60%
- アルコール: 16.8~17.8%
- 日本酒度: -4 ~ -1
- 酸度: 2~2.4

・測定の概要:

・あいちシンクロトロンセンター放射光施設のビームライン(BL8S3)にて、
「小角X線散乱(SAXS)測定法、広角X線散乱測定法」によって計測した。

・日本酒の分析には、あいちSRで使われている
液体セルを用いた。

この液体セルは3枚(外層2枚、中層1枚)の部品で構成され
ており、中層の1枚にOリング・高分子樹脂フィルム
(カプトン)で液漏れしないよう外層をボルトで固定し、
液体を入れる空間をつくり(容量は約100 μ l)、

これに試料を滴下し、気泡が入らないようにOリング・カプトンで覆い、残りの外層
1枚を被せ、ボルトで固定した。測定環境は室温、大気圧で行った。



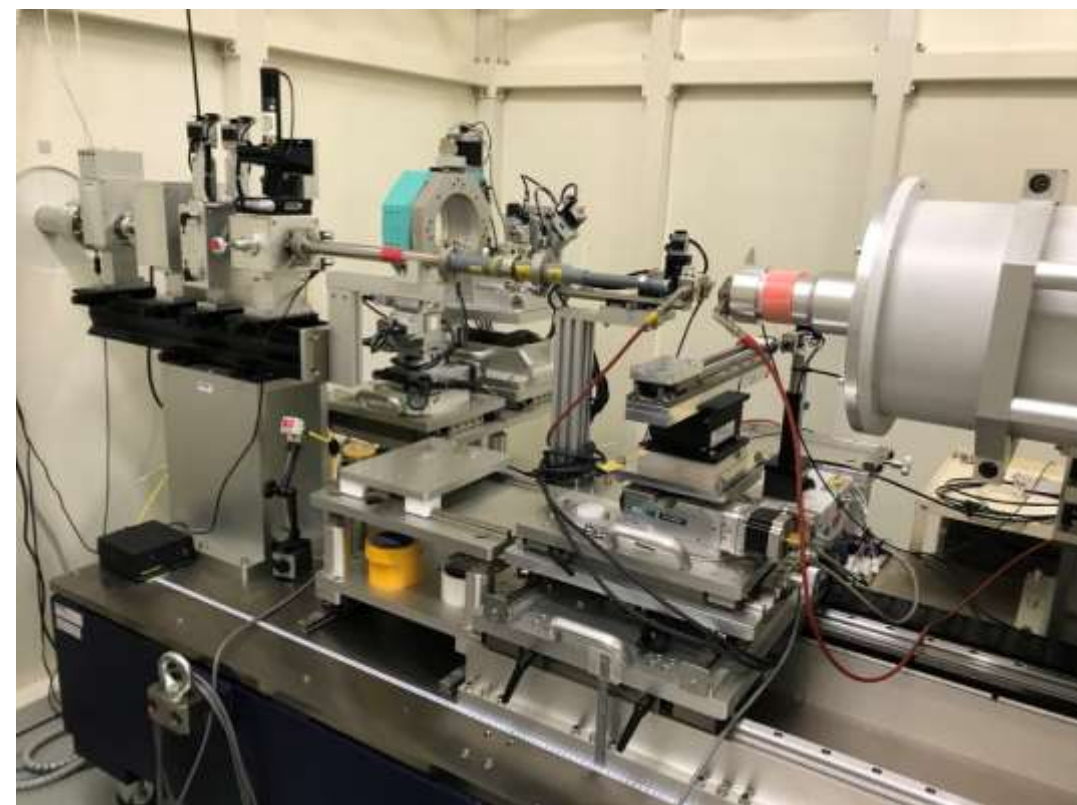
・試料は(株)一ノ蔵がタンクからガラス瓶に採取し密封したものを、東北大学
農学研究科の冷蔵室で保管し、放射光測定の前日にスクリューキャップ付き
ポリエチレン製試験管に15ml程度分取し、冷蔵状態を保ち、放射光施設に運ん
だ。室温に順化したのち、0.45 μ mのフィルターで濾過し、測定に供した。

BL8S3 実験風景

「あいちシンクロトロン光センター」

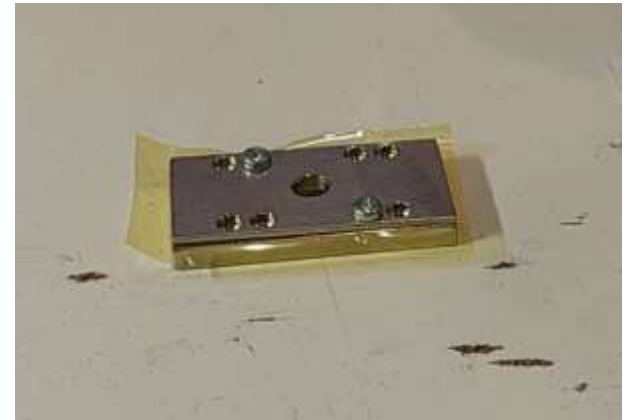


「あいちシンクロトン光センター」

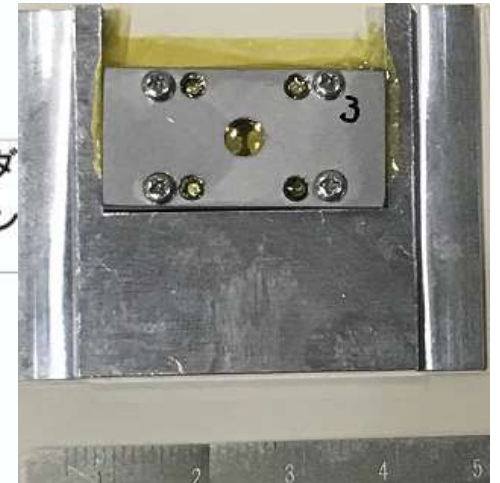


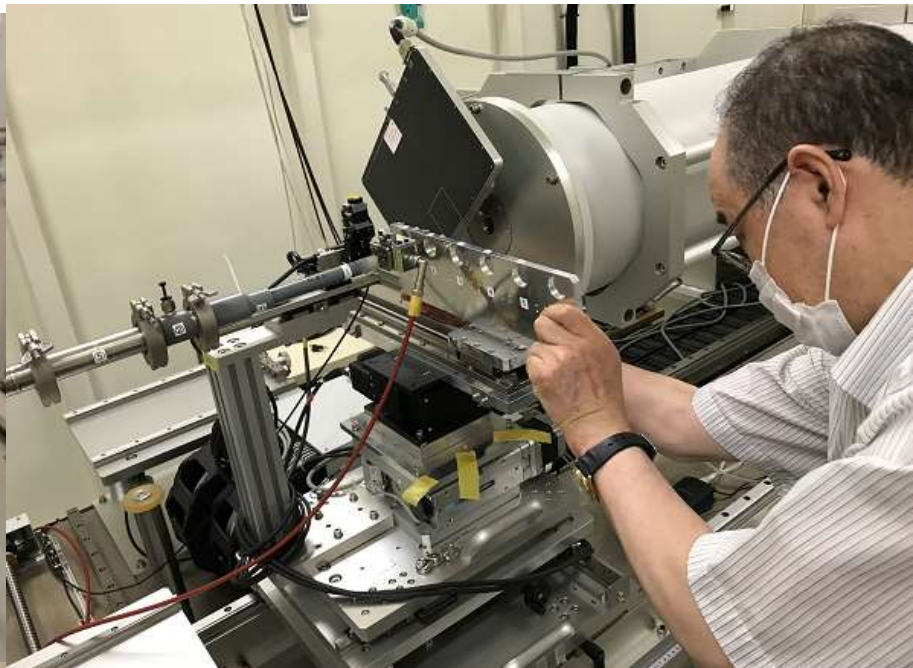
「あいちシンクロトロン光センター」

6連サンプルチェンジャー



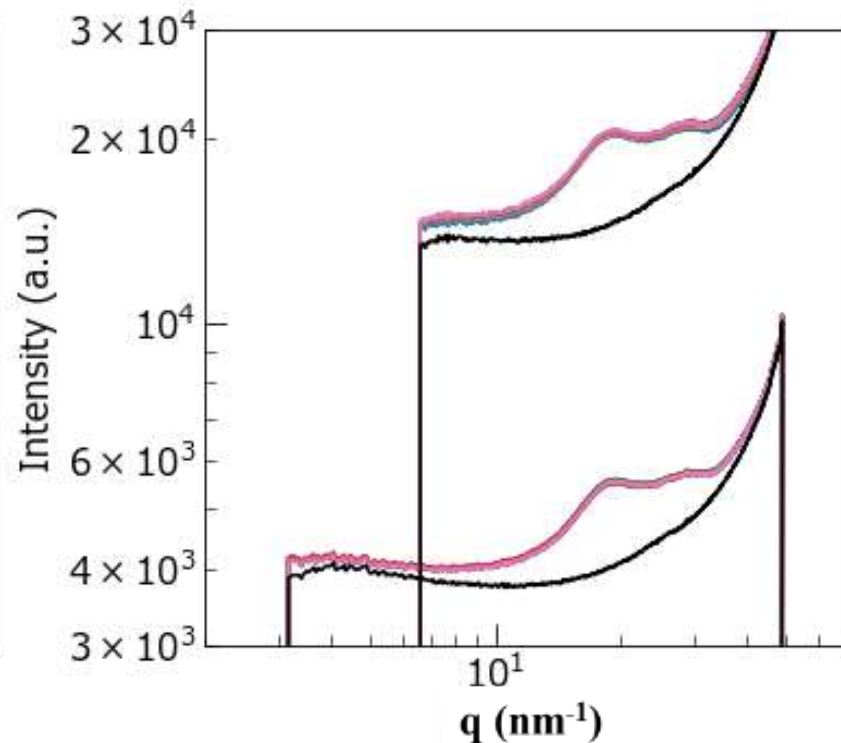
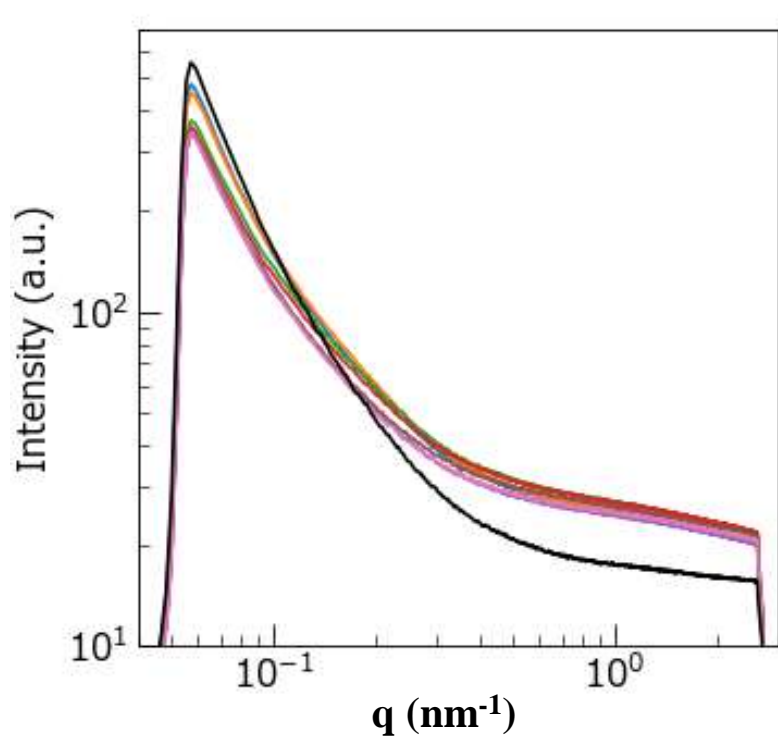
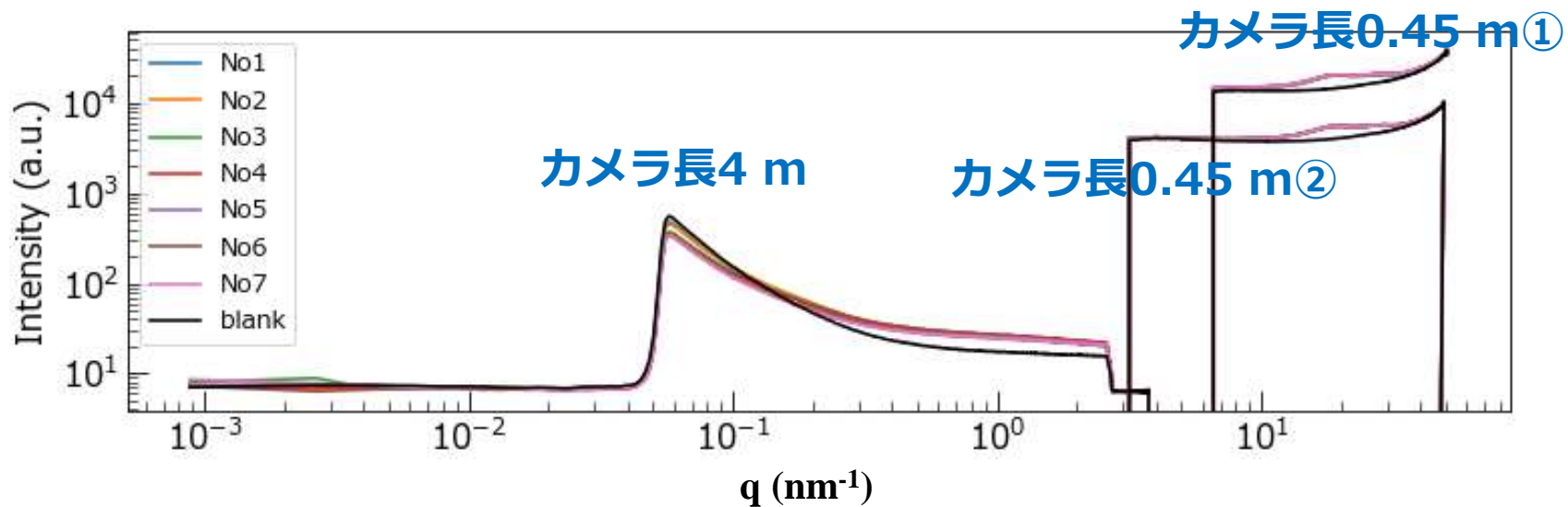
付属サンプルホルダ
ほか、スライドマウン





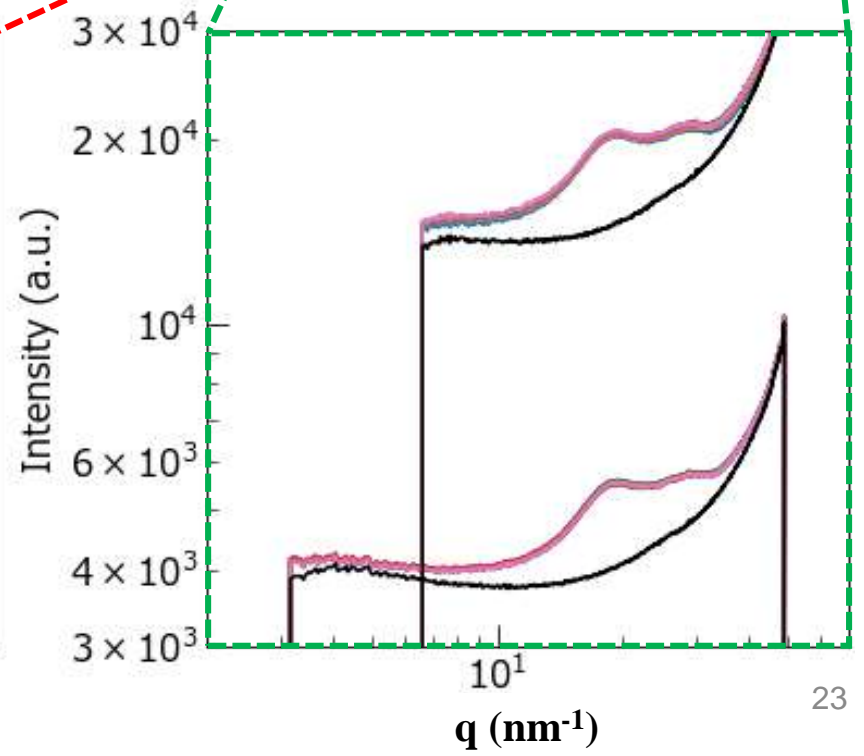
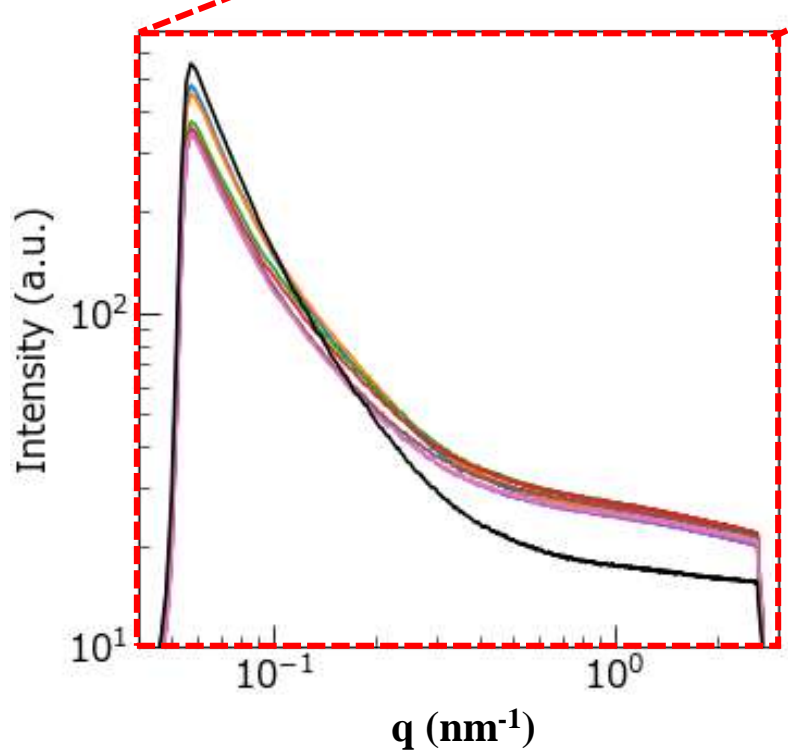
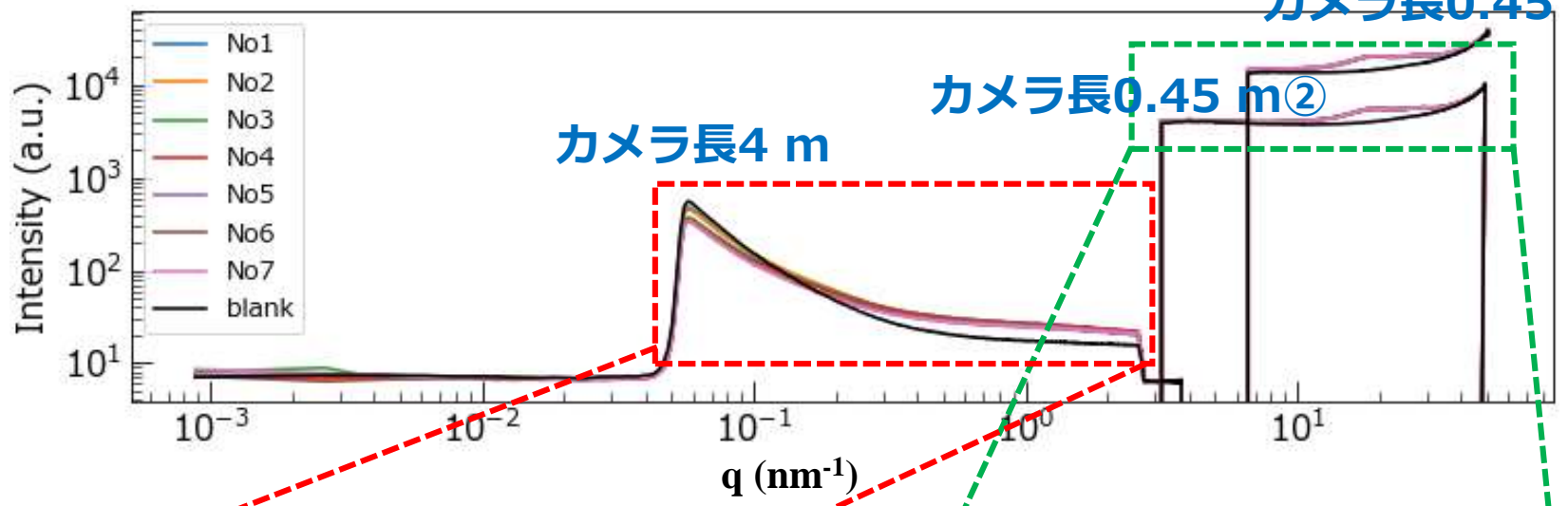
「あいちシンクロトロン光センター」

未処理プロファイル

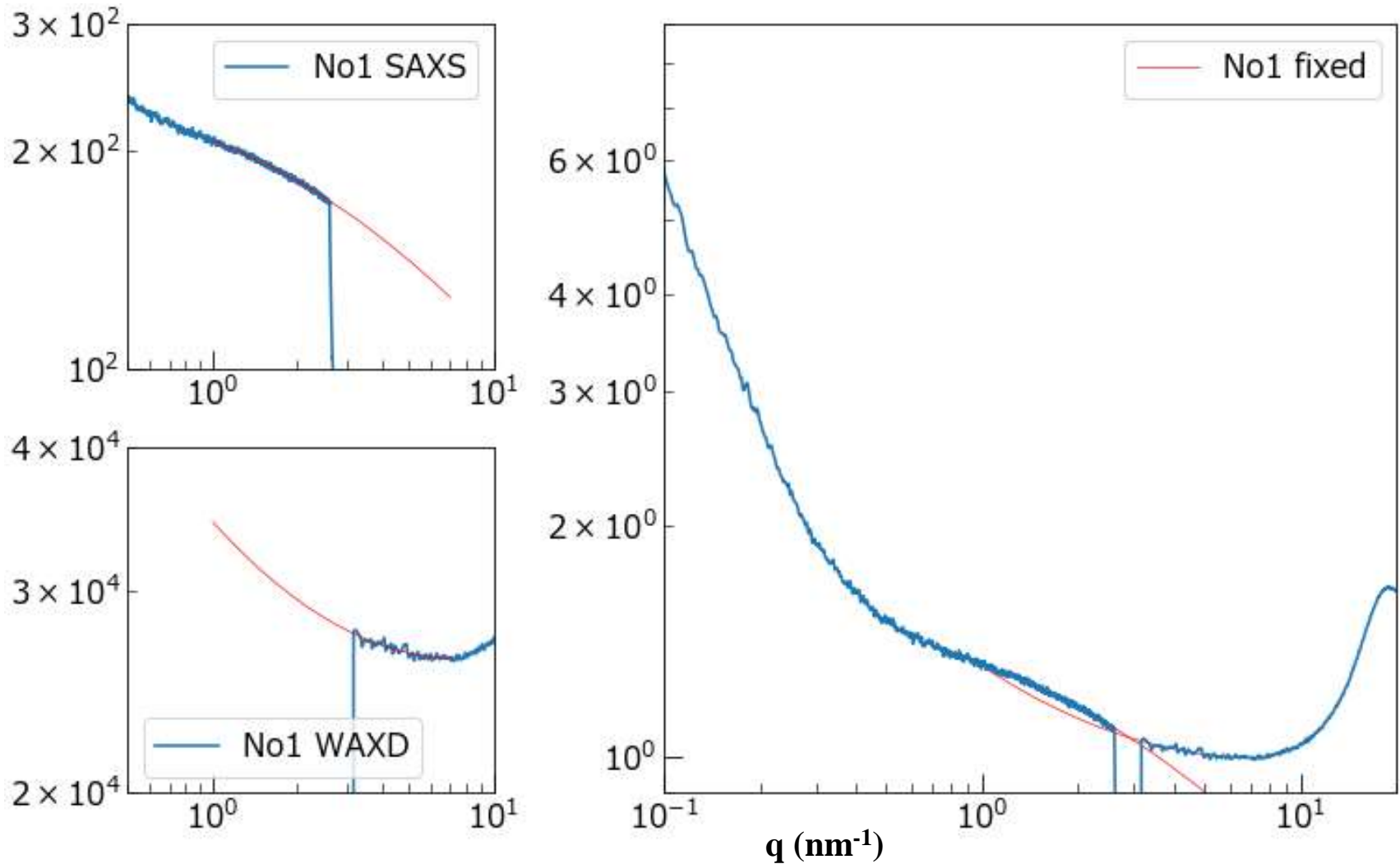


未処理プロファイル

カメラ長0.45 m①

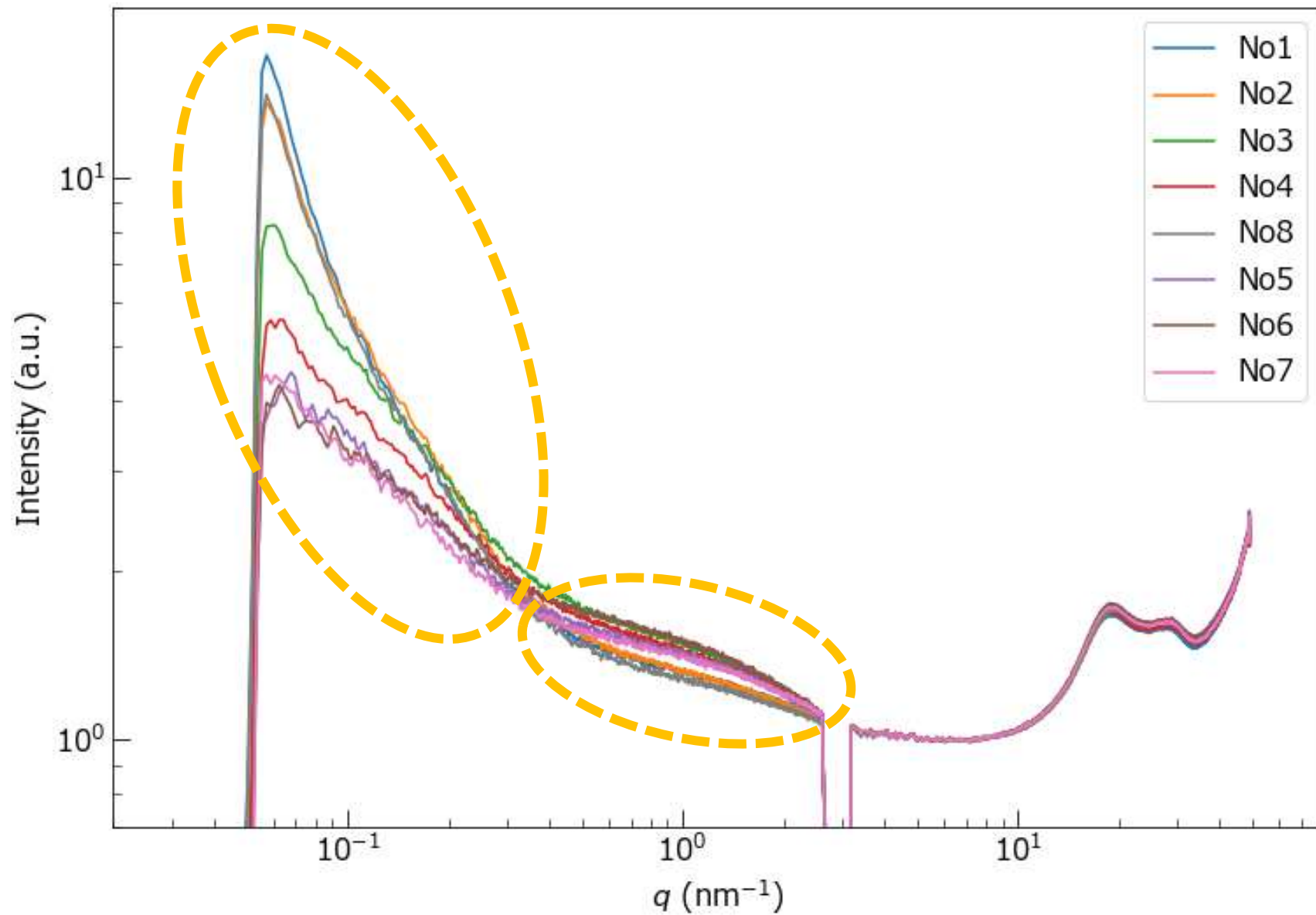


異なる検出器からのデータの連結（一例）

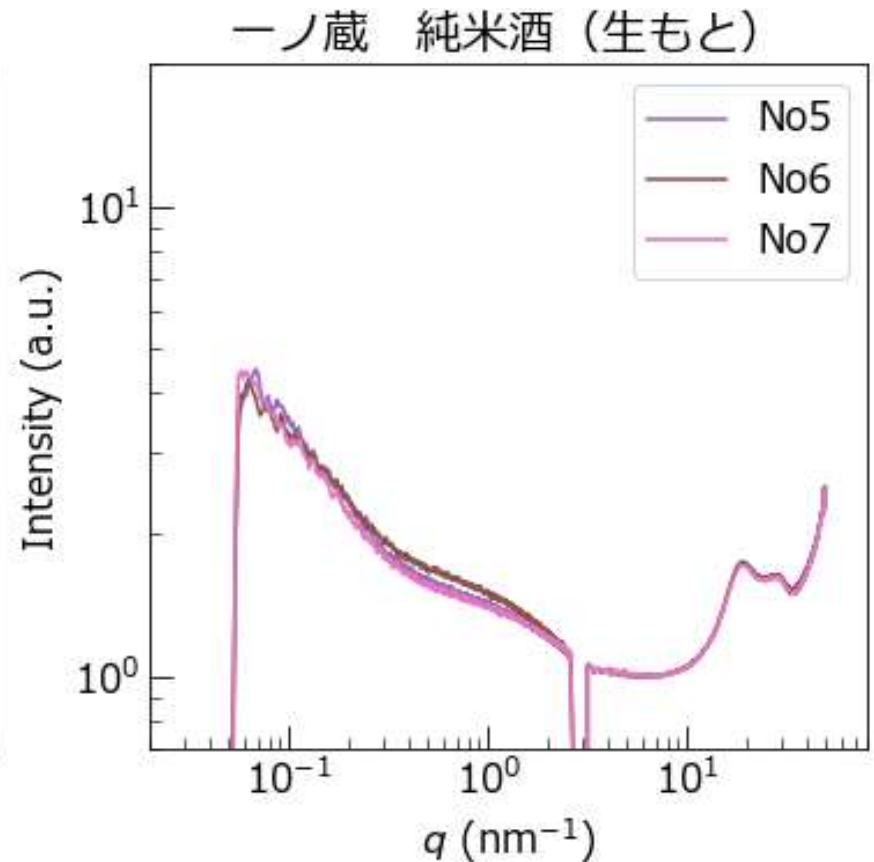
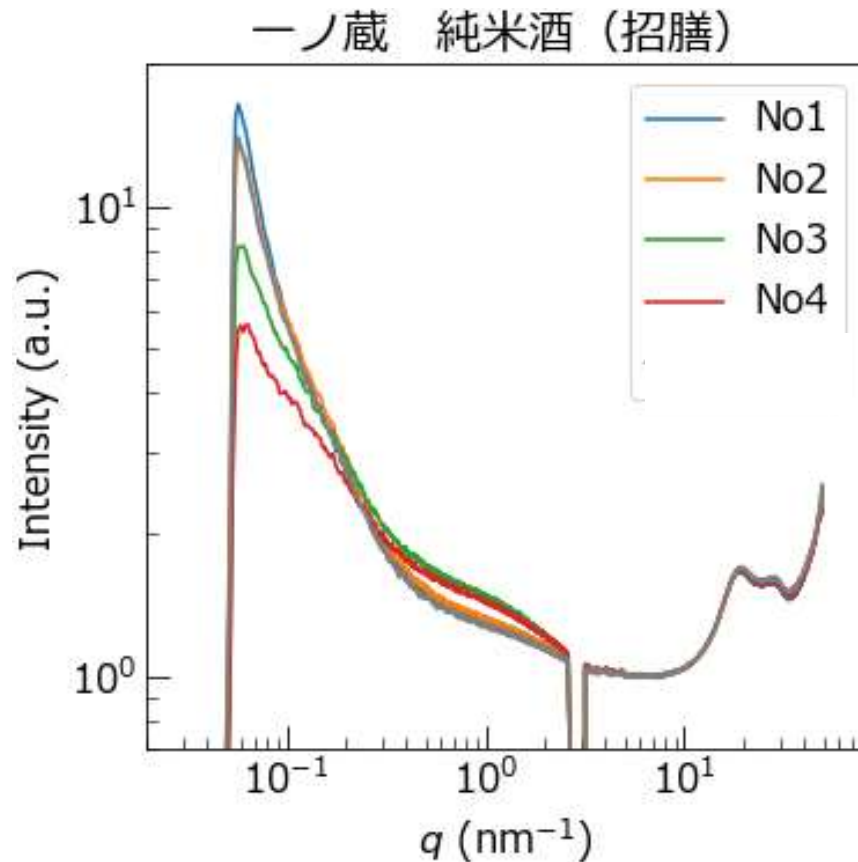


1. SAXS, WAXDそれぞれの端を外挿（2次関数でfit）
2. ギャップの中心（ 2.9 nm^{-1} とした）の値で規格化

補正済みデータ全体像



招膳と生もとの比較



- 「招膳」において、小角領域 (= 大きい粒子を反映) に顕著な構造。熟成年数が増すごとに小角領域の強度は低下し、代わって広角領域の強度が増大。
- 「生もと」では、小角領域の構造は小さい。熟成年数依存性もほぼ無い。

測定試料（純米酒 熟成年数2～5年 原酒）

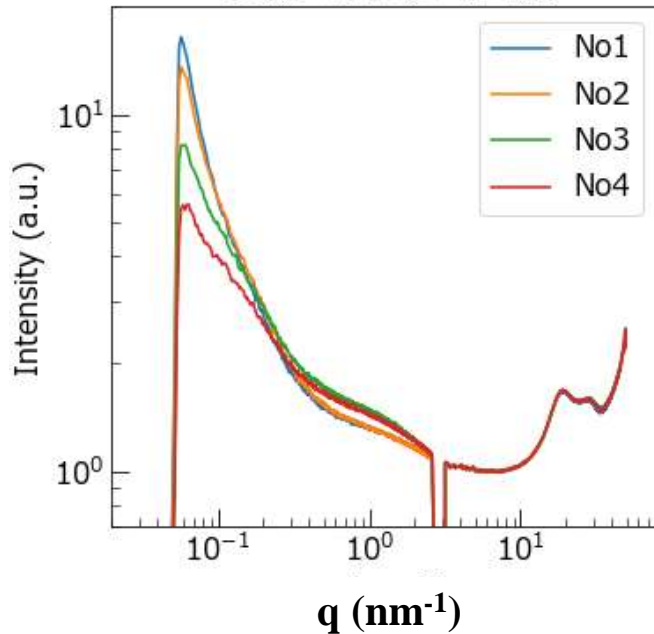
官能評価：品温は18～20℃（室温程度）

試料No.	種別	熟成 年数	官能評価	
			香り	味
1	純米酒 招膳	2年	軽快な エステル香	酸味が浮く 不調和
2	純米酒 招膳	3年	エステル香 + 弱熟成香	軽さ残るが 深みが出初め
3	純米酒 招膳	4年	熟成香	マイルド 深み・幅あり
4	純米酒 招膳	5年	深みのある 熟成香	マイルド 深み・幅あり

試料およびデータは（株）一ノ蔵 提供

現時点までのまとめ

一ノ蔵 純米酒 (招膳)



- 熟成年数の異なる日本酒のX線小角散乱 (SAXS) 実験を、あいちシンクロトロン光センターにて実施した。
- 熟成に伴って生じる変化が、SAXSによって定量的に捉えられる可能性が見えてきた (構成化学成分の分析値とは平行な関係にはなかったが、ナノレベルサイズの生成物の変化が観察できる可能性)。
- 同時に、「生きている」試料ゆえの取扱いの難しさも示唆された。

(⇒ 現在、再現性について確かめることによって、計測結果の確かさを検証しようと計画している。)

今後の展望

- 日本酒の分子状態を観察して評価するという放射光計測による新たな客観的風味評価手法が、市場拡大に利用できるよう実用化していきたい。
- この客観的風味評価法を確立することが先決であるが、将来これを業界に普及していきたい。すなわち、こうした客観的な評価法の普及が全国規模で諸外国の食生活に各々合った日本酒の製品化及び輸出にも繋がりが、宮城県および全国の食産業の振興に寄与する可能性がある。
- 今回の取組では新しい測定処理法の確立も目指しているため、知的財産取得の可能性がある。