

# X線回折 / 赤外分光同時測定システムの開発と ココアバターの融解過程の観測

奥野真里, 江畑翔一, 西川寿規, 小川裕彌, 矢野陽子\*

## Development of Simultaneous Measurement System for X-Ray Diffraction/Infrared Spectroscopy and its Application to Study of Melting Behavior of Cocoa Butter

Mari OKUNO, Syoichi EBATA, Toshiki NISHIKAWA, Yuya OGAWA  
and Yohko F. YANO\*

Graduate School of Science and Engineering, Kindai University  
3-4-1 Kowakae, Higashiosaka City, Osaka 577-8502, Japan

(Received 27 December 2018, Revised 8 February 2019, Accepted 11 February 2019)

Crystal structure of a molecular assembly is related to the molecular conformation. FT-IR spectroscopy is a powerful tool for investigating molecular conformations. We have developed an energy-dispersive X-ray diffractometer to combine a commercial-use FT-IR spectrometer. The energy-dispersive X-ray diffractometer is equipped with a 3 kW tungsten sealed tube and a Cadmium Telluride diode X-ray detector. The incident X-ray beam is irradiated onto the sample stage of ATR-FTIR spectrometer. It has been applied to study the structural changes in the melting process of cocoa butter. We found that the crystalline cocoa butter melts associated with the trans-gauche conformational transition in the molecular chain.

**[Key words]** Energy-dispersive X-ray diffraction, FT-IR, Cocoa butter

分子集合体の結晶構造は分子の構造に関係している。分子構造の研究にはフーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) が広く用いられている。そこで我々は市販の FT-IR を組み合わせたエネルギー分散型 X 線回折装置を開発した。エネルギー分散型 X 線回折装置は、X 線源として 3 kW のタングステンターゲットの X 線管球をもちい、検出器には Cd-Te 放射線検出器をもちいた。また入射 X 線が ATR-FTIR 装置の試料位置に照射されるように設計した。その結果ココアバターは、脂肪酸の炭化水素鎖がトランス型からゴーシュ型へ変化し、それとともに融解することを確認した。

**[キーワード]** エネルギー分散型 X 線回折, FT-IR, ココアバター

### 1. はじめに

物質の分子構造は、官能基、幾何異性、コン

フォメーション、水素結合、化学結合の状態、周囲の環境などによって決まり、固体構造と密接な関係がある。X 線結晶構造解析は、分子構

造を知るための有力な手段であるが、各原子の座標を精密に決定できる反面、良質な単結晶が必要なことや多数のブラッグ反射点の測定が必要なことから測定に時間がかかり、構造の転移などのダイナミクスを捉えることは難しい。一方、赤外吸収分光法は、分子振動を観測することによって、分子内の化学結合の状態を知る手法である。FT-IR 分光計を使えば数秒で測定が完了するため、分子構造の同定のみならず、構造転移を敏感に捉えることができる。しかしながら、化学結合の状態から局所的な構造を知ることができても、分子全体の構造や分子同士の配置を知ることは難しい。

結晶性油脂には、しばしば多形現象が観測される。結晶多型とは、1つの分子が異なる種類の結晶を析出し、結晶多型同士で相互に相転移する現象である。結晶構造により可塑性、展延性、ホイップ性、耐熱性、耐冷性などの機能が異なる<sup>1)</sup>。そこで、機能性の本質を理解するためには、それぞれの状態における脂質の分子構造と分子同士の相互作用を反映した結晶構造を調べることが重要になる。これまで、X線構造解析や赤外吸収分光法は、結晶多型の理解に重要な役割を果たしてきた。ところが、結晶化・融解挙動や多型転移は温度履歴に大きく依存するため、独立に測定された結果同士を単純に比較できないという問題も生じている<sup>2)</sup>。よって、分子構造と結晶構造を同時に観測することが非常に重要になる。

本研究では、X線回折と赤外吸収分光測定を同時に行えるシステムを開発した。近年、試料を特殊なセルに封入する必要のない全反射吸収法(ATR法)を用いたFT-IR分光光度計<sup>3)</sup>が安価に販売されている。今回我々は、エネルギー分散型のX線回折装置を製作して両者を組み合

わせた。開発した装置の性能評価として、結晶性油脂の代表であるココアバターの融解過程について観測した。

## 2. 開発した装置の概要

エネルギー分散型のX線回折測定装置は角度分散型に比べて測定時間が短く、試料の動的変化を捉えることが可能という利点がある。そのため、フーリエ変換赤外分光装置(Thermo Fisher Scientific社 Nicolet iS5 FT-IR)と同時に測定可能な白色X線を用いたエネルギー分散型X線回折測定装置を設計・製作をした(Fig.1, Photo.1)。X線源には3kWのタングステンターゲットのX線管球を用い、検出器にはCd-Te放射線検出器(EMFジャパン株式会社 EMF123-0型)を用いた。管電圧を50kVに設定することにより、10–50keVの連続X線を検出することができる。またFig.1のように入射X線アームと検出器アームを上から吊るし、FT-IR装置が組み込めるスペースを確保している。入射X線アームと検出器アームはFT-IR装置の試料台を回転中心としたスイベルステージに載っている。一方、X線管球は入射X線アームとは独立しており、鉛直方向のみ移動できる。入射X線アームには、水平方向の2組のタンタル製スリット、鉛直方向の1組のタンタル製スリットそしてソーラーズスリットを搭載しており、それによりX線源からの発散X線は平行ビームに整形される。また検出器アームにも同じ組み合わせのスリットを搭載している。さらに検出器アームは回転ステージに載っていて $2\theta$ に回転することが可能である。一方、FT-IR装置はiD7 ATR アクセサリを使用することにより、ダイヤモンドプリズムを用いたATR光学配置に設定した。

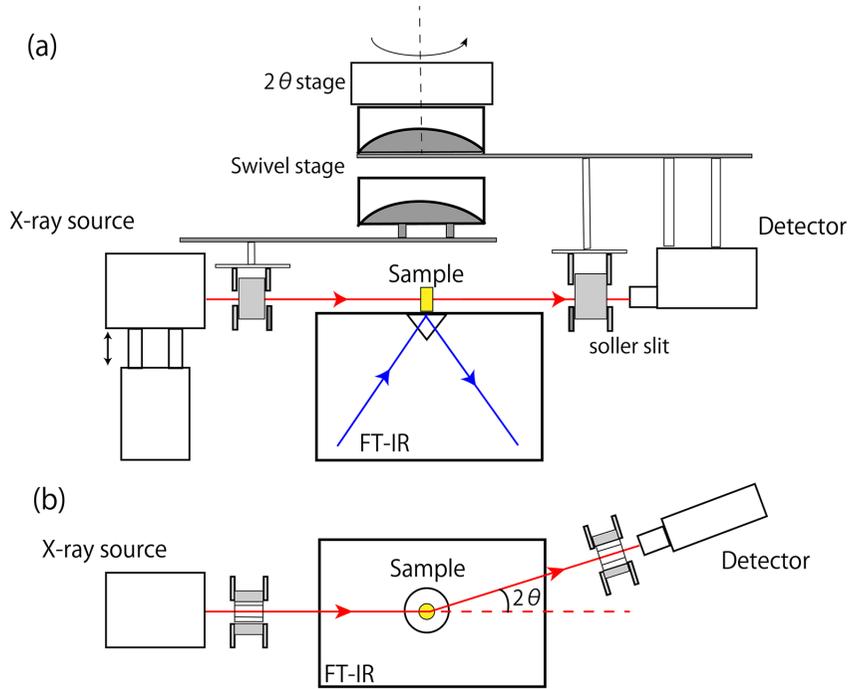


Fig.1 本研究で開発した X 線回折 / 赤外分光同時測定装置. (a) 側面図 (b) 上面図.

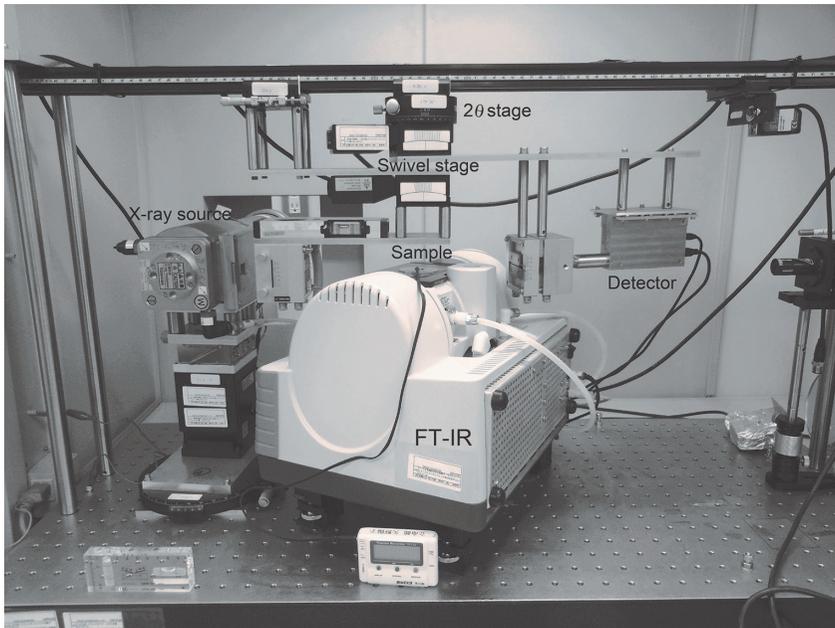


Photo.1 X 線回折 / 赤外分光同時測定装置の外観.

### 3. 測定例:ココアバターの融解過程の観測

#### 3.1 ココアバターの転移過程

ココアバターはチョコレートの主原料であり、トリアシルグリセロール (TAG) と呼ばれる油脂分子から成る。Fig.2 (a) に化学構造式を示す。3本の脂肪酸鎖のうち、中央のオレイン酸鎖が反対方向に配置した音叉のような構造をしている。また脂肪酸鎖内にある炭化水素鎖は Fig.2 (b) のように、トランスジグザグ構造またはゴーシュ型をとる。TAG の結晶には、 $\alpha$ 、 $\gamma$ 、 $\beta'$ 、 $\beta$  の順に安定な結晶多型が存在する。各相間の転移は、Fig.3 (a) の相転移スキーム<sup>4)</sup>に見られるように、固相転移だけでなく、融液を媒介とした転移も起こる。Fig.3 (b) に各相の粉末 X 線回折パターン<sup>5)</sup>を示す。また、Fig.2 (a)

の TAG 分子をメチル末端側から見た結晶構造<sup>1)</sup>を Fig.3 (c) に示す。 $\alpha$  型は六方晶 ( $H$ )、 $\beta'$  型は斜方垂直型 ( $O_{\perp}$ )、 $\beta$  型は三斜晶平行型 ( $T_{//}$ ) である。 $\alpha$  型では炭化水素鎖のジグザグ平面がランダムであるのに対し、 $\beta'$  型では互いに直交し、 $\beta$  型では平行配置をとっている。また Fig.3 (b) のピーク  $d_1$ 、 $d_2$ 、 $d_3$  は Fig.4 (c) の面間隔  $d_1$ 、 $d_2$ 、 $d_3$  を示しており、 $\alpha$  相の面間隔  $d_1$  は  $\beta$  相の面間隔  $d_1$  に相当している。これまで、粉末 X 線回折によって各相の間の構造転移をリアルタイムで観測した例が多数報告されている<sup>2, 4, 6-9)</sup>。一方、赤外吸収スペクトルについては、各相について独立に観測した例<sup>10, 11)</sup>はあるが、転移過程を捉えた報告はほとんどない。

#### 3.2 実験方法

試料には粉末状のココアバター (山桂産業株

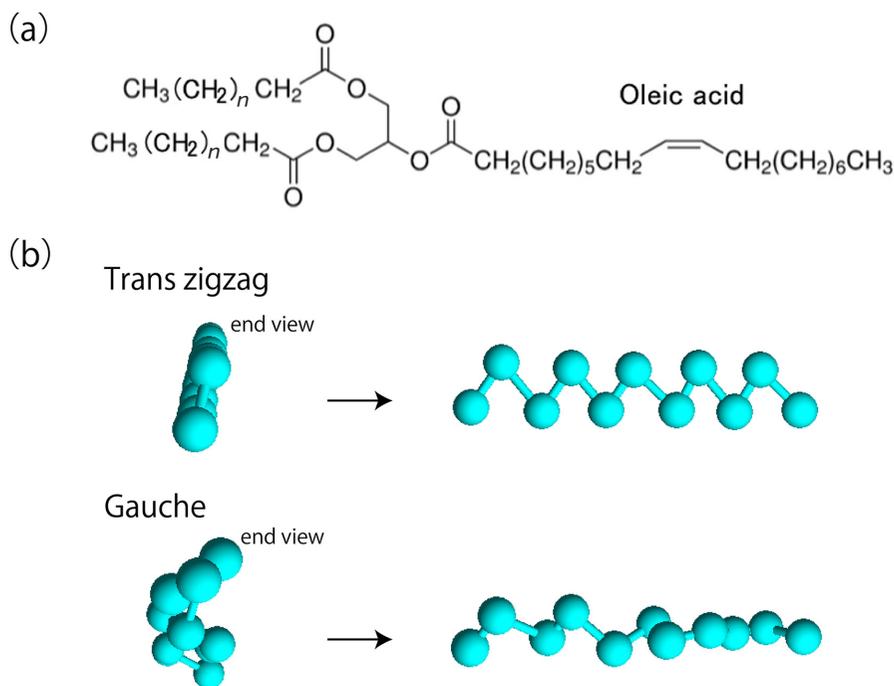


Fig.2 (a) トリアシルグリセロール。ココアバターの主成分は  $n=16$  と  $18$  である。(b) 脂肪酸鎖内の炭化水素鎖の構造。

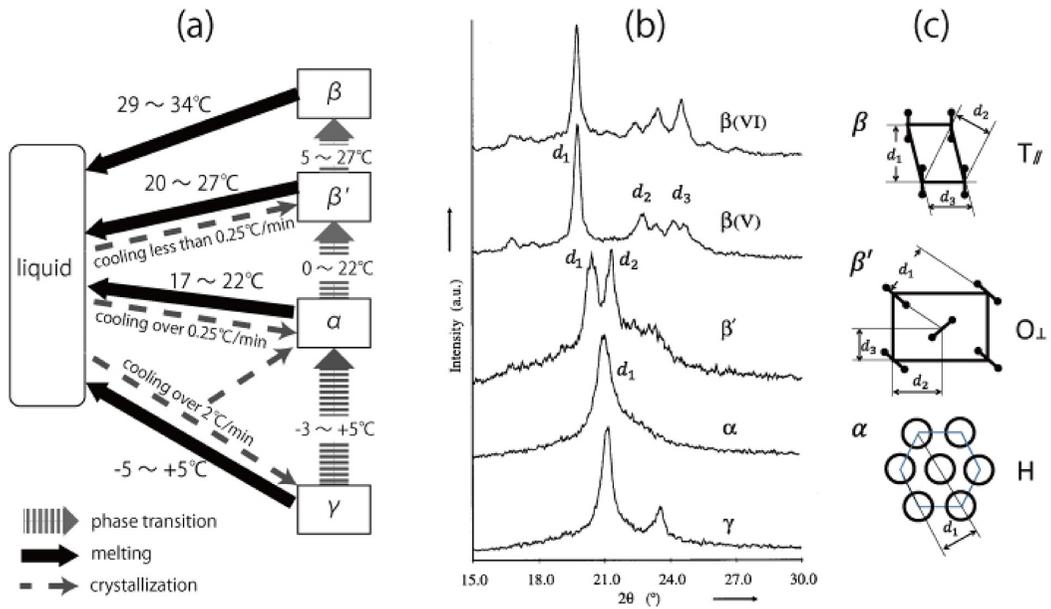


Fig.3 (a) ココアバターの相転移スキーム<sup>4)</sup>, (b) ココアバターの粉末 X 線回折 (Cu K $\alpha$ , 文献 5 の許可を得て転載), (c) 各相の結晶構造<sup>1)</sup>.

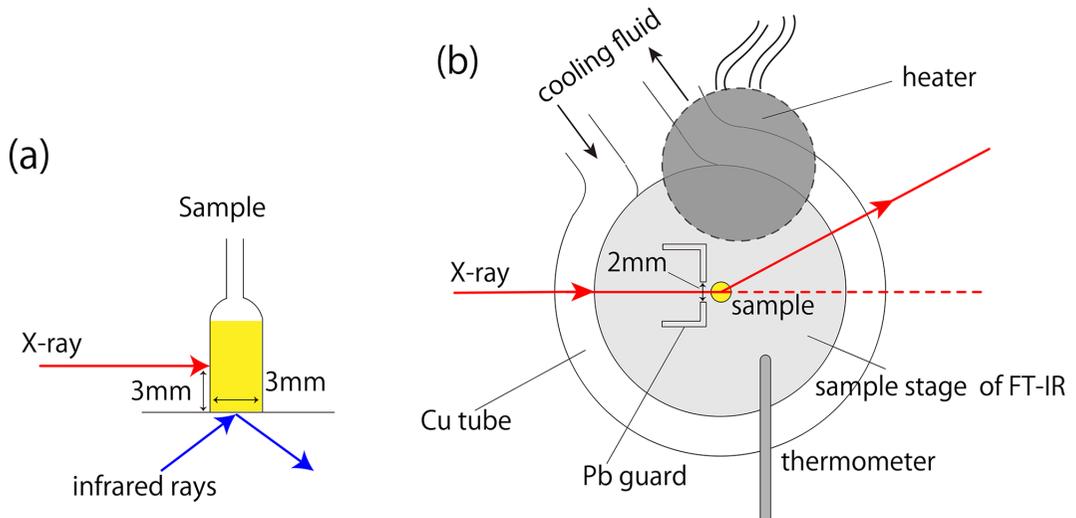


Fig.4 試料のセットアップ. (a) 試料サイズと X 線および赤外線 の照射位置 (側面図), (b) FT-IR 試料台の温度コントロール (上面図).

式会社) を用いた. ココアバターは直径 3 mm のソーダガラス製のキャピラリーヘッドに詰められた. Fig.4 (a) のように試料には下から 3 mm の

ところに X 線が照射される. FT-IR 試料台のダイヤモンドのプリズムの上に試料を設置し, タンタルスリットを越えたところで発散した X 線

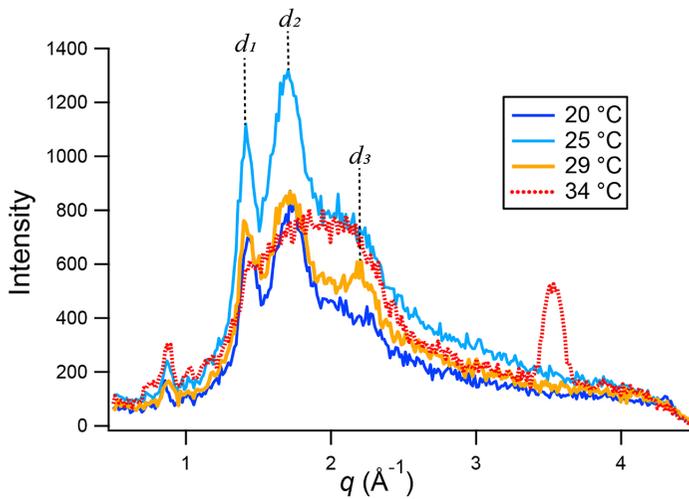


Fig.5 ココアバターの粉末 X 線回折パターンの温度変化.

を試料直前でコリメートするために 2 mm の隙間がある厚さ 0.5 mm の鉛のガードを X 線上流側に設置した (Fig.4 (b)).

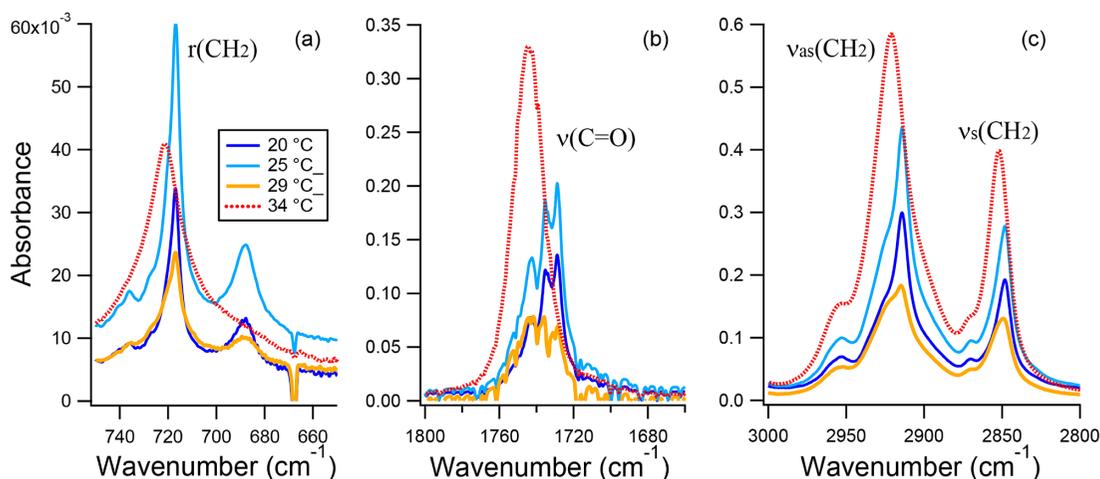
X 線回折では X 線管球の管電圧を 50 kV, 管電流を 20 mA とし,  $2\theta = 10^\circ$  で 1 回の測定時間を 60 分に設定した. また FT-IR 測定条件はスキャン回数 100 回, 分解能  $1\text{ cm}^{-1}$  とした. 一連のスペクトルを得るのに要する時間は 5 分である. 測定開始は, X 線回折と FT-IR を同時に実行した. 測定は 20 °C, 25 °C, 29 °C, 34 °C に設定して測定を行った. 測定ごとに試料を試料台から外してバックグラウンドを測定した. FT-IR の試料台の温度が 29 °C 以下の場合には試料台の温度調節のために冷却する必要があった. そこで低温恒温水槽 NCB-1200 (東京理化学器械株式会社) に繋いだ直径 6 mm の銅パイプを試料台の周りに設置して, 0 ~ 27 °C に設定した不凍液を流し, 試料台の温度調整を行った. 銅パイプには, 試料台に接触していない部分に断熱テープを巻き, 接触する部分には熱伝導接着剤をつけ試料台に温度が伝わるようにした. 34 °C の場合では, 冷却のための銅パイプを取り外し, シリコンラバーヒーター (株式会社東京理工舎) を

試料台に設置して加熱した.

### 3.3 結果と考察

X 線回折パターンの温度変化を Fig.5 に示す. 横軸は散乱ベクトル  $q = \frac{4\pi E}{hc} \sin \theta$  ( $E$  は X 線のエネルギー,  $h$  はプランク定数,  $c$  は光速, 回折角  $\theta = 5^\circ$ ) である. Fig.3 (b) と比較すると, 20 °C では  $\beta'$  構造をとっていることがわかる. 反射ピーク位置より,  $d_1$  は 4.3 Å,  $d_2$  は 3.6 Å となり, 先行研究結果と良く一致している<sup>6,12)</sup>. 25 °C では, 反射ピーク位置は変わらず強度が増加したが, 29 °C では,  $q = 2.2\text{ Å}^{-1}$  付近のショルダーだった部分から明確なピークが見られるようになった. ピーク位置から格子間隔は 2.9 Å と求められるため, Fig.3 (b) の  $d_3$  に相当すると思われる. さらに温度を上げると 34 °C では, 3 本のピークは消滅しブロードなハローピークに変化した. なお,  $q = 3.5\text{ Å}^{-1}$  付近のピークは, シリコンラバーヒーターの Ni 線の 200 回折ピークだと思われる. これより, 始め  $\beta'$  型であった結晶構造が 34 °C では融解したとみなすことができる.

同時に測定した赤外吸収スペクトルは Fig.6 のようになった. 2920 と 2850  $\text{cm}^{-1}$  付近に観測



**Fig.6** ココアバターの赤外吸収スペクトルの温度変化. (a) CH<sub>2</sub> 横ゆれ振動  $r(\text{CH}_2)$ , (b) C=O 伸縮振動  $v(\text{C}=\text{O})$ , (c) CH<sub>2</sub> 逆対称  $v_{\text{as}}(\text{CH}_2)$  と対称伸縮振動  $v_{\text{s}}(\text{CH}_2)$ .

されるバンドはそれぞれ CH<sub>2</sub> 逆対称  $v_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ 、対称伸縮振動  $v_{\text{s}}(\text{CH}_2)$  によるものである (Fig.6 (c)). これらのバンドは温度上昇とともに高波数側にシフトしている. このことは炭化水素鎖がトランスジグザク構造からゴーシュ型に変化していることを意味する. また, 34°C でバンドが幅広くなっていることから, 炭化水素鎖の流動性が増したことを示している. 一方, 1740  $\text{cm}^{-1}$  付近に観測されるバンドは C=O 伸縮振動  $v(\text{C}=\text{O})$  によるものである (Fig.6 (b)). 温度上昇とともに高波数にシフトしている. このことは, 分子間の水素結合が弱まったことを示している. 同様に, 720  $\text{cm}^{-1}$  付近に観測される CH<sub>2</sub> 横ゆれ振動  $r(\text{CH}_2)$  も高波数シフトしていることから, 分子間のカップリングが弱まったことを示唆している (Fig.6 (a)).

以上, X線回折パターンと赤外吸収スペクトルの両方を考慮に入れると, 次のようなことがわかる. 20°C では, TAG の炭化水素鎖はトランスジグザク構造をとっていて, 分子同士のジグザク平面が互いに直交する  $\beta'$  構造をとって

る. ところが温度上昇にともなって, ゴーシュ型に変化し, 分子間の水素結合が弱まっていき, やがて融解する. 途中 29°C で  $q=2.2\text{\AA}^{-1}$  付近のブラッグピーク強度が増加したことは, Fig.3 (b) のように炭化水素鎖のジグザクが回転し,  $\beta$  型に転移する予兆が出ていたと思われる.

#### 4. まとめ

本研究では, エネルギー分散型の X線回折装置を製作し, 市販の赤外吸収分光光度計と組み合わせることによって, 結晶構造と分子構造を同時に解析する新しいシステムを開発した. 装置の性能評価として, ココアバターの融解過程の観測を行った. その結果, ココアバターを構成する脂肪酸の炭化水素鎖がトランスジグザク構造からゴーシュ型に変化することによって, 分子同士の配向が乱れて融解するということが明らかになった. このように, 我々が開発したシステムは, 複雑な分子集合体が示す相転移現象の理解に大いに役立つことが期待される.

## 謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(C)(課題番号24540444および17K05616)の補助を受けた。

## 参考文献

- 1) 佐藤清隆：油化学，**44**, 702 (1995).
- 2) 上野 総, 湊 明義, 矢野淳子, 雨宮慶幸, 佐藤清隆：放射光，**11**, 208 (1998).
- 3) 尾崎幸洋, 岩橋秀夫：“生体分子分光学入門”，(1992), (共立出版).
- 4) K. van Malssen, R. Peschar, C. Brito, H. Schenk: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 1225 (1996).
- 5) A. van Langevelde, K. van Malssen, R. Peschar, C. Brito, H. Schenk: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**, 919 (2001).
- 6) G. M. Chapman, E. E. Akehurst, W. B. Wright: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 826 (1971).
- 7) K. Sato, T. Arishima, Z. H. Wang, K. Ojima, N. Sagi, H. Mori: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 664 (1989).
- 8) K. Sato: *Chem. Eng. Sci.*, **56**, 2255 (2001).
- 9) A. G. Marangoni, S. E. McGauley: *Crystal Growth & Design*, **3**, 95 (2003).
- 10) J. Yano, S. Ueno, K. Sato, T. Arishima, N. Sagi, F. Kaneko, M. Kobayashi: *J. Phys. Chem.*, **97**, 12967 (1993).
- 11) J. Yano, K. Sato: *Food Res. Int.*, **32**, 249 (1999).
- 12) K. van Mallessen, A. van Langevelde, R. Peschar, H. Schenk: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76**, 670 (1999).