
卵黄レシチン・リゾレシチン混合ミセルを用いた 低温ナノエマルジョンの調製方法の研究

東京海洋大学海洋生命科学部・教授 松川 真吾

■ 緒言

卵黄レシチンを乳化剤として用いた場合、一旦、エマルジョン状態になると極めて強固な界面を形成し、機械的ストレスや長期保存において高い安定性を示す。しかし、単離された卵黄レシチンは水溶液中ではベシクルなどの平板状ミセルを形成するため、分散安定性が悪く、沈殿しやすい。また、油の乳化プロセスにおいては、低温では十分な乳化能を示さないために、50°C程度まで加温する必要があり、さらに乳化後においても、過剰のレシチンが水相に残ると、低温において平板状ミセルを形成するために、凝集・沈殿などの不安定化を招く。一方、卵黄リゾレシチンは水溶液中において安定な球状ミセルとなり、低温でも容易に油を乳化することが出来るが、そのエマルジョンはレシチンほどの高い安定性は持たない。

これまでに、卵黄レシチンとリゾレシチンを用いたナノエマルジョンの調製方法とその物理化学的な性質についての基礎的研究が行なわれてきたが、その中で、レシチンとリゾレシチンの水溶液を混合して、50°C程度まで加熱するとヒモ状ミセルを形成してゲル化する事が見出されている¹⁾。また、さらに詳細な検討により、このヒモ状ミセルはせん断応力下で容易に切断されて、溶液は低粘度化し、放置すると再びゲル化する事が分かった。このことは、低温下で機械的に切断されたヒモ状ミセルは熱力学的に不安定な状態にあり、徐々に安定な状態へと変わっていく事を示しており、ここで油溶性分を含む油を添加すると容易に低温でナノサイズのエマルジョンを形成できる可能性を示している。

本研究では、LPC と PC の混合ミセル溶液を用いて、低温での乳化により、粒径の揃った安定なナノエマルジョンの作成方法を検討する。この乳化方法は、熱的に不安定な油溶性有効成分のナノエマルジョン化に有効であり、食品、医療、コスメティックなどの各分野においての応用利用が期待される。

■ 方法

1. 混合 LPC/PC ミセル溶液によるひも状ミセル形成の確認

卵黄由来の高純度レシチン(PC)とリゾレシチン(LPC)の64mM ミセル溶液を調製し、さらに、これらを混合して混合割合(LPC/PC; モル分率)の異なる試料を調製した。これらの混合 LPC/PC ミセル溶液を加熱したのちに、温度を下げながら透明性と粘度を測定した。さらに、NMR 測定を行って、混合による線形の変化を確認した。

2. 混合 LPC/PC ミセル溶液を用いた低温でのナノエマルジョンの調製

64mM 混合 LPC/PC ミセル溶液(LPC/PC=42/22)を調製し、加熱と冷却によってひも状ミセルを形成させた溶液に大豆油(全体の10%)を添加して、ハイパワーホモジナイザーによってエマルジョンを調製し、粒径分布を測定した。さらに、シリコンオイルを重水中に乳化させた試料について、NMR 測定(400MHz、ブルカー)を行って、混合による線形の変化を確認した。

3. ナノエマルジョン界面における LPC/PC の見積もり

重水(比重1.1)を用いて混合 PC/LPC ミセル溶液を調製し、ドデカン(比重0.75)を添加し、ハイパワーホモジナイザーによってエマルジョンを作成し、遠心分離によって分離した後、薄層クロマトグラフィー/FID、イアトロスキャン(LSC メディエンス)によって、LPC/PC を評価した。さらに、油滴表面における LPC/PC を見積もるために、¹H NMR 測定を行った。

■ 結果

1. 混合 LPC/PC ミセル溶液によるひも状ミセル形成の確認

混合 LPC/PC ミセル溶液は低温での混合・分散直後は白く懸濁していたが(図1の上段)、80°Cまで加熱すると透明になった。その後、LPC/PC=44/20 と LPC/PC=40/24 との混合ミセル溶液では、30°C以下に冷却すると透明性を保ったままゲル化した。他方、LPC/PC=36/28 と LPC/PC=32/32 の混合ミセル溶液では、30°C以下に冷却すると白濁し、スラリー状となった。

¹H NMR 測定では LPC 水溶液ではシャープなピークが見られたが、PC 水溶液ではややブロード化し、さらに、混合ミセル溶液では著しいブロード化が見られた(図 2)。さらに、³¹P NMR 測定においても、混合ミセル溶液では著しいブロード化が見られた(図 3)。

2. 混合 LPC/PC ミセル溶液を用いた低温でのナノエマルジョンの調製

LPC/PC のことなる 64mM 混合 LPC/PC ミセル溶液を調製し、80°C で溶解した後温度を下げながらゲル化挙動を観察したところ、LPC/PC=42/22 の時にもっとも弾性の高いゲルを形成した。そこで、LPC と PC 単独の水溶液及び 64mM 混合 LPC/PC ミセル溶液(LPC/PC=42/22)を用いて大豆油をハイパワーホモジナイザーを用いてエマルジョンを作成した。その結果、混合ミセル溶液では短い処理時間で小粒径のエマルジョンを調製できることが分かった(図 4)。但し、混合ミセル溶液をエマルジョン化の前に高シェアで攪拌し、ひも状ミセルを短く切断した後大豆油を添加してエマルジョンを作成したが、粒径分布に差は見られなかった。また、ハイパワーホモジナイザーによる乳化の前に高シェアミキサーで予備乳化を行ったところ、LPC と PC 単独及び混合ミセルによるエマルジョンの粒径分布に差は見られなかった。

¹H NMR 測定では、LPC によるエマルジョンではシャープなピークが見られ、PC によるエマルジョンではやや線幅が広く、混合ミセル溶液によるエマルジョンでもほぼ同程度の線幅だった(図 5)。

3. ナノエマルジョン界面における LPC/PC の見積もり

遠心分離後の透明な下部溶液を取り出し、イアトロスキャンで LPC と PC の分率を定量しようとしたところ、油成分であるドデカンが混入していたため、水溶液中の LPC/PC の正確な定量が出来なかった。

■ 考 察

1. 混合 LPC/PC ミセル溶液によるひも状ミセル形成の確認

加熱前の混合溶液では、LPC の球状ミセルと PC の平板状ミセルが共存しており、後者が柵状の構造を形成するために濁りを生ずると考えられる。これらを 80°C まで加熱すると、柵状の構造が消失して透明になり、温度を 30°C まで下げると LPC/PC = 44/20 と LPC/PC = 40/24 との混合ミセル溶液ではひも状ミセルとなるためにゲル化し、一方、LPC/PC = 36/28 と LPC/PC = 32/32 の混合ミセル溶液では、平板状ミセルが多くあるために柵状構造を再生し、白濁したと考えられる。

NMR の結果から、LPC は球状ミセルを形成しながら高い分子運動性を保っているのに対し、PC は平板状のミセルを形成しているために、分子運動性が抑制されていると考えられる。さらに、混合ミセル溶液ではひも状ミセルを形成しているために、その運動性は極端に低下していると考えられる。また、¹H NMR スペクトル中の 1.3ppm 付近の脂肪酸残基からのピーク、3.2ppm のコリン残基のピークさらに ³¹P NMR のピークのすべてにおいて広幅化していることから、LPC と PC の親水部と疎水部の両方において分子運動性が低下していると考えられる。

2. 混合 LPC/PC ミセル溶液を用いた低温でのナノエマルジョンの調製

LPC と PC の割合が 42/22 の時に最もひも状ミセルが形成されやすく、これと異なる場合には過剰の LPC か PC が残り、球状ミセルまたは平板状ミセルを形成していると考えられる。

また、PC の平板状ミセルの溶液はハイパワーホモジナイザーによる乳化では短時間では十分に乳化が出来ないのに対し、LPC と混合してひも状ミセルとすることで短時間での乳化が可能になったと考えられる。但し、ひも状ミセルを高シェアで切断してもあまり差が無かったのは、ひも状ミセルは未切断でも高い乳化能を持っているために長短による差が見られなかったと考えられる。

NMR の結果からは、LPC と PC のピークの線幅はあまり変化がなく、これらの分子運動性には油滴の界面では混合による影響がほとんどないと考えられる。

3. ナノエマルジョン界面における LPC/PC の見積もり

遠心分離により透明な溶液部を取り出すことが出来たが、この中には光の波長(約 500nm)以下のナノエマルジョンが混入していると考えられる。小粒径のエマルジョンは比表面積が大きいため、微量であっても無視できないほどの誤差を与えると考えられる。

■ 要 約

混合ミセル溶液において、LPC と PC の割合が適切な場合にはひも状ミセルを形成し、ハイパワーホモジナイザーによるエマルジョン作成においては、処理時間を短縮できることが分かった。但し、ハイシェアミキサーによってひも状ミセルを切断した場合でもエマルジョン形成にはあまり差が見られなかった。

■ 文献

- [1] N. Fafaungwithayakul, U. Klinkesorn, T. Brenner, N. Vichakacharu, S. Matsukawa (2014), Thermally induced gelation of mixed phosphatidylcholine aqueous solution containing wormlike micelle structure, *Japan J. of Food Engineering*, 15, 233-242.

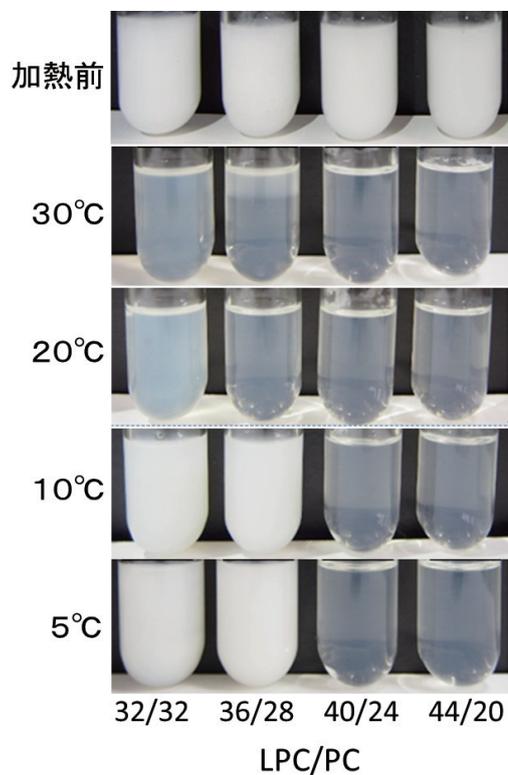


図 1. 混合 LPC/PC ミセル溶液の透明性の変化

LPC と PC の水溶液を混合割合 (LPC/PC) が 32/32、36/28、40/24、44/20 で混合した(上段「加熱前」)。これを 80°C まで加熱し、溶液が透明になった後、冷却しながら透明性を 30°C、20°C、10°C および 5°C において観察した。

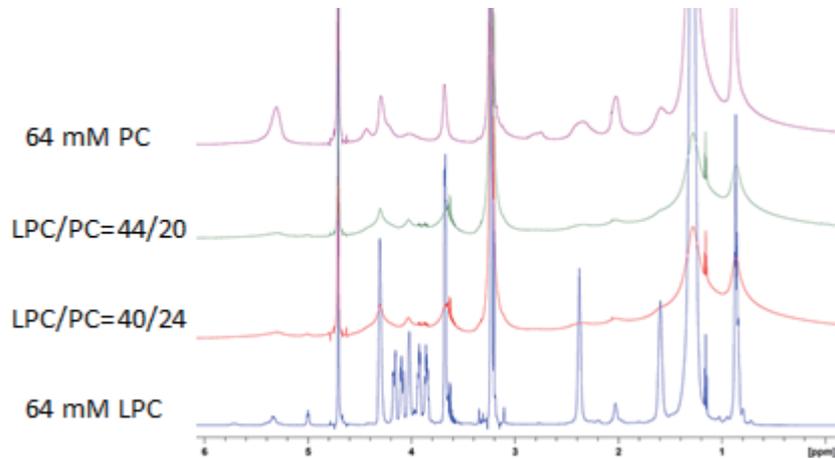


図2. 混合 LPC/PC ミセル溶液の ^1H NMR スペクトル
LPC と PC の水溶液及び混合 LPC/PC ミセル溶液を 80°C まで加熱し、
溶液が透明になった後に冷却して測定した。

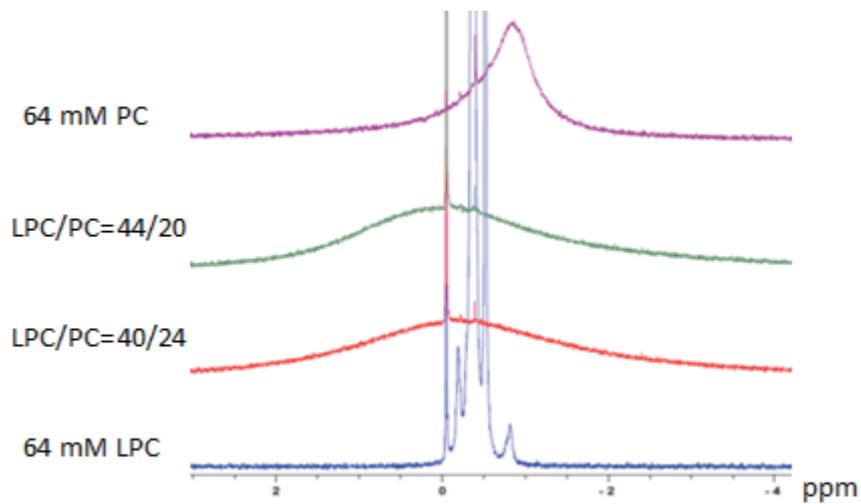


図3. 混合 LPC/PC ミセル溶液の ^{31}P NMR スペクトル
LPC と PC の水溶液及び混合 LPC/PC ミセル溶液を 80°C まで加熱し、
溶液が透明になった後に冷却して測定した。

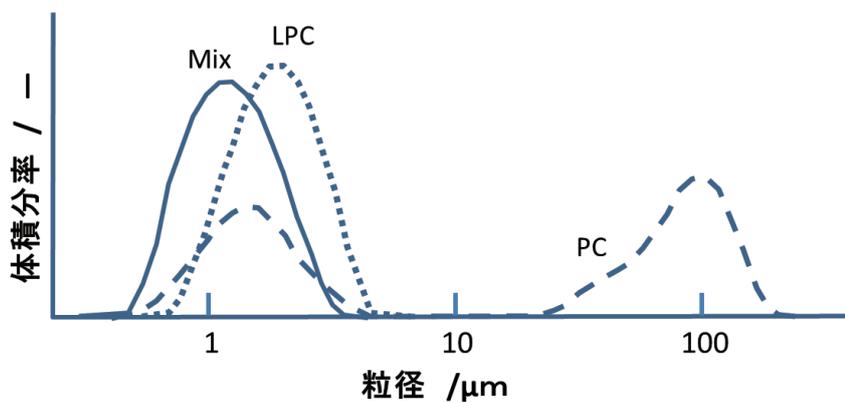


図 4. 64mM の LPC と PC の単独および混合 LPC/PC ミセルによって乳化されたエマルジョンの粒径分布

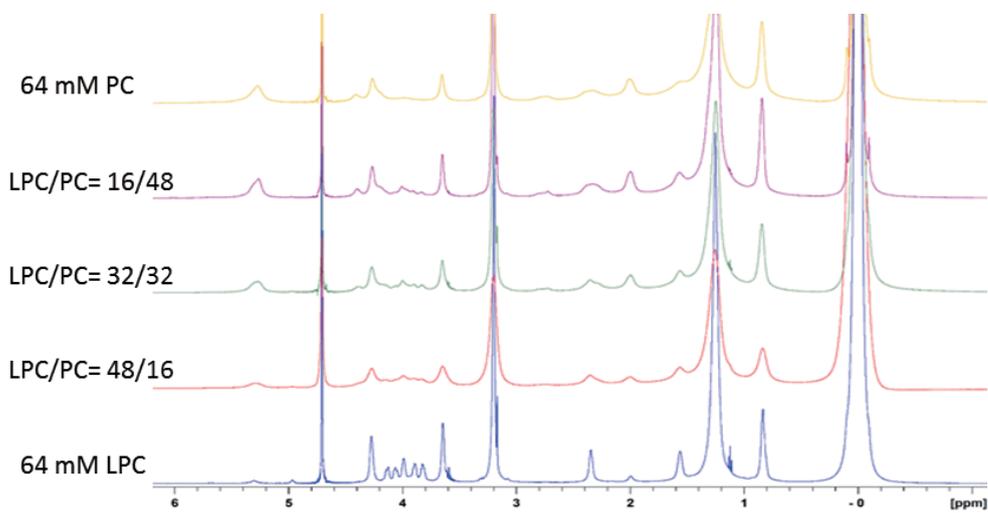


図 5. 混合 LPC/PC ミセルを用いたエマルジョンの ^1H NMR スペクトル