

# 磁場勾配NMRを用いた大豆たん白質成分による ナノエマルジョンの安定化機構の解明

松川真吾\*

東京海洋大学学術研究院食品生産科学部門

## Study of Stabilization Mechanism of Nano Scale Emulsion by Soy Protein Component Using Gradient NMR

Shingo MATSUKAWA\*

Department of Food Science and Technology, Graduate School of Marine Science and Technology,  
Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo 108-8477

### ABSTRACT

Thermal stabilities of nano size emulsion stabilized by soy proteins were studied by measuring size distributions and NMR. It has been found that egg lecithin was more effective than soy lecithin in making smaller size emulsion but allowed coagulation under heating. Addition of soy protein to the egg lecithin inhibited the formation of the nano size emulsion but gave the thermal stability to the emulsion.  $^1\text{H}$  NMR and  $^{31}\text{P}$  NMR measurements suggested that protein exists as suspension of aggregates and they have no interaction with lecithin on the emulsion surface. *Soy Protein Research, Japan* **19**, 55-58, 2016.

Key words : impinging jet homogenizer, nano emulsion, soy protein, gradient NMR

ナノエマルジョンは不飽和脂肪酸やビタミンなどの有用な油性成分を水中に分散させる有用な方法であり、分離や酸化に対して高い安定性を示すことが知られている。ナノサイズの乳化には、強力な剪断力や衝撃力を利用した装置が用いられるが、より小粒径のものを得るために高出力、高圧での処理を行うと、試料の局所的な発熱のために界面が不安定になって逆に粗大粒子化してしまう。大豆たん白質は高い温度においてエマルジョンを安定化する性質があるので、これを添加することによって、より高出力、高圧でのナノエ

マルジョンの調製が可能となることが期待できる。本研究では、大豆たん白質を用いてナノエマルジョンの小粒径化を図るとともに、大豆たん白質に含まれる成分がナノエマルジョンを安定化する機構を、主に磁場勾配NMRを用いた分子運動性の測定によって解明する事を目的とする。

### 方 法

#### 1) 衝突ジェット乳化装置の試作の検討

NMR測定用Oil/D<sub>2</sub>O試料のナノエマルジョン化を数十 mLスケール行うために、衝突ジェット乳化装置

\*〒108-8477 東京都港区港南4-5-7

の試作の検討を既報の方法によって行った<sup>1)</sup>。高出力ホモジナイザーによるナノエマルジョンの調製では、ハイシェアーミキサー（Silverson社）を用いて8,000 rpmで5分間攪拌して得られたプレエマルジョンを超音波ホモジナイザー Q500（ワケンビーテック社）に高出力アタッチメントを接続してナノエマルジョン化した。

## 2) 大豆たん白質添加効果の検討

大豆レシチンと卵黄レシチンについて小粒径エマルジョンの30℃での安定性と50℃および80℃でのエマルジョン安定性を検討した。また、大豆たん白質（プロフィット1000、フジプロF）を加え、粒径分布をSALD2300（島津製作所）を用いて測定し、その変化を観察した。

## 3) 高分解能NMR測定

卵黄由来リゾホスファアチジルコリン（LPC）およびLPC+プロフィット1000を乳化剤としてOil/D<sub>2</sub>Oエマルジョン試料について、<sup>1</sup>H NMRおよび<sup>31</sup>P NMRを測定した。NMR装置はAVANCEIII 600 MHz NMR（ブルカーバイオスピン）を用いて行った。

## 結果と考察

### 1) ナノエマルジョン作成方法の検討

ナノメートルサイズのエマルジョンの調製のため、英国バーミンガム大学化学工学科Ian Norton教授の研究グループとの共同で衝突ジェットプランジャーの試作を検討した。これまでに作成した実績のある硬質プラスチック製の1 mmのジェットノズルを持つ装置をもとに、通常の工作用マイクロドリルで作成した場合の最小直径である0.2 mmのジェットノズルを持つ装置を検討したところ、粒径の最小値が10 μm程度のエマルジョン調製が限界である事が分かった。そのため、衝突ジェット乳化法から変更して、ハイシェアーミキサーで予備乳化した試料を、さらに高出力ホモジナイザーでナノサイズまで乳化する方法で調製を行うことにした。

### 2) 大豆たん白質添加効果の検討

まず、大豆油のエマルジョン化を大豆レシチン添加系と卵黄レシチン添加系のそれぞれについて上記の方法による乳化を行い、粒径分布を比較した。30℃での乳化では、大豆レシチン添加系試料では0.4 μm程度であったが（Fig. 1上段）、卵黄レシチン添加系試料では

0.1 μm程度であった（Fig. 2上段）。しかし、乳化温度を50℃と80℃で行ったところ、大豆レシチン添加系試料ではほとんど粒径に変化はなかったが（Fig. 1中段と下段）、卵黄レシチン添加系試料では1 μm程度まで粒径が大きくなり、また、粒径分布も広がった（Fig. 2中段と下段）。また、50℃では測定結果にバラツキがみられ、系が不安定になっている。すなわち、卵黄レシチン添加は低温においてエマルジョンの小粒径化に有効であるが、高温では不安定になり、大豆レシチンを用いた場合よりも大粒径化してしまう事が分かった。

次に、大豆レシチンに大豆たん白質2種（プロフィット1000とフジプロF）を添加した系について、各温度における粒径分布を測定した。その結果、Fig. 1に示したように、大豆たん白質添加により、やや粒径が大きくなり、また、その中ではプロフィット1000の方がより大きな粒径となった。また、温度を30℃、50℃、80℃と上げていった場合でも粒径分布はほとんど変化しなかった。大豆レシチン添加試料ではエマルジョン

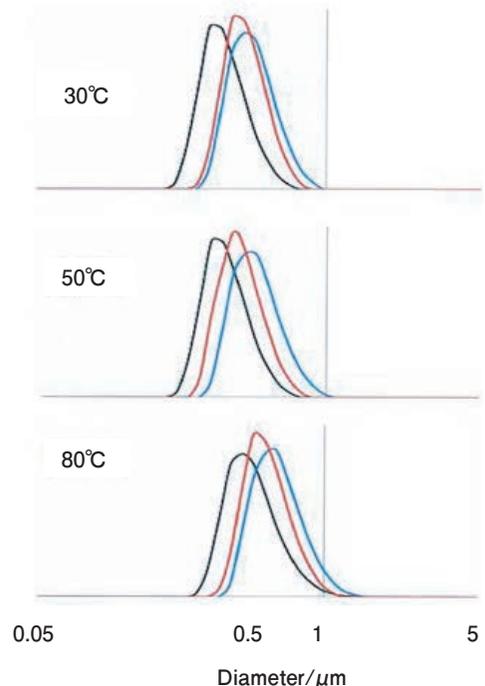


Fig. 1. Diameter distributions of emulsions stabilized by 1% soy lecithin (black lines), 1% soy lecithin and 1% Profit 1000 (blue lines) and 1% soy lecithin and 1% Fujipro F (red lines) at 30, 50 and 80 degrees. Oil content was 10%. Total sonication time was 10 min.

の熱安定性がもともと高いために大豆たん白質の添加による効果が小さかったと考えられる。

さらに、卵黄レシチンに大豆たん白質2種（プロフィット1000とフジプロF）を添加し、高温での小粒径エマルジョンの調製を試みた。その結果、大豆たん白質を添加すると、30℃での乳化においても粒径は小さくならず（Fig. 2上段）、また、乳化温度を上げても、ほとんど、粒径に変化は無く（Fig. 2中段と下段）、大豆レシチンを用いて乳化した場合（Fig. 1）とほぼ同じ乳化挙動を示した。大豆たん白質を加えると粒径が小さくならない理由は明らかではないが、添加した大豆たん白質が分散しているために、超音波照射によるエネルギーが吸収され、エマルジョンの微細化を妨げられていることなどが原因であると推測される。

### 3) NMR測定による乳化機構の解明

大豆たん白質添加による熱安定化機構を解明するために、磁場勾配NMRによる大豆たん白質添加試料中のたん白質の拡散係数測定を試みた。試料としては、低温で小粒径のエマルジョンを形成する卵黄由来リゾ

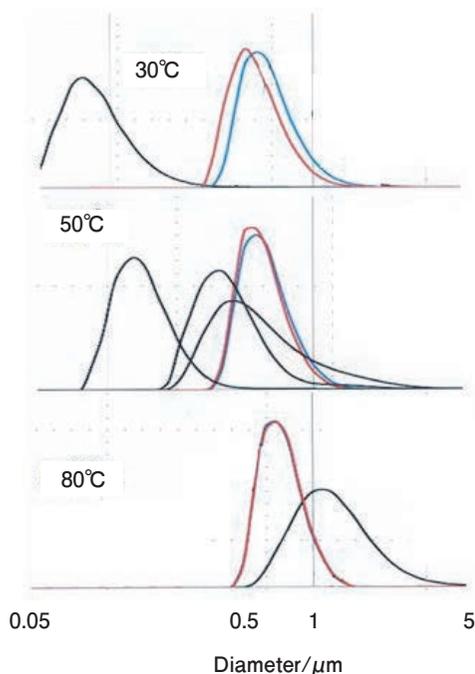


Fig. 2. Diameter distributions of emulsions stabilized by 1% egg lecithin (black lines), 1% egg lecithin and 1% Profit 1000 (blue lines) and 1% egg lecithin and 1% Fujipro F (red lines) at 30, 50 and 80 degrees. Oil content was 10%. Total sonication time was 10 min.

ホスファアチジルコリン（LPC）とこれにプロフィット1000を添加した試料を用いた。Fig. 3には、通常の<sup>1</sup>H NMRのスペクトルを示した。油に帰属されるピークの間、3～4 ppmにはLPC由来のピークがわずかに見える。また、プロフィット1000を添加した試料において、大豆たん白質に基づくピークは見られなかった。このことから大豆たん白質はNMR緩和時間が数マイクロ秒以下の分子運動性が抑制された状態にあることが分かり、微細な凝集体として分散状態となっていることが考えられる。拡散係数測定では、数十ミリ秒以上の緩和時間が必要とされるので、拡散係数を測定することは出来なかった。

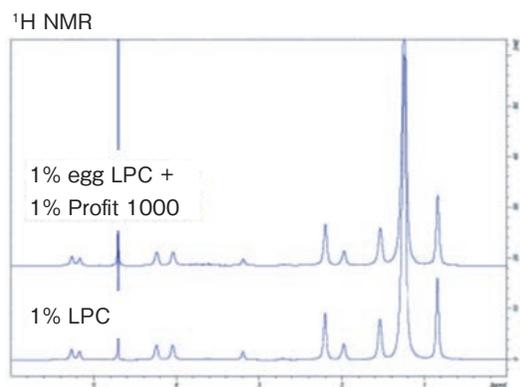


Fig. 3. <sup>1</sup>H NMR spectra of emulsions stabilized by 1% egg lysophosphatidylcholine LPC (upper), 1% egg LPC and 1% Profit 1000 (lower). Oil content was 10%. Total sonication time was 10 min.

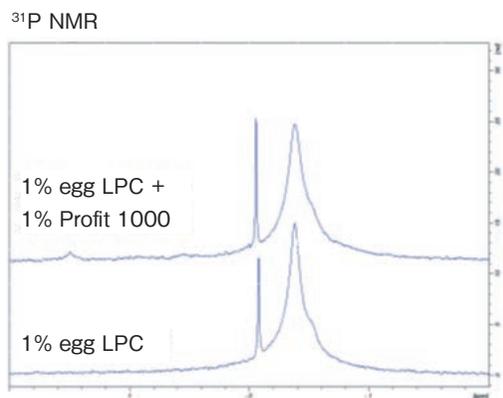


Fig. 4. <sup>31</sup>P NMR spectra of emulsions stabilized by 1% egg lysophosphatidylcholine LPC (upper), 1% egg LPC and 1% Profit 1000 (lower). Oil content was 10%. Total sonication time was 10 min.

Fig. 4には同じ試料の<sup>31</sup>P NMR測定の結果を示した。大豆たん白質がLPCと相互作用を持つ場合にはLPCの運動性が抑制され、線幅がブロードになると考えられるが、プロフィット1000の添加の有無によるスペクト

ルの変化はほとんど見られなかった。したがって、プロフィット1000はエマルジョン表面にあるLPCとは凝集などの相互作用をほとんど持っていないと考えられる。

## 要 約

卵黄レシチンは大豆レシチンよりもナノサイズエマルジョンの調製に効果的であるが、温度を上げた場合にはエマルジョンの合一などによって大粒径化してしまう。しかし、大豆たん白質を添加すると、低温での小粒径のナノサイズエマルジョンの調製が阻害されたが、高温での安定性が付与された。<sup>1</sup>H NMRおよび<sup>31</sup>P NMRの結果から、大豆たん白質は微細な凝集体として懸濁して存在しており、また、油滴界面上のレシチンなどの乳化剤と相互作用を持っていないことが示唆された。

## 文 献

- 1) Siddiqui SW and Norton IT (2012): Oil-in-water emulsification using confined impinging jets. *J Colloid Interface Sci*, **377**, 213-221.