

◇◇◇ 解説記事 ◇◇◇

生体由来成分を利用したマイクロ・ナノ分散系の作製 および機能開発

黒 岩 崇

東京都市大学工学部エネルギー化学科

1. はじめに

食品成分や栄養機能成分の消化・吸収動態および生理的作用機序が明らかにされるにつれ、各成分を包含する食品の組成や形態の機能的意義に関する知見が蓄積されてきた。これに伴い、近年の食品加工技術の進展により、マイクロメートルレベルからナノメートルレベルで精緻に形状や特性が制御された食品および食品素材の製造方法およびその機能性、安全性に対する関心が高まっている [1,2]。マイクロ・ナノレベルの微細化加工を行う手法は、一般に大きなサイズの素材を微細化するトップダウン法と、分子が集合化・複合化することでナノサイズ以上の大きさを持つ素材を形成するボトムアップ法に大別される。中でもボトムアップ法は、比較的穏やかな条件で微細構造を形成することが可能であり、食品成分本来の機能や嗜好性を損なわずに微細加工を実現できる手法として注目されている。

食品を構成する多糖類、タンパク質、および脂質などの生体由来分子には、水酸基、カルボニル基などの非解離性極性基、アミノ基、カルボキシ基、リン酸基、硫酸基などの解離性極性基、および炭化水素鎖や芳香族環などの非極性基が含まれる。さらに、水溶性の成分と水難溶性成分が共存する場合、それらの間には界面が存在する。界面の存在下で水素結合、イオン結合、疎水の相互作用といった非共有結合性の分子間相互作用が複雑なネットワークを構築することで、個々の相互作用のエネルギーは小さいにも関わらず、全体として食品の特性を決定づけるような集合構造や複合化構造を自発的に形成する。演者らの研究グループでは、このような生体由来分子間の相互作用と異相界面の精密制御に基づいて

発現する多様な集合化・複合化現象を利用して、マイクロメートルからナノメートルサイズにわたる食用分散系の作製とその機能化に関する研究を行ってきた [3-6]。本講演では、生体由来分子を利用したマイクロ・ナノ分散系の作製方法ならびに食品への展開を志向した機能開発に関する研究成果を紹介する。

2. エマルションの精密作製技術を基盤とする 生体分子微粒子の粒径制御

多糖類やタンパク質には、温度変化や様々な物理的・化学的処理によりゲル化する性質をもつものがある。環境に応答してユニークなゲル形成挙動を示すものとしては、ゾル化温度とゲル化温度の差が大きな寒天や、体温付近でゾル-ゲル転移を示すゼラチン、多価カチオンの添加により瞬時にゲル化するアルギン酸などが有名である。演者らは、このようにユニークなゲル形成挙動を示す可食性生体高分子の水溶液を用いて、マイクロチャンネル (MC) 乳化法 [7] により均一径液滴を含む water-in-oil (W/O) エマルションを作製し、液滴径の均一性を維持しつつこれらをゲル化させることで生体高分子ゲル微粒子を作製する方法について検討を行った。これまでに、MC 乳化を利用して寒天 [8]、アルギン酸ナトリウム [9]、ゼラチン [10]、キトサン [11] の水溶液を分散相とする W/O エマルションを作製し (図 1)、これらの分散液滴をゲル化させることで均一径

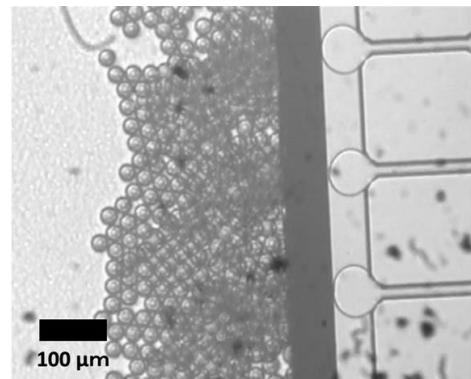


図1 MC 乳化によるゼラチン含有 W/O エマルションの作製

著者略歴

黒岩 崇 (くろいわ たかし)

東京都市大学 工学部 エネルギー化学科 教授

略歴：2005 年 筑波大学大学院 生命環境科学研究科 博士課程修了博士 (生物工学)、同年 筑波大学大学院 生命環境科学研究科 博士研究員、2008 年 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 博士研究員、2009 年 東京都市大学 工学部 エネルギー化学科 准教授、2019 年より現職

E-mail: tkuroiwa@tcu.ac.jp

マイクロスフィアを作製することに成功している。さらに、作製したアルギン酸カルシウムゲルおよびゼラチンゲルマイクロスフィアに対し、ゲル素材の電荷を考慮してカチオン性多糖であるキトサンとアニオン性多糖であるカルボキシメチルセルロースを交互積層することができ、さらに多糖の積層数や外部液相のpHにより、マイクロスフィアに内包させた成分の放出速度を変化させることができた。栄養成分の保護および徐放機能を有する食用微粒子素材あるいは粒径の均一性を利用した生体高分子の分離材料としての展開が期待される。

3. 可食性高分子コーティング法による エマルジョンの安定性向上

エマルジョンは、互いに混じり合わない液体の一方にもう一方の液体が分散した系である。エマルジョンはあくまでも乳化剤の作用により準安定的に形成された系であり、本来、熱力学的には不安定である。したがって、エマルジョンの安定性は乳化食品の品質を左右する極めて重要な因子である。エマルジョンの不安定化には様々な現象が関与しているが、合一や凝集による液滴の粗大化は更なる不安定化を誘発する起点となることが多く、液滴そのものの安定性を高めることはエマルジョンの安定性を向上する上で重要である。コロイド化学的な観点からエマルジョン液滴の安定性を考えると、分散液滴間の反発力が引力を上回れば液滴の合一や凝集は抑制され安定、逆であれば不安定、ということになる。そこで筆者らは、エマルジョンの構成成分の特性に応じてエマルジョン中の分散液滴が正または負の電荷を有することに注目し、イオン性の多糖類を用いたエマルジョン液滴の界面特性制御と安定化を試みた[12-14]。まず、脂質（改質レシチン）やタンパク質（ β -ラクトグロブリン、カゼインナトリウム）のような天然物由来の乳化剤を用いて、前述のMC乳化により植物油を分散相とする均一径水中油滴型（O/W）エマルジョンを作製した。なお、MC乳化により作製されたエマルジョンは、油滴径の均一性が高く、様々な処理や長期保存による油滴径の変化を定性的・定量的に評価するツールとして好適である。得られたO/Wエマルジョンの油滴表面に、油滴表面近傍の電荷（＝乳化剤の電荷）とは逆の電荷を有するイオン性多糖を静電的に吸着させることで表層をコーティングし、様々な条件で油滴の凝集・合一挙動を詳細に検討した。その結果、油滴表面における多糖吸着層の特性がエマルジョンの安定性に顕著な影響を及ぼすことを明らかにした。図2に示す通り、改質レシチンを乳化剤として作製した均一径大豆油滴の保存安定性はキトサンの添加により顕著に向上した[12]。 β -ラクトグロブリンを

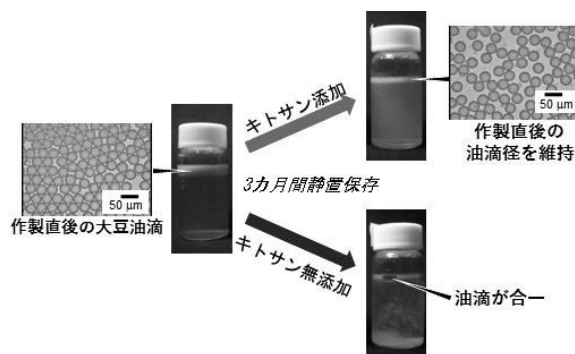


図2 大豆油含有O/Wエマルジョンの安定性に対するキトサンの添加効果

乳化剤とするO/Wエマルジョンにおいても、同様に油滴表面に乳化剤と逆の電荷をもつカルボキシメチルセルロースを吸着させた場合にエマルジョンの安定性が向上した[13]。さらに、カゼインナトリウムを乳化剤に用い、パーム油を分散相とするO/Wエマルジョンを冷却して得られる（半）固体油脂マイクロスフィアにおいても、キトサン添加による安定性向上効果が認められている[14]。

4. カチオン性多糖と脂質分子の複合化による サブミクロン微粒子の作製と水難溶性成分の分散化

異なる性質をもつ2種の生体由来分子をボトムアップアプローチにより自発的に複合化させ、ワンステップでサブミクロンレベルの微粒子分散系を作製する新しい手法を開発した。カチオン性の多糖類であるキトサンと、アニオン性の脂質分子（改質レシチンや長鎖脂肪酸など）をそれぞれ含む2種の溶液を混合するだけという極めてシンプルな方法条件に応じて平均粒径100~900 nm程度の均一性の高い分散微粒子を作製することが可能である。

キトサン水溶液と大豆由来の改質レシチン水溶液を用いる場合、両成分の水溶液を適切な条件で混合すると、両成分の合計濃度に依存して平均粒径120~350 nm程度の分散微粒子が得られる[15]。キトサンのプロトン化したアミノ基と改質レシチンのリン酸基の混合モル比（ $-\text{NH}_3^+/-\text{PO}_3^-$ ）が微粒子の特性に影響を及ぼすことがわかった。ゼータ電位測定および電子顕微鏡観察に基づき、改質レシチンの疎水基が水溶液中で会合して疎水性のコア部分を形成し、同時に改質レシチンの負電荷とキトサンの正電荷との間の静電的相互作用によって両者が複合化することで粒子を形成するメカニズムを提案した。さらに、この微粒子には静電的相互作用を利用して電荷をもつ化合物を担持させることができた。エバポレーションによる濃縮や凍結乾燥による粉末化も可能であった。

続いて、水に不溶あるいは難溶な成分の分散化技術への展開を目指し、キトサンと長鎖脂肪酸からなる複合微粒子の作製に取り組んだ。鎖長 10~18 の脂肪酸をエタノールに溶解し、これをキトサン水溶液に滴下し混合すると、全体が一様に白濁した分散液が簡単に得られる (図 3)。キトサンの分子量、濃度、混合時の温度や pH などの作製条件に応じて平均粒径 300 nm~900 nm 程度の比較的均一な微粒子が形成することがわかった [16]。フーリエ変換赤外分光分析、蛍光プローブを用いた蛍光スペクトル分析、および小角 X 線散乱分析により、本微粒子の形成には、静電的相互作用に基づくキトサンと脂肪酸の複合化と、疎水的相互作用に基づく脂肪酸のアルキル鎖の集合化が寄与していることが示唆された。本微粒子には水難溶性分子を担持させることができ、エバポレーションによる濃縮も可能であった。ウコン由来の機能性成分として知られるクルクミンを担持した場合、濃縮液中のクルクミン濃度は溶媒に対する溶解度の 1000 倍以上に達し、水難溶性成分の分散化に利用できることが示された。また、本微粒子は、初発の粒径を維持したまま凍結乾燥による粉末化と分散媒への再分散が可能であった。

5. おわりに

代表的な生体由来成分であり、食品の主要な構成成分でもある多糖類、タンパク質、脂質の分子間相互作用を利用したマイクロ・ナノ分散系の作製法とその機能開発に関する研究を紹介した。分子間相互作用の効果的な利用は、適切な条件下で各種成分を混合するだけといった極めてシンプルな工程で付加価値を有する食品分散系の作製を可能にする。分子間相互作用に基づく集合化・複合化は、生物が活動する環境に近い温和な条件下で自発的に進行する現象を利用するため、物理的・化学的なストレスに弱い成分の加工にも適している。微細化や形状制御のために投入するエネルギー



図 3 キトサンとオレイン酸の複合化により得られた微粒子分散液

が少なくすむため、食品製造プロセスの省エネルギー化にも貢献すると期待される。素材となる分子の組み合わせに応じて平衡論的および速度論的な立場から混合条件や環境因子を調整することで分子間相互作用を制御できれば、用途に応じた特性をもつ食品分散系の構築が可能になることも大きな魅力といえる。このような分子の集合化・複合化を利用したボトムアップアプローチによるマイクロ・ナノ食品加工技術は、安全・高品質な食品の効率的な製造が求められる食品産業において、今後ますます重要性を増すものと期待され、学術と応用の両面から更なる理解と深化が望まれる。

References

- 1) 中嶋光敏, 杉山滋 (監修): “フードナノテクノロジー” シーエムシー, 2009.
- 2) 安達修二, 中嶋光敏, 杉山滋 (監修): “食品素材のナノ加工を支える技術” シーエムシー, 2013.
- 3) 市川創作, 黒岩崇, A. M. Chuah, 中嶋光敏: 食品素材の集合化を利用した生体適合性ナノ/マイクロ分散系の作製, 日本食品工学会誌, **10**, 207-213 (2009).
- 4) T. Kuroiwa, J. Watanabe, S. Ichikawa: “Bio-nanotechnology—A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences” Wiley-VCH, pp. 519-530, 2013.
- 5) T. Kuroiwa, I. Kobayashi, A. M. Chuah, M. Nakajima, S. Ichikawa; Formulation and stabilization of nano-/microdispersion systems using naturally occurring edible polyelectrolytes by electrostatic deposition and complexation. *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **226A**, 86-100 (2015).
- 6) 黒岩崇: 食用ナノ/マイクロ分散系の作製と利用に関する研究, 日本食品工学会誌, **18**, 161-167 (2017).
- 7) 中嶋光敏: 単分散液滴作製のためのマイクロチャネル乳化技術の開発, 日本食品工学会誌, **5**, 71-81 (2004).
- 8) T. Kuroiwa, T. Katsumata, Y. Sukeda, S. Warashina, I. Kobayashi, K. Uemura, A. Kanazawa; Formulation of Uniform-sized Agar Gel Microbeads from Water-in-oil Emulsion Prepared Using Microchannel Emulsification under Controlled Temperature. *Jpn. J. Food Eng.*, **17**, 11-19 (2016).
- 9) A. M. Chuah, T. Kuroiwa, I. Kobayashi, M. Nakajima; Preparation of uniformly sized alginate microspheres using the novel combined methods of microchannel emulsification and external gelation. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **351**, 9-17 (2009).
- 10) T. Fujii, M. Katayama, T. Kuroiwa, A. Kanazawa: Proc. 5th WECC, PS 7-3-3 (2015).
- 11) T. Kuroiwa, H. Takada, A. Shogen, K. Saito, I. Kobayashi, K. Uemura, A. Kanazawa; Cross-linkable chitosan-based hydrogel microbeads with pH-responsive adsorption

- properties for organic dyes prepared using size-tunable microchannel emulsification technique. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **514**, 69–78 (2017).
- 12) A. M. Chuah, T. Kuroiwa, I. Kobayashi, M. Nakajima; Effect of chitosan on the stability and properties of modified lecithin stabilized oil-in-water monodisperse emulsion prepared by microchannel emulsification. *Food Hydrocolloids*, **23**, 600–610 (2009).
- 13) A. M. Chuah, T. Kuroiwa, I. Kobayashi, M. Nakajima; The influence of polysaccharide on the stability of protein stabilized oil-in-water emulsion prepared by microchannel emulsification technique. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **440**, 136–144 (2014).
- 14) Y. Okuyama, T. Kuroiwa, A. Kanazawa: 14th Int. Chitin Chitosan Conf., PA-50 (2018).
- 15) A. M. Chuah, T. Kuroiwa, S. Ichikawa, I. Kobayashi, M. Nakajima; Formation of self-assembled nanoparticles by chitosan and modified-lecithin. *J. Food Sci.*, **74**, N1–N8 (2009).
- 16) 河内勇人, 黒岩崇, 市川創作, 金澤昭彦: 日本食品工学会第16回年次大会講演要旨集, p. 104 (2015).

〔日本食品工学会フォーラム 2019 講演要旨より転載〕