

## 高分子型界面活性剤系食品添加物製剤の消化酵素による構造変化 Structural Change of Formulation Containing Polymer Surfactant Food Additives by Digestion Enzyme.

小林 純也<sup>a</sup>, 笠間 勇輝<sup>a</sup>, 藤井 亘<sup>a</sup>, 岩瀬 裕希<sup>b</sup>, 南部 宏暢<sup>a</sup>  
Junya Kobayashi<sup>a</sup>, Yuuki Kasama<sup>a</sup>, Wataru Fujii<sup>a</sup>, Hiroki Iwase<sup>b</sup>, Hironobu Nanbu<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 太陽化学(株), <sup>b</sup> (財)総合科学研究機構,  
<sup>a</sup>Taiyo Kagaku Co., Ltd., <sup>b</sup>CROSS,

食品用の高分子型界面活性剤を用いた会合体は独特な分子構造を持ち、食品添加物の乳化剤として乳化や可溶化目的で広く使用されている。これまでに乳化剤が形成するエマルションの構造、酸性条件や殺菌工程などの製品製造過程でのそれらの構造安定性を小角散乱を用いて明らかにしてきた。本課題では、その最終段階として体内へ吸収される消化工程に注目し、機能性素材と食品用乳化剤からなる製剤の希釈溶液に消化酵素を加えて酵素処理を行い、X線小角散乱およびX線超小角散乱を経時的に測定をすることで、消化酵素が会合体構造へ与える影響を検証した。食品添加物であるポリグリセリン脂肪酸エステルが形成する会合体は、腸内で酵素処理によりその構造が変化することが初めて実験的に確認できた。

**キーワード：** 界面活性剤、エマルション、食品添加物、SAXS, 消化酵素

### 背景と研究目的：

高分子型界面活性剤（乳化剤）を用いたミセル構造体においては、独特な3次元的高次構造が生じ、そのナノ空間に別途の有機物を包摂させた会合体が調製できる。その技術は食品工業において、香料・色素の可溶化や栄養素の吸収性改良等に用いられ、多岐にわたり実用化されている。飲料等の食品においては、この会合体は多様な共存物質を含む中で滅菌処理などの加熱処理工程を経た後、賞味期限中、長期間安定に分散する必要がある。しかも香料の口内放出や栄養素の消化吸収等の必要時に機能を発現するデリバリー性も要求される。

これまでに、乳化剤として既に生産している2種類のポリグリセリン脂肪酸エステルを用いた製剤の構造情報、水の添加による会合体の構造変化について、X線小角散乱（SAXS）とX線超小角散乱（USAXS）測定を実施した[1, 2]。さらに製品の製造時の工程として製剤希釈溶液の加熱殺菌処理、および酸性条件に着目し、製剤と乳化剤が形成する会合体の加熱安定性およびpH安定性についても確認した[3, 4]。本課題では体内での消化吸収されるプロセスに着目し、乳化剤と機能分子が形成する会合体の腸内模倣条件での消化酵素（リパーゼ）処理による構造へ及ぼす影響を確認し、吸収メカニズムを解明することを目的とした。

### 実験：

試料として、すでに実用材料として生産されているポリグリセリン脂肪酸エステルを2種類用意し、2種類の機能性素材 [コエンザイム Q10 (CoQ10)、ビタミン E (V.E)] を用いてそれぞれ製剤化し、10 w/w%に希釈した系にて、10 mM リン酸 buffer pH 7.0、0.6 mg/ml CaCl<sub>2</sub>、10 mg/ml bile salts、14 mg/ml リパーゼ（豚すい由来）となるよう調製した。酵素処理条件は 37 °Cにてインキュベートし、0、1、2、3、4、5、6、8 h 後まで経時的にサンプリングをし、小角散乱測定用の試料とした。

SAXS/USAXS 測定は BL19B2 ビームラインにて行なった。X線の波長は 0.069 nm、カメラ長は USAXS が 42 m、SAXS が 3 m とした。試料は径 2 mm の石英キャピラリーに充填した。露光時間は USAXS 測定、SAXS 測定ともに 60 s とした。また、測定試料の散乱プロファイルについて、絶対散乱強度が既知の glassy carbon の結果と比較し、絶対強度化を行った。

### 結果および考察：

図1にV.E製剤水溶液の酵素処理による経時的なUSAXSおよびSAXSプロファイルを示した。本プロファイルにおいて、USAXS測定から得られた散乱プロファイルの精度は十分でなかった(左図)。これは、USAXSの領域では、V.E製剤由来の散乱が弱く、溶媒の散乱と拮抗していたためである。この結果は、8時間後までの測定時間範囲内では、サブミクロンオーダーの凝集体等は形成されていないことを示唆している。またV.E製剤の一次粒子領域である $q = 0.2\text{--}0.6\text{ nm}^{-1}$ の領域では、散乱強度は系統的に減少するものの、明確な $q$ 依存性の経時変化は確認できなかった。一方、 $q = 1.3\text{ nm}^{-1}$ 付近で新規のショルダーが確認できた(左図矢印)。そのショルダーは酵素処理の時間依存的に強度が大きくなり、酵素処理によりV.E製剤とリパーゼ複合体の構造は経時的に変化することはわかった。

この考察のために、V.E製剤水溶液とリパーゼ単体の水溶液についてもそれぞれ測定を行ったが、両者の散乱プロファイルはおおよそ重なっていることが確認された(右図)。そのため、測定結果がV.E製剤またはリパーゼのどちらの構造変化に起因するものであるかどうかを判断できなかった。この変化については、別の測定手法ともあわせて検討を進めている。

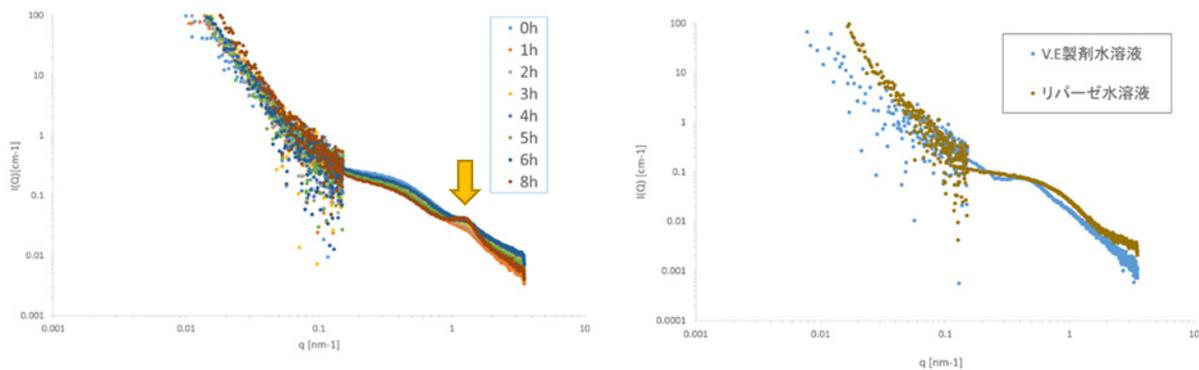


図1. V.E製剤の酵素処理による経時変化 SAXS プロファイル (左図)  
V.E製剤水希釈液及びリパーゼ水溶液の SAXS プロファイル (右図)。

図2はCoQ10製剤水溶液の酵素処理における経時的なUSAXSおよびSAXSプロファイルを示した。すべてのプロファイルにおいて、 $q < 0.1\text{ nm}^{-1}$ の範囲でショルダー状の散乱が観測され、この散乱は時間と共に増大した。このことから、酵素処理によってCoQ10製剤の粒子構造が変化したことが示唆された。また $q > 1\text{ nm}^{-1}$ の領域で2つの周期性のあるピーク ( $q = 1.26, 2.52\text{ nm}^{-1}$ ) が出現した(右図矢印)。これらのピークは酵素処理1時間後より明確に確認でき、時間経過とともにその強度が増加した。製剤に使用されている界面活性剤(乳化剤)であるポリグリセリン脂肪酸エステルは、酵素処理によって脂肪酸とポリグリセリンに加水分解され、乳化状態が不安定になると推察される。この影響により内部から放出されたCoQ10、または酵素分解されたポリグリセリン脂肪酸エステルが、繰り返し周期を持つ構造体を形成した可能性が示唆される。

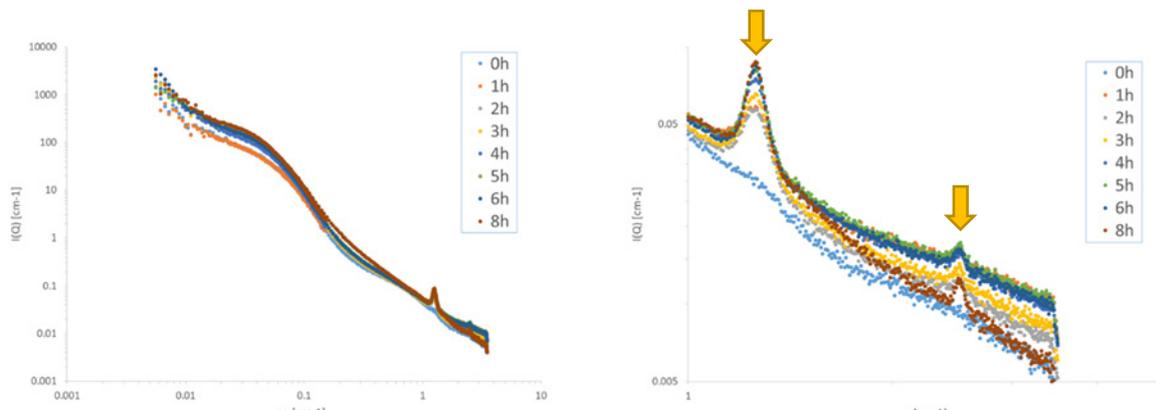


図2. CoQ10製剤の酵素処理による経時変化 SAXS プロファイル (左図)  
 $1\text{ nm}^{-1}$ 以上の $q$ 領域の SAXS プロファイル拡大図 (右図)。

本測定により、食品添加物であるポリグリセリン脂肪酸エステルが形成する会合体は、腸内で酵素処理によりその構造が変化することが初めて実験的に確認できた。また、その挙動は製剤系によって異なることも分かった。さらに、腸内でも本製剤が酵素処理することにより消化されることが示唆された。これらの測定は、ポリグリセリン脂肪酸エステルが形成するエマルジョン製剤の体内挙動を考察する上で重要なデータとなり得る。

#### 今後の課題：

CoQ10 製剤および V.E 製剤の酵素処理による会合体の構造変化を観察し、製剤系によって、会合体の構造変化の挙動が異なることが確認された。今後は CoQ10 製剤および V.E 製剤において、酵素処理後に時間依存的に出現したピークやショルダーの起源を明らかにしていく。そのために、中性子小角散乱 (SANS) のコントラスト変調法を活用し、リパーゼの構造情報を消去することで、会合体の詳細な構造変化を明らかにする予定である。

#### 参考文献：

- [1] 笠間 勇輝 他、平成 26 年度 重点産業利用課題報告書(2014A), 2014A1815.
- [2] J. Matsuoka et al. Journal of Oleo Science, 66, (2017) 1285-1291, Structure of the Microemulsion of Polyglycerol Polyricinoleate Encapsulating Vitamin E. 2014A1815.
- [3] Kobayashi et al. JPS Conf. Proc., 33, 011079 (2021), Structural Analysis of Microemulsion Formed from Polymer Surfactant Polyglycerol Esters in the Manufacturing Process. 2016A1786.
- [4] 小林 純也 他、平成 28 年度 産業利用課題報告書(2016A), 2016A1786.