

◇◇◇◇ 原著論文 ◇◇◇◇

脂質 2 成分混合液体からの結晶析出挙動と平衡凝固点

玉置 亮, 川井清司, ビリヤラッタナサク チョテイカ, 君塚道史, 鈴木 徹[†]

東京海洋大学海洋食品科学科

Crystallization and Equilibrium Melting Temperatures from Binary Lipid Mixture.

Ryo TAMAKI, Kiyoshi KAWAI, Chotika VIRIYARATTANASAK,
Norihiro KIMIZUKA, and Toru SUZUKI[†]

*Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology,
4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan*

Although a phase transition such as crystallization for food related lipid would play an important role on the stability or various properties of food, there are many unclear issues. Especially, the researches about the phase transition on multi component system including lipid are few. As well as, the knowledge for the phase behavior of their emulsion is limited. In this work, the effect of the composition on the crystallization temperature T_c , i.e. nucleation, and the melting temperatures T_m , for the binary systems, triglyceride binary system and hydrocarbon binary system, was investigated. It was found that both of the crystallization and melting temperature depress logarithmically with the ratio of its composition. Also, there was a linear relationship between the T_c and T_m . These behaviors could be observed not only for the bulky state, but also for the oil-in-water emulsified state. However, it should be noted that, although the T_m for emulsified and bulky lipids gave the same value, the T_c for emulsified lipid exhibited remarkable lower temperature than that for bulky lipid. It is thought that these findings give a kind of quantitative method to understand the physicochemical properties for food related lipid.

Key words: phase transition, crystallization, lipid, lipid binary system, O/W emulsion

1. 緒 言

食品の多くは水が主要な構成成分であるため、水または水溶液の相転移現象を理解することが不可欠であり、これまで多くの研究が行われてきた。一方、チョコレートやマーガリンなど脂質を主要な構成成分として含む食品も多数存在する。しかしながら、これら食品中の脂質の相転移に関する研究例は多くなく、結晶構造を議論したものが多くの特徴的である。結晶構造の差異は食品の物性や品質に直結することから、それらと関連付けた報告が多く見受けられる [1-5]。

脂質の相転移に関しては、O/W エマルション中の結晶化挙動が興味をもたれてきた [6-8]。脂質を微細な液滴として分散させると、バルク状態と比較して過冷却

が大幅に進行することがよく知られているが、これはバルク状態において結晶核生成のメカニズムが不均一であったものが、エマルション状態では均一核生成が優勢となることで説明されている [9,10]。ところが、これらの研究例のほとんどすべてが、O/W エマルションの油相に単一種の脂質を扱った実験系を用いている。脂質の結晶化挙動の把握が食品製造工程上重要な課題であることを考えると、単一成分系のみを検討では不十分と言えよう。なぜならば、食品中の脂質は複雑な組成をもった多成分混合系であるため、結晶化挙動や過冷却の進行に与える共存物質の効果を考慮に入れる必要があるからである。しかし、前述したように、現在のところ純物質としての脂質の結晶化を観察したものがほとんどであり、混合系を対象とした知見が極端に少ない。

また融解挙動の熱力学的な解析に関しては、混合系におけるものもいくつか報告されているものの [11-13]、いずれもバルク状態に関する報告である。す

(受付 2005 年 5 月 11 日, 受理 2005 年 9 月 8 日)

〒 108-8477 東京都港区港南 4-5-7

Fax: 03-5463-0585, E-mail: toru@s.kaiyodai.ac.jp

なわち、混合系かつ分散系における脂質の結晶化・融解に関する体系的研究は多くなく、この方面に関する基礎的知見に乏しいといえる。

このような背景をふまえ、本研究では脂質2成分混合系を対象とし、共存物質が着目成分の結晶化開始温度および融解温度に与える影響を把握することを目的とした。これら相転移挙動は分散状態によっても影響を受けるため、バルク状態およびO/Wエマルジョン状態の両面から検討することとした。着目成分に相当する試料としては、トリグリセリド2種(トリストエアリン、トリパルミチン)およびヘキサデカンを用いた。トリグリセリドは、食品中に含まれる脂質の中で最も主要な脂質成分である。またヘキサデカンはトリグリセリドよりも熱応答が鋭敏かつ結晶多形がないため、熱分析の解析が比較的容易であることが知られており、脂質の結晶化・融解挙動のモデルとして非常によく用いられている[14,15]。よって、本研究でもヘキサデカンを含む系を脂質の相転移を議論する上でのモデルととらえ、トリグリセリド混合系と同様に検討することとした。

2. 実験

2.1 試料の調製

トリグリセリド混合系として、トリストエアリン(=SSS; 純度90%)、トリパルミチン(=PPP; 純度80%)をそれぞれトリオレイン(=OOO; 純度60%)に対して混合させ、378 Kの恒温槽中に数分間放置し均一な溶液を調製した。これをトリグリセリド混合系バルク状態のサンプルとし、DSC測定に供した。また、この混合脂質溶液を油相としたO/Wエマルジョンを、トリグリセリド混合系エマルジョン状態のサンプルとした。エマルジョンの作製はSimoneauら[16]の調製法を参考にして行った。水相(7%(w/w) Tween80水溶液)6 mlに対して油相(脂質混合溶液)4 mlを加え、安定剤としてキサンタンガム粉末0.05 gを加えたものを高速ホモジナイザ(ART Modern Labortechnik社製 MICCA/D-8タイプ, 39,000 rpm)で約1分間攪拌することによってO/Wエマルジョンを調製し、DSC測定に供した。

炭化水素混合系では、*n*-ヘキサデカン(=HD; 純度97%)に対して*n*-デカン(=DCA; 純度99%)、1-デセン(=DCE; 純度98%)をそれぞれ混合させたものをサンプルとし、これを炭化水素混合系バルク状態のサンプルとしてDSC測定に供した。O/Wエマルジョンの作製はDickinsonら[17]の調製法をもとにし、水相(7%(w/w) Tween20水溶液)8 mlに対して油相(脂質混合溶液)2 mlを添加後、トリグリセリド混合系と同様の乳化操作を行ったものをエマルジョン状態のサンプルとしてDSC測定に供した。ただし炭化水素混合系では安定剤の添加は行っていない。試薬は、すべて和光

純薬より入手した。また、エマルジョン粒径の測定および冷却・低温保持過程中におけるエマルジョンの合一や崩壊の有無については、光学顕微鏡による観察によって確認することとした。

2.2 DSC測定

DSC測定には、SHIMADZU DSC-50を使用した。試料15~30 mgをアルミニウム製耐圧セルに封入し、液体窒素を用いて3 K/minで冷却走査を行うことで、結晶化開始温度を測定した。また、233 K付近まで冷却後、再び3 K/minで昇温加熱し、融解温度も測定した。なお、冷却過程中的発熱側へのピークの立ち上がりを結晶化開始温度 T_c 、昇温過程中的吸熱ピークのピークトップを融解温度 T_m とした。基準物質として35 mgのアルミナを使用し、温度の校正にあたっては蒸留水の融解におけるピークトップ温度を273 Kに設定した。データは、SHIMADZU TA60 for Windowsによって解析した。

トリグリセリド混合系においては融点が室温以上の物質を含むため、試料のセルへの封入時のわずかな時間中に部分的に結晶化する可能性がある。このため、冷却走査前にDSC装置内において、一旦353 Kで数分間保持してから測定を開始することとした。

3. 結果および考察

3.1 顕微鏡観察

Fig. 1-(A)に、PPPのモル分率(X_{PPP})が0.05のPPP-OOO系エマルジョンの顕微鏡写真を示す。これ

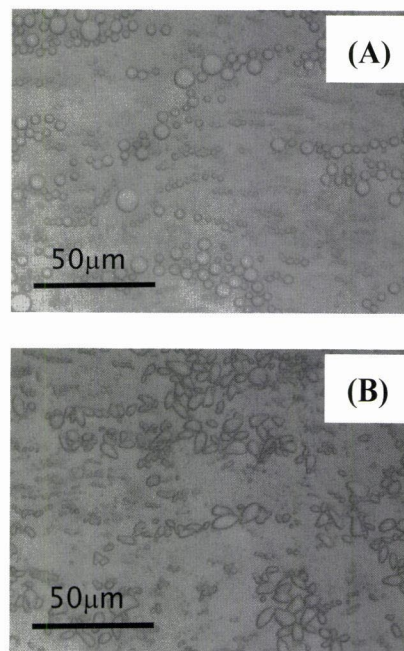


Fig. 1 Pictures of the oil-in-water emulsion. The oil phase contains 0.05 mol of the PPP per 0.95 mol of the OOO. (A): at the room temperature just after preparation of the emulsion. (B): at 233 K after cooling by 3 K/min from room temperature.

はエマルション調製直後のものであり、油滴が結晶化していない状態のものである。粒径は多少のばらつきが認められたものの、おおよそ5~10 μm であることが確認できた。

また、エマルション状態の脂質の結晶化開始温度を測定する目的上、少なくともDSC測定時間スケールにおいてエマルション状態が保たれている必要がある。Fig. 1-(B)に、353 Kより3 K/minで233 Kまで冷却・保持したエマルションの顕微鏡写真を示す。Fig. 1-(B)では油滴の変形が認められ、偏光を用いた観察ではエマルション内部の結晶化が認められた。しかし、エマルションの著しい崩壊は確認されなかったことから、本研究における条件で作製したエマルションが実験系として問題がないと判断できた。

他の系でも同様の観察を行った結果、粒径はPPP-OOO系と同じく5~10 μm 程度であり、また冷却過程でもエマルション状態が保持されていることが確認できた。

3.2 過冷却進行におよぼす共存物質の効果

Fig. 2にHD-DCE系のDSC冷却曲線を示す。発熱側へのピークの立ち上がり、結晶化開始温度 T_c に相当する。ここではHDの T_c を矢印で示したが、バルク状態、エマルション状態ともにHDの量が減少するにしたがってHDの T_c が低下する現象が認められた。また組成が同じであっても、エマルション状態の T_c がバルク状態の T_c よりかなり低い値を示すということも確認された。これより、本実験におけるエマルションでは大部分の油滴が不純物を含んでおらず、結晶化は均一核生成によるものであることが推察された。これを

説明する模式的な図をFig. 3に示す。バルク状態では、不純物あるいは容器壁面が結晶核として作用し、不均一な結晶化が引き起こされる。一方、エマルション状態でも不純物を含んだ油滴は、その不純物を核とした不均一核生成が引き起こされるが、不純物を含まない油滴が大部分であるため、系全体としては均一核生成がはるかに支配的である。結果として、冷却過程での結晶化の開始が大幅に遅延することになる[9,10]。また、バルク状態では局所的な結晶核の生成が系全体の急速な結晶化を引き起こすため、DSCで測定すると発熱ピークの立ち上がりが非常に鋭く検出される。一方、エマルション状態においては結晶化が各油滴中で独立に生じることから、ピークの立ち上がりが比較的緩やかであることが特徴的である。この様子はFig. 2からも明らかに認められる。

以上のようなDSC測定の結果はHD-DCE系のみならず、SSS-OOO系、PPP-OOO系およびHD-DCA系のすべてに共通して認められた。

一般的な溶質-溶媒2成分混合系において、溶質を含まない純溶媒の結晶化開始温度を T_c^0 、ある組成における溶媒の結晶化開始温度を T_c と表すと、この差 ΔT_c を(1)式のように定義できる。また ΔT_m もこれと同様に、溶質を含まない純溶媒の融点を T_m^0 、ある組成における溶媒の融点を T_m と表すと、(2)式のように定義可能である。

$$\Delta T_c = T_c - T_c^0 \quad (1)$$

$$\Delta T_m = T_m - T_m^0 \quad (2)$$

Fig. 4-(A)に、Fig. 2で示したHD-DCE系における

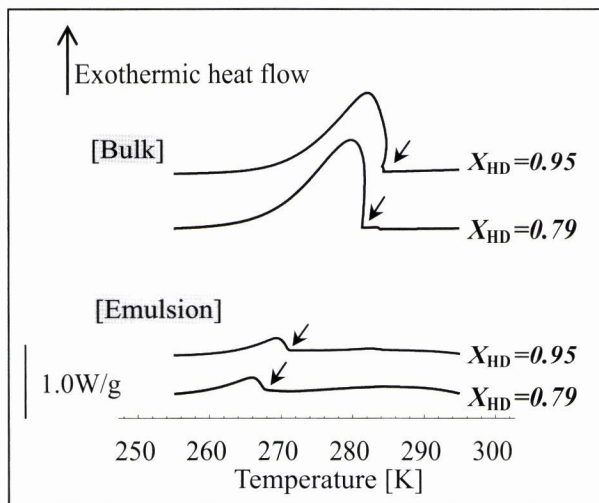


Fig. 2 Typical DSC cooling thermograms of the binary system of HD-DCE in both the states of bulk and emulsified. The mole fractions of the HD are 0.95 and 0.79 respectively. Arrows indicate the starting point of crystallization of the HD.

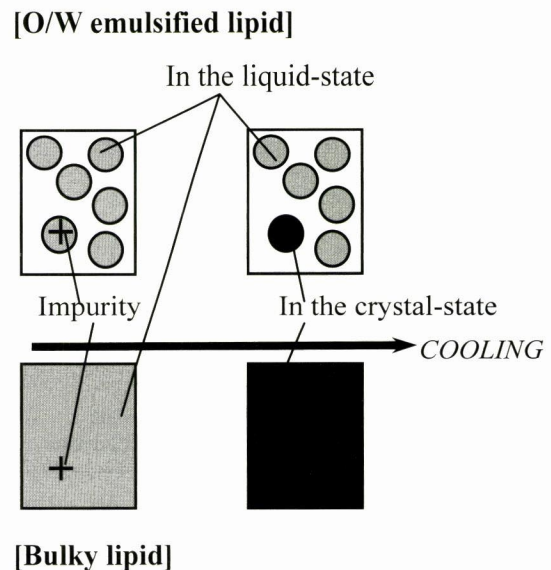


Fig. 3 Model of the homogeneous nucleation and the heterogeneous nucleation.

HD の ΔT_c を HD のモル分率 X_{HD} に対してプロットしたものを示す。これより、バルク状態、エマルジョン状態ともに X_{HD} の減少にともなって、HD の ΔT_c が減少していくことが確認された。またこの ΔT_c の降下曲線は、 $\ln X_{HD}$ に対して直線的、すなわち着目成分の対数関数でよく近似できることが明らかになった。これと同様の傾向は HD-DCE 系における HD のみならず、本研究で用いた SSS-OOO 系、PPP-OOO 系、HD-DCA 系のすべての系における、それぞれ SSS, PPP, HD についても認められた。脂質 2 成分系ではいずれが溶質成分であるか、あるいは溶媒成分であるかを定義することが困難であるが、着目成分 (SSS, PPP, HD) の ΔT_c と着目成分のモル分率 X との相関は、 α と β を定数として次の (3) 式のように簡単に表すことができた。

$$\Delta T_c = \alpha \ln X + \beta \quad (3)$$

α は、着目成分の過冷却進行に対して共存物質がど

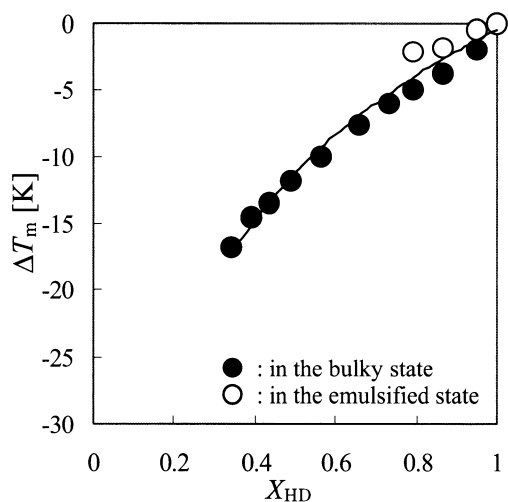
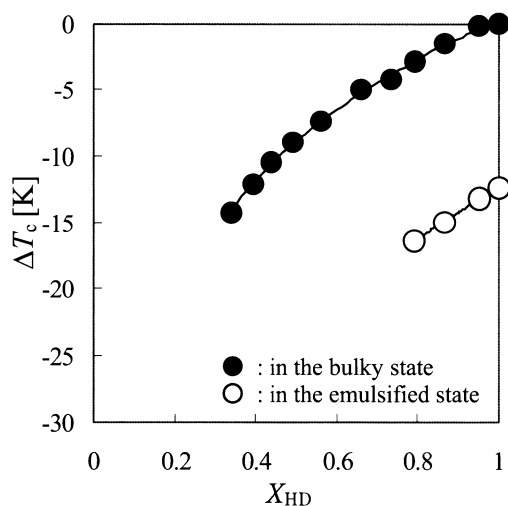


Fig. 4 The depression of the crystallization temperature (A) and the depression of the melting point (B), for the HD in the binary system of HD-DCE.

れだけの影響をもたらすかを示すパラメータであると理解することができ、また、 β は、エマルジョンの粒径や分散状態による効果を示すと考えられる。バルク状態では $\beta=0$ 、エマルジョン状態では大きな負の値を示す。ただし、これらのパラメータは冷却速度やエマルジョンの粒径、界面活性剤の種類などの諸因子にも大きく依存すると考えられ、ここで得られた値は操作パラメータとしてみ直す必要がある。

Fig. 4-(B) には HD-DCE 系の HD の ΔT_m を X_{HD} に対してプロットした。 ΔT_m の変化も、 ΔT_c と同様着目成分のモル分率 X の減少にともなって減少することが確認され、この降下曲線を、定数 k を用いて (4) 式で示したような X の対数関数で表現できることが明らかになった。しかし、 ΔT_m については ΔT_c の挙動とは異なり、バルク状態とエマルジョン状態の値にほとんど差がないことが示された。このことから、 ΔT_m の降下について表した (4) 式では、 (3) 式の β のような切片に相当する項は、エマルジョン状態においても不要である。 Fig. 5 に、 PPP-OOO 系の PPP の結晶化・融解挙動についてもまとめる。トリグリセリド混合系に関しても、 HD-DCE 系と同様の挙動が観察されることがわかった。

$$\Delta T_m = k \ln X \quad (4)$$

以上の結果より、 ΔT_c と ΔT_m はどちらも着目成分の対数の線形関数であることが認められたことから、 ΔT_c と ΔT_m の間にも直線関係が成り立つことが予測される。そこで、 HD-DCE 系および PPP-OOO 系におけるそれぞれ HD, PPP の ΔT_m に対して、 ΔT_c をプロットしたものを Fig. 6 に示したところ、両者の間に直線関係が成り立つことがバルク状態、エマルジョン状態の双方に

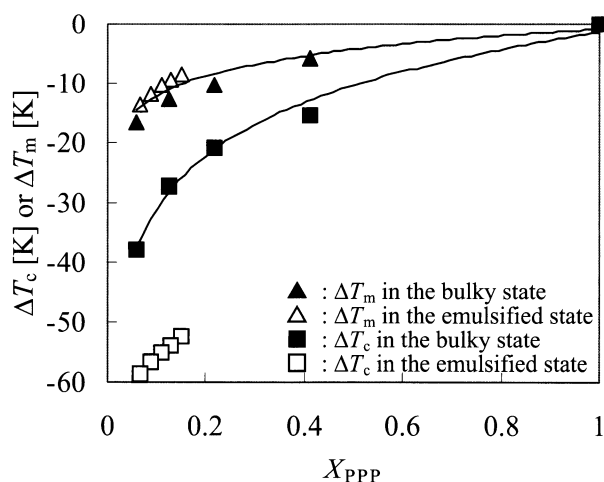


Fig. 5 The depression of the crystallization temperature and the depression of the melting point for the PPP in the binary system of PPP-OOO.

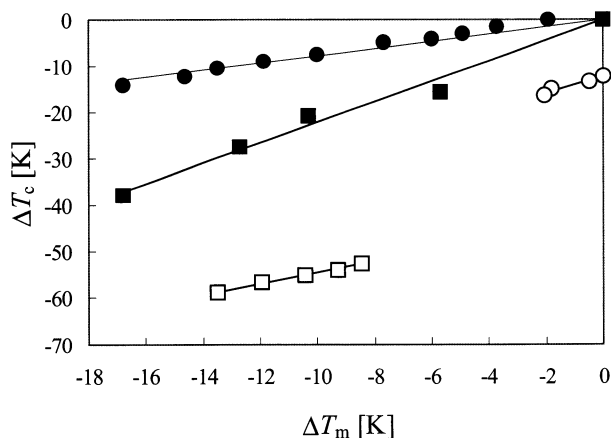


Fig. 6 The linear relationship between ΔT_m and ΔT_c for the HD in the binary system of HD-DCE, and for the PPP in the binary system of PPP-OOO. ● : HD in the bulky state, ○ : HD in the emulsified state, ■ : PPP in the bulky state, □ : PPP in the emulsified state

関して認められた。この直線は、傾き λ 、切片 q として(5)式のように表すことができる。

$$\Delta T_c = \lambda \Delta T_m - q \quad (5)$$

これと類似の現象は水溶液系でも報告されており、多くの水溶液における水の結晶化開始温度と融点の間に1次の相関があることが実験的に知られている[18-20]。 λ は、 T_m の降下に対する T_c の降下の度合いを示しているため、 $\lambda = \frac{\alpha}{k}$ であることに他ならない。この値は、現象的には共存物質が着目成分の過冷却を促進できる度合いを意味している。すなわち、過冷却状態をどれだけ維持できるのかという尺度となり得るだろう。水溶液系における λ の値は、一般的に2から3であることが知られており[21]、これが溶質の水和パラメータと相関があることも指摘されている[22]。本

研究から得られた λ の値を(3)式の α 、 β とともにTable1に示す。脂質混合系の λ の値は全体的に1から2であり、水溶液系と比較すると全体的に小さな値をとることが明らかとなった。すなわち、現象としては、本研究で対象とした系における着目成分は、一般的な水溶液系における水よりも過冷却が進行しないと言える。また、炭化水素混合系よりもトリグリセリド混合系の方が大きな値をとる傾向も認められた。この直線性および λ 、 q といったパラメータに関しては水溶液系についても未だ理論的な裏づけはされていないが、ごく最近になってKhvorostyanovら[23]が新しい理論を展開しており、この現象の解明が期待されている。

エマルションの粒径やその分布、トリグリセリドにおける結晶多形など、さらに考慮すべき要因もあるが、これまでに脂質混合溶液の結晶化開始温度と融点との相関に関して言及した例はなく、バルク状態とエマルション状態を系統立てて整理した例もなかった。本研究における脂質の結晶化開始温度を融点との相関から検討するといったアプローチは、結晶析出現象を理解するための新たな基礎的データとなり得るばかりでなく、食品加工におけるより効率的な冷却・結晶化操作においても有用な知見として期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、東京海洋大学 大島敏明助教授ならびに同大学 高井陸雄学長、東京大学大学院 応用農学生命科学研究科 宮脇長人助教授（現・石川県立大学教授）より多くの貴重なご助言を頂きました。謹んで感謝の意を表します。

Table 1 The values of the α , β and λ for component 1 of each system.

Component 1	Component 2	State	α	β	λ	R^2 for λ
Tristearin	Triolein	Bulk	9.6	0	1.74	0.97
Tristearin	Triolein	Emulsion	5.6	-42.9	1.35	0.95
Tripalmitin	Triolein	Bulk	14.0	0	2.18	0.98
Tripalmitin	Triolein	Emulsion	7.3	-38.8	1.21	0.99
<i>n</i> -hexadecane	<i>n</i> -decane	Bulk	12.9	0	0.95	0.94
<i>n</i> -hexadecane	<i>n</i> -decane	Emulsion	14.4	-14.3	1.05	0.97
<i>n</i> -hexadecane	<i>I</i> -decene	Bulk	15.9	0	0.89	0.97
<i>n</i> -hexadecane	<i>I</i> -decene	Emulsion	17.3	-12.4	1.76	0.96

引用文献

- [1] K. Sato, S. Ueno, J. Yano; Molecular interactions and kinetic properties of fats. *Prog. Lipid Res.* **38**, 91-116 (1999).
- [2] K. Sato; Crystallization behaviour of fats and lipids – a review *Chem. Eng. Sci.* **56**, 2255-2265 (2001).
- [3] C. Loisel, G. Keller, G. Lecq; Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 425-439 (1998).
- [4] R. Saggin, J. N. Coupland; Measurement of solid fat content by ultrasonic reflectance in model systems and chocolate. *Food Res. Int.* **35**, 999-1005 (2002).
- [5] R. Peschar, M. M. Pop, J. A. De Ridder, J. B. V. Mechelen, R. S. Driessen, H. Schenk; Crystal structure of 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol and cocoa butter in the β (V) phase reveal the driving force behind the occurrence of fat bloom on chocolate. *J. Phys. Chem. B* **108**, 15450-15453 (2004).
- [6] W. Skoda, M. Van den Tempel; Crystallization of emulsified triglycerides. *J. Colloid Sci.* **18**, 568-584 (1963).
- [7] W. Kloek, P. Walstra, T. Van Vliet; Nucleation kinetics of emulsified triglyceride mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 643-652 (2000).
- [8] J. Zhao, D. S. Reid; Thermal studies on the crystallization kinetics of triglycerides and milkfat by DSC. *Thermochim. Acta* **246**, 405-416 (1994).
- [9] J. N. Coupland; Crystallization in emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **7**, 445-450 (2002).
- [10] 葛城俊哉, 金子直樹, 佐藤清隆; O/W エマルション中の油相の結晶化機構. *日本結晶成長学会誌*, **26**, 184-191 (1999).
- [11] M. Knoester, P. D. Bruijne, M. V. D. Tempel; The solid-liquid equilibrium of binary mixtures of triglycerides with palmitic and stearin chains. *Chem. Phys. Lipids* **9**, 309-319 (1972).
- [12] J. B. Rossell, "Advanced in Lipid Research" R. Paloletti, D. Kritchevsky ed., Academic Press, 1967, p.353.
- [13] W. L. Ng; Nucleation behaviour of tripalmitin from triolein solution. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 1103-1106 (1989).
- [14] D. J. McClements, S. R. Dungan, J. B. German, C. Simoneau, J. E. Kinsella; Droplet size and emulsifier type affect crystallization and melting of hydrocarbon-in-water emulsions. *J. Food Sci.* **58**, 1148-1151, 1178 (1993).
- [15] 佐藤清隆; "機能的脂質の新展開", 鈴木修, 佐藤清隆, 和田俊監修, シーエムシー出版, 2000, pp.58-65.
- [16] C. Simoneau, M. J. McCarthy, D. S. Reid, J. B. German; Influence of triglyceride composition on crystallization kinetics of model emulsions. *J. Food Eng.* **19**, 365-387 (1993).
- [17] E. Dickinson, F. J. Kruizenga, M. J. W. Povey, M. Van der Molen; Crystallization in oil-in-water emulsions containing liquid and solid droplets. *Colloid Surf. A* **81**, 273-279 (1993).
- [18] F. Franks; The nucleation of ice in undercooled aqueous solutions. *Cryo-Lett.* **2**, 27-31 (1981).
- [19] S. Charoenrein, M. Goddard, D. S. Reid; "Water Relationships in Food" H. Levine, L. Slade ed., Plenum Press, 1991, p.191.
- [20] D. H. Rasmussen, A. P. MacKenzie; "Water Structure at the Water-Polymer Interface" H. H. G. Jellinek ed., Plenum Press, 1972, p.126.
- [21] S. Charoenrein, D. S. Reid; The use of DSC to study the kinetics of heterogeneous and homogeneous nucleation of ice in aqueous system. **156**, 373-381 (1989).
- [22] 君塚道史, 鈴木徹, 萩原知明, 高井陸雄; 水溶液系における過冷却解消温度について. *低温生物工学会誌*, **46**, 1-5 (2000).
- [23] V. I. Khvorostyanov, J. A. Curry; Thermodynamic theory of freezing and melting of water and aqueous solution. *J. Phys. Chem. B* **108**, 11073-11085 (2004).

要 旨

バルク状態およびO/Wエマルション状態における脂質2成分混合系の結晶化・融解挙動について検討を行った。組成比が同じであれば、エマルション状態下の結晶化開始温度の方がバルク状態下におけるものよりもはるかに低いことが観察された。また、共存物質により着目成分の融点が降下することが確認されると同時に、結晶化開始温度も同様に低下する現象が認められた。この低下の度合いは、融点・結晶化開始温度ともに組成の対数に対して直線的であり、さらに融点と結晶化開始温度の間にも1次の相関があることが認められた。この相関はこれまで水溶液系について報告されてきたが、脂質成分にも観察されることが明らかとなり、本研究結果は過冷却や結晶化といった現象をより詳細に理解するひとつの手がかりとなると考えられる。