逆相複合エマルジョン系を利用した液中乾燥法による グルタミンのツェインによるマイクロカプセル化

田中真人*[§], 田口佳成*, 島知恵子

新潟大学大学院自然科学研究科

*新潟大学工学部化学システム工学科

Microencapsulation of Glutamine with Zein by a Solvent Evaporation Method in Reverse Multiple Emulsion

Masato Tanaka*[§], Yoshinari Taguchi* and Chieko Shima

Department of Science and Technology, Graduate School, Niigata University,
2-8050 Ikarashi, Niigata-shi, Niigata 950-2181

*Department of Chemical Engineering, Niigata University,
2-8050 Ikarashi, Niigata-shi, Niigata 950-2181

We prepared zein microcapsules containing glutamine using a solvent evaporation method in reverse multiple emulsion. In the experiment, fatty acids were added to the shell material to give the shell hydrophobicity; as a result, zein microcapsules containing glutamine were successfully prepared by the microencapsulation method adopted here. It was found possible to change the release rate of the core material by addition of fatty acids. Moreover, it was found that the addition of oleic acid resulted in the strongest hydrophobicity and that the use of palmitic acid had the greatest effect on the content of the core material.

(Received Sep. 28, 2005; Accepted Feb. 13, 2006)

ある機能を発現する物質をコア材として、これを異種物質のシェル材により被覆したような構造のマイクロカプセルは、コア材とシェル材の組み合わせにより、新しい機能の発現が期待できる複合微粒子である¹⁾²⁾。

食品分野においても、高齢化社会に対応した介護食、食生活の多様化に対応した栄養訴求型食品、健康増進に対応した各種のサプリメントなどに多くのマイクロカプセルが応用されており、また、新規機能発現を期待して開発がなされている^{3)~5)}。

食品に応用されるマイクロカプセルの重要な機能の一つに芯物質の保護・隔離と徐放性があるが、この機能は主としてシェル材の物性に強く依存している。例えば、水との接触により変質するような親水性物質をマイクロカプセル化しようとする場合には、疎水性のシェル材を採用することになるが、飲用して体内に入った時点から徐放させるためには、適度の水膨潤性を有していることが望ましいことになる。

このような条件に応えうるシェル材として、トウモロコ

シタン白質に含まれている疎水性たん白質のツェインを採用した。ツェインはフィルム形成能、脂質の酸化抑制、温度・PH 応答性と水膨潤性などの特徴を有しており、これまでもコーティング剤として応用されている⁶⁾⁷⁾。しかしながら、マイクロカプセルのシェル材として応用例はほとんどない⁸⁾。

本研究の目的は、芯物質として親水性のグルタミンを、シェル材として疎水性タンパク質であるツェインを採用して、マイクロカプセル調製の可能性の検討と、マイクロカプセルの特性評価をすることである。

実験では、マイクロカプセル化工程での芯物質の漏洩を可能な限り抑制するために、連続相として油相を採用した。そして、シェル材の物性を変化させるために、脂肪酸を添加して、耐水性、水膨潤性、含有率、徐放性などに及ぼす影響を検討した。

実 験 方 法

1. 実験材料

連続相に使用したコーン油は和光純薬工業製である。シェル材であるツェイン (Zein) は昭和産業製であり、この溶媒のエタノールは和光純薬工業製 1 級である。芯物質

〒950-2181 新潟県新潟市五十嵐 2 の町 8050

* 〒950-2181 新潟県新潟市五十嵐 2 の町 8050

[§] 連絡先 (Corresponding author), tanaka@eng.niigata-u.ac.jp

のL-グルタミン (Gln) は味の素製である。また、添加剤であるオレイン酸 (OA)、大豆レシチン、ステアリン酸 (SA) は和光純薬工業製1級を使用し、ラウリン酸 (LA) とパルミチン酸 (PA) は関東化学製1級である。洗浄で用いたドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS) は関東化学製1級である。

2. 実験装置および方法

(1) 実験装置

実験装置の概略図を Fig. 1 に示す。攪拌槽は内径 8.5 cm、容積 50 cm³ のセパラブルフラスコを用いた。攪拌翼は翼径 5.0 cm である 6 枚羽根ディスクタービンを用い、液深の 1/3 の位置に設置した。セパラブルフラスコの内壁に長さ 9 cm、幅 1.0 cm のアルミニウム製邪魔板を 4 枚取り付けた。

(2) マイクロカプセルの調製

Fig. 2 にマイクロカプセルの調製法のフローシートを示す。まず、芯物質の Gln を添加剤として用いたレシチンに投入し、葉さじによって攪拌して (S/O ; solid-in-oil) 分散系を調製した。一方、ツェイン溶液は、ツェインを所定量 (4g あるいは 8g) 量りとり、マグネチックスターラー (2 s⁻¹) で攪拌下の 90 vol% エタノール水溶液に徐々に添加するとともに⁶⁾、所定量の添加剤を添加して調製した。このツェイン溶液に、先に調製した (S/O) 分散系を投入し、攪拌翼による攪拌 (3.3 s⁻¹) で分散させ (S/O)/W 分散系を再調製した。その後、(S/O)/W 分散系を連続相のコーン油に投入し、温度 30℃ と攪拌速度 5.0 s⁻¹ で攪拌しながら (S/O)/W/O' 分散系を調製した。その後、真空下で 2 時間エタノールを蒸発除去することにより、溶解していた

ツェインおよびレシチンを析出させてマイクロカプセル化工程を終了した。吸引ろ過によって連続相から分離したマイクロカプセルを、所定濃度の DBS 水溶液中で 10 秒間超音波にかけて洗浄を行い、再びろ過してから自然乾燥させた。

このような操作を主として添加剤種とその濃度を変化させて実施した。

これらのマイクロカプセルの調製条件を Table 1 に示す。

(3) マイクロカプセル生成メカニズム

本実験において、逆相複合エマルジョン系を利用した液中乾燥法により調製を試みたマイクロカプセル生成機構のモデル図を Fig. 3 に示す。すなわち、ツェインのエタノール水溶液からエタノールのみを蒸発除去することにより、S/O 分散系を被覆するようにツェインを析出させてカプセル化するものである。

Fig. 2 Flowchart of microcapsule preparation

Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus

Table 1 Experimental conditions

[Experimental conditions]	
Volume of continuous phase	: 18 [cm ³]
Amount of Gln	: 2.5 [g]
Amount of Zein	: 4.0 [g]
Volume of solvent	: 1600 [cm ³]
Lecithin	: 5 [g]
Impeller speed	: 3.3 [s ⁻¹]
Amount of Additives	: 0~1.2 [g]

Fig. 3 Mechanism of microencapsulation

3. 特性評価

(1) ツェイン膜の接触角と吸水率

マイクロカプセルシートの水に対する耐水性を評価するために、Fig. 4 に示すようなモデルシートを作成し、ツェイン膜上の水滴の接触角と吸水率を求めた。

すなわち、マイクロカプセルシートと同じ混合比となるようにツェイン溶液を調製し、これをスライドガラス上に流動塗布した。その後、減圧下でエタノールを除去してモデルシートを調製した。なお、モデルシートのサイズは、長さ 40×幅 25×厚 1 mm である。

各条件で調製したツェイン膜に、100 cm³ の蒸留水をマイクロシリンジによって滴下し、その状態を鏡を用いて実体顕微鏡によって写真撮影した。得られた写真像から水滴の高さ H と幅 L を測定し、式 (1) から接触角 θ を算出した⁵⁾。なお、評価法の概略図を Fig. 4 に示す。

$$\theta[\text{degree}] = 2\text{tan}^{-1}(2H/L) \quad (1)$$

次に、ツェイン膜を蒸留水に浸してから所定時間毎に、表面の水分を吸い取ったツェイン膜の重量を測定し、式 (2) から吸水率 (W_A) を算出した。

$$W_A[-] = (W_n - W_0)/W_0 \quad (2)$$

ここで W_0 と W_n はそれぞれ、水に浸漬前と浸漬後におけるツェイン膜の重量である。

(2) カプセルの平均径

生成したマイクロカプセルの平均径は、実体顕微鏡に投影された約 300 個のカプセルを直接撮影し、この像より求めた。なお、平均径は、式 (3) で求まる体面積平均径 D_p (Sauter 径) として算出した。

$$D_p[\mu\text{m}] = \frac{\sum (ndp^3)}{\sum (ndp^2)} \quad (3)$$

(3) 液物性 (粘度と界面張力)

—Preparation of zein film—

Additive : 0.4g
: oleic acid : palmitic acid
: stearic acid : lauric acid

—estimation—

Fig. 4 Schematic diagram of preparation and estimation of Zein film

シェル材溶液の粘度は、ビスコメイト (VM-1A, 山一電気工業製) により測定した。また、シェル材溶液とコーン油間の界面張力は表面張力計 (CBVP-A3 型, 協和界面科学製) により測定した。

(4) マイクロカプセルの観察

マイクロカプセルの形状、表面状態、内部構造を走査型電子顕微鏡 (SEM, JSM-5800, 日本電子製) により観察した。カプセルの内部構造は、カプセルを直接切断して得られた切断面の SEM 写真から観察した。

(5) 芯物質の含有率

マイクロカプセルの芯物質含有率は以下のようにして求めた。まず、マイクロカプセルをメノウ乳鉢によりすりつぶし、一定量 (50 mg) 量り採り、10 cm³ の蒸留水に懸濁した。超音波を 20 分間照射し、溶解させたものを高速液クロマトグラフィ (HPLC) により測定した。なお、カラムは GL サイエンス社製の Inertsil ODS-3, 4.6 ϕ × 150 mm を用い、カラム温度は 40℃, 検出波長は UV 210 nm, 移動相は 20 mM リン酸緩衝液 (リン酸二水素ナトリウム 2.4 × 10⁻³ kg を蒸留水で 1 × 10⁻³ m³ に調製し、リン酸を加えて pH2.5 に調製), 流速 0.7 ml/min で測定した。測定した値を式 (4) に代入して求まる値を含有率 F とした。

$$F[\%] = \frac{\text{マイクロカプセルの単位質量当りに包含されたGln量}}{\text{仕込み基準のGlnの包含量}} \times 100 \quad (4)$$

Fig. 5 Effect of additives on contact angle of water droplet with Zein film

(6) 芯物質の徐放特性

マイクロカプセルからの芯物質の徐放率は以下のようにして求めた。すなわち、マイクロカプセルを一定量 (約 250 mg) 量り採り、50 cm³ の蒸留水中に浸漬し静置した。一定時間経過毎に溶出した Gln を HPLC によって検出した。測定した値を式 (5) に代入して算出される値を徐放率 R とした。

$$R[\%] = \frac{\text{マイクロカプセルの単位質量当りのGlnの量}}{\text{マイクロカプセルの単位質量当りの全検出量}} \times 100 \quad (4)$$

(7) マイクロカプセルの膨潤度

マイクロカプセルを蒸留水に浸漬させ静置した。一定時間毎にカプセルを取り出して実体顕微鏡によって直接撮影した。そして、この像から平均径を求め、浸漬前の平均径と比較することにより膨潤度を評価した。

実験結果および考察

1. ツェイン膜に関する接触角

Fig. 5 に、添加剤種がツェイン膜に対する水滴の接触角に及ぼす影響を示す。OA を添加した場合には、未添加の膜 ($\theta=58.5^\circ$) と比較して、添加量とともに接触角は 62.2° (1.6 g 添加) まで大きくなっていることがわかる。これと同様に、SA, LA, PA 添加では、それぞれ 136° , 74.9° , 104.1° まで接触角が増加し、疎水性が強くなっている。特に、SA の添加により接触角の増加は顕著であり、かつ、添加量とともに増加している。また、PA の添加により接触角は著しく大きくなるものの添加量による顕著な増加は観察されない。このような接触角の増加の割合は添加剤種の炭素数、OA の 9, LA の 12, PA の 16, SA の 18 の順に対応している。

また、ほぼ同一の接触角であっても、ツェイン膜と水滴

との付着面状態が異なっていることから、ツェイン膜の表面状態 (緻密さや粗さ) に違いがあることが推測される。

2. ツェイン膜の吸水率

Fig. 6 に、ツェイン膜の吸水率 (W_A) に及ぼす添加剤種 (添加量 0.8 g) の影響を示す。未添加膜と比べて、どの添加剤種膜も低い吸水率を示した。しかしながら、接触角の結果とは異なり、OA 添加膜の吸水率が最も低くなっている。これは、OA の造膜性が高いために、接触角は比較的小さい値を示したが、滑らかな緻密な膜を形成するためであると思われる。また、LA は造膜性が低く、かつ滑らかな膜が形成されなかったため、吸水率が相対的に高くなったのではないかと考えられる。特に PA は造膜性が極めて低く、浸漬評価途中で崩壊したため測定不可能であった。一方、最も強い疎水性を示した SA は比較的確率性もよいために、比較的低い吸水率を与えると同時に、早い段階で飽和吸水率に達している。これらの結果から、添加剤種により、種々の度合いの吸水性をマイクロカプセルに付与することが可能であることが期待される。

3. マイクロカプセル径に及ぼす影響

Fig. 7 に、各々の添加剤種を 0.4 g 添加した時の平均マイクロカプセル径 (D_p) を示した。無添加時では、 $D_p=160\mu\text{m}$ であったが、SA, LA, OA, PA を添加すると、それぞれ $190\mu\text{m}$, $350\mu\text{m}$, $380\mu\text{m}$, $500\mu\text{m}$ と大きくなった。マイクロカプセル径に強い影響を及ぼす液物性で界面張力 (γ) と粘度 (μ) を Table 2 に示す。界面張力は添加により若干低下しているが、粘度は増加している。マイクロカプセル径の添加による増加は、分裂に対する粘性抵抗が増加したことによるものと考えられる。

4. 芯物質の含有率

Fig. 8 に、最も大きい接触角を呈した量を添加して調製したマイクロカプセルの芯物質含有率に及ぼす添加剤種の影響を示す。未添加の含有率 (19%) と比べて含有率は、いずれの添加剤種においても約 90% 以上となっている。特に、PA 添加ではほぼ仕込み量がカプセル化された。

5. 芯物質の放出率

Fig. 9 に、0.4 g を添加して添加剤種が、芯物質の徐放率

Fig. 6 Effect of additives on water absorption of Zein film

Fig. 7 Effect of additives on mean diameter of microcapsules

Table 2 Interfacial tension and viscosity at the addition of 0.4 g

	Non	SA	LA	OA	PA
γ [N/m]	4.0×10^{-4}	3.2×10^{-4}	3.5×10^{-4}	3.7×10^{-4}	3.6×10^{-4}
μ [Pa·s]	0.23	0.26	0.30	0.35	0.41

Fig. 8 Effect of additives on content of core material

Fig. 9 Effect of additives on release of core material

に及ぼす影響を示す。添加剤種によりマイクロカプセル径が異なることから、放出率に及ぼす添加剤種の影響は必ずしも系統的ではないが、以下のようなことが分かる。PA 以外では、未添加の場合より放出率は低くなっており耐水性が増している。PA を添加した場合は、シェルが崩壊してしまうことから放出率は高くなっている。

6. カプセルの観察

Fig. 10 に、各添加剤種を添加して調製したマイクロカプセルの SEM 観察結果を示す。全体像および表面像からは、添加剤種による明確な相違は観察されず、いずれの場合も球形のマイクロカプセルであることが分かる。最も低い吸水率を示した OA を添加した場合の表面像の SEM 観察結果を未添加の結果とともに Fig. 11 に示した。これらの結果から、未添加の場合よりも、いずれの添加剤種の場合でもシェルが緻密になっていることが分かる。特に、OA の添加により、表面が緻密になっていることが分かる。

Fig. 10 SEM photographs of microcapsules

Fig. 11 SEM photographs of surface of microcapsule

要 約

逆相複合エマルジョン系を利用した液中乾燥法により、水溶性のグルタミンをツェインによりカプセル化することを試み、以下のような結果を得た。

(1) 本実験で採用したマイクロカプセル調製法により、グルタミン包含ツェインマイクロカプセルを調製することが可能であった。

(2) ツェインに各種脂肪酸を添加することにより、徐放性や水膨潤性を変化させることが可能であった。

(3) 脂肪酸を添加することにより、芯物質の含有率を著しく向上させることができた。

文 献

- 1) 古田 武, 村勢則郎, 安達修二, 述本 進, 中村哲也, 「食品の高機能粉末・カプセル化技術」, 第 1 版 (サイエンスフォーラム出版, 東京) (2003).
- 2) 近藤 保, 「最新のマイクロカプセル化技術」, 第 2 版 (総合技術センター出版, 東京) (1990).
- 3) 田中真人, 上田雄介, 木村勇雄, 田口佳成, 熱感受性ポリマーによるカプセル調製と諸特性, 食科工, **44**, 199-204

(1997).

- 4) 長谷川信弘, 有孔澱粉の性質とマイクロカプセル化への利用, 食品工業, **41**, 42-50 (1998).
- 5) 目崎智子, 田口佳成, 田中真人, トルパルミチンと大豆レシチンによる親水性生理活性物質包含カプセルの調製, 食科工, **52**, 80-87 (2005).
- 6) 高橋秀和, ツェインの特性と応用, 月間フードケミカル, **1**, 93-97 (1998).
- 7) 山田浩司, 野口明德, 高橋秀和, とうもろこしタンパク質ゼインの挙動に与える有機溶媒の影響, 食科工, **43**, 306-312, (1996).
- 8) 高橋秀和, 「食品と開発」, **30** (12), 45 (1995).

(平成 17 年 9 月 28 日受付, 平成 18 年 2 月 13 日受理)