

トリ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

目崎智子, 田口佳成*, 田中真人*[§]

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

Preparation of Capsules Containing a Hydrophilic Physiologically Active Substance with Tripalmitin and Soybean Lecithin

Satoko Mezaki, Yoshinari Taguchi* and Masato Tanaka*[§]

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

Capsules were prepared by using the mixed system of fatty acid ester (tripalmitin) and soybean lecithin as a capsule matrix. A hydrophilic physiologically active substance (L-Cystein) as the core material was encapsulated. Lecithin was added into tripalmitin in order to improve stability of core material in the matrix and water-resistant property of the matrix. Oil droplets made from lecithin and tripalmitin were dispersed in an aqueous solution of methyl cellulose (MC), and solidified by cooling down. It was investigated how the preparation conditions affected the properties of capsules. As the mixture ratio of lecithin to tripalmitin increased, the capsule size, the encapsulation efficiency and the content of core material were increased. Furthermore, it was found that the release rate of core material could be repressed by increasing the mixture ratio.
(Received Aug. 19, 2004 ; Accepted Nov. 14, 2004)

近年、食品の多様化が高まるその背景には、さまざまな機能を有したマイクロカプセルの利用が深く関わっている¹⁾²⁾。例えば、食感を与える、苦味をマスキングする、外部環境から保護して変質にくくする、徐放性を持たせるなどといったカプセル化本来の機能利用がある。現在もその応用例が急速に増大しつつある中で、特に最近では、人々の関心が「健康」に向けられるようになってきたことから、生理的機能の高い物質などをマイクロカプセル化し食品に利用することにより、高機能を有した食品を創造しようとする研究が活発に行われている^{3)~7)}。

このように食品へのマイクロカプセルの応用範囲は多岐に渡っているにもかかわらず、一般の工業分野と比較してその利用はかなり限定されているのが現状である。それは、食品に利用できる被膜物質及び溶媒に制約があること、マイクロカプセル化することによるコスト高を吸収する付加価値を付与しなければならないことなどの問題があるためと考えられる¹⁾²⁾⁸⁾。

本研究では、高機能性食品の新規開発への応用を念頭に置き、親水性生理活性物質のマイクロカプセル化を試みた。親水性生理活性物質としてここで採用した L-システインは、水と接触あるいは溶解すると分解変質してしまい、苦味、不快臭を呈するといった性質から、現在その摂取方法は錠剤のみに限られている。そこで、L-システインを水溶液中でも安定に存在できるようにし、液状食品への利用の拡大をするために、疎水性の強いトリパルミチン(可食性疎水材料)によりカプセル化することを試みた。そして、生成したカプセルの平均径、芯物質のカプセル化効率及び含有率、溶出率、カプセルの崩壊性等に及ぼす調製条件の影響を評価、検討した。

実験方法

1. 実験材料

連続相に溶解させた分散安定剤としてのメチルセルロース(MC)は、信越化学株式会社製(商品名 SM-4000)のものをを用いた。なお、SM-4000 とは、25℃における 2wt% 濃度(イオン交換蒸留水 5.0 g に 10.2 g の MC を溶解)の MC 水溶液の粘度が 4000 cp を示す MC のことである。カプセ

〒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

Table 1 Results of measurement on angle of contact

	θ [degree]
lauric acid	84.15
myristic acid	80.84
palmitic acid	87.37
stearic acid	94.16
tripalmitin	103.37
tristearin	108.93
beeswax	100.60

ルのマトリックス構成材のトリパルミチン (TP) は、東京化成工業株式会社製である。芯物質の安定性向上とカプセルマトリックスの耐水性向上を目的として用いた、油溶性界面活性剤である大豆レシチン (SL) は、和光純薬工業株式会社製である。また、芯物質の生理活性物質は、固体粉末状の L-システイン (味の素株式会社製) である。

ここで、カプセルのマトリックス構成材として TP を採用したのは、以下のような理由による。親水性固体粉末をカプセル化・保護するためには、マトリックス構成材として疎水性と造膜性・造粒性を呈することが望ましいことから、脂肪酸 (ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸)、脂肪酸エステル (TP、トリストアリン)、油脂 (蜜ろう) などを候補とした。そして、疎水性については、モデルシートを調製して水との接触角を、造膜性・造粒性については、加熱溶融とその後の水中での造粒性についてそれぞれ測定、検討した。

接触角の測定結果を、Table 1 に示した。TP、トリストアリン、蜜ろうが大きい接触角を呈した。また、造粒性については、TP が最も良好であった。これらのことから、カプセルのマトリックス構成材として、TP を採用した。

2. モデルシートの調製方法

カプセルのマトリックスを構成する TP と SL からなる混合物の特性を調べるために、以下のようにしてモデルシートを調製した。ここで、TP に対する SL の重量比を、混合比 SL/TP として表した。

所定の混合比になるように、TP に SL の所定量を投入し、加熱しながらこれを均一に混合溶解させた後、スライドガラス上に流動塗布した。その後、徐々に冷却して固化させて、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×厚さ 1 mm である。

3. カプセル調製法

カプセルの調製フローシートを Fig. 1 に示した。

メノウ乳鉢により粒径約 600 nm まで粉碎した L-システイン 8.0 g を、74℃ に加温維持した SL 2.0~8.0 g に添加した。ここに、さらに 74℃ にて溶融させた TP 8.0 g を添加して (S/O) 分散系を調整した。この S/O 分散系を MC 水溶液 (0.1 wt%, 74℃, 180 ml) に投入して、翼径 5.4 cm

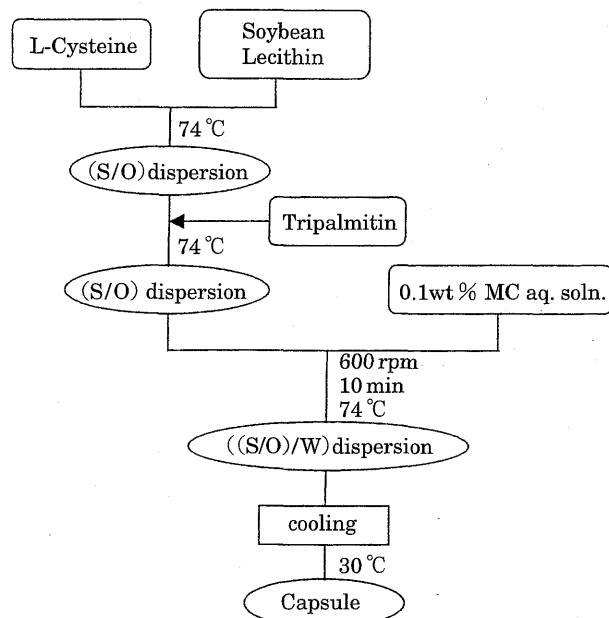


Fig. 1 Flow sheet for the capsule preparation

の 6 枚羽根ディスクタービンにより 600 rpm の攪拌速度で 10 分間攪拌し、(S/O)/W 分散系を調整した。この後、冷却装置により分散系の温度を徐々に降下させて、TP と SL からなる油滴を固化させ、30℃ に到った時点でカプセル化を終了した。そして、連続相中に沈殿しているカプセルを採取し自然乾燥させた。

4. 諸特性の評価

4.1 カプセルの特性評価

(1) 平均径

生成したカプセルの平均径は、ノギスにより約 100 個のカプセルを直接測定することにより求め、式 (1) で定義した個数平均径 D_p として算出した。

$$D_p = \frac{\sum (ndp)}{\sum n} \quad (1)$$

ここで、 n , dp はそれぞれ、測定した粒子個数と粒径である。

(2) カプセル化効率及び含有率

生成したカプセルにおける芯物質 (L-システイン) のカプセル化効率 E と含有率 E' は、それぞれ式 (2)、式 (3) のように定義した。

$$E[\%] = \frac{\text{芯物質のカプセル内包量}}{\text{芯物質の仕込重量}} \times 100 \quad (2)$$

$$E'[-] = \frac{\text{芯物質のカプセル内包量}}{\text{カプセル重量}} \quad (3)$$

すなわち、カプセル化効率は芯物質の仕込み量に対するカプセル内包量として、また芯物質の含有率はカプセル中に占める芯物質の質量分率として、以下のようにして求めた。100 ml ビーカーにカプセルを一定量 (200 mg) 量り採

り、蒸留水 10 ml を加えて懸濁させ、5℃以下にて 24 時間放置しカプセルを膨潤させた。これをホモジナイザーで細かく砕き、その後蒸留水を 90 ml 加えた。さらにカプセルを壊すために超音波を 20 分間照射して芯物質を完全に溶出させた。これを 0.45 μm フィルターで 2 ml 濾過した後、限外濾過膜容器 (0.45 μm フィルター) に 1.5 ml 入れ、遠心分離機 (5℃, 8500 rpm, 1 h) にて濾過を行った。このようにして得た溶液を、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定した。カラムは GL サイエンス社製の Inertsil ODS-3 (4.6φ×150 mm) を用い、カラム温度は 40℃, 検出波長は UV 210 nm, 流速は 0.7 ml/min で測定した。なお、移動相は 85% リン酸 (和光純薬工業株式会社製, 特一級) 580 mg と過塩素酸テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (東京化成工業株式会社製) 34.2 mg を蒸留水で溶解させ、5N 水酸化ナトリウム (和光純薬工業株式会社製, 一級) を加えて pH 3.8 に調整し、蒸留水にて希釈して全体を 1000 ml にした。

(3) 芯物質の溶出率

芯物質の溶出率 R を式 (4) のように定義し、以下のようにして求めた。

$$R[\%] = \frac{\text{芯物質の溶出量}}{\text{芯物質のカプセル内包量}} \times 100 \quad (4)$$

すなわち、100 ml ビーカーにカプセルを一定量 (200 mg) 量り取り、室温にて 100 ml の水に浸漬し静置した。ただし、ここでサンプル液を水とすると、室温で放置している間に *L*-システインが微生物に消費されてしまう可能性があるため、サンプル液は蒸留水にアンピシリンナトリウム (和光純薬工業株式会社製, 生化学用) を 0.01% 添加したものをを用いた。その後、一定時間経過毎に採取し、溶出した *L*-システインを HPLC により測定した。なお、*L*-システインの溶出時間は 3 分である。また、試料採取の際には溶液を軽くかき混ぜ、サンプルを 0.45 μm フィルターに通した。このようにして求めた測定値を式 (4) に代入し、溶出率 R を算出した。

(4) カプセルの崩壊性

カプセルの膨潤崩壊性は、カプセルを室温にて蒸留水に浸漬して静置し、24 時間後に写真撮影し、その像から評価した。

(5) カプセルの観察

調製したカプセルの全体像を実体顕微鏡により観察した。また、カプセルの表面状態及び内部構造を走査型電子顕微鏡 (SEM, JSM-5800, 日本電子株式会社製) 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を SEM 観察して評価した。

4.2 その他の評価

(1) 芯物質沈降速度

カプセル化プロセスにおける、芯物質の溶融マトリックス中での安定性を評価するために、溶融マトリックス中で

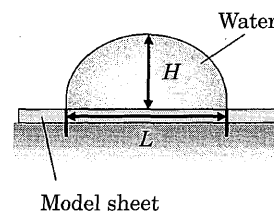


Fig. 2 Measurement of contact angle

の芯物質の沈降速度を測定した。すなわち、所定の混合比となるように TP と SL を試験管に入れ、74℃一定に保ちながら溶融させた。その後、この試験管を静置し、ここに芯物質を添加して沈降していく様子を観察した。そして、上澄み液と沈降域の界面高さ h と時間 t の関係を求め、回分沈降曲線を作成した。そして、この曲線から、式 (5) で定義した芯物質沈降速度 u を算出した。

$$u = \frac{h_0 - h_t}{t} \quad (5)$$

ここで、 h_0 は懸濁液を容器に入れた直後の高さ、 h_t は時間 t における界面高さである。芯物質の沈降速度が遅い程、実際のカプセル化工程において、TP と SL からなる油滴からの芯物質の離脱が生じにくいものと推測される。

(2) 分散相粘度

TP と SL の各々の混合比での分散相の粘度 μ は、振動粘度計 (VM-1A-MH 型, 山一電気株式会社製) により測定した。

(3) マトリックスモデルシートの耐水性

調製したモデルシート上に、0.01 ml の蒸留水をマイクロシリンジにより滴下して液滴を生成し、その形状を可能な限り迅速に直接写真撮影した。得られた写真から水滴の高さと幅を測定し、式 (6) から接触角 θ を算出した。

$$\theta \text{ degree} = 2 \tan^{-1}(2H/L) \quad (6)$$

なお、評価法の概略図を Fig. 2 に示した (滴下接触角測定法)。以下の実験を、恒温室 (25℃, 50 HR%) にて行った。

実験結果および考察

1. カプセル径

Fig. 3 に、混合比 SL/TP がカプセルの平均径 D_p 及び分散相粘度 μ に及ぼす影響を示す。混合比の増加に伴い、カプセルの平均径は、1.5 mm (混合比 0) から 3.0 mm (混合比 1.0) まで大きくなった。これは、高粘性の SL の添加により溶融マトリックス粘度が増加 (2.0 から 20 Pa·s) したために、(S/O)/W 分散系調整時に (S/O) 滴の分裂抵抗が増加したことに起因すると考えられる。

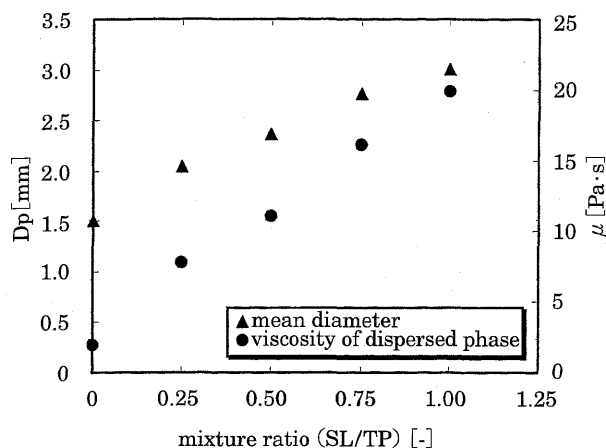


Fig. 3 Dependence of mean diameter and viscosity of dispersed phase on the mixture ratio

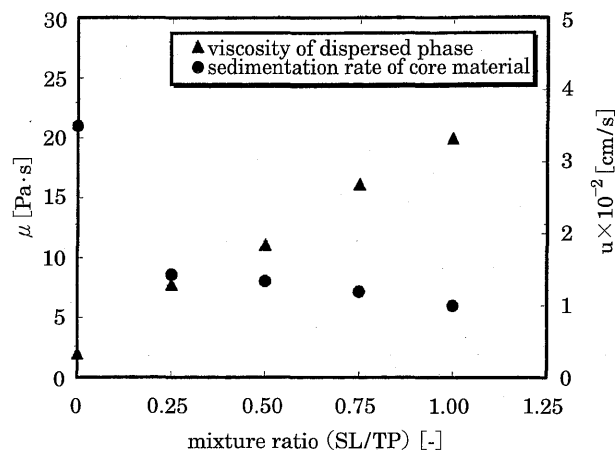


Fig. 5 Dependence of viscosity of dispersed phase and sedimentation rate of core material on the mixture ratio

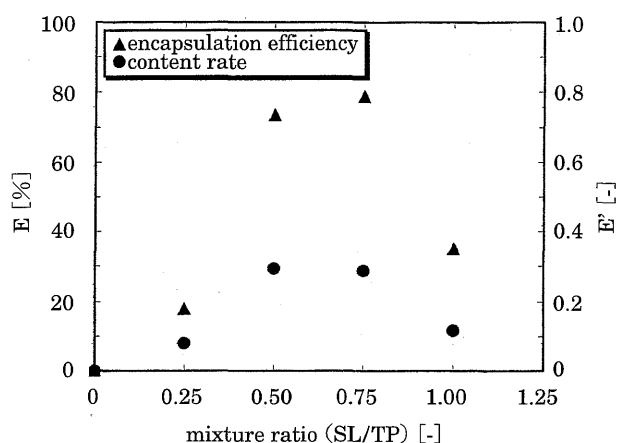


Fig. 4 Effects of mixture ratio on encapsulation efficiency and content

2. カプセル化効率と含有率

Fig. 4に、混合比 SL/TP が芯物質のカプセル化効率及 E 及び含有率 E' に及ぼす影響を示す。SL 無添加の場合には、カプセル化工程で、すべての芯物質が離脱したが、混合比の増加とともに芯物質のカプセル化効率及び含有率が増加し、混合比 0.75 近傍で各々最大となり ($E=80\%$, $E'=0.32$)、その後は減少した。これは、以下のような理由によるものと考えた。SL は親水基と疎水基の両方を有する両親媒性物質であるので、SL の親水基を芯物質 (= 親水性) に、疎水基をマトリックス (= 疎水性) にそれぞれ吸着させて、マトリックス中に芯物質を安定に分散させる。したがって、混合比の増加とともにカプセル化効率及び含有率は増加する。また、SL の添加は、造粒性を向上させたこと、すなわちバインダーとしての効果を発現したことにも大きく寄与していると考えられる。しかしながら、さらなる混合比の増加は、親水基を増加することになることから、カプセル化工程での水の攻撃を受けやすくなったもの

と考えた。カプセル化効率と含有率に及ぼす混合比の影響を、カプセル化工程での芯物質の安定性から調べた。

Fig. 5 に、混合比 SL/TP が分散相粘度 μ 及び芯物質沈降速度 u に及ぼす影響を示す。混合比の増加とともに、溶融マトリックス粘度は著しく増加し (2.0 から 20 Pa·s)、芯物質の沈降速度は激減している (3.5×10^{-2} から 1×10^{-2} cm/s)。このことから、SL の添加によりマトリックス中における芯物質の分散安定性が向上し、結果としてカプセル化効率が向上するものと考えられる。さらに、SL の添加の影響をモデルシートの接触角から検討した。Fig. 6-a に、混合比 SL/TP がモデルシートの接触角 θ に及ぼす影響を示す。SL 無添加時では、 $\theta=105^\circ$ であったものが、混合比の増加により、約 $\theta=140^\circ$ (混合比 0.40) となり、その後は減少 ($\theta=110^\circ$, 混合比 1.0) した。このことより、SL の添加により疎水性は増加するものの、混合比が大きくなると疎水性は低下した。このことは、Fig. 4 の結果を支持するものと考えられる。このことをさらに検討するために、接触角の経時変化を測定し、その結果を Fig. 6-b に示した。なお、本実験条件下での接触角の測定は、モデルシート上に滴下した水滴の蒸発や、モデルシートへの水の浸入などが起こると考えられるため、正確な結果とはならないと思われるが、混合比の影響を定性的に知ることができると考えた。

接触角は、混合比 0.50 までは無添加より 20 分位までは大きくなっており、混合比 0.75 では初期領域で大きい値を示し、混合比 1.0 では急速に減少している。このことは、Fig. 4 でのカプセル化効率と含有率が、混合比 0.75 付近を境にして低下することの考察を支持するものと考えられる。

3. 芯物質の溶出率

Fig. 7 に、混合比 SL/TP が芯物質の水への溶出率 R に及ぼす影響を示した。混合比 0.25 から 0.75 まで増加させ

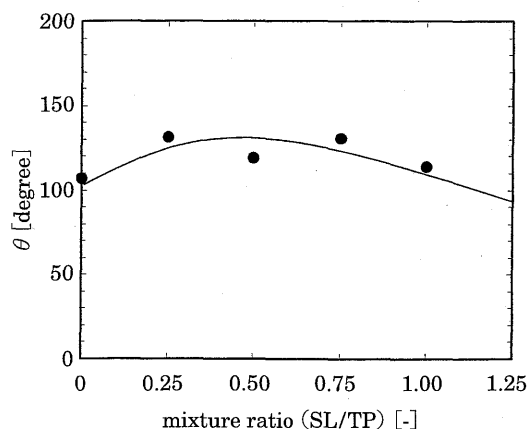


Fig. 6-a Effect of mixture ratio on contact angle of model sheet

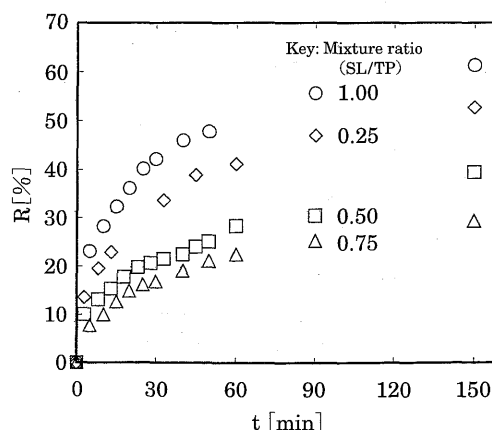


Fig. 7 Effect of mixture ratio on release rate of core material

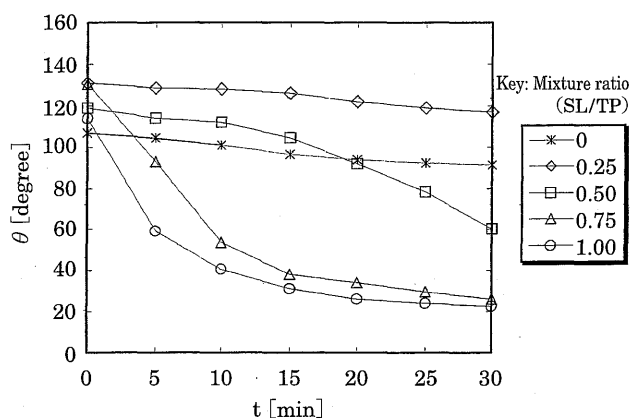


Fig. 6-b Effect of mixture ratio on contact angle of model sheet

た場合、混合比の増加とともに溶出率 R は低下し、カプセルの耐水性が向上することがわかった。この現象は、Fig. 6 で示した接触角増加の結果とも一致している。しかしながら、混合比 1.0 において、芯物質の溶出率は再び増加することがわかった。このことは、Fig. 4 におけるカプセル化効率及び含有率に及ぼす混合比の影響と合致している。この芯物質の溶出は、カプセルの表面及び内部構造に強く支配されていると思われる。カプセルの観察結果を Fig. 8 に示した。SL の添加による大きな相違は観察されなかったが、生成されたカプセルはマトリックス型のカプセルであり、カプセルの表面は凹凸が激しく多数の微孔が見られ、またカプセル内部には多数の空隙があることがわかった。

4. カプセルの水膨潤性

カプセルの水膨潤崩壊性を調べるために、水へ 24 時間浸漬した後のカプセルを観察した結果を Fig. 9 に示した。

SL 無添加の場合には、親水性の芯物質をカプセル化することができなかったことより、24 時間後もカプセルは若

干水膨潤を示したものの、カプセル形態は維持されていた。

これに対して、混合比が増加するにつれて水膨潤性と崩壊性は増加していき、混合比 0.75, 1.0 における 24 時間後のカプセルは、水膨潤によりほぼ崩壊していた。この度合は、混合比 1.0 でより顕著であった。

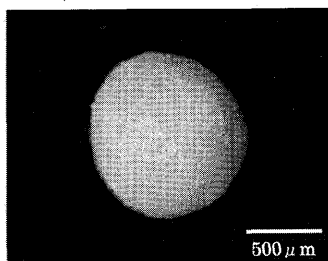
これらのことより、TP と SL との混合マトリックスにより親水性物質を包含したカプセルは、混合比により、溶出率と水膨潤崩壊性がコントロールできることが明らかとなった。すなわち、カプセルを水中へ投入した初期には浸出率が抑制されるが、一旦水がカプセル内に浸入すると、水膨潤性が促進された。これらの特性を利用した応用方法を検討することが必要であろう。

要 約

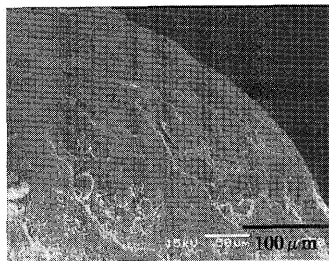
高級脂肪酸エステルであるトリパルミチンと大豆レシチンをカプセルマトリックスとし、固体粉末状親水性生理活性物質である L-システインのカプセル化を試みた。そして、以下のような結果を得た。

- (1) 大豆レシチンを分散安定剤とバインダーとすることで、トリパルミチンをカプセルマトリックスとした、L-システインのカプセル化が可能となった。
- (2) 芯物質のカプセル化効率及び含有率は、混合比 0.75 が最適であった。
- (3) 芯物質の溶出率と水膨潤崩壊性は、混合比によりコントロールできることが明らかとなった。

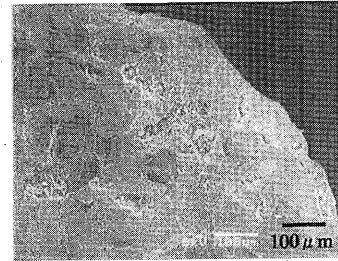
Mixture ratio
(SL/TP)
0



Shape

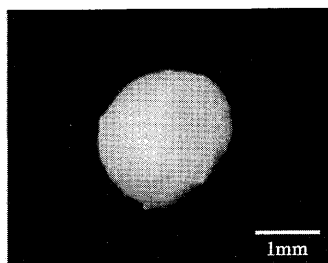


Surface

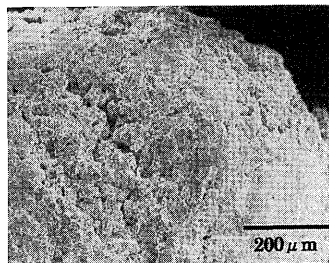


Cross section

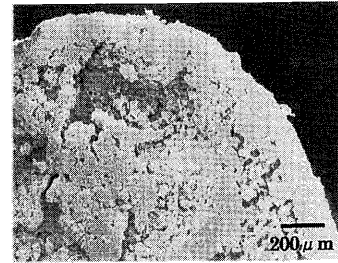
Mixture ratio
(SL/TP)
0.25



Shape

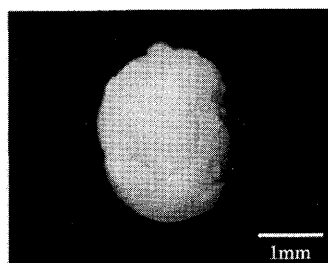


Surface

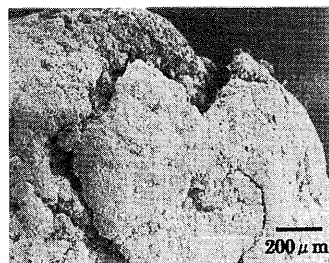


Cross section

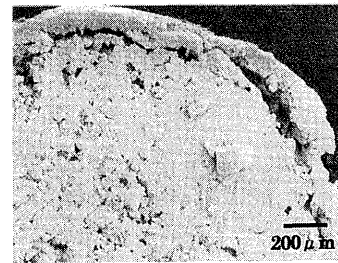
Mixture ratio
(SL/TP)
0.50



Shape

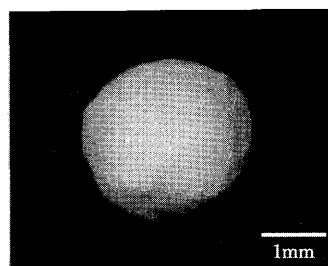


Surface

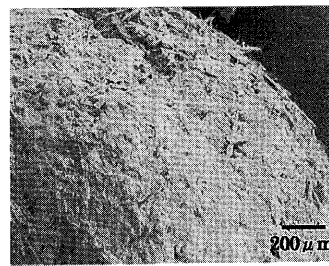


Cross section

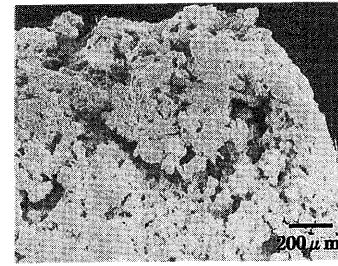
Mixture ratio
(SL/TP)
0.75



Shape

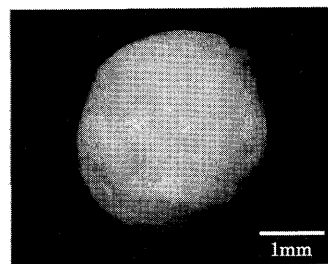


Surface

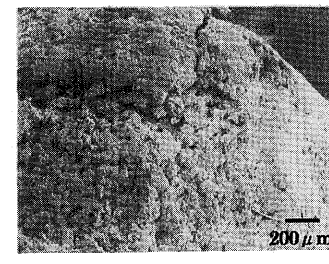


Cross section

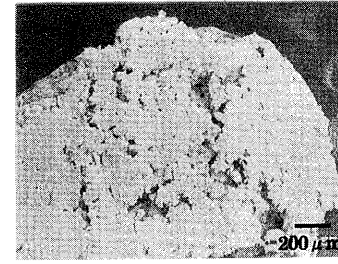
Mixture ratio
(SL/TP)
1.00



Shape



Surface



Cross section

Fig. 8 Photographs and SEM photographs of capsules

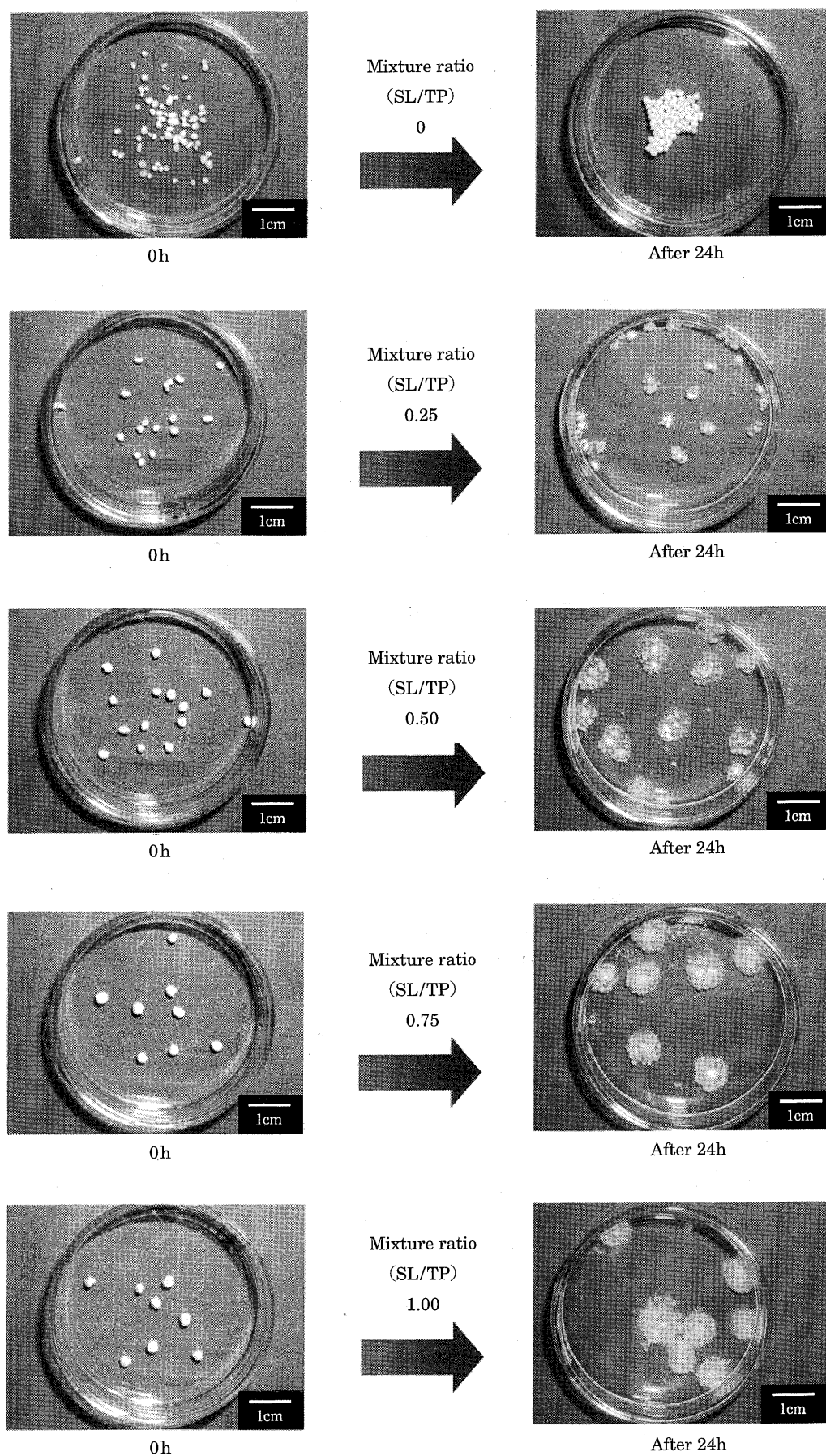


Fig. 9 The observation of capsules after soaking them in water

文 献

- 1) 古田 武, 村勢則郎, 安達修二, 辻本 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) Risch, S.J. and Reimeccius, G.A., "Encapsulation and Controled Release of Food Ingredients", (American Chemical Society, USA), (1995).
- 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) 石脇尚武, 酵母マイクロカプセル化技術の開発と応用, 食品工業, **41**, 51-58 (1998).
- 6) 梶浦正俊, 須賀哲也, 微粒子化 β -グルカン (Lentinan) 含有機能性食品の研究開発, 化学工業, **55**, 58-67 (2004).
- 7) 梶浦正俊, 須賀哲也, ナノテクノロジーによる機能性食品の開発, *Fragrance Journal*, 87-96 (2003).
- 8) 近藤 保, 「最新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).

(平成16年8月19日受付, 平成16年11月14日受理)