

W/O エマルション系における液滴間合一を利用した グルタミン包含セルロースマイクロカプセルの調製

田中眞人*[§], 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

Preparation of Methylcellulose Microcapsules Containing L-Glutamine by Using Coalescence between Droplets in W/O 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

It was investigated whether methylcellulose microcapsules containing l-glutamine were able to be prepared by using coalescence between two kinds of droplets in W/O emulsion or not. Methylcellulose as the shell material was dissolved in the one aqueous droplets and the tannic acid as the gelation agent for methylcellulose was dissolved in the other aqueous droplets. It was found that methylcellulose microcapsules were able to be prepared by coalescence between the two kinds of droplets. The mean microcapsule diameter and the content rate of l-glutamine were found to increase with the concentration of methylcellulose. Moreover, it was found that microcapsules were not destroyed in the water phase and l-glutamine was released through the ungelated part of the microcapsule shell.
(Received May 2, 2005 ; Accepted Jun. 16, 2005)

マイクロカプセルの食品への応用は、今日の食品の多様化が高まる中で、その範囲も増大している。例えば、食感を与える、苦味をマスキングする、長期保存を可能にする、直接、消化器官へ輸送することができる、等である。しかしながら、食品に利用できる被膜物質、溶媒などが制限されること、コスト高になるということ、などの問題のために、その利用は、かなり限定されたものになっている¹⁾。

このようなことから、安価で単純なプロセスに基づく、大量生産が可能である高機能マイクロカプセルの製造技術を開発することは、多様な新規食品素材の開発に寄与するものと考えられる。そこで、本研究では、親水性の芯物質を親水性シェル材であるメチルセルロースによりマイクロカプセル化する技術を開発することを試みた。

このために、油相を連続相とし、水相を分散相としたW/O エマルション系において、シェル材となるメチルセルロースを溶解した液滴と、メチルセルロースのゲル化剤であるタンニン酸を溶解した液滴とを合一させることによ

り、メチルセルロースマイクロカプセルが調製できるかどうかを検討した。メチルセルロースのタンニン酸によるゲル化は、Conn *et al.* らにより詳細に研究がなされている²⁾。このゲル化反応は、室温でも進行するために、メチルセルロースを素材としたマイクロカプセルの調製に利用されている³⁾⁴⁾。

実験では、親水性の芯物質として、種々の生理活性を呈するL-グルタミンを採用し^{5)~8)}、主として、メチルセルロース濃度とL-グルタミンの添加量を段階的に変化させて検討した。

実験方法

1. 実験材料

連続相に使用したコーン油と、芯物質保護剤として使用した大豆レシチンは和光純薬工業株式会社製のものを用いた。また、マイクロカプセルシェル材となるメチルセルロース (MC) は信越化学株式会社製 (商品名 SM-4000) を、芯物質のL-グルタミン (Gln) は味の素株式会社製のものをそれぞれ用いた。そして、メチルセルロースのゲル化剤であるタンニン酸 (TA) は関東化学株式会社製のもの

〒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

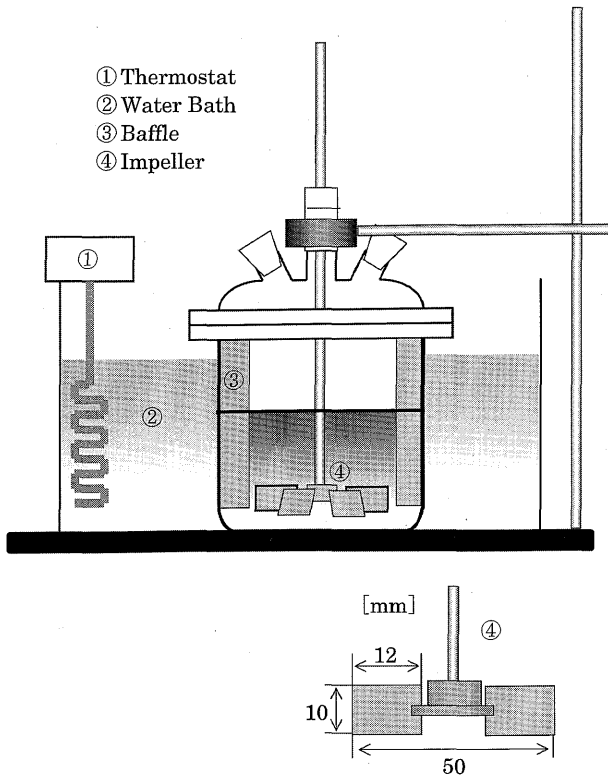


Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus

のを用いた。

なお、メチルセルロース (SM-4000) は、25°Cにおける2 wt%濃度の水溶液の粘度が4000 mPasであることを示す。

2. 実験装置

実験装置を Fig. 1 に示す。攪拌槽は内径 8.5×10^{-2} m、実容積 5.0×10^{-4} m³ のセパラブルフラスコである。攪拌翼は翼径 5.0×10^{-2} m の6枚羽根ディスクタービンであり、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 9×10^{-2} m、幅 1×10^{-2} m のアルミニウム製邪魔板を4枚取り付け付けた。

3. マイクロカプセル調製法

Fig. 2 にマイクロカプセルの調製フローシートを示す。

まず、芯物質の Gln を芯物質保護剤であるレシチンに投入し、薬さじによって機械的攪拌により均一になるように分散させ、S/O (solid-in-oil) 分散系を調製した。MC 水溶液は、MC 粉末を量りとり、マグネチックスターラーで加熱 (70°C) 攪拌 (2.5 s^{-1}) している蒸留水中に徐々に添加し、約3時間攪拌した後、常温で約3時間攪拌して調製した。このMC水溶液に先に調製したS/O (solid-in-oil) 分散系を投入し、マグネチックスターラーで攪拌 (2.5 s^{-1}) して (S/O)/W 分散系を調製した。一方、連続相であるコーン油に所定濃度の界面活性剤の大豆レシチンを溶解させて攪拌槽に注入して50°Cに維持した。この連続相に、先に調製した (S/O)/W 分散系を投入し、回転数 7.5 s^{-1} で攪拌することにより、((S/O)/W)/O 分散系を調製した。2時間

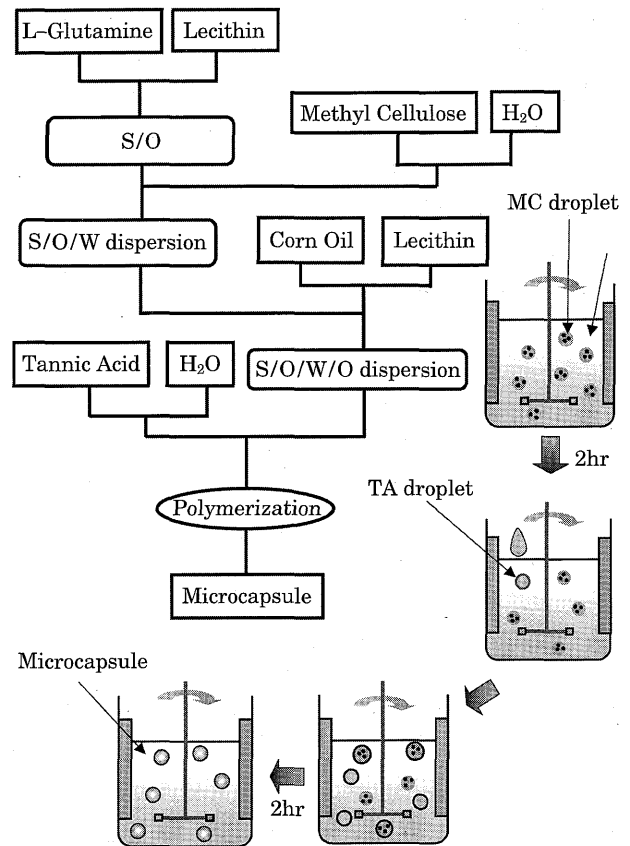


Fig. 2 Flow sheet of experiment

Table 1 Experimental conditions

【Experimental Conditions】	
volume of continuous phase	$1.8 \times 10^{-4} \text{ m}^3$
volume of dispersed phase	$0.2 \times 10^{-4} \text{ m}^3$
amount of lecithin	$5.0 \times 10^{-3} \text{ kg}$
volume of gelation agent solution	$0.6 \times 10^{-4} \text{ m}^3$
concentration of gelation agent	10 wt%
impeller speed	7.5 s^{-1}
reaction temperature	50°C
reaction time	2 hr
【Operation conditions】	
concentration of MC	1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.25, 2.5 wt%
amount of Gln	$2.5, 5.0 \times 10^{-3} \text{ kg}$

経過後、別に調製しておいたゲル化剤 (TA) 水溶液を攪拌槽に添加し、2時間攪拌 (7.5 s^{-1}) しながら MC 水滴と TA 水滴の合—によって生ずる脱水縮合によりメチルセルロースカプセルを調製した。

このような操作を、MC 水溶液の濃度と Gln の量を変化させて実施した。

4. 実験条件

本実験で採用した実験条件を Table 1 に示す。

5. マイクロカプセル生成メカニズム

本実験において調製を試みたマイクロカプセルの生成機構は以下のものである。すなわち、内部に1次液滴(S/O滴)が分散しているメチルセルロース液滴(MC液滴)とゲル化剤のタンニン酸を溶解した液滴(TA滴)との合一により、脱水縮合反応が開始されて最外マイクロカプセル壁が形成される。このようなメカニズムによるマイクロカプセル化をスムーズに進行させるためには、分散系に機械的エネルギーを連続的に付加して液滴間合を一を促進させることが必要である。メチルセルロースとタンニン酸との反応は、Fischerのエステル化により、TAのカルボキシル基の ^{-}OH とTAまたはMCの ^{-}OH (ただし、 $\text{R}=\text{H}$ の時)の水素とが水分子として脱離し、重縮合されて行くものと考えられる。このように、TAの重合とMCとの架橋反応が同時に進行して硬化する^{9)~12)}。

6. 評価方法

(1) マイクロカプセル平均径

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100個のマイクロカプセルを直接撮影し、この像より求めた。なお、非球体のマイクロカプセル径は、(短径+長径)/2として求めた。ここで、平均径は、式(1)で定まる体積平均直径 D_p (Sauter径)として算出した。

$$D_p[\mu\text{m}] = \frac{\sum(\text{ndp}^3)}{\sum(\text{ndp}^2)} \quad (1)$$

(2) マイクロカプセルの観察

W/O分散系調製時にサンプリングした分散液滴および調製したマイクロカプセルの全体像を、実体顕微鏡(オリンパス株式会社製-BH-2)により観察した。

また、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, 日本電子株式会社製)により観察した。マイクロ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から観察した。

(3) 芯物質の含有率

マイクロカプセルの含有率は、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($50 \times 10^{-6} \text{ kg}$)を量り採り、 $10 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ の蒸留水に懸濁した。その後、超音波を20分間照射してから水溶液を高速液クロマトグラフィ(HPLC)に導入してGln濃度を測定した。なお、カラムはGLサイエンス社製のInertsil ODS-3, $4.6\phi \times 150 \text{ mm}$ を用い、カラム温度は 40°C 、UV検出器の波長は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 $2.4 \times 10^{-3} \text{ kg}$ を蒸留水で $1 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ にメスアップし、リン酸を加えてpH 2.5に調製)、流速0.7 mL/minで測定した。測定した値を式(2)によって算出し、含有率とした。

$$F[\%] = \frac{\text{(マイクロカプセルの単位質量当りのカプセル後検出したGlnの重量)}}{\text{(マイクロカプセルの単位質量当りの仕込み基準のGlnの重量)}} \quad (2)$$

(4) 芯物質の放出率

マイクロカプセルからの芯物質の放出率は、以下のようにして求めた。まず、マイクロカプセルの一定量(約 $250 \times 10^{-6} \text{ kg}$)を量り採り、 $50 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ 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によって定量した。測定した値から式(3)によって定義した放出率 R を算出した。

$$R[\%] = \frac{\text{(マイクロカプセルの単位質量当りの一定時間毎に検出したGlnの重量)}}{\text{(マイクロカプセルの単位質量当りの調製カプセルにおけるGlnの重量)}} \quad (3)$$

なお、測定は2回実施し、これらの値の平均値を採用した。

(5) 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。そして、一定時間毎にマイクロカプセルをサンプリングし実体顕微鏡によって直接撮影した。そして式(1)より平均径 D_p を算出し、浸漬前の平均径 D_{p0} との比(D_p/D_{p0})を求めて膨潤度とした。

実験結果および考察

1. マイクロカプセルの平均径に及ぼすMC濃度の影響

Fig. 3にMC濃度(C_{MC})がマイクロカプセル平均径に及ぼす影響を示す。なお、図には、標準偏差も同時に示した。また、Fig. 3には、マイクロカプセルの大きさに影響

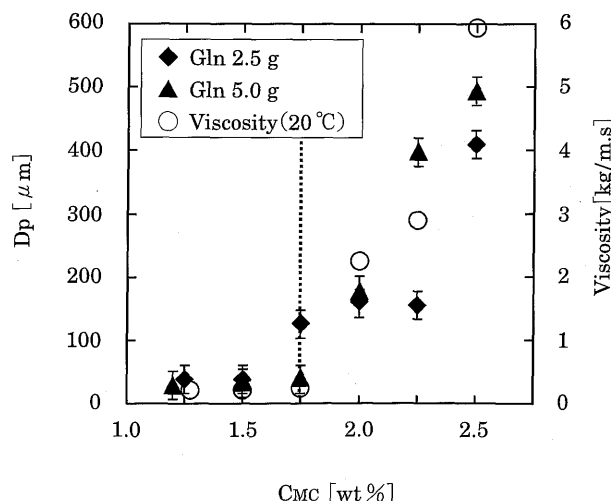


Fig. 3 Effect of MC concentration on mean particle diameter of microcapsules and viscosity of MC aqueous solution

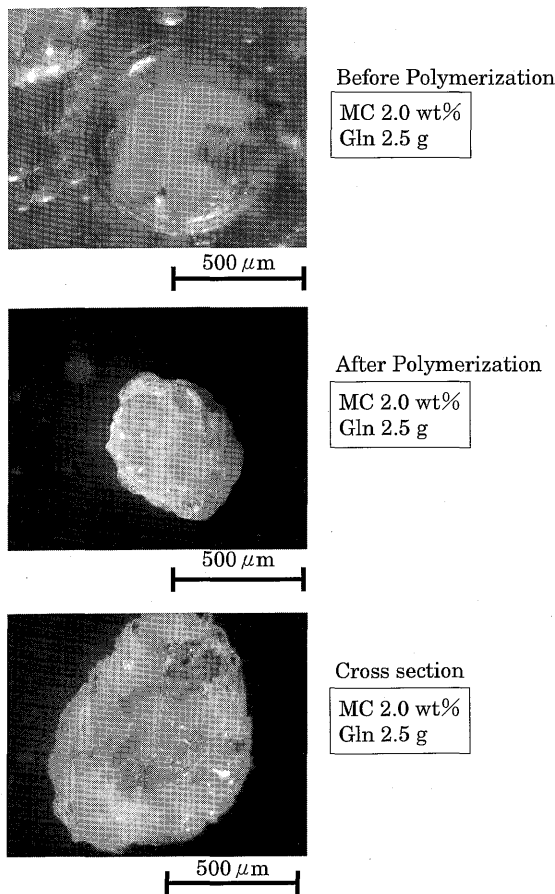


Fig. 4 Photographs of microcapsule

を及ぼす MC 水溶液粘度も同時に示した。いずれの芯物質添加量においても、平均径は MC 濃度とともに、数 10 μm から 500 μm へと大きくなっていること、この増加は約 1.75 wt% 以上の濃度で顕著になっていることがわかる。これは、MC 水溶液の粘度が、MC 鎖のからみ合いによると思われる約 1.75 wt% 付近からの急激な増加により、(S/O)/W 液滴の生成時の分裂に対する粘性力抵抗が増加することに起因するものと考えられる。

2. マイクロカプセルの観察

Fig. 4 に、ゲル化する前の (S/O)/W 液滴と、ゲル化が終了した後のマイクログカプセルの実体顕微鏡による観察結果を示す。液滴状態では、芯物質である (S/O) 滴が MC 水溶液中に分散している状態を確認できる。また、マイクログカプセルの全体像からマイクログカプセルは異形であること、Gln を分散させたレンチンが MC 壁により良好に被覆されていることが確認される。

Fig. 5 にマイクログカプセル表面の SEM 観察の結果を示す。MC 濃度が低い条件で調製されたマイクログカプセルの表面には、凹凸があり、かつ、複数の微孔が存在していることがわかる。これに対して、MC 濃度が高い条件で調製されたマイクログカプセルの表面は、比較的滑らかで、かつ、微孔は観察されなくなっている。これは、MC 濃度が高いと、

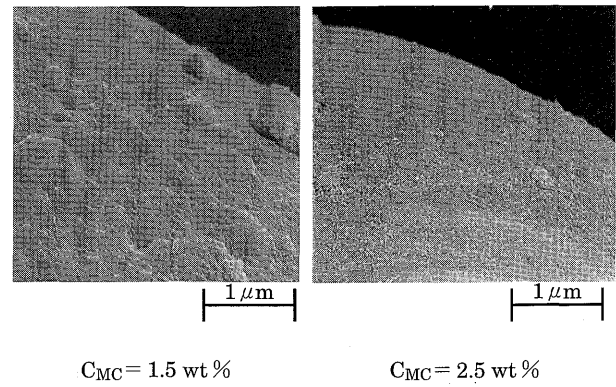


Fig. 5 SEM photographs of microcapsule surface

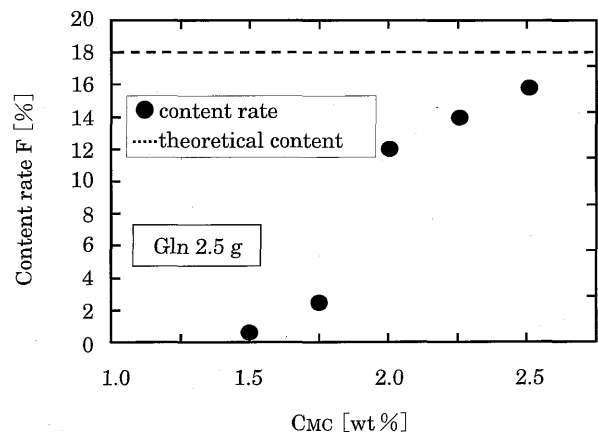


Fig. 6 Effect of quantity of core material on content rate

液滴表面における単位面積あたりの MC 分子が増加するために、結果としてマイクログカプセル表面における単位面積あたりの架橋密度が増加するため、滑らかなマイクログカプセル壁を形成するようになったためであると思われる。

3. 芯物質の含有率

マイクログカプセルの芯物質の含有量は、重要なマイクログカプセルの特性であることから、含有量に強い影響を及ぼすと考えられる MC 濃度への依存性を調べ、Fig. 6 にその結果を示した。含有率は、濃度とともに急激に増加している。特に、MC 濃度 2.5 wt% では、仕込み値に近い含有率となっている。これは、濃度の増加につれて、MC 水溶液粘度と液滴径が大きくなり内部に分散している (S/O) 滴の分散安定性が増加するとともに、(S/O) 滴の MC 水滴からの離脱が抑制されることに起因していると考えられる。

また、芯物質の仕込み量が含有率に及ぼす影響を、MC 濃度 2.25 wt% の条件でマイクログカプセルを調製して検討した。これより、仕込み量が 2.5 g と 5.0 g の場合でそれぞれ 13%、26% となり、仕込み量とともに包含率が増加した。

4. 芯物質の放出率

調製されたマイクログカプセルの芯物質の保持能力を検討するために、グルタミンの水相への放出量の経時変化を測

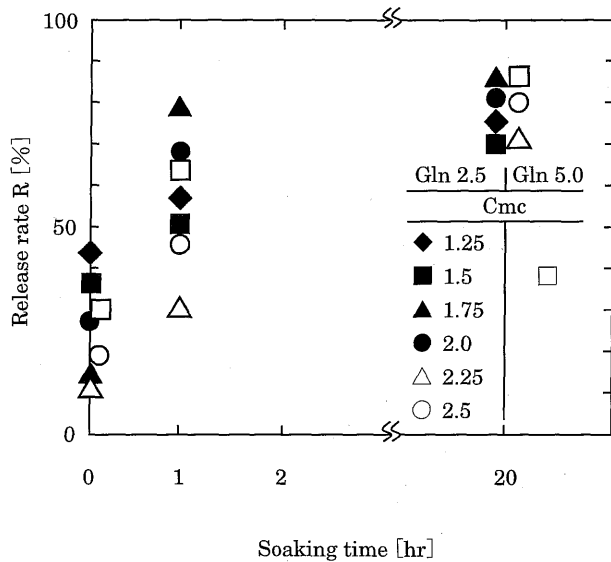


Fig. 7 Effect of soaking time of microcapsules into distilled water on release rate

定し、その結果を Fig. 7 に示す。放出率の MC 濃度への依存性は、必ずしも系統的ではないが、どの MC 濃度においても、Gln が直ちに放出されるという初期バーストが観察された。しかしながら、20 時間経過しても約 20% の芯物質が担持されていることが分かる。また、芯物質の添加量の影響については、いずれの条件 (2.5g と 5.0g) においても、約 30% の初期バーストが起こること、添加量が多くなると放出率が増加すること、20 時間経過しても約 15~30% の芯物質が担持されていること、などがわかる。

5. カプセルの膨潤度

Fig. 8 に調製されたマイクロカプセルの水中安定性を評価するために、マイクロカプセルの水中への浸漬前後のマイクロカプセル径の比 (D_p/D_{p0}) を示す。MC 濃度が低い場合に若干の膨潤する傾向が観察されるものの、芯物質添加量と MC 濃度を変化させてもマイクロカプセルの破壊は観察されない。このことは、調製されたマイクロカプセルの MC シェルは、強固に架橋されているために、水膨潤による破壊が抑制されたものと考えられる。しかしながら、Fig. 7 の結果からわかるように、未架橋部の MC が溶解することにより、担持された芯物質の Gln が放出されるものと考えられる。

要 約

芯物質を担持したシェル材のメチルセルロース水滴とゲル化剤であるタンニン酸水滴との合一を、W/O 分散系で生じさせることにより、進行する脱水縮合反応を利用してマイクロカプセルを調製することを試みた。そして、以下のような結果を得た。

(1) W/O 分散系を利用した液間合一により、グルタミ

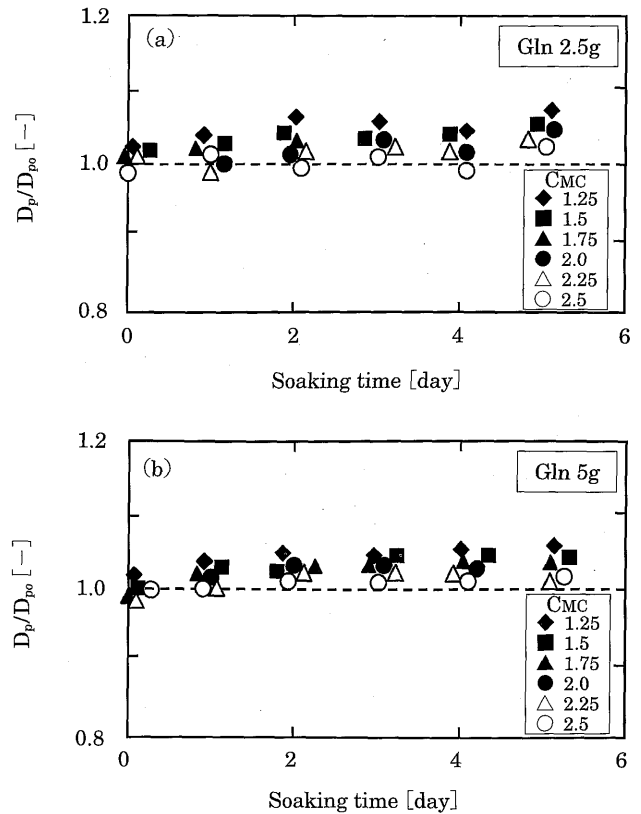


Fig. 8 Effect of soaking time of microcapsules into distilled water on mean particle diameter of microcapsules

ンを担持したメチルセルロースカプセルを調製することが可能であった。

- (2) メチルセルロースの濃度とともに、マイクロカプセル径は大きくなるとともに、含有率も増加した。
- (3) いずれの条件で調製したマイクロカプセルは、30% 前後の初期バーストを示したことから、さらなる調製条件の最適化が必要である。
- (4) マイクロカプセルの水中での膨潤破壊は観察されなかった。
- (5) グルタミンの放出は、未架橋部のメチルセルロースの溶解とその後のグルタミンの溶解によるものと推察された。

文 献

- 1) 近藤 保, 「最新マイクロカプセル」, (三共出版), (1988).
- 2) Conn. E., P. Stumpb, G. Bruening and R. Doi, ; *Outlines of Biochemistry*, 5th ed., John Wiley & Sons, California, USA (1987).
- 3) 山田恭幸, 田口佳成, 田中真人; 古紙繊維をマトリックスとする生分解性カプセルの調製, *化学工学論文集*, 25 (5), 629-635 (2001).
- 4) Taguchi, T., Yamada, Y., Ishikura Y. and Tanaka, M., Preparation of Biodegradable Capsules Composed of Paper Fiber by Utilizing Liquid-Liquid Dispersion, *J.*

- Chem. Eng. Japan*, **36** (10), 1236-1241 (2003).
- 5) Audek, S. and Tayler, R., *Food Style*, **8** (6), 41-43 (2004).
6) 馬渡一徳, *Food Style*, **6** (11), 37-40 (2002).
7) 大谷 勝, *Food Style*, **6** (11), 11, 4-47 (2002).
8) Ran Nimmigiddle, *Food Style*, **6** (11), 62-68 (2002).
9) 佐藤和明, 平成 12 年度新潟大学自然科学研究科修士論文.
10) 秋葉, 奥 (訳), 「ハート基礎有機化学」, 改訂版, 株式会社
培風館, pp. 189-200, 262-277 (1994).
11) 山下雄也 (監), 「物質工学講座高分子合成化学」, 第一版,
(東京電気大学出版局), pp. 251-271 (1955).
12) 片山将道 (著), 「高分子概論」, 改訂版, (日刊工業新聞社)
pp. 284-286 (1995).
(平成 17 年 5 月 2 日受付, 平成 17 年 6 月 16 日受理)
-