

旨味成分を封入した固体マイクロキャリアの調製*

森下 敏朗^{*1}・工藤 哲三^{*2}・岡崎 益己^{*2}・小玉 誠^{*1}

Preparation of Solid Micro-carrier Encapsulated Taste Components

Toshiro MORISHITA, Tetsuzo KUDO, Masumi OKAZAKI and Makoto KODAMA

ホスファターゼに対する安定性を向上させるため、内封物質である旨味成分の核酸調味料の漏洩を抑制したカプセルの調製法を検討した。固体油脂としてトリパルミチンを用いて膜乳化法により調製したW/O/Wエマルジョンを凍結乾燥する方法で得られた固体マイクロキャリアは、旨味成分の漏洩がほとんどなく、極めて封入安定性が高かった。

キーワード：核酸調味料、固体マイクロキャリア、W/O/Wエマルジョン、膜乳化法

1 はじめに

生味噌では麹菌が生産する酵素のひとつであるホスファターゼにより5'-ヌクレオチドの5'-位のリン酸が切られことで旨味が消失することが知られている¹⁾。このため、現状ではだし入り味噌を製造する場合、加熱処理によりホスファターゼを失活させた後、核酸調味料を添加している²⁾。この方法では、味噌中の核酸調味料の安定性は向上するが、生味噌本来の風味の低減や着色などの問題が生じており、また、味噌を加熱・冷却する工程には別途の装置とエネルギーが必要であり、製造工程も複雑になっている。

このようなことから、ホスファターゼの作用を回避する方法として種々の技術開発³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾が行われている。現在、採用されている方法は、5'-リボヌクレオチドを油脂やアルギン酸などで被覆してホスファターゼと接触しないようにカプセル化する方法であるが、封入成分の漏洩があるため、貯蔵期間の長い味噌には利用できていないのが現状であり、封入安定性の高い製剤の開発が求められている。

本研究では、封入安定性の高い旨味成分を含有

した固体カプセルを開発し、これを添加した生タイプのだし入り味噌の製品化を目指している。本年度は、宮崎県工業技術センターが開発した基盤技術である、油相に硬化油脂を用いたW/O/Wエマルジョンを凍結乾燥して固体マイクロキャリアを製造する方法⁷⁾による旨味成分の封入に取り組んだ。調製した固体マイクロキャリアは、食塩水中での漏洩挙動を調べ、封入安定性を評価した。

2 実験方法

2 - 1 カカオ脂を用いた固体マイクロキャリアの調製と安定性評価試験

W/O/Wエマルジョンの組成及び乳化条件を表1に示す。硬化油脂にはカカオ脂（株大東力カオ製）を使用し、内封物質には核酸調味料である5'-リボヌクレオチド（協和発酵株製）及び食塩を用いて、ホモジナイザー（JANKE&KUNKEL Inc. 製、ULTRA-TURRAX）による乳化でW/Oエマルジョンを調製した。このW/Oエマルジョンを分散相にして、膜乳化法によりW/O/Wエマルジョンを調製した。膜乳化に用いたSPG膜の平均孔径は4.4 μ mで、乳化圧力4 kPa、乳化温度40 とした。調製したW/O/Wエマルジョンを液体窒素で冷却した後、真空凍結乾燥により外水相の水分を除去して固体マイクロキャリアとした。

調製した固体マイクロキャリアを20%食塩水に分

* 宮崎地域新生コンソーシアム研究開発事業
旨味成分のカプセル化による生味噌の品質向上
(第1報)

* 1 食品開発部

* 2 応用微生物部

散して20 で8日間保持した漏洩試験を行った。封入した5'-リボヌクレオチドに対する外水相中へ漏洩した割合を漏洩率として評価した。外水相を分画分子量100,000のメンブレンフィルターを用いて遠心ろ過した後、ろ液中に含まれる5'-リボヌクレオチド濃度を「食品中の食品添加物分析法」⁸⁾に準じた方法で前処理して、高速液体クロマトグラフ（島津製作所製，LC-10ADVP）により定量し、漏洩率を求めた。

なお，表2に示した市販品のカプセル化核酸系調味料のうち、A、B、Dの3品について上記と同じ漏洩試験を行い、封入安定性を比較した。

表1 カカオ脂を用いたW/O/Wエマルジョンの組成及び乳化条件

| | | |
|----------------------|-------------------|--------------------|
| 内水相 | 5'-リボヌクレオチド | 2.50 wt% |
| | NaCl | 19.76 wt% |
| | 浸透圧 | 16.72 MPa |
| | 平均粒子径 | 0.64 μm |
| | 体積分率 | 25.00 vol% |
| 油相 | カカオ脂 | |
| | PGCR | 20.00 wt% |
| | (ポリグリセリン縮合リシノレート) | |
| 外水相 | HCO-60 | 0.50 wt% |
| | (ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油) | |
| | NaCl | 20.00 wt% |
| | 浸透圧 | 16.72 MPa |
| 予備乳化 (W/Oエマルジョン) | 乳化方法 | ホモジナイザー |
| | 乳化温度 | 40~45 |
| 膜乳化 (W/O/Wエマルジョン) | SPG膜孔径 | 4.4 μm |
| | 乳化温度 | 40 |

表2 漏洩試験に用いた市販のカプセル化核酸調味料

| 試料名 | 5'-リボヌクレオチド含量(wt%)* | その他の原材料名 |
|------------|---------------------|------------------------|
| カプセル化調味料 A | 4.0 | L-グルタミン酸Na アルギン酸Na |
| カプセル化調味料 B | 35.0 | 脂肪酸，ワックス， 食品素材 |
| カプセル化調味料 C | 3.5 | L-グルタミン酸Na 食品素材 |
| カプセル化調味料 D | 9.0 | L-グルタミン酸Na 乳化剤，食品素材 |

*：5'-リボヌクレオチドはCa塩としての含量

2-2 トリパルミチンを用いた固体マイクロキャリアの調製と安定性評価試験

固体マイクロキャリアの融点を改良するため、カカオ脂より融点の高いトリパルミチンを固体油脂として用いた時のW/O/Wエマルジョンの組成及び乳化条件を表3に示す。調製したW/O/Wエマルジョンは2-1と同様の方法で固体マイクロキャリアとし、約1ヶ月の漏洩試験を行い、封入安定性を評価した。

なお，表2に示した市販のカプセル化核酸系調味料のうち、B、C、Dの3品について同じ漏洩試験を行い、封入安定性を比較した。

表3 トリパルミチンを用いたW/O/Wエマルジョンの組成及び乳化条件

| | | |
|----------------------|-------------------|--------------------|
| 内水相 | 5'-リボヌクレオチド | 20.00 wt% |
| | 浸透圧 | 2.33 MPa |
| | 平均粒子径 | 0.68 μm |
| | 体積分率 | 33.33 vol% |
| 油相 | トリパルミチン | |
| | PGCR | 5.00 wt% |
| | (ポリグリセリン縮合リシノレート) | |
| 外水相 | HCO-60 | 0.50 wt% |
| | (ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油) | |
| | NaCl | 12.00 wt% |
| | 浸透圧 | 11.80 MPa |
| 予備乳化 (W/Oエマルジョン) | 乳化方法 | ホモジナイザー |
| | 乳化温度 | 60~65 |
| 膜乳化 (W/O/Wエマルジョン) | SPG膜孔径 | 5.1 μm |
| | 乳化温度 | 60 |

3 結果及び考察

3-1 カカオ脂を用いたマイクロキャリアの評価

外水相は、味噌の塩分濃度を考慮して20%食塩水を用いた。固体マイクロキャリア中の5'-リボヌクレオチド封入率を上げるには、内水相の5'-リボヌクレオチド濃度をできるだけ高くする必要がある。しかし、内水相の浸透圧を外水相に合わせるため食塩を添加していくと5'-リボヌクレオチドの溶解度が減少したため、内水相の5'-リボヌクレオチド濃度は2.5%程度が限界となり、濃度を上げることが困難であった。

エマルジョン調製後の5'-リボヌクレオチドの漏洩率は3.17%で、ほとんどの5'-リボヌクレオ

チドを封入することができた。

エマルジョンを凍結乾燥して調製した固体マイクロキャリアを水に分散させたところ、均一に分散して乳化状態となるものもあったが、一部は固体マイクロキャリアが凝集して液面に浮くものが認められた。

試作した固体マイクロキャリア (FD-1) と、市販のカプセル化核酸系調味料を20%食塩水に分散し、温度20 の条件下で8日間保持した時の漏洩率の経時変化を図1に示す。

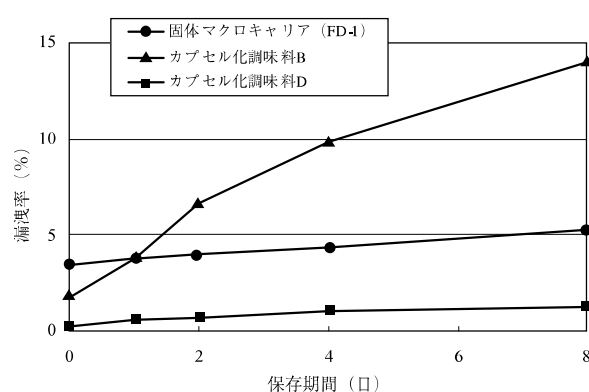


図1 固体マイクロキャリア (FD-1) 及び市販カプセル化調味料の漏洩試験 (20 、8日間)

試験開始時のFD-1の漏洩率は3.47%で、凍結乾燥前のW/O/Wエマルジョンの漏洩率とほぼ同じ値であり、凍結乾燥時にマイクロキャリアの崩壊は生じていないことを確認できた。8日後のFD-1の漏洩率は5.24%となり、1.77%の増加であった。これにより、試作したFD-1は極めて高い封入安定性であることが明らかとなった。

比較した市販のカプセル化核酸系調味料の漏洩率は製剤により大きな差があった。カプセル化調味料Aはアルギン酸ゲルを用いて5'-リボヌクレオチドをカプセル化した製剤で、食塩水に分散した時点で漏洩率が約100%となり、5'-リボヌクレオチドのほぼ全量が溶出する結果となった。このため、調味料Aの漏洩率のデータは図1に記載しなかった。調味料Bは固体油脂で5'-リボヌクレオチドをカプセル化した製剤で、食塩水に分散させた時、ほとんどは液面に浮いている状態で分散性に問題があった。ただし、8日後の漏洩率は1.24%であり、封入安定性は良かった。調味料Dも

固体油脂カプセルであり、乳化剤が添加してあるものの完全に分散せず、液面に浮いている状況であった。8日後の漏洩率は13.95%となり、かなりの漏洩が生じた。

3-2 トリパルミチンを用いたマイクロキャリアの評価

3-1の試験で調製した個体マイクロキャリアの内封物質の封入安定性は高かったが、5'-リボヌクレオチド含量が低いことが課題であった。これを解決するには、内水相中の5'-リボヌクレオチド濃度を高める、油相を削減して内水相の比率を上げることが考えられた。これらの点に加えて乳化剤の使用量も削減することを考慮して、表3の条件で5'-リボヌクレオチド含量を高めた固体マイクロキャリアを調製した。

凍結乾燥前のエマルジョンにおいて、5'-リボヌクレオチドの漏洩率は0.01%であり、カカオ脂を用いて調製した時よりさらに封入率が向上し、ほとんど漏洩がないものとなった。

トリパルミチンを用いた固体マイクロキャリア (FD-2) は、水への分散において、FD-1と同様に均一に分散して乳化状態となるものもあったが、一部は凝集して液面に浮くものが認められた。

FD-2と市販のカプセル化核酸系調味料を20%食塩水に分散し、温度20 の条件下で33日間保持した時の漏洩率の経時変化を図2に示す。

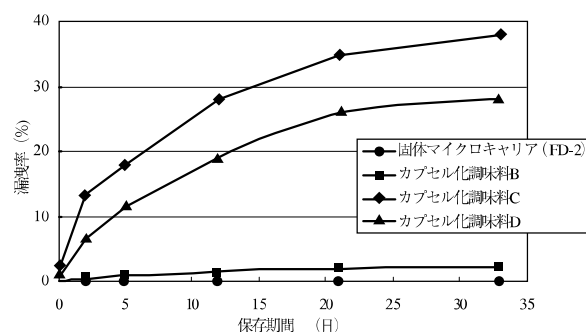


図2 固体マイクロキャリア (FD-2) 及び市販カプセル化調味料の漏洩試験 (20 、33日間)

試験開始時のFD-2の漏洩率は0.03%であり、これは凍結前のエマルジョンの漏洩率とほぼ同じ値であり、凍結乾燥時にマイクロキャリアの崩壊は生じていないことが確認できた。

表4 旨味成分封入固体マイクロキャリアの改良点

| 改 良 点 | カカオ脂 | トリパルミチン |
|---------------------------|------------|------------|
| 旨味成分(5'-リボヌクレオチド)の封入率の向上* | 0.83% → | 10% |
| 油相中の乳化剤の使用量低減 | PGCR 20% → | 5% |
| W/O/W調製時の漏洩率 | 3% → | ほぼ0% |
| 融点の改善 | 約27 → | 約42 |
| 封入安定性の向上(20%食塩水中保存時の漏洩率) | 5%(8日後) → | ほぼ0%(33日後) |

*封入率：5'-リボヌクレオチドの油脂に対する割合

33日後のFD-2の漏洩率は0.03%となり、試験開始時と変わらない結果となった。このように、FD-1で認められた漏洩率の上昇がなかったのは、トリパルミチンを使用したことで室温で完全な固体脂の状態が保持されたため漏洩が生じなかったものと推測された。

比較として行った市販のカプセル化核酸系調味料では、3-1の試験で封入安定性の良かったカプセル化調味料Bにおいても、33日後に漏洩率は2.24%となり、長期間の保存の場合には漏洩率の上昇が認められた。カプセル化調味料C、Dは33日後にはそれぞれ37.89%、28.13%となり、大幅な漏洩率の上昇となった。

このように、市販のカプセル化調味料は食塩水中で内封成分の5'-リボヌクレオチドの漏洩が大きく、生味噌であれば、漏洩した5'-リボヌクレオチドは直ちにホスファターゼにより分解をされることになるので、実用面で問題があることを今回の試験でも確認できた。

一方、試作したトリパルミチンを用いた固体マイクロキャリアは食塩水で漏洩がほとんどなく、長期間の封入安定性があるので、ホスファターゼ活性の高い生味噌においても利用できるものと考えられた。

4 まとめ

5'-リボヌクレオチドを含有した封入安定性の高いカプセルの開発を目的として、カカオ脂及びトリパルミチンを用いて膜乳化法により調製したW/O/Wエマルジョンを凍結乾燥して固体マイクロキャリアを試作した。今回の固体マイクロキャリアの試作における改良点を表4にまとめた。

次年度は、生味噌への仕込み試験を行い、様々な要因が存在する中での封入安定性を評価するとともに、固体マイクロキャリアの分散性の改善、調理時の加熱崩壊性及び調製法のスケールアップなどに取り組む予定である。

5 参考文献

- 1) 海老根英雄, 浜崎幸男. 食糧研. 19, 1965, 147.
- 2) 大池昶威, 米山 正, 矢崎不二太郎, 村松信之, 宮崎忠雄, 根岸幹雄. 味噌の科学と技術. 32, 1984, 456.
- 3) 片桐 清, 小川浩三, 田口充洋, 小川博衛. 特開昭58-94366
- 4) 新津真紀, 安平仁美. 味噌の科学と技術. 38, 1990, 304.
- 5) 勝見郁男, 中原良三, 西岡浩一. 特開平11-215966
- 6) 複合調味料技術資料, 旭フーズ(株), 2000.
- 7) 久木崎雅人, 清水正高, 中島忠夫. 第36回SPGフォーラム講演要旨集. 2001, 58.
- 8) 厚生省生活衛生局食品化学課. 食品中の食品添加物分析法. 日本食品衛生協会. 2000.