

固体脂キャリアにおける封入成分の5'-リボヌクレオチド の高含有化*

森下 敏朗*¹・小玉 誠*²・河野 幹雄*³

The Improvement in Solid Micro-carrier Increasing the Content of 5'-Ribonucleotide

Toshiro MORISHITA, Makoto KODAMA and Mikio KAWANO

旨味成分封入固体マイクロキャリアにおいて、旨味成分である5'-リボヌクレオチドの高含有化に取り組んだ。カプセル化壁材にパーム硬化油脂を用いて予備乳化を併用した膜乳化法により調製したW/O/Wエマルジョンを、冷水へ添加分散させることで固体マイクロキャリアとした。内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を高めること及びW/Oエマルジョンの油相を削減することで5'-リボヌクレオチドの高含有化を図った。試作した5'-リボヌクレオチド高含有化固体マイクロキャリアにおいて、固化処理後の封入安定性は高かったが、油相を削減した固体マイクロキャリア(W/O=1:1)は吸引る過及び掻き取りの回収操作時に破壊が生じ、封入率が低下した。

キーワード：5'-リボヌクレオチド、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

本研究では、封入安定性の高い旨味成分封入固体カプセルを開発し、これを添加した生タイプの旨味を強化した味噌の製品化を目指しているが、これまでに、基盤技術研究グループで開発された高融点油脂を用いる固体脂キャリアの成果¹⁾を基礎として固体カプセルの試作に取り組んできた。内水相を旨味成分の5'-ヌクレオチド溶液とし、カプセルの壁材となる油相にパーム硬化油脂を用い、この油脂が液体となる加温条件下でホモジナイザーによりW/Oエマルジョンを調製し、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。そして、外水相と同じ組成の冷水に分散する冷却固化処理により、旨味成分の封入率が高く、漏洩もほとんど生じない封入安定性の高いカプセルを得ること

ができた²⁾。

しかしながら、旨味が強化される所定量の固体カプセルを味噌に添加して味噌汁を作った場合、味は強化されており添加の効果を確認できたが、カプセル壁材の油脂が油滴として味噌汁の表面で認められ、実際に固体カプセルを使用するに当たっての問題点として残った³⁾。このため、使用する時の固体カプセル由来の油脂量を削減して味噌汁時の油滴の発生を抑えるには、固体カプセル中の旨味成分含量を高めることが必要と考えられたので、内水相の旨味成分濃度を高めること及び第一段の乳化であるW/Oエマルジョンの油相の比率を下げるなどの固体カプセルの改良試験に取り組んだ。

2 実験方法

2-1 旨味成分封入固体マイクロキャリアの調製

旨味成分封入固体カプセルの調製は、図1に示した昨年度に改良法として確立した冷水にW/O/Wエマルジョンを添加分散させて冷却固化する方法で行った。硬化油脂にはトリパルミチンと同様に

* 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3報)

* 1 現 衛生環境研究所

* 2 現 (財) 宮崎県産業支援財団

* 3 現 JA宮崎経済連 農産物検査センター

60℃付近に融点を有するパーム硬化油脂（日本油脂㈱製）を用いた。また、外水相の乳化剤は既報⁴⁾の成果を踏まえて食品添加物のデカグリセリンステアリン酸エステル（SWA-10D、三菱化学フーズ製）とした。内封物質に5'-リボヌクレオチド（協和発酵㈱製）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プロペラ式攪拌機で予備乳化し、加温型膜乳化装置（清本鐵工㈱製）を用いて膜乳化法により最終のW/O/Wエマルジョンとした。固化処理用の冷水は、外水相と同じ組成（食塩濃度：15.0wt%、SWA-10D濃度1.0%）

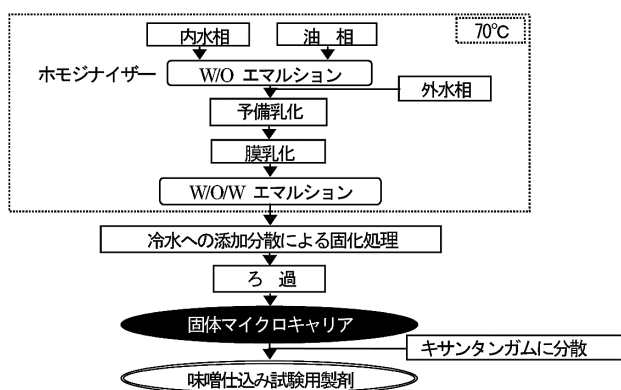


図1 冷水への添加分散による固化処理を用いた固体キャリアの調製フロー

の溶液を用い、事前に液温は4℃に冷却しておき、冷水5部に対してW/O/Wエマルジョン1部を添加する混合比とした。冷水分散により固化したマイクロキャリアはガラス繊維ろ紙（ワットマン製、GMF150、捕集粒径2 μm）を用いて吸引ろ過により回収した後、キサンタンガムに分散して味噌仕込み試験用の製剤とした。

この時のW/O/Wエマルジョンの組成及び乳化条件を表1に示す。内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を20～40wt%、また、W/Oエマルジョンの内水相の比率（エマルジョン全体に対する内水相の重量分率）を33.3～50.0wt%と変えて、カプセル中の旨味成分を高含有化の組成とした。なお、これまでの試験により外水相の浸透圧は内水相より高くすることで封入率が向上する結果が得られているので、外水相の食塩濃度は15wt%とした²⁾。膜乳化に用いたSPG膜の平均孔径は15.0 μmで、乳化圧力0.05kPa、乳化温度70℃とした。

封入安定性を評価するため、冷却により固化した固体キャリアが分散した液を4℃で保存し、固体カプセル分散液中へ漏洩する5'-リボヌクレオチド濃度を経時的に分析し、封入した5'-リボヌクレオチドに対する漏洩した割合を漏洩率とした。分析法は、分散液を分画分子量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

表1 W/O/Wエマルジョンの組成と乳化条件

試料名		試料-1	試料-2	試料-3	試料-4
内水相	核酸（5'-リボヌクレオチド）	20.0	30.0	30.0	40.0 wt%
	浸透圧	2.3			MPa
	W/Oエマルジョンの相重量分率	33.3	33.3	50.0	50.0 wt%
油相	パーム硬化油脂				
	PGCR	10.0	10.0	10.0	10.0 wt%
外水相	SWA-10D	1.0	1.0	1.0	1.0 wt%
	食塩	15.0	15.0	15.0	15.0 wt%
	浸透圧	14.0	14.0	14.0	14.0 MPa
固体カプセル	核酸含量	6.6	10.0	15.0	20.0 wt%
	油脂含量	66.6	66.6	50.0	50.0 wt%
味噌10kgに添加するカプセル*	カプセル量	75.1	50.0	33.3	25.0 g
	油脂量	50.1	33.3	16.7	12.5 g

*味噌に対して0.05wt%の5'-リボヌクレオチドを添加する場合（味噌10kgの時、5'-リボヌクレオチドとして5g添加）

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」⁵⁾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）により定量した。

2-2 旨味成分封入固体マイクロキャリアの加熱崩壊試験

2-1の実験で調製した試料-3をキサントゲルに分散した味噌仕込み試験用の製剤を用いて、加熱崩壊試験を行った。ゲル製剤1gを採取した三角フラスコに85℃に加熱した純水及び味噌を溶かした液200gを添加し、85℃の恒温水槽中で所定時間スターラーにより攪拌した後、水で冷却してからガラス繊維ろ紙（ワットマン製、GMF150、捕集粒径2μm）を用いて吸引ろ過した。ろ液は2-1と同じ方法で分析して加熱による内封成分の放出率を求めた。

3 結果及び考察

3-1 旨味成分を高含有化した固体マイクロキャリアの封入安定性の評価

表1の種々の組成で調製した固体マイクロキャリアの封入安定性は、冷却により固化した固体キャリアが分散した液を4℃で保存し、固体カプセル分散液中へ漏洩する5'-リボヌクレオチド濃度を経時的に分析して評価した。

試料-1（カプセル中の旨味成分含量：6.6wt%）は昨年度の組成のカプセルであり、このカプセルの漏洩率の経時変化を図2に示す。冷却固化時に若干の漏洩が生じるが、固化後の時間経過に伴う漏

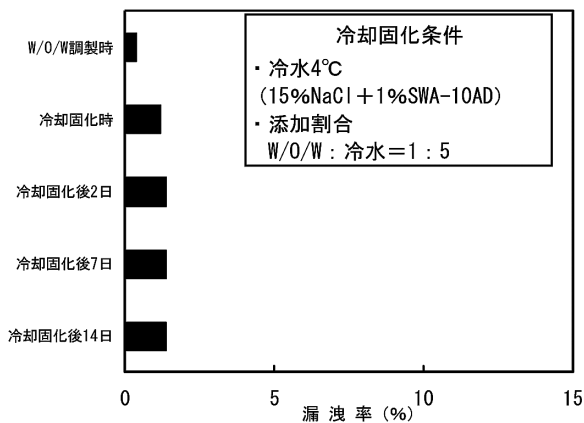


図2 固体キャリアの漏洩率の経時変化 (試料-1 (旨味成分含量：6.6wt%))

洩率の増加はほとんど認められず、14日後も2%程度の漏洩率となり、極めて安定性は高かった。

試料-2（カプセル中の旨味成分含量：10.0wt%）は、W/Oエマルションの相の比率は試料-1と同じであるが、内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を30wt%に高めたものであり、このカプセルの漏洩率の経時変化を図3に示す。冷却固化時の漏洩が試料-1より若干高くなったが、これはW/O/Wエマルション調製時の封入率が低下したことを反映した結果と考えられた。固化後の漏洩率の経時変化もほとんどなく、12日後も3%程度の漏洩率となり、安定性は高かった。

試料-3（カプセル中の旨味成分含量：15.0wt%）は、試料-2の組成においてW/Oエマルションの相の比率をW：O=1：1として油相を削減したものであり、このカプセルの漏洩率の経時変化を図4に示す。漏洩の経時変化は試料-2と同様であり、油相の削減による封入安定性の低下は認められなかった。

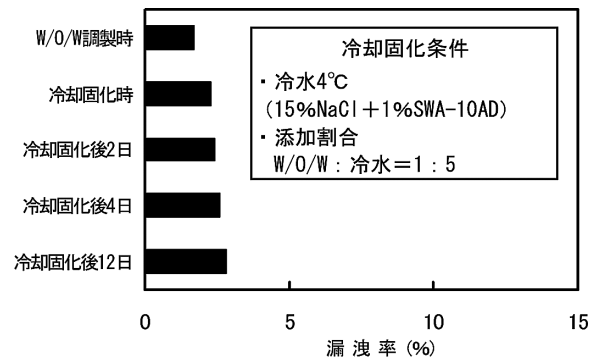


図3 固体キャリアの漏洩率の経時変化 (試料-2 (旨味成分含量：10.0wt%))

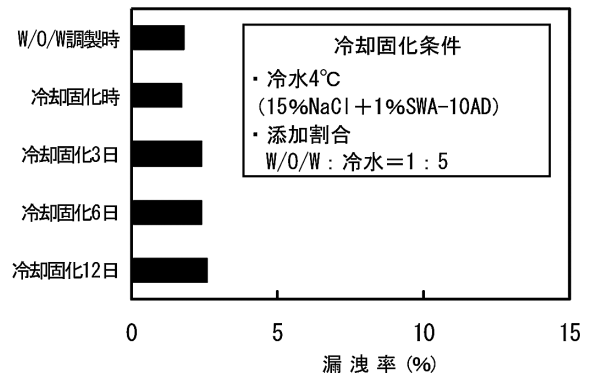


図4 固体キャリアの漏洩率の経時変化 (試料-3 (旨味成分含量：15.0wt%))

試料-4（カプセル中の旨味成分含量：20.0wt%）は、W/Oエマルションの組成は試料-3と同じであるが、内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を40wt%に高めたものであり、このカプセルの漏洩率の経時変化を図5に示す。これまでの試料-1～試料-3に比べて冷却固化時の漏れが大きくなり5%程度となった。なお、固化処理後の漏洩の経時変化においては増加の傾向は認められなかったことから、封入率は下がるものの封入安定性はこれまでの試作カプセルと同程度ものであると考えられた。

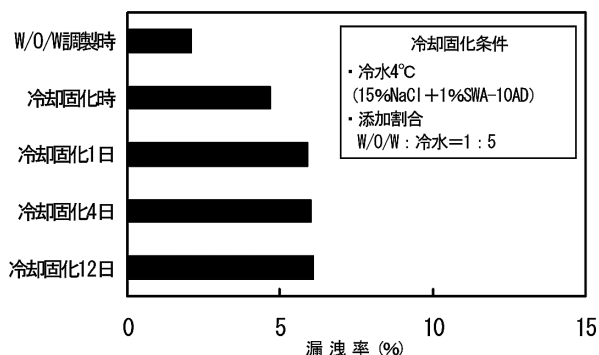


図5 固体キャリアの漏洩率の経時変化 (試料-4 (旨味成分含量：20.0wt%))

3-2 旨味成分封入固体マイクロキャリアの加熱崩壊性の評価

生味噌に使用する固体カプセルの性能として最も重要なことは、封入安定性が高いことであるが、一方、加熱調理時にはすみやかに内封成分の5'-リボヌクレオチドを放出することが要求される。試料-1（内水相の5'-リボヌクレオチド濃度：20wt%，W：O=1：2）についてはこれまでに加熱崩壊性を検討しており、60%程度の放出率であった²⁾。

今回、油相を削減した試作カプセルでは放出率がどのようになるのかを確認するため、試料-3（内水相の5'-リボヌクレオチド濃度：30wt%，W：O=1：1）を用いて加熱崩壊試験を行った結果を図6に示す。

この試験では、吸引ろ過により回収した固体カプセルをキサンタンガムに分散した味噌仕込み用製剤を用いたが、蒸留水に分散した時点で40%程

度の漏洩が認められた。3-1で述べたように、冷水固化処理して冷却液に分散した状態では封入安定性は良好であったことから、吸引ろ過操作及び掻き取り回収時にカプセルの破壊が生じたためと推測された。

蒸留水を用いた加熱処理の場合、総量としての5'-リボヌクレオチドは60%程度となった。全量が放出されない結果となったが、これは昨年度の結果と同様の傾向であった。

味噌仕込み試験の5'-リボヌクレオチドの分析において、ほぼ計算どおりの濃度が得られていることから、味噌汁状態では放出率が高まる可能性が考えられたので味噌を溶かした溶液を用いた加熱崩壊試験も行った。結果としては総量としての5'-リボヌクレオチドは70%程度となり、増加する傾向が認められた。考えられる要因の一つは、分析時の前処理におけるろ過時間の違いである。蒸留水の場合には30分程度でろ過が終了するが、味噌汁の状態ではろ過速度が遅くなり3時間程度かかることから、この時間中に漏洩が進行して結果的に放出率が上昇した可能性が推測される。味噌汁中での加熱崩壊性の評価については、精密に制御した加熱時間及び分析の前処理等の試験方法を見直して再度確認したい。なお、カプセル添加の生味噌で味噌汁をつくり官能評価した結果では十分な旨味の発現は確認できているので実用面では支障はないものと考えられた。

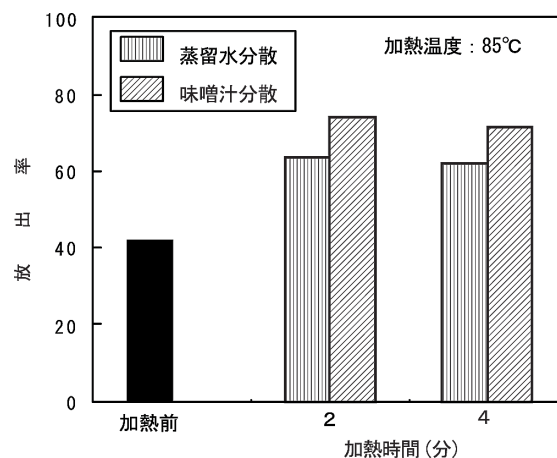


図6 加熱処理による固体カプセル（試料-3）試料からの内封成分の放出率の変化

4 まとめ

固体カプセルの旨味成分を高含有化するため、内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を高めること及びW/Oエマルジョンの油相を削減する組成の改良を行い、試作カプセル1～4を調製した。冷水固化処理した時点ではいずれのカプセルも封入安定性は高かった。しかし、油相を削減したカプセルでは、カプセル回収操作の吸引ろ過及び掻き取り時にカプセルの破壊が生じて内封成分が漏洩する結果となった。これらの結果より、固体カプセルの相組成はW : O = 1 : 2程度が限界であると推測された。

内水相の5'-リボヌクレオチド濃度を40wt%まで高めても封入安定性の高い固体カプセルを調製することは可能であったが、40wt%溶液は溶解度の点から常に70℃程度の液温を維持することが必要であり、乳化操作時の温度を精密に制御することが必要であると考えられた。

5 参考文献

- 1) 平成13年度地域新生コンソーシアム研究開発事業「膜乳化技術によるマイクロキャリアの開発とヘルスケアへの応用」成果報告書, 16 (2002)
- 2) 森下敏朗, 小玉誠, 河野幹雄, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, 47, 81 (2002)
- 3) 平成14年度地域新生コンソーシアム研究開発事業「膜乳化技術によるマイクロキャリアの開発とヘルスケアへの応用」成果報告書, 105 (2003)
- 4) 清水正高, 松田成信, 中島忠夫, 福井敬一, 松ヶ野一郷: 特願2001-364337 (2001)
- 5) 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)