

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24760656

研究課題名(和文)食品機能性成分を内包した均一サイズの非球形固体脂マイクロカプセルの作製

研究課題名(英文)Production of monodisperse nonspherical solid lipid microcapsules loaded with food functional components

研究代表者

小林 功(Kobayashi, Isao)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所 食品工学研究領域・主任研究員

研究者番号：70425552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：食品機能性成分へのアクセスやその利用効率の向上が期待される新たな食品機能性成分送達システムとしての非球形固体脂マイクロカプセルの作製について検討した。高融点脂質や食品機能性成分などの食品用素材を適切に選択し、なおかつマイクロチャンネルアレイチップを採用した結果、サイズが均一な食品用非球形固体脂マイクロカプセルを作製できた。マイクロチャンネルアレイチップを利用することにより、非球形固体脂マイクロカプセルの形状も制御できた。

研究成果の概要(英文)：Production of nonspherical food-grade solid lipid microcapsules as novel food delivery systems that are expected to improve access and utilization efficiency of food functional components was investigated. Uniformly sized food-grade nonspherical solid lipid microcapsules were obtained by adequately selecting food-grade components including high-melting point lipid and functional food components. The use of microchannel array chip enabled shape control of nonspherical solid lipid microcapsules.

研究分野：食品工学、乳化・分散プロセス工学、マイクロ・ナノプロセス工学

キーワード：脂質マイクロカプセル 食品機能性成分 非球形微小材料 マイクロ空間プロセス

1. 研究開始当初の背景

均一サイズのマイクロキャリア（マイクロ液滴、マイクロ粒子、マイクロカプセル）は、内包成分の徐放特性や機能発現特性の制御が容易になる等の優れた特徴を有している。そのため、均一サイズのマイクロキャリアを利用した食品機能性成分送達システムや薬物送達システム（DDS）に関する研究開発が活発に行われている。

マイクロキャリアの一種である多相エマルションは、親水性食品機能性成分と疎水性食品機能性成分とも内包可能なマイクロキャリアである。しかしながら、多相エマルションは内包された食品機能性成分が外水相に漏出する可能性があるため、長期安定性に乏しい傾向にある。多相エマルション中の油相を固化することにより得られる球形の固体脂マイクロカプセルは、食品機能性成分の漏出抑制や油相の消化制御性の向上に有効な優れたマイクロキャリアである。ちなみに、過去に報告された球形固体脂マイクロキャリアのサイズ分布（変動係数（CV））は最小で 15% 程度である。

球形固体脂マイクロカプセルでは、中心部に内包されている食品機能性成分が十分に利用されないことが懸念されている。これに対して筆者は、固体脂マイクロキャリアの形状を非球形にすることで非表面積の増大と中心部までの距離の短縮による中心部に内包されている食品機能性成分へのアクセスやその利用効率向上のではないかと着想した。

2. 研究の目的

本研究課題では、筆者らが開発したマイクロチャンネル（MC）アレイチップを利用した均一サイズの食品用非球形固体脂マイクロカプセルの作製および特性評価を主目的とした。具体的には、以下の点について検討を行った。

（1）MC アレイチップを用いた非球形マイクロ油中水滴（W/O マイクロ液滴）の作製および変形を試みたとともに、均一サイズの円盤状・棒状 W/O マイクロ液滴を安定的に連続作製可能な条件を探索した。

（2）MC アレイチップを用いて作製された非球形 W/O マイクロ液滴をチップ上で局所的に冷却することによって、均一サイズの非球形固体脂マイクロカプセルの作製が可能であるかを試みた。

（3）非球形固体脂マイクロカプセルに内包可能な食品機能性成分を探索した。また、食品用非球形固体脂マイクロカプセルのサイズや形状等の安定性評価も行った。

3. 研究の方法

（1）非球形マイクロ液滴・マイクロカプセルの作製に用いた MC アレイチップ

本研究では、筆者らが開発した単結晶シリコン製の MC アレイチップを用いた。本チッ

プ全体の上面図および液滴作製用 MC アレイの拡大斜視図を図 1 に示す。本研究で用いた MC アレイチップは、2 列の液滴作製用 MC アレイ（MC およびテラス深さ 4 μm、井戸部深さ 8 μm）が加工されている HMS2-2 チップおよび液滴作製用 MC アレイ（HMS2-2 と同様）と 2 列の液滴変形用 MC アレイ（MC 深さ 8 μm）が加工されている HMS2-3 チップの 2 種類であった。

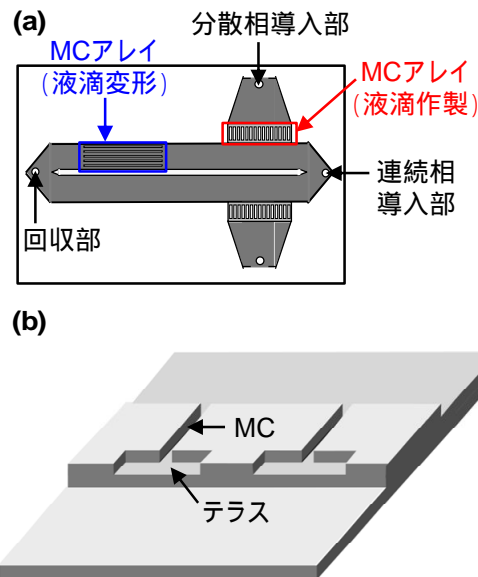


図 1. MC アレイチップの上面図 (a) および液滴作製用 MC アレイの拡大斜視図 (b)

（2）MC アレイチップを用いた非球形 W/O マイクロ液滴の作製および変形

まず、高圧乳化によるサブミクロン W/O エマルションの作製を行った。この時、内水相としてグルコース水溶液を用い、油相として乳化剤を添加した大豆油溶液を用いた。ちなみに、高圧乳化は、内水相と油相をあらかじめ予備乳化した粗エマルションを用いて行ったとともに、W/O エマルションにおける内水相の体積分率も変化させた。ここで作製されたサブミクロン W/O エマルションは、非球形 W/O マイクロ液滴の素材として用いた。

MC アレイチップを用いた非球形 W/O マイクロ液滴の作製および変形は、MC アレイチップが設置されたモジュール、外水相と W/O エマルションの供給・制御部、ならびに顕微観察システムから構成される装置を用いて行われた。この時用いた外水相は、乳化剤とグルコースを添加した水溶液であった。

食品用素材を用いた非球形 W/O マイクロ液滴の作製は、出口側にテラスを有す MC アレイを介してサブミクロン W/O エマルションを外水相中に圧入して行った。非球形 W/O マイクロ液滴の作製挙動の詳細は、高速度カメラが接続された顕微観察システムを用いて観察・解析した。また、非球形 W/O マイクロ液滴の作製に関する操作因子ならびにサブミクロン W/O エマルションにおける水相

の体積分率の影響についても検討を行った。非球形 W/O マイクロ液滴の変形は、上流側の MC アレイを用いて作製された円盤状 W/O マイクロ液滴を連続相の流れにより下流側の液滴変形用 MC アレイに圧入させて行った。(3) MC アレイチップを用いた非球形固体脂マイクロカプセルの作製

非球形固体脂マイクロカプセルの作製に用いた油相は、高融点脂質であるトリパルミチンに乳化剤を添加した溶液であった。高温で予備乳化した粗エマルションを高圧乳化することによってサブミクロン W/O エマルションを作製した。

非球形固体脂マイクロカプセルの基材となる非球形 W/O マイクロ液滴の作製および変形は、高温に維持されたモジュールおよび外水相と W/O エマルションの供給部を用いて行われた。その他の構成部品については(2)の装置と同様であった。非球形固体脂マイクロカプセルの作製は、加温されている MC アレイを用いて作製された非球形 W/O マイクロ液滴をチップの出口流路部で常温に冷却して脂質を固化させて行った。また、形状が異なる非球形固体脂マイクロカプセルの作製については、次の手順で行った。加温された液滴変形用 MC アレイ内部で非球形 W/O マイクロ液滴を変形させた後、MC アレイの出口部に移動する際に液滴の油相部分を固化させて行った。

本研究により作製された非球形固体脂マイクロカプセルの評価については、MC アレイチップ上でマイクロカプセルのサイズや形状を観測して行った。

(4) 食品機能性成分を内包した非球形固体脂マイクロカプセルの作製

本研究では、油相として脂溶性の食品機能性成分を添加したトリパルミチン溶液を用い、水相として乳化剤を添加した水溶液を用いた。上記の食品機能性成分を内包した非球形 W/O マイクロ液滴の作製は、高温に維持された MC アレイおよび水相と油相の供給部を用いて行われた。その後、非球形 W/O マイクロ液滴をチップの出口流路部で常温に冷却して油相を固化させた。

4. 研究成果

高圧乳化を用いることにより、平均液滴径が 0.2 μm 台で最大液滴径が 1 μm 未満のサブミクロン W/O エマルションが作製された。チップ上流側の MC アレイを介してサブミクロン W/O エマルションを外水相中に圧入したところ、内水相の体積分率が閾値よりも高い場合に均一サイズの円盤状 W/O マイクロ液滴(平均直径約 20 μm 、高さ 8 μm)を安定的に作製できることが示された(図 2)。一方、内水相の体積分率が閾値よりも低い場合は、不均一サイズの W/O マイクロ液滴の作製や W/O エマルション相の連続流出が観察された(図 2)。W/O エマルションの油相中に存在する乳化剤の濃度は、内水相の体積分率が

低下するにしたがって増加する。このため、W/O エマルションの油相中に存在する乳化剤の濃度が、液滴作製時における MC アレイ表面と W/O エマルション相の間の相互作用に影響したものと考察される。高速度カメラを用いることにより、MC アレイを介した円盤状 W/O マイクロ液滴の作製プロセスの詳細が明らかとなった。W/O マイクロ液滴の作製のメカニズムは MC 乳化と同様であったとともに、液滴作製時における内水相の漏出が少ないこともわかった。操作温度の影響についても検討した結果、内水相体積分率が高い場合にはモジュールを冷却または加熱した状態であっても均一サイズの円盤状 W/O マイクロ液滴が安定的に作製されることが示された。

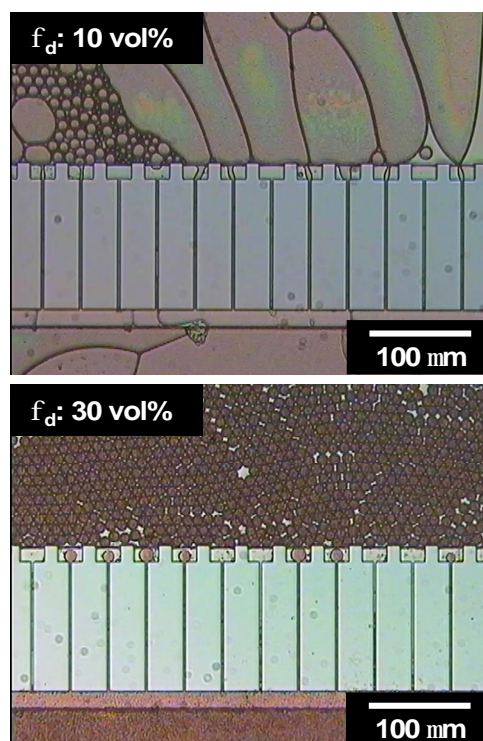


図 2. 内水相の体積分率 (ϕ_d) が MC アレイを介した非球形 W/O マイクロ液滴の作製に与える影響

また、チップ上流側の MC アレイを用いて作製された円盤状 W/O マイクロ液滴をチップ下流側の MC アレイに圧入したところ、MC アレイに進入する際に棒状(平均長さ約 55 μm 、幅および高さ 8 μm)に変形することができた(図 3)。この時、W/O マイクロ液滴が分裂する様子は観察されなかった。

高温での高圧乳化を行うことにより、高融点脂質が連続相のサブミクロン W/O エマルションが作製された。この時作製されたサブミクロン W/O エマルションにおける内水相の体積分率は 20 vol%であった。加温されたチップ上流側の MC アレイを介してサブミクロン W/O エマルションを外水相中に圧入した結果、平均液滴径が 20 μm 程度で高さが 8

μmの均一サイズの円盤状 W/O マイクロ液滴を安定的に作製することができた。円盤状 W/O マイクロ液滴を MC アレイチップ上で静止させた状態で冷却したところ、円盤状 W/O マイクロ液滴内部のトリパルミチンが結晶化して扁平状の単分散固体脂マイクロカプセルを得ることができた。円盤状 W/O マイクロ液滴のカプセル化に伴うサイズの変化はほとんど認められなかったが、扁平状マイクロカプセルの側面部に多少の凹凸が観察された。作製された扁平状固体脂マイクロカプセルを MC アレイチップ上で観察したところ、サイズと形態の経時変化は認められなかった。円盤状 W/O マイクロ液滴を下流方向へ移動させながら冷却したところ、部分的に伸長した非球形固体脂マイクロカプセルが得られ、連続相の流動状態によって非球形固体脂マイクロカプセルの形状変化が可能であることを見出した。

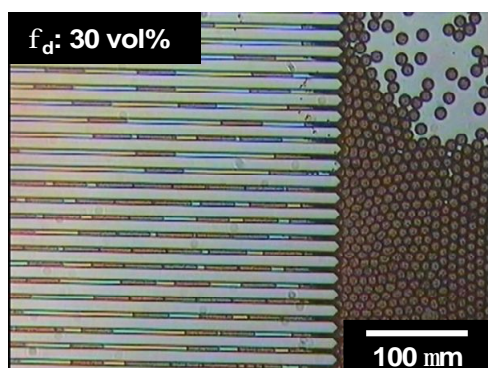


図3 .MC アレイを用いた非球形 W/O マイクロ液滴の変形

チップ全体が加温された状態で、上流側の MC アレイを用いて均一サイズの円盤状 W/O マイクロ液滴を作製した後、下流側の MC アレイに圧入した際に、W/O マイクロ液滴が MC 入口付近で棒状に変形する様子が観察された。MC 内部において棒状を維持している W/O マイクロ液滴を冷却した結果、単分散棒状固体脂マイクロカプセルを得ることができた。棒状 W/O マイクロ液滴から棒状固体脂マイクロカプセルが作製された際のサイズ変化は、ごくわずかであった。

加温されたチップ上流側の MC アレイを介して油相を水相中に圧入したところ、食品機能性成分(β-カロテンまたはβ-シトステロール)を内包した均一サイズの円盤状マイクロ液滴が安定的に作製された。この時、円盤状マイクロ液滴に内包された食品機能性成分の析出等の不安定化は起きなかった。その後、円盤状マイクロ液滴を MC アレイチップ上で静止させて状態で冷却したところ、食品機能性成分を内包した単分散扁平状固体脂マイクロカプセルを得ることができた。

以上、本研究により単分散非球形固体脂マイクロカプセルという新たな食品用微小材料が開発され、内包された食品機能性成分の徐放制御性の向上が期待される有意義な成

果が得られた。また、MC アレイを利用した球形固体脂マイクロカプセルの作製に関する技術的指針を与える有意義な成果も得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計4件)

Isao Kobayashi, Yanru Zhang, Yuko Hori, Marcos A. Neves, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima: Generation characteristics of nonspherical multiple droplets using microchannel array chips. 1st Congress on Food Structure and Design, Fundacao Dr. Antonio Cupertino Miranda (Porto, Portugal), Oct. 16, 2014.

Isao Kobayashi, Yanru Zhang, Marcos A. Neves, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima: Microchannel array chips for producing monodisperse nonspherical lipid droplets and microparticles. 13th International Conference on Microreaction Technology, Budapest University of Technology and Economics (Budapest, Hungary), Jun. 24, 2014.

Isao Kobayashi, Yuko Hori, Marcos A. Neves, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima: Production of monodisperse nonspherical double emulsion droplets using microchannel array chips. 9th World Congress of Chemical Engineering, Coex (Seoul, South Korea), Aug. 22, 2013.

小林功, 堀裕子, NEVES Marcos A., 植村邦彦, 中嶋光敏:「マイクロチャンネルアレイを用いた単分散非球形多相液滴の作製」, 日本食品工学会第14回年次大会, 京都テルサ(京都府京都市), 2013年8月9日.

6. 研究組織

(1)研究代表者

小林 功 (KOBAYASHI, Isao)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所食品工学研究領域・主任研究員

研究者番号: 70425552