

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450184

研究課題名(和文)食品としての脂質の高度利用とその品質劣化機構の解明

研究課題名(英文)Advanced utilization of lipid in food system and elucidation of its deterioration mechanism

研究代表者

渡邊 義之(WATANABE, Yoshiyuki)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号：20368369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：リモネンと炭素数12から16のアルカンを用いて水中油滴型エマルションおよび粉末化脂質の冷凍・解凍後の安定性に及ぼす諸因子の影響についての解明を試みた。エマルション系においては、油相の融点と冷凍時および解凍・保存時の温度との関係、油相成分間の比重、および初期油滴粒子径が、エマルションおよびリモネンの安定性に寄与することが示された。粉末系では、さらに油相成分と包括剤との親和性のリモネン安定性への影響が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The effects of several factors on the stabilities of oil-in-water emulsion and microencapsulated lipid containing limonene and alkane with the carbon number of 12 to 16 after freezing and thawing were examined. In the emulsion system, it was indicated that the relationship between the melting point of component in oil phase and freezing, thawing and storage temperature, the specific gravity of the oil component, and the initial particle size of oil droplets contributed to the stabilities of the emulsion and limonene. In the microcapsule, the effect of the affinity of wall material for oil component on the stability was suggested.

研究分野：食品工学

キーワード：O/W型エマルション 凍結 乳化安定性 解凍 リモネン 噴霧乾燥 粉末化脂質

1. 研究開始当初の背景

脂質は三大栄養素の一つであり多くの食品に含まれ、栄養価、体形成(細胞膜など)および機能性のみならず、“まろみ”や“とろみ”と表現されるような食感を与えるなど、必要不可欠な食品成分である。食品に含まれる不飽和脂質は酸化安定性が低く、酸化生成物は生体に悪影響を及ぼして様々な疾病を引き起こすため、脂質の酸化現象は食品の品質管理の上で重要な問題となる^{1, 2)}。特に、生理活性物質前駆体であるDHAやEPAなどを含む高度不飽和脂質に対して、効果的な酸化・分解防止策を講ずることが課題である。不飽和脂質は融点が低く常温では液状であることが多いため、これを多糖などの高分子化合物水溶液と乳化した後、噴霧乾燥することにより粉末化脂質が得られ、酸化安定性の改善に寄与する^{2, 3)}。

通常食品の長期保存には冷凍または冷蔵が利用されることが多く、脂質も低温により安定性が高まる。しかしながら、脂質分子内には飽和および不飽和脂肪酸が混在し、低温下では高融点の飽和脂質による部分的結晶化が生じる。その結果、上記のようなエマルション系および粉体系における油滴の合一などが起こり、熱力学的に準安定な分散系であるエマルション状態での乳化安定性や粉体系の脂質酸化安定性が低下するなど食品の品質劣化につながる^{4, 5)}。このような劣化機構の解明は食品の長期保存に必須な課題であると考えられ、またその抑制・改善が求められている。

2. 研究の目的

水中油滴(O/W)型エマルションおよび粉末化脂質の冷凍・解凍後の安定性に及ぼす諸因子の影響の解明を目的とする。

3. 研究の方法

(1) エマルションの調製と保存

油相と水相が体積比で1:9となる量の1% (w/v)デカグリセリンモノラウレート水溶液、リモネン(融点-74℃)0.1 mL、リモネンに対してモル比が1:9となる量のドデカン(融点-12℃)、テトラデカン(融点6℃)またはヘキサデカン(融点18℃)を50 mL容プラスチックチューブに入れ、ロータ/ステータ型ホモジナイザーを用いて氷冷しながら回転数1,000 rpmで5分間ホモジナイズした。その後、20 mL容量褐色バイアルに移し、セルロースアセテートメンブランフィルターを取り付けたペリスタポンプで循環させO/W型エマルションを得た。孔径が0.8 μmまたは0.45 μmのメンブランフィルターを用いた。調製したエマルションを-20℃または-80℃の冷凍庫内で24時間静置し冷凍させた後、9℃の冷蔵庫にて解凍および保存した。エマルションの調製直後を0時とし、経時的にサンプリングを行った。

(2) 脂質の粉末化

10% (w/w)マルトデキストリン水溶液を用いて、1% (w/v)デカグリセリンモノラウレート水溶液を調製した。エマルション調製条件と同様の方法で、リモネンと各アルカンを添加し、氷冷しながら1,500 rpmで5分間ホモジナイズした。これを噴霧乾燥機に供して粉末化脂質を得た。風量は0.42 m³/min、エマルション供給速度は3 kg/h、スプレー圧力は0.1 MPa、熱風入口温度は150℃、熱風出口温度は80℃の条件で噴霧乾燥を実施した。得られた粉末化脂質を20 mgずつガラスカップに分取した。このガラスカップをプラスチックケースに入れ、-20℃のフリーザーおよび-80℃の冷凍庫内で24時間静置し冷凍させた後、50℃の送風定温恒温器内で解凍させ保存した。エマルションの調製直後を開始点とし、経時的にサンプリングを行った。

(3) 油滴粒子径の測定⁶⁾

レーザー回折式粒度分布測定装置を用いエマルション中の油滴粒子径分布を測定した。回分セルを蒸留水約20 mLで満たし、吸光度が測定可能に収まる程度の量のエマルション試料を加えて粒度分布を測定した。粉末化脂質はガラスカップに超純水2 mL添加し、粉末を溶解させた後、エマルションの場合と同様に希釈して粒度分布を測定した。

(4) リモネン残存量の測定³⁾

経時的に採取されたエマルション試料を6,000 rpmで、10分間遠心分離し、油相部分を0.1 mL採取した後、ヘキサンで1 mLまで希釈した。よく混合した後、5 μLを質量分析ガスクロマトグラフィー(GC/MS)に供した。カラムはTC-1(30 m × 0.25 mm I.D, 1.00 μm df, GL Science)、キャリアーガスはヘリウムを用いた。カラム温度は80℃で1.5分間、7.0℃/minで140℃まで昇温した後、2.0分間保持し、さらに8.0℃/minで180℃まで昇温した後、5.0分間保持した。その後、5.0℃/minで200℃まで昇温し、1.0分間保持した。気化室温度は240℃、インターフェース温度は230℃、カラム流量は1.8 mL/minとした。粉末化脂質は、50 mL容プラスチックチューブに50℃に温めた超純水に粉末20 mgを入れ、送風定温恒温器内で保存した。サンプリング後、体積比で3:1のヘキサン/2-プロパノール混合液に内部標準としてシクロヘキサノン(100 μL)を添加した抽出液を2.0 mL加えた。抽出液を加えた後、30℃で15分間200 rpmで振盪させた。振盪後、遠心分離機で3,100 rpmで15分間遠心し、上澄液を2.0 mL分取したものをエマルションと同条件のGC/MSに供した。

(5) リモネン蒸散量の測定

固相マイクロ抽出(SPME)法にてエマルションや粉末化脂質から蒸散したリモネン量を測定した。ファイバーには65 mm

PDMS/DVB を用いた．ドデカン，テトラデカンまたはヘキサデカンをそれぞれ含んだエマルジョンを調製し 20 mL 容クリンバイアル (22.5 mmφ×75.5 mm) に入れた．ヘッドスペースには窒素を充填し，マグネットクリンキャップをキャッピングした．-20 および -80 の冷凍庫内でバイアル瓶を 24 時間静置し冷凍させた後，冷蔵庫内で 9 にて解冻させた．解冻後，バイアルに SPME ホルダーを取り付けて 9 の冷蔵庫にて保存した．経時的にサンプリングし GC/MS 分析条件でファイバーに吸着されたりモネン量を測定し気相への蒸散量とした．粉末化脂質については，20 mL 容クリンバイアルに粉末 200 mg を入れ，同様の測定方法でリモネン蒸散量を測定した．

4. 研究成果

(1) O/W 型エマルジョンの低温安定性

0.8 μm 孔径フィルターを用いて調製されたエマルジョンを -20 および -80 で冷凍させ 9 で解冻し保存した場合の冷凍前からの油滴粒子径の経時変化を図 1 に示す．ドデカンの融点が -12 付近であり，本来ならば結晶化するはずであるが，リモネンと混合しているため，融点が低くなり⁷⁾，油相は凝固せず流動性を維持した．しかし，乳化剤は -6 で結晶化が始まるため油滴界面の結晶化が生じる可能性がある．そのため，-20 では水相が結晶化しても油相が結晶化せず，エマルジョン溶液全体が結晶化することなく，油滴の結晶化による合一の進行が進まなかったため，油滴粒子径の変化は小さかったと考えられる．テトラデカンの融点は 6 付近であるため，水相が結晶化し始める前から油滴が結晶化し始める．そのため，油滴界面から突出する結晶が生成され，結晶化による合一が進行したものと考えられる．また，解冻保存中も結晶化による合一が進行したため，油滴粒子径の変化が大きくなったと推察される．ヘキサデカンの融点は 18 付近であるため，テトラデカンと同様に合一が進行すると考えられる．しかし，9 の解冻・保存条件下では，油相のヘキサデカンは結晶状態で水相に分散しているため，油相内でのヘキサデカン分子の流動性が低く，テトラデカンよりも粒子の合一が進行しにくかったのではないかと考察される．-80 で冷凍させた場合，テトラデカンおよびヘキサデカンを含むエマルジョンの油滴径の変化量は -20 冷凍の場合と同程度かもしくは減少した．ドデカンを含むエマルジョンは -20 冷凍の場合に比べ油滴径が急速に増大し，著しく不安定化した．ドデカンの場合，-80 冷凍では油相が十分に結晶化するため，油滴界面から突出する結晶により粒子同士が結着し，その後の解冻において油滴粒子内の分子の流動が粒子の合一と粒子径の増大を促したものと考えられる．テトラデカンおよびヘキサデカンの場合，-80 冷凍では急速に冷却さ

れたため，結晶が大きく成長せずに完全結晶化し，-20 冷凍の場合と比較すると変化が少なくなったと考察された．

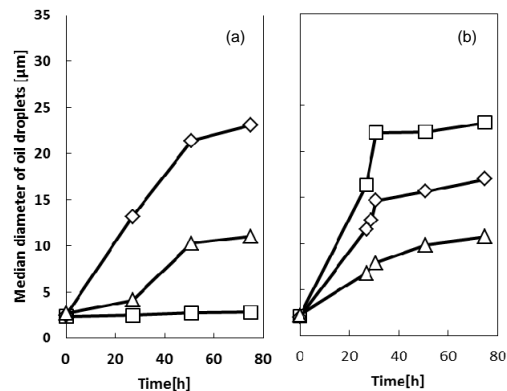


図1 ドデカン(○)，テトラデカン(□)およびヘキサデカン(△)を含む油滴粒子径の経時変化：(a) -20 冷凍，(b) -80 冷凍

調製されたエマルジョンを -20 で冷凍させ 9 で解冻し保存した場合のエマルジョン中のリモネン残存率の経時変化を図 2 に示す．この結果に Weibull (式 1) を適用して速度論的解析を行った．

$$C/C_0 = \exp[-(kt)^n] \quad \text{式 1}$$

ここで， C_0 はリモネン初期濃度， t は時間， C は時間 t でのリモネン濃度， k はリモネン消失速度定数および n は形状定数である．いずれのアルカンを用いた場合も，冷凍および解冻した後，リモネン残存率は大きく減少した．ドデカン，テトラデカンおよびヘキサデカンを含むエマルジョン系での k 値は，それぞれ 1.18×10^{-2} ， 6.18×10^{-3} および 9.77×10^{-3} [h^{-1}]であった．図 1 の結果を踏まえると，油滴の合一が進行しても必ずしもエマルジョン中のリモネン量に大きな減少が生じる訳ではないことが示された．また， n 値はそれぞれ 0.785，0.574 および 0.969 であった．いずれの系も形状定数が 1 を下回り，初期段階で速やかにリモネンの消失が進行したことが示された．

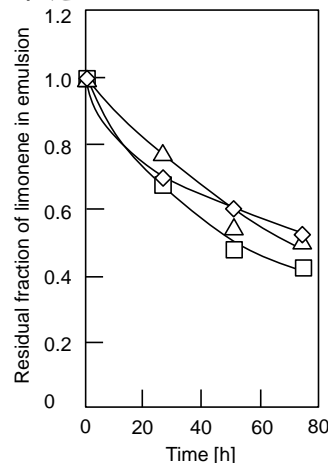


図2 ドデカン(○)，テトラデカン(□)およびヘキサデカン(△)を含むエマルジョン中のリモネン残存率の経時変化

-20 で冷凍させ 9 で解凍し保存したエマルジョンからの蒸散量の経時変化を図3に示す。ドデカンを含むエマルジョンでは、気相中でのリモネンがほとんど検出されなかった。テトラデカン系ではリモネンの蒸散が進行した後、リモネン量が減少した。ヘキサデカンの場合では、初期段階から急激なリモネンの蒸散が進行し、その後同様に減少する現象が観察された。これらの結果の一因に、リモネンとアルカンの比重の差を考えた。ドデカンおよびテトラデカンはリモネンよりも比重が小さく、リモネンが気相に蒸散しにくい状態であったために蒸散が抑えられ、一方、ヘキサデカンを含むエマルジョンの場合、リモネンがヘキサデカンより比重が軽いいため油滴内で気相に近い状態で存在し、蒸散性が高まった可能性が考えられた。また、テトラデカンおよびヘキサデカンに関しては、比較的初期段階でリモネンが大量に蒸散しており、その後は緩やかに蒸散したため、蒸散量が減少しているように見えるものと考えられる。

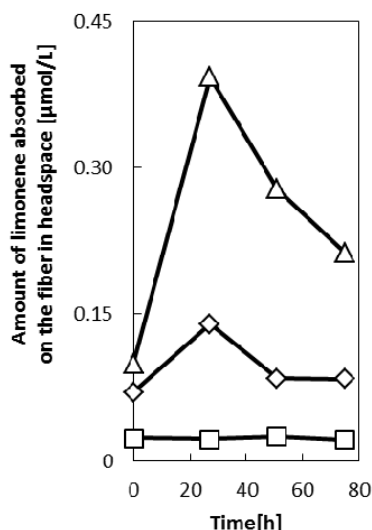


図3 ドデカン(□)、テトラデカン(◇)およびヘキサデカン(△)を含むエマルジョンからのリモネン蒸散量の経時変化

初期油滴粒子径の相違の影響を検討すべく、0.45 μm 孔径フィルターを用いてエマルジョンを調製し、-20 で冷凍させ同様の測定を行った。いずれのアルカンにおいても、初期粒子径が小さくなることで、油滴粒子径の増大とリモネン残存率の減少の進行が僅かに遅くなった。また、リモネン蒸散量については、アルカン間の差が小さくなること示された。一般的に、エマルジョンの粒子径が小さい方が、乳化安定性が高くなることが知られている³⁾。この結果においても、粒子径の寄与が示されたものと考えられる。

油相分子構造の影響を検討するために、炭素数 12 と 16 のアルカンについて、分岐構造を有するイソドデカンおよびイソセタンを用いて、0.8 μm 孔径フィルターによりエマルジョンを調製し、-20 および -80 での冷

凍と 9 での解凍および保存における安定性試験を実施した。いずれの解凍・保存温度においても分岐アルカンを用いたエマルジョンの油滴径は安定であった。分岐アルカンの場合、リモネン残存率が高く、さらにリモネン蒸散量が少なくなり、エマルジョンおよびリモネンの安定性がいずれも向上することがわかった。詳細は不明であるが、分岐アルカンは直鎖構造のものに比べ分子間相互作用が小さく融点が低い。この点が高い安定性に寄与したものと考察される。

(2) 粉末化脂質の低温安定性

ドデカン、テトラデカンおよびヘキサデカンを含む粉末化脂質 -20 および -80 で冷凍させ、50 で解凍および保存し、再溶解後の油滴粒子径、リモネン残存率および蒸散量を測定した。いずれのアルカンを用いた場合も油滴粒子径は経時的に増大したが、その変化量は、いずれの冷凍温度においてもヘキサデカン > テトラデカン > ドデカンの順であった。粉末化により油滴粒子の移動性が大きく低下し、油滴の合一が抑制されると考えられるため、エマルジョン系とは異なる傾向につながったのだろう。解凍および保存の温度が 50 であり、いずれのアルカンにおいても全ての相が融解した状態となるため、3 つのアルカンの中では分子間力と凝集性が高いヘキサデカンに置いて、最も油滴の合一が進み易かった可能性が考えられる。また、ヘキサデカンは他のアルカンよりも疎水度が高いため、親水度の高い包括剤マルチトールとの親和性が他のアルカンより低く、油滴粒子の凝集・合一が起こり易い環境であったと考えられる。アルカン間のリモネン残存率の違いも、油滴粒子径の安定性と同じ傾向を示し、ヘキサデカンを用いた場合の残存率の低下が目立った。リモネンの蒸散挙動についてはその初期蒸散量が、ドデカン > テトラデカン > ヘキサデカンの順であり、保存過程においてそれぞれほぼ同等の増大率を示した。これらは、9 で保存されたエマルジョン系とは異なり、50 という高い温度で解凍・保存されたため、リモネンだけでなくアルカンの蒸散性や安定性も影響を受け、特に初期において沸点のより低いドデカン中で多量のリモネンが蒸散したことを示している。前述のリモネン残存率は初期のリモネン量を基準とした値であるため、初期の蒸散量が多いほど、その後の残存率の低下量が小さくなったと考えられる。また、いずれも測定においても冷凍温度間での相違が小さかったのも、解凍・保存温度が高く、油相成分の融点の影響が減じられたことに起因するものと推察される。

<引用文献>

斎藤 真澄, 遠藤 彰, 三木 彦一, 奥田 永昭, 伏崎 弥三郎, d-リモネンの自動酸化, 工業化学雑誌, 64 巻, 3 号, 1961, 547-551

安達 修二, 松野 隆一, 粉末化脂質の高機能性食品への適用, 粉体工学会誌, 39 巻, 2002, 122-129

Apinan SOOTTITANTAWAT, Fanny BIGEARD, Hidefumi YOSHII, Takeshi FURUTA, Masaaki OHKAWARA, Pekka LINKO, Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 6, 107-114, 2005.

鈴木 敏幸, 乳化技術の基礎(相図とエマルション), 日本化粧品技術者会誌, 44 巻, 2010, 103-117

有馬 哲史, 油脂結晶とエマルション物性, オレオサイエンス, 16 巻, 9 号, 2016, 433-441

Darinka DJORDJEVIC, Jean ALAMED, David Julian McCLEMENTS, Eric A DECKER, Luisito CERCARI, Chemical and physical stability of protein-and gum arabic-stabilized oil-in-water emulsions containing limonene, Journal of Food Science, 73 (3), 2008, C167-172

橋岡 祐介, 渡辺 学, 鈴木 徹, 低温下における O/W エマルション脂質結晶化に及ぼす植物油脂種の影響, 低温生物工学会誌, 56 巻, 2010, 127-134

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 3 件)

Takafumi OKUBAYASHI, Yusuke KONO, Masayoshi HIROSHIMA, Yoshiyuki WATANABE, Effect of freezing and thawing processes on stability of O/W emulsion with flavor component, The International Union of Food Science and Technology 18th World Congress of Food Science and Technology, 2016.8.23, Dublin (Ireland)

奥林 孝文, 弘嶋 真愛, 渡邊 義之, 凍結・解凍後の O/W 型エマルションと含有フレーバーの安定性, 第 16 回日本食品工学会年次大会, 2015 年 8 月 11 日, 広島市立大学(広島県・広島市)

Yoshiyuki WATANABE, Yusuke KONO, Masayoshi HIROSHIMA, Shuji ADACHI, Stability of Oil-in-water Emulsion Containing Flavor Component through Freezing and Thawing Processes, The 12th International Congress on Engineering and Food, 2015.6.15, Quebec City (Canada)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 義之 (WATANABE, Yoshiyuki)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号: 20368369

(2) 研究分担者

なし