

# 大豆たん白質を用いた多価不飽和脂肪酸マイクロカプセル化の試み

ATTEMPTS TO MICROENCAPSULATE POLYUNSATURATED FATTY ACID USING SOY PROTEIN AND OTHERS AS WALL MATERIALS

伊吹文男・中村真理・岩見公和（京都府立大学農学部）

Fumio IBUKI, Mari NAKAMURA and Kimikazu IWAMI

Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto 606

## ABSTRACT

Various food proteins were examined for their antioxidant effects in powder model systems (40°C, Aw=0.6~0.7). The peroxide value of gliadin-based samples was kept at a marginal level during a month of storage. Gliadin was not so much effective to antioxidation at low and middle Aws as at high Aw. SPI and SPT-5 also exhibited potent antioxidant effects, but their effects at high Aw were less than those at low and middle Aws. With respect to the 60% ethanol-extractable component of SPI, its antioxidant effects at different Aws had a resemblance to each other and were scarcely affected by dialysis before evaporation to dryness. This implies that the presence of active substances with low molecular weight is not necessarily involved in the function of SPI or its component as antioxidant. The effect of gliadin that was not so good as antioxidant at low Aw, was markedly improved by means of spray-drying. The same effect is expected to hold for SPI microcapsules, which were not only prepared by spray-drying but also by freeze-drying. Their availability is under investigation. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 20-24, 1987.

近年、食生活の多様化に伴行して、加工食品やインスタント食品普及に伴う食事内容の規格化が進みつつあり、栄養バランスの偏りが危惧される。多価不飽和脂肪酸は、生体膜成分として、あるいはエイコサノイドの前駆体として、栄養的に不可欠であると共に、疫学的には抗血栓作用や血清コレステロール降下作用を有することが知られている<sup>1,2)</sup>。しかし、食膳に上るまでの保存状態が悪いと酸化が進み、栄養的に無価値となるばかりでなく、甚だしきは毒性を呈することもある<sup>3)</sup>。多価不飽和脂肪酸を多く含む食品では、抗酸化剤の使用が考えられているが、最近、フェノール性合成抗酸化剤の安全性に疑問が投げかけられ、現在その使用を差し控える傾向にある。このようなとき、多価不飽和脂肪酸を安全に保護し、またそれ自体、消化吸収

をうけ栄養素として役立つようなものが開発できれば、広く加工食品やインスタント食品の栄養補強に利用できるに違いない。本報告は、そのような観点に立って食品たん白質抗酸化性の再検討と多価不飽和脂肪酸をたん白質でくるむ“マイクロカプセル化”の試みに関するものである。

## 実験方法

### 材料

小麦グリアジンは市販グルテン(半井製品)の70%エタノール抽出液を減圧濃縮後、凍結乾燥によって調製した。トウモロコシでんぷん、ツェイン、カゼイン、リノール酸、パルミチン酸は市販品(半井製品)を更に精製することなく用いた。

分離大豆たん白質 SPI(フジブロー R)およびその部分水解産物 SPT-5(Lot. A95D)は不二製油㈱から供与をうけた。ペプシン消化産物 SPI-P は、当研究室で一夜酵素処理<sup>4)</sup>したものをを用いた。SPI のアルコール水可溶性成分の調製はグリアジンの場合と同じようにして行った。これら乾燥粉末にリノール酸およびパルミチン酸を含むヘキサン溶液を加え、よく攪拌しながら風乾し、たん白質(またはでんぶんその他)と脂肪酸の重量比が 9 : 1 または 8 : 2 となるよう混合したもの[単純混合標品]と、グリアジンまたは SPI のアルコール水可溶性成分については、脂肪酸存在下で噴霧乾燥したもの[噴霧乾燥標品]<sup>5)</sup>を、粉末モデル系における試料として用いた。

### 保存条件

単純混合標品および噴霧乾燥標品は、少量ずつサンブルカップに分取し、水分活性(Aw)0.6~0.7または濃度の異なる硫酸で、低、中、高各水分活性に調整した<sup>6)</sup>恒温器の密閉容器内に放置した。実験期間中、ときどき開封して空気を入れ換え、一定間隔でサンプルを取り出し、ヘキサン抽出後(噴霧乾燥標品は事前に70%エタノールに溶解)、過酸化価の測定とガスクロマトグラフ分析に供した。

### 過酸化価

過酸化価は、上記ヘキサン抽出液について、ロダン鉄法によって求めた<sup>7)</sup>。

### ガスクロマトグラフィー

ヘキサン抽出液中のリノール酸残存量は、カラム系に DEGS+3% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/Chromosorb W を用いる脂肪酸直接注入法によって分析し<sup>7)</sup>、得られたチャートのピーク面積から内部標準に用いたパルミチン酸に対する相対比(L/P 比)として表わした。

## 結果と考察

Fig. 1 は、単純混合標品のリノール酸(含量10%)の酸化安定性を各たん白質について調べたものである。でんぶんと単に混合しただけのものでは、実験開始5日目と既に高い過酸化価を示していたのに対し、たん白質と混合したものでは、たん白質の種類によって異なるものの、多かれ少なかれ何らかの抗酸化性が認められた。就中、最も高い効果を示したのはグリアジンで、試験期間を通じて過酸化物の生成をほとんど抑えていた。一方、SPI や SPI のペプシン消化産物(SPI-P)の効果は、グリアジンに比べると劣るものの、でんぶんやカゼインより高く、SPI-P はもとの SPI より更に効果的となった。

Fig. 2 は、試験開始1週目の各試料中の残存リノール

酸量をガスクロマトグラフィーによって分析したチャートの一例である。グリアジンとの混合物からはリノール酸(保持時間15分目のピーク)がほとんど定量的に回収されたのに対し、でんぶんとの混合物からはわずかしこ回収されなかった。SPI や SPI-P との混合物中のリノール酸は、Fig. 1 の早い時期での過酸化物生成増加にみられるように、Aw=0.6~0.7の放置で若干の酸化的損傷をうけていることが確かめられた。

抗酸化性の発現の程度には、多くの場合、水分活性が深く関係する。Fig. 3. は、Fig. 1 の実験で顕著な抗酸化性を示したグリアジンの、各種水分活性で保存したときの効果を比較したものである。上段には試験期間中の過酸化価の変化を、下段には L/P 比の変化を示した。両パラメータの変化はよく対応している。水分活性が低いと、高水分活性のときより抗酸化効果が減少する傾向が認められた。その理由は、高水分活性のとき、脂肪酸微小油滴の周りにたん白質と水の皮膜が形成されたためではないかと考えられる。

Fig. 4 は、SPI とその処理製品について、粉末モデル系でのリノール酸の酸化安定性を検討したものである。グリアジンは高水分活性において強い抗酸化性を示した<sup>7)</sup>(Fig. 3)のに対し、SPI, SPT-5, アルコール水洗浄物はむしろ低水分活性下で効果を持続する傾向がみられた(Fig. 4-③, ⑤, ⑥)。一方、SPI の60%エタノール抽出物は、乾固の前に透析を行っても(Fig. 4-④)行わなくても(Fig. 4-⑥)低、中、高各水分活性で類似の効果を示し、60%エタノール抽出後の透析によって低分子性の“抗酸化物質”が除去されることもなかった。なお、この抽出操作によって得られた乾燥粉末の収量は、フジブロー R のおよそ1%であった。前述(Fig. 1)の実験結果に比べ、対照でんぶん中のリノール酸も酸化が進み難いようにみえるが(Fig. 4-⑦)、保存条件(40℃→37℃)やリノール酸 Lot. No. の違いが微妙に影響したものと思われる。また、リノール酸中に混在するトコフェロールの含量も、常より幾分か高かったかもしれない。

グリアジンと遊離脂肪酸は、ある濃度のアルコール水によく溶ける。その溶液から、すみやかに溶媒を蒸散させれば疎水基の集ったたん白質分子内部に脂肪酸に取り込まれた“マイクロカプセル”が形成され、たん白質皮膜に覆われた不飽和脂肪酸は、外部酸素との接触を妨げられ酸化安定性を増すと期待される。このことを確かめるため、グリアジン-リノール酸-パルミチン酸(90 : 7 : 3)から成る乾燥粉末を噴霧乾燥によって調製し、低水分活性でのリノール酸酸化安定性に対する改善効果の有無を検討した。Fig. 5 は、その結

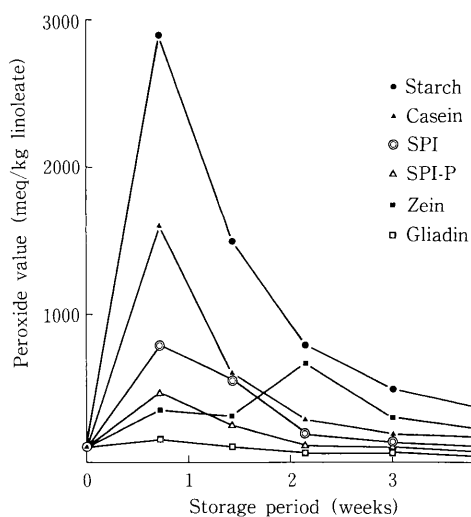


Fig. 1. Antioxidant effects of various food proteins in powder model systems ( $A_w=0.6\sim0.7$ ,  $40^\circ\text{C}$ ).

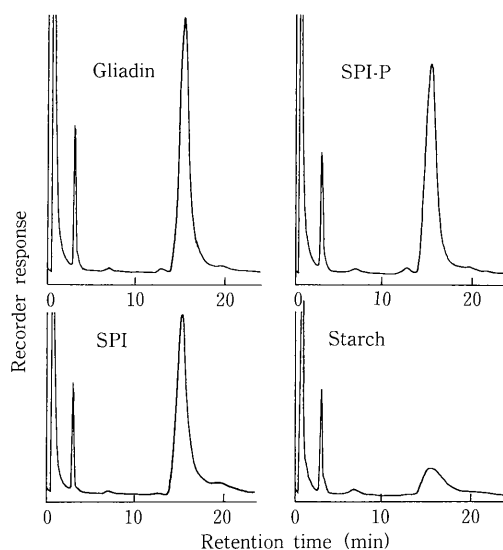


Fig. 2. Typical gas-chromatographic patterns regarding linoleic acid remaining in various samples one week after storage. The storage conditions were the same as in Fig. 1.

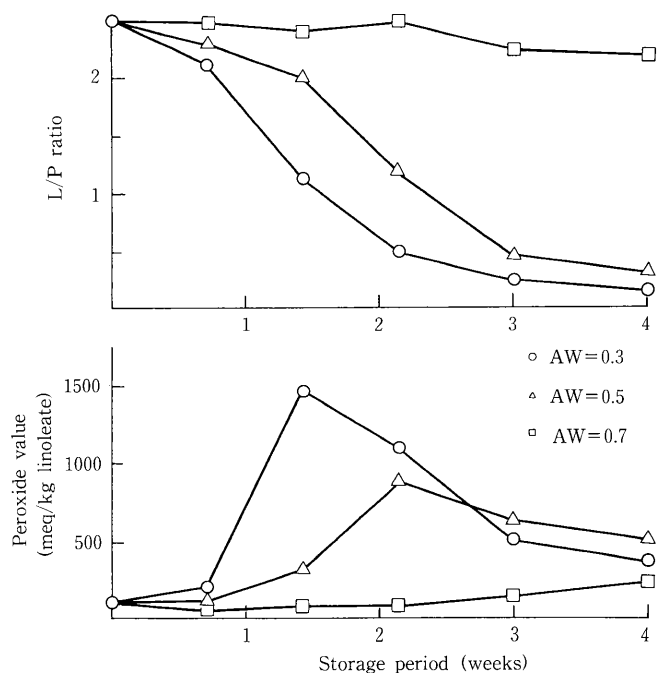


Fig. 3. Difference in antioxidant effect of gliadin at low, middle and high  $A_w$ s.

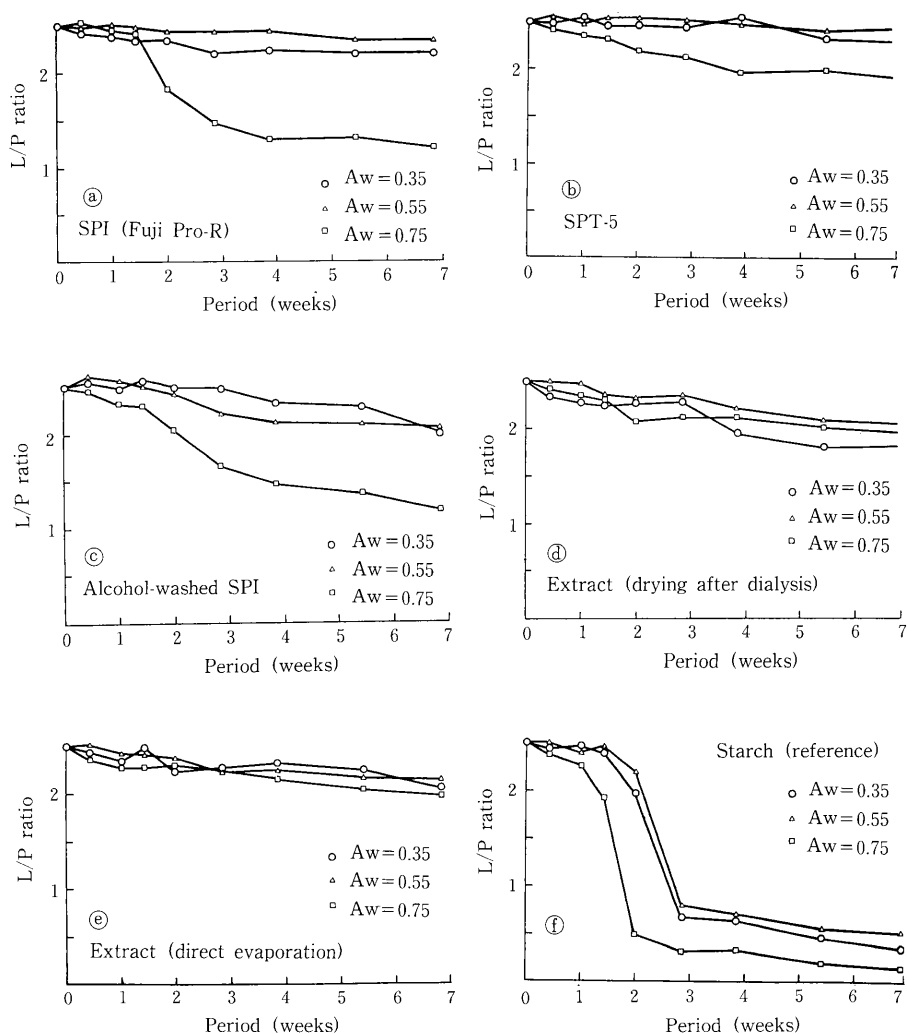


Fig. 4. Long-term preservability of linoleic acid SPI-based sample or its related ones at various  $A_w$ s.

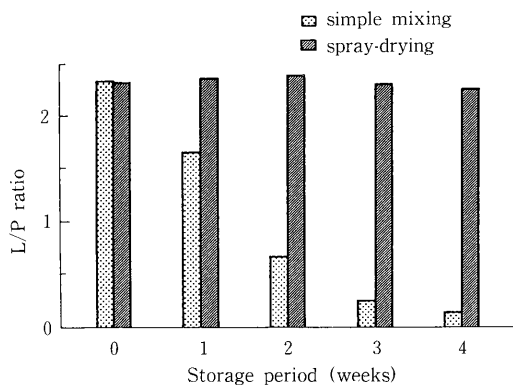


Fig. 5. Oxidative stability of linoleic acid in gliadin powders prepared by spray-drying. Either spray-dried powders or simple mixtures consisting of gliadin, linoleic acid and palmitic acid in the 40:7:3 ratio were allowed to stand at  $A_w = 0.3$  and  $40^\circ\text{C}$ , and at stated intervals, were assayed for their residual linoleic acid.

果をまとめたものである。“マイクロカプセル化”によってリノール酸は安定化され、試験期間中の  $L/P$  比もほぼ一定に維持された。また、この噴霧乾燥標品を走査型電子顕微鏡で調べてみると、グリアジン単独粉末ではみられない大小様々な球形粒子の存在が見出された<sup>5)</sup>。他方、単純混合標品中の脂肪酸がヘキサンを用いて90%以上抽出されたのに対し、噴霧乾燥標品中のそれは60%程度にとどまり、添加量の40%は抽出不能であった<sup>5)</sup>。このことにより、噴霧乾燥によって作られた“マイクロカプセル”中の脂肪酸は、たん白質皮膜によってしっかり包み込まれていると推察される。

次に、同じような原理に基づく SPI の60%エタノール抽出成分と不飽和脂肪酸(リノール酸)から成る“マイクロカプセル”の調製を試みた。噴霧乾燥によって得られた標品は、水分活性の異なる条件で保存実験を

行っているが、1 カ月を経過した今も、リノール酸酸化の兆しは認められない。

Table 1 には、SPI やその処理製品と脂肪酸および水のペーストから凍結乾燥によって、乾固、粉碎し、ヘキサンで洗浄したあと粉末粒子内に残存する脂肪酸量測定の結果を示した。脂肪酸のたん白質粉末粒子内への取り込み効率は、噴霧乾燥標品に劣るが、凍結乾燥法によっても“マイクロカプセル”を作ることができる。この場合、粉末粒子表面に吸着しただけの脂肪酸はヘキサン洗浄によって取り除かれているので、当然、長期間の保存に耐える。

Table 1. Attempt to embed unsaturated fatty acid in soy protein powder by freeze-drying

	Amount of linoleic acid embedded (mg/g on a dry weight basis)
SPI (Fuji Pro-R)	54.5
SPI, 60% ethanol-washed	46.0
SPI, 60% ethanol-extractable component	59.1
SPI, partially hydrolyzed (SPT-5)	84.2
Corn starch, as a reference	44.2

Soy protein-linoleic acid-palmitic acid (16:3:1) mixtures were kneaded together with water, followed by freeze-drying. Freeze-dried particles were ground into powder and rinsed in hexane to remove its surface-adhered fatty acid. Fatty acid was colorimetrically determined.

## 文 献

1) Ramesha, C. S., Paul, R., and Ganguly, J.(1980):

Effect of dietary unsaturated oils on the biosynthesis of cholesterol, and on biliary and fecal excretion of cholesterol and bile acids in rats. *J. Nutr.*, **110**, 2149-2158.

- 2) Toussant, M. J., Wilson, M. D., and Clarke, S. D. (1981): Coordinate suppression of liver acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthetase by polyunsaturated fat. *J. Nutr.*, **111**, 146-153.
- 3) Slater, T. F.(1979): Oxygen Free Radicals and Tissue Damage, Excerpta Medica, Amsterdam, pp. 143-159.
- 4) Doi, H., Iwami, K., Ibuki, F., and Kanamori, M. (1986): Effect of feeding peptic digest of soy protein isolate on rat serum cholesterol. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 373-379.
- 5) Iwami, K., Hattori, M., Yasumi, T., and Ibuki, F.(1987): Stability of gliadin-encapsulated unsaturated fatty acid. *J. Agric. Food Chem.*, in press.
- 6) Troller, J. A., and Christina, J. H. B.(1978): Water Activity and Food. Academic Press, New York.
- 7) Iwami, K., Hattori, M., and Ibuki, F.(1987): Prominent antioxidant effect of wheat gliadin on linoleate peroxidation in powder model systems at high water activity. *J. Agric. Food Chem.*, in press.