

## 機能性食品香気成分のマイクロカプセル化に関する研究

生物機能科学部門 食品分析学研究室

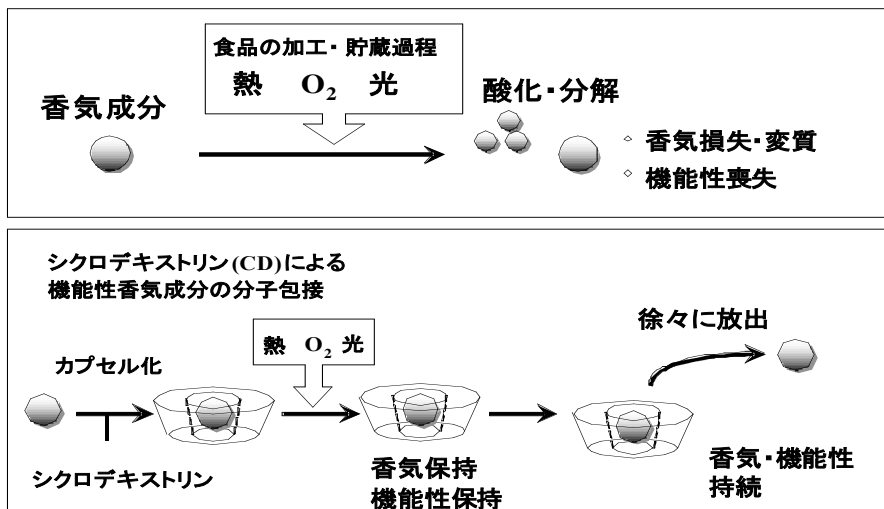
石川洋哉

### 【目的】

近年、食品の香気成分に種々の機能性が見い出されている。現在までに、香辛料、ハーブ類、ラズベリー、醤油、カンキツ果皮油等の香気成分が、抗菌活性、抗酸化活性、抗がん活性等の機能性を有することが報告されている。しかしながら、いずれの研究も機能性香気成分の検索とその同定にとどまっており、その利用法等に関する報告例は見当たらない。この原因は香気成分の利用効率の低さにあると考えられる。すなわち、香気成分は食品の加工・貯蔵過程における酸化、分解、あるいは食品包装容器への収着等の原因により極めて損失し易い状況にある。このような背景から、香気成分の機能性を保持させ、且つ安定な状態で供給可能な技術開発が急務となっている。

本研究では、加工、貯蔵過程における機能性香気成分の安定且つ効率的なデリバリーシステムの構築を目的として、シクロデキストリン (CD) による分子包接を試み、その包接挙動を解析するとともに、包接香気成分の安定性評価を行った。

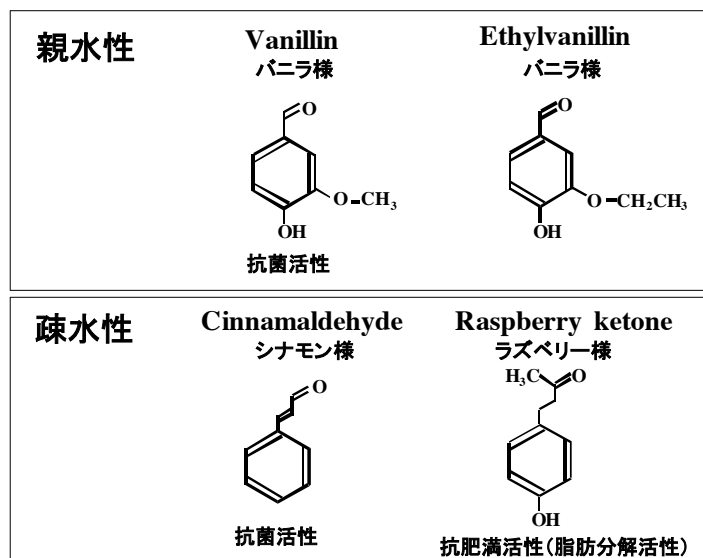
マイクロカプセル化による 機能性香気成分の効率的デリバリーシステムの構築



## 【試料及び実験方法】

モデル化合物として、親水性化合物 2 種（バニリン、エチルバニリン）及び疎水性化合物 2 種（シンナムアルデヒド、ラズベリーケトン）を用いた。

### 供試香気成分



また、CD として市販の $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -CD を用いた。

包接挙動の検討は、蛍光スペクトル測定により行った。すなわち、モデル香気成分を 0.4mM となるように溶解させた水溶液に対して、1.25 - 40 mM の濃度で調製した各 CD 溶液を等量添加し、ボルテックミキサーで 1 分攪拌後、励起波長 360nm、蛍光波長 400~450nm で蛍光スペクトル測定を行った。コントロール（CD 無添加）に対する CD 添加溶液の蛍光強度の増加により包接挙動の検討を行った。

## 【結果及び考察】

まず、CD によるバニリンの包接挙動を詳細に検討した。図 1 に $\alpha$ -CD によりバニリンを包接した場合の蛍光スペクトルの変化を示した。図に示したように、 $\alpha$ -CD 添加濃度の増加に伴い蛍光強度の顕著な増加傾向が認められたことから、バニリンの CD による包接挙動を蛍光スペクトルにより評価可能であることが示された。次に、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -CD を用いた場合のバニリン包接挙動を比較した。図 2 は、各 CD を用いてバニリンを包接した場合の 412 nm における蛍光強度の変化挙動を示している。いずれの CD を用いた場合にも蛍光強度の増加は認められたが、その増加量は $\gamma$ -< $\beta$ -< $\alpha$ -CD となり、バニリン包接の場合は環が小さいほど蛍光強度が増加しやすいことが明らかになった。

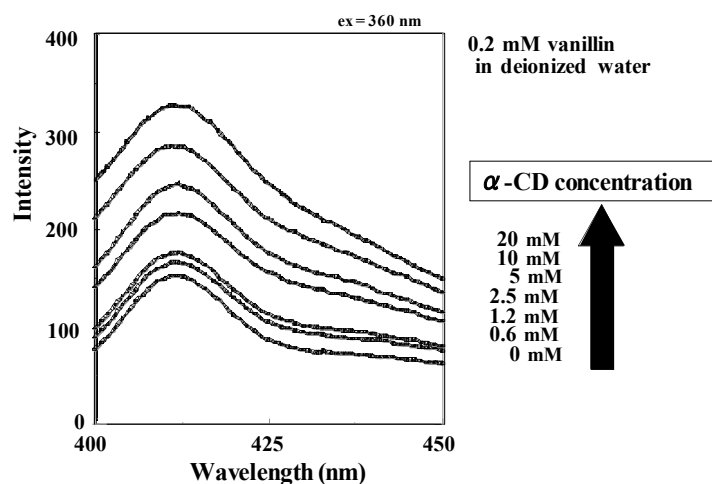


図1  $\alpha$ -CDによるバニリン蛍光スペクトルの変化挙動

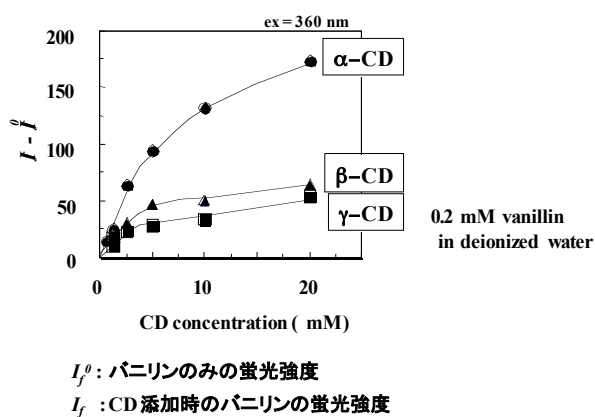
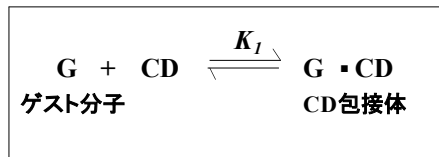


図2  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CDによるバニリン蛍光強度の変化挙動

続いて、得られたデータを元に各CDに対するバニリンの結合定数の算出を行った。本実験では、Benesi-Hildebrand plot (BH plot) による結合定数の算出を試みた。ゲスト分子とCDが1:1の包接化合物を形成する場合、下記の式が成り立つことが報告されている。BH plotではCDの初濃度の逆数に対して、蛍光強度の変化量の逆数をプロットすることにより近似直線が得られ、得られた直線のy切片を傾きで割ることによってCDに対する各化合物の結合定数(K)を簡便に見積もることが出来る。

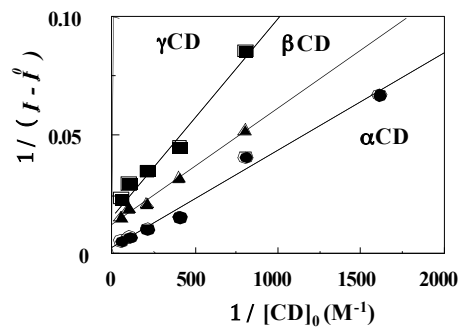


**Benesi-Hildebrand 式**

$$\frac{1}{I_f - I_f^0} = \frac{1}{a[G]_0} + \frac{1}{a[G]_0 K_I} \cdot \frac{1}{[CD]_0}$$

- $K_I$  : 結合定数
- $I_f^0$  : ゲスト分子のみの蛍光強度
- $I_f$  : CD添加時のゲスト分子の蛍光強度
- $[G]_0$  : ゲスト分子の初濃度
- $[CD]_0$  : CDの初濃度
- a : 定数

そこで、上述のバニリンの包接データをもとに BH plot を行った (図 3)。その結果  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -CD いずれの場合にも良好な直線関係が得られたことから、次に得られた直線の y 切片を傾きで除することによりバニリンの  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -CD に対する結合定数 (K) を算出した (表 1)。なお、同様の測定をエチルバニリンに対して行い、得られた結果より K 値を求め表 1 に併せて示した。



$$K_I = (\text{y-intercept}) / (\text{slope})$$

**図3 Benesi-Hildebrand Plot**

表1 結合定数の算出

Vanillin	y-intercept	slope	r	$K_I$ ( $M^{-1}$ )
$\alpha$ -CD	$3.0 \times 10^{-3}$	$4.1 \times 10^{-5}$	0.993	$0.73 \times 10^2$
$\beta$ -CD	$1.3 \times 10^{-2}$	$4.9 \times 10^{-5}$	0.996	$2.7 \times 10^2$
$\gamma$ -CD	$1.7 \times 10^{-2}$	$8.4 \times 10^{-5}$	0.989	$2.0 \times 10^2$
Ethylvanillin	y-intercept	slope	r	$K_I$ ( $M^{-1}$ )
$\alpha$ -CD	$9.8 \times 10^{-4}$	$8.5 \times 10^{-5}$	0.990	$0.16 \times 10^2$
$\beta$ -CD	$3.1 \times 10^{-3}$	$5.3 \times 10^{-5}$	0.956	$0.59 \times 10^2$
$\gamma$ -CD	$5.4 \times 10^{-3}$	$1.2 \times 10^{-4}$	0.977	$0.44 \times 10^2$

K 値を見積もった結果、バニリン、エチルバニリンの K 値はいずれも  $\alpha < \gamma < \beta$ -CD となり、いずれの場合も  $\beta$ -CD による包接が最も有効であることが示された。また、蛍光強度の増加量は  $\alpha$ -CD で最も大きかったものの、K 値は最も小さい結果となったことから、CD に対する包接挙動の検討には単に蛍光強度の増減を観察するだけでは不十分であることが明らかになった。さらに、バニリンとエチルバニリンの K 値を比較するといずれの CD の場合もエチルバニリンの K 値が低い結果となり、OH 基の隣の官能基の鎖長延長は CD との結合性を著しく阻害することが明らかになった。バニリンが OH 基側から包接されることを考慮すると、エチルバニリンが CD 内部に取り込まれる際にエトキシ基が障害になるものと考えられた。

続いて、CD に包接されたバニリンの貯蔵安定性を検討した。図 4 は、20°C で貯蔵した場合の包接・未包接バニリンの残存率を示している。図に示したように、各 CD 間で差は認められなかったが、いずれの CD を用いた場合にも包接による明らかな安定性の改善効果が認められた。

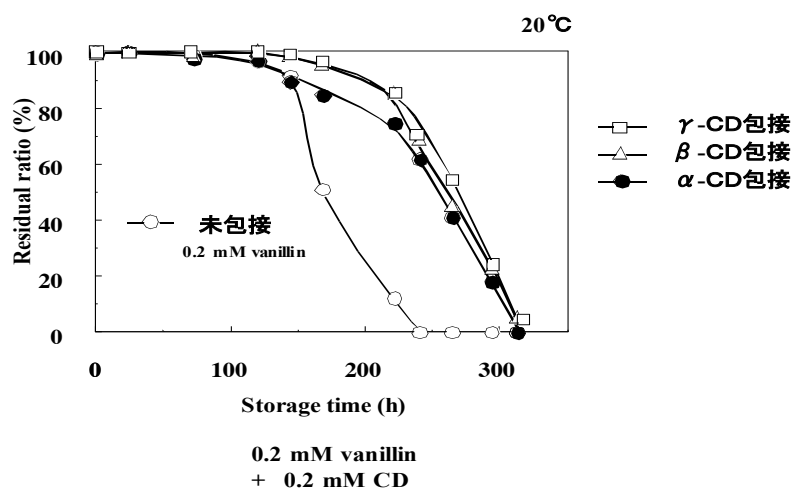


図4 バニリンの貯蔵安定性に及ぼす CD の包接効果

次に、疎水性化合物であるシナムアルデヒドの包接効果を検討した。先ほどと同様に、CD濃度を変えて蛍光スペクトル測定を行い、得られたデータをもとにBH plotを行った結果を図5に示した。その結果、バニリンの場合とは異なる挙動が得られた。すなわち、シナムアルデヒドの場合、 $\alpha$ 、 $\beta$ -CDでは5mM、 $\gamma$ -CDでは2.5mMを境に包接挙動が異なり、いずれの場合もプロットが異なる2本の直線により構成されることが判明した。この結果より、CDが低濃度域でシナムアルデヒド：CD=1：1の包接体を、高濃度域では1：2の包接体を形成示唆された。

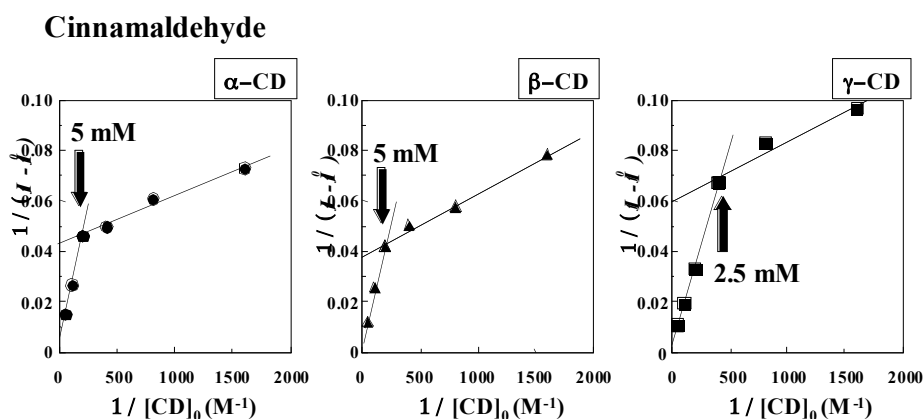
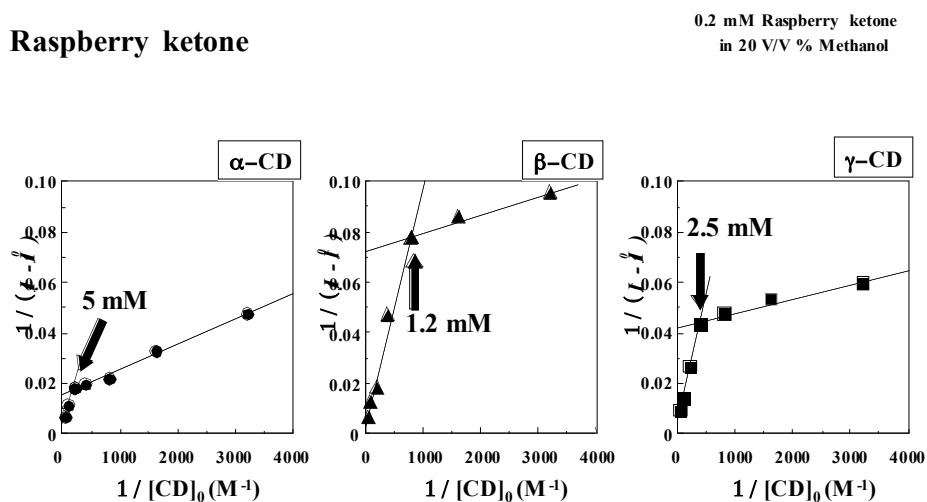


図5 Benesi-Hildebrand Plot

同様の挙動が、ラズベリーケトンの場合も得られた (図 6)。シナムアルデヒドの場合と比較すると直線の交点がより低濃度側で認められた。この結果は、ラズベリーケトンの CD に対する結合性の高さに起因するものと考えられた。



Benesi-Hildebrand Plot

シンナムアルデヒド及びラズベリーケトンのCDに対するK値を表2にまとめて示した。表から明らかなように、1:1包接体と1:2包接体のK値を比較すると、いずれの場合も、1:1包接体のK値が2オーダー高い結果となった。1:1包接体では、疎水性の高いベンゼン環が、CD内部に包接されるために結合定数が大きくなるものと考えられた。

表2 結合定数の算出

Cinnamaldehyde			20 V/V % Methanol		
	Gest : CD	y-intercept	slope	r	$K_f$ (M <sup>-1</sup> )
$\alpha$ -CD	1 : 1	$4.3 \times 10^{-2}$	$1.9 \times 10^{-5}$	0.989	$2.2 \times 10^3$
	1 : 2	$5.7 \times 10^{-3}$	$2.0 \times 10^{-4}$	0.999	$2.8 \times 10^1$
$\beta$ -CD	1 : 1	$3.9 \times 10^{-2}$	$2.5 \times 10^{-5}$	0.996	$1.5 \times 10^3$
	1 : 2	$3.7 \times 10^{-3}$	$2.0 \times 10^{-4}$	0.990	$\times 10^1$
$\gamma$ -CD	1 : 1	$6.1 \times 10^{-2}$	$2.4 \times 10^{-5}$	0.972	$2.6 \times 10^3$
	1 : 2	$2.8 \times 10^{-3}$	$1.6 \times 10^{-4}$	0.999	$1.8 \times 10^1$

Raspberry ketone					
	Gest : CD	y-intercept	slope	r	$K_f$ (M <sup>-1</sup> )
$\alpha$ -CD	1 : 1	$1.6 \times 10^{-2}$	$1.0 \times 10^{-5}$	0.999	$1.6 \times 10^3$
	1 : 2	$3.1 \times 10^{-3}$	$7.7 \times 10^{-5}$	0.996	$4.1 \times 10^1$
$\beta$ -CD	1 : 1	$7.3 \times 10^{-2}$	$7.2 \times 10^{-6}$	0.985	$10.1 \times 10^3$
	1 : 2	$2.6 \times 10^{-3}$	$9.7 \times 10^{-5}$	0.992	$2.7 \times 10^1$
$\gamma$ -CD	1 : 1	$4.3 \times 10^{-2}$	$5.7 \times 10^{-6}$	0.979	$7.6 \times 10^3$
	1 : 2	$5.1 \times 10^{-3}$	$9.9 \times 10^{-5}$	0.995	$5.8 \times 10^1$

## 【まとめ】

本プロジェクト研究により以下の成果を得た。

- 1) 蛍光スペクトル測定により得られたデータをもとにBH plotを行うことによって、モデル親水性香気成分及び疎水性香気成分のCDに対する結合定数を見積もることが出来た。
- 2) CD包接により、バニリンの貯蔵安定性改善効果が得られた。
- 3) シンナムアルデヒド及びラズベリーケトンの包接では、CDの低濃度域で guest : CD=1 : 1 の、高度域では 1 : 2 の包接体を形成することを明らかにするとともに、それぞれの結合定数を評価し得た。

## 【謝辞】

本研究は、九州大学大学院農学研究院若手助手支援プロジェクトの支援のもと行ったものである。