

| | | | |
|---------|---------------------------------------|--------|--------|
| 氏名(本籍) | 王 | 政 | (中 国) |
| 学位の種類 | 博士(農学) | | |
| 学位記番号 | 博甲第6497号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成25年3月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | 抗酸化食品素材の微細加工と <i>in vitro</i> 消化特性の解明 | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 工学博士 | 中嶋光敏 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 藤村達人 |
| 副査 | 筑波大学教授(連携大学院) | 博士(農学) | 五十部誠一郎 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士(工学) | 市川創作 |

論文の内容の要旨

近年、カロテノイド等植物由来の抗酸化性を有する食事成分が健康の維持、増進、疾病の化学予防因子として注目されるようになった。多くの食用カロテノイドは疎水性が極めて高く水系に分散しにくいいため、現状としては、生体利用率が極めて低い(<2%)ことが報告されている。

上記脂溶性機能性物質の生体利用率を向上させることを目的として、本研究では、乳化の手法を注目し、カロテノイドのマイクロ・ナノ分散系を調製し、機能性物質の水系への分散性および生体利用率の向上を試みた。マイクロ・ナノ分散系の評価にあたっては、粒子径の測定が重要なパラメーターとなる。しかしながら、同一のサンプルに対して、測定原理の異なる粒度分布計による測定結果が一致しないことが指摘されていた。そこで、本研究では、まず、標準粒子やエマルション粒子を用いて、レーザー回折散乱法および動的光散乱法に基づく粒度分布の計測と画像解析法の1つであるナノギャップ法による解析を行うこととした。また、動物実験用試料の調製では、調製したエマルション試料を餌と混合する際、分散系が壊れやすく、より安定なエマルション分散系の調製が必要と考え、エマルションゲル分散系の調製法について検討することとした。すなわち、本研究では、抗酸化食品素材の微細加工技術の開発と得られた分散系の *in vitro* 消化特性の解明を図る目的として、標準粒子およびエマルション粒子を用いた各粒度分布計の特性評価を行い、次に、脂溶性機能性食品成分のモデル物質として、 β -カロテンを用い、高圧乳化等により微細化させ、 β -カロテン内包する水中油滴型(O/W)エマルションおよびエマルションゲル分散系の調製および特性評価を試みた。また、調製したサンプルを評価するため、主に、消化酵素の添加により胃腸の消化環境を模倣する *in vitro* 胃腸消化モデルを用いて、 β -カロテン内包するO/W型エマルションとエマルションゲル分散系について消化吸収に関する特性評価を行った。

各粒度分布計の測定特性についての結果では、ポリスチレン標準粒子に対して、すべての装置による結果は妥当であると考えられた。シリカ標準粒子に対して、動的光散乱法による Zetasizer nano ZS とレーザー回折散乱粒度分布測定装置 LS 13 320 の方が優れている。Zetasizer nano ZS と LS 13 320 では、混合標準粒子の組合せによる分画測定ができることが示された。高圧乳化で 10 MPa、1 回処理によるエマルションサンプルでは、ナノギャップ法と LS 13 320 による測定結果が近いことがわかった。エマルションサンプルについ

では、LS 13 320 による測定がもっとも適切であると判定した。

次に、高圧乳化法を用いて、 β -カロテンを内包するエマルジョン分散系の調製法について検討を行った。 β -カロテンを大豆油に溶解させ、分散相とし、食用乳化剤であるポリグリセリン脂肪酸エステルの水溶液 (ML310、ML500、ML750) を連続相として用い、5000 rpm、5 min の予備乳化後、10 - 100 MPa の高圧乳化により、粒子径が 200 nm ~ 30 μ m までの β -カロテン内包するエマルジョン分散系の調製ができた。それぞれのサンプルの調製に対して検討した結果、各乳化剤によるエマルジョンの粒度分布は大きな差が見られなかった。エマルジョン分散系の粒子径が圧力や乳化剤の濃度に強く依存し、分散相と連続相の割合にもエマルジョン分散系の粒子径に影響を与えることがわかった。

動物実験用試料に安定なエマルジョン分散系を調製するため、エマルジョンゲル分散系の調製法を検討した。まず高圧乳化により 400 nm - 26 μ m 前後のエマルジョン分散系を調製し、その後、作製されたエマルジョンを 60°C で、1.5 wt% 寒天水溶液と混合することで、エマルジョン寒天ゾルを得た。さらに、5°C で、1 時間放置させ、エマルジョン寒天ゲルを得た。得られたエマルジョン寒天ゲルのゲル強度は、用いる乳化剤の重合度の増大につれて増大した。また、平均粒子径は 700 nm より小さい場合、ゲル強度が大いに变化した。平均粒子径の小さい場合に、より高いゲル強度が得られた。

上記で調製したエマルジョンおよびエマルジョンゲル分散系を *in vitro* 胃腸消化モデルを用いて、消化吸収特性を評価した結果、各乳化剤によるエマルジョンゲルからリリースしたエマルジョンの粒度分布変化は乳化剤の種類に依存した。各乳化剤により安定したエマルジョンは負電荷を示した。消化処理後、胃と腸の各ステップにおいて、 ζ -ポテンシャルの絶対値増大が見られたが、乳化剤の種類の影響が見られなかった。また、それぞれの乳化剤による安定したエマルジョンからの遊離脂肪酸 (FFA) 放出量はエマルジョンゲルよりほぼ 2 倍多いことがわかった。摂食において、脂溶性のカロテノイドを含む栄養成分では、混合ミセルの形で小腸の上皮細胞を通過し吸収されることが知られている。混合ミセルへの β -カロテン取込率が吸収率に大きく関与すると考えられる。ミセルへの β -カロテン取込率について検討した結果、ほとんど水に溶かさず、吸収しない β -カロテンが、ミセルへの取込率を予備乳化のみによる 26 μ m 分散系の 2% 程度に対して、高圧乳化による 400 nm 前後微細化させることで、ミセルへの取込率を 10% 程度に上げることができた。また、ミセルへの β -カロテン取込率が乳化剤の重合度と粒子径のサイズに依存することがわかった。ゲル化操作に関係なく最終的にミセルへの β -カロテン取込率がほぼ同じ値であった。

以上、本研究は、抗酸化物質 β -カロテンの利用率の向上と動物実験用の新たなサンプルの調製を目的として進めた。標準粒子等を用い、粒度分布計の精密測定を行い、ナノギャップ法との比較により、レーザー回折散乱法による LS 13 320 がエマルジョン測定に最も適切であることを示した。高圧乳化法を用いて、 β -カロテンを内包するエマルジョンやエマルジョンゲル分散系の調製法を開発した。*in vitro* 胃腸消化モデルを用いて、エマルジョンやエマルジョンゲルの消化特性を解析したところ、ゲル化により、FFA の放出遅延効果が認められた。また β -カロテンをナノスケール化することで、ミセルへの取込率を 10% 程度に上げることが可能となった。 β -カロテンのミセルへの取込率に対して、エマルジョンとエマルジョンゲルの場合の違いは認められなかった。これらの開発した技術は、機能性成分の微細分散化の中心的な技術として、今後のスローフード等の開発や新たな機能性食品の開発に応用できると期待される。

審査の結果の要旨

本論文は、抗酸化脂溶性機能性物質である β -カロテンの生体利用率の向上と動物実験用の新たなサンプルの調製を目的とし、乳化による微細分散系の製造に着目した研究である。まず、市販粒度分布計によるナノスケールでの測定結果の信頼性に問題があったため、標準粒子等を用い、本研究で対象としている系に最

も適した測定法を明らかにした。次にβ-カロテン内包するエマルジョンおよびエマルジョンゲル分散系の調製法を開発し、従来水に溶けず、吸収されないβ-カロテンをミセルへの取込率を10%程度に上げることに成功した。またエマルジョンゲルは、動物実験用に適切であると評価された。ゲル化することにより脂質消化に遅延効果が認められたが、最終的なミセルへのβ-カロテン取込率には影響しない結果が得られた。以上、本研究において開発された技術は他の機能性物質等への適用も期待され、新たな機能性食品ならびにスローフードの開発に応用できる意義あるものである。

平成25年1月24日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。