

(論文題目) Studies on structural characteristics of aggregated casein clusters and their roles in encapsulation systems

(和文題目: カゼイン凝集クラスターの構造的特性とその物質包含系としての役割に関する研究)

(申請者) Jarunglumlert Teeraya

1. 論文内容の要旨

本論文はカゼインナトリウムから作製したカゼイン凝集クラスターの特性と、そのナノ・マイクロ構造に関する研究がまとめられている。カゼインナトリウムは、酸分画した乳タンパク質の不溶画分をアルカリ溶液によって可溶化して得られる。カゼインは優れた界面物性、熱安定性、生分解性などを有し、かつ食品としての安全性が認められている。カゼインは機能性の賦与が容易と考えられることから、マイクロカプセルの殻物質としての利用や、ドラッグデリバリーシステムなどへの応用が期待されており、食品科学的な観点から食品機能の賦与を目指す研究報告が多い。しかし、生産方法と品質（食品機能）とを結びつける工学的な研究は未だ途上段階にあるため、今回の論文はこれに取り組む研究と位置づけている。

本研究では、カゼインナトリウム溶液の pH を酸性側に調整した時に形成するカゼイン凝集クラスターを、脂溶性物質の送達キャリアとして利用する検討を報告している。水に溶解度の低い脂溶性物質は、共存する加溶タンパク質との疎水性相互作用によって安定化（加溶化）させることができる。ここからタンパク質凝集クラスターを形成させれば、脂溶性物質を非常に簡易にカプセル化させることができ、特に脂溶性物質の送達キャリアとして利用できることが期待できる。本論文は以下詳細を示す四つの章より構成されている。

第 1 章においては、カプセル化技術に関する概論、カゼインナトリウムの特性、カゼインナトリウムを利用したカプセル化技術、小角 X 線散乱測定（本論文における主要な分析手法）に関する先行研究をまとめている。

第 2 章では、カゼインナトリウム溶液の pH を調整して得たカゼイン凝集クラスターを、カゼインクラスターの様相、マイクロ構造、pH に依存した ζポテンシャルという観点から分析している。また、このクラスターに βカロテンをカプセル化させ、噴霧乾燥によって得た粉末内部への βカロテンのカプセル化効率を調べている。pH を 5.5 に調整して得たクラスターは、凝集度は高いものの乾燥

後のβカロテンが粉末の表層に集まる傾向を見出し、pHを6.0に調整して得たクラスターから作製した粉末はβカロテンの内部包含率が高く、表層のβカロテン量を低減できることを見出している。この結果は、貯蔵時のβカロテンの保持に有利であると実験的に示している。

第3章ではカゼインナトリウム溶液のpHを調整して得たカゼイン凝集クラスターを、液中においてエージングさせ、そこから作製した噴霧乾燥試料の評価を実施している。興味深い結果として、pHを6.0に調整して得たクラスターをエージングさせた場合、ここから作製した粉末はβカロテンの内部包含率がより高くなり、表層のβカロテン量がその分だけ減じることを見出している。これはエージング過程におけるカゼインクラスターの凝集構造が変化するためという結論を、小角X線散乱測定を用いた詳細なナノ、マイクロ構造分析から得ている。

第4章ではカゼイン凝集クラスターの作製条件、噴霧乾燥条件が再水和後のクラスター構造に与える影響を検討している。特に再水和した試料を模擬消化環境に置き、消化反応速度と消化反応過程におけるクラスターの構造変化を小角X線散乱測定により分析している。乾燥時に高温に暴露されたカゼインは熱変性によって疎水度が増加し、カプセル化効率や消化酵素との反応性にも影響を与えると考察している。ここで示された検討結果によれば、噴霧乾燥条件の違いによるタンパク質変性度の変化は、カプセル化効率や消化酵素との反応速度へはほとんど影響を与えない反面、消化過程のナノ、マイクロ構造の変化に顕著な差を見出している。消化初期のクラスターは分解生成物がさらに凝集し、より大きなクラスターを形成する。その後、消化反応に伴って密度の低いクラスターへと変化していくが、フラクタル構造とクラスターサイズは保持しながら消化反応が進行することを示している。ここで試料の変性度の違いは、消化過程におけるクラスターサイズの拡大に影響を与えることを明らかにしている。これらの成果は、カゼイン凝集クラスターに格納された脂溶性物質を消化環境下において送達するために重要な基礎的知見であり、作製試料の特性に与える作製条件の影響を定量的に示したデータであると結論づけている。

第5章は総括である。

2. 論文審査結果の要旨

本論文はカゼインナトリウムから作製したカゼイン凝集クラスターの特性と、そのナノ・マイクロ構造に関する研究をまとめたものである。食品用のマイクロカプセル製造は、近年特に食品機能の賦与を目指した高度な技術として注目されているが、生産方法と品質（食品機能）とを結びつける工学的な研究は未だ途上段階にある。本研究ではカゼイン凝集クラスターを題材に、脂溶性物質の送達キャリアとし

て利用するための基礎的な検討が実施されている。

カゼインナトリウム溶液の pH を調整して得たカゼイン凝集クラスターに β カロテンをカプセル化させ、噴霧乾燥によって得た粉末内部への β カロテンのカプセル化効率を調べている。主として pH に依存して β カロテンの内部包含率や表層包含率が決定し、貯蔵時の β カロテンの保持に影響を与えることを実験的に示しているが、エージングという新しい工程を導入することで特定の pH 条件において作製したクラスターはこの内部包含率を向上させることができることを見出していることは極めて意義が深い。また、小角 X 線散乱測定を用いた詳細なナノ、マイクロ構造分析によって、エージング過程におけるカゼインクラスターの凝集構造の変化を確認した試みも、大きな学術成果が得られていると言える。

カゼイン凝集クラスターの作製条件、噴霧乾燥条件が再水和後のクラスター構造に与える影響、さらに再水和した試料の模擬消化環境におけるクラスター構造変化についても、小角 X 線散乱測定による詳細な分析が行われている。これらは噴霧乾燥条件といったプロセスの操作条件と機能と結びつく構造（カプセル化効率や消化酵素との反応性）とを結びつける新しい試みである。ここで得られた成果は、カゼイン凝集クラスターに格納された脂溶性物質が消化環境下においてどのようにプロテクトされ、どのように放出されるかを予測するために重要な基礎的知見であり、作製試料の特性に与える作製条件の影響を定量的に示した工学的に重要なデータであると判断できる。

上記の成果は、タンパク質をベースとしたナノ・マイクロカプセルの作製及び設計のために不可欠な物理化学的事象を明らかにし、工学上重要な知見を提供している。これらの知見は、機能性に富む食品を工業的に生産する上で大きく貢献するものと期待できる。本研究の公表状況は、学術論文として 5 報（掲載決定済みは 4 報）、2 件の国際会議における発表がされており、国内外の学会でも高く評価されている。よって本論文は博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 27 年 7 月 23 日、論文内容およびそれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

平成 27 年 8 月 19 日

主査 教授 前田 光治 印

副査 教授 鈴木 道隆 印

副査 教授 山本 拓司 印

副査 京都大学農学部 准教授 中川 究也 印