

報告番号	甲 第 12279 号
------	-------------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 **Extraction and nanoparticle preparation of natural materials by using supercritical carbon dioxide**
(超臨界二酸化炭素を利用した天然物の抽出ならびにナノ粒子調製)

氏 名 上森 千穂

論 文 内 容 の 要 旨

近年、食品や薬品の分野においてその安全性が重視されている。天然物中の成分には人体に有効なものが多種存在する。それらを食品などに加工する場合、生産課程やその手法も人体に有害な有機溶媒等を使用せず、なるべく自然な状態を保持し安全な製品を生産することが求められている。

本研究では、グリーン溶媒である二酸化炭素を用いて超臨界二酸化炭素を溶媒とした様々な技術を開発した。超臨界二酸化炭素は臨界温度が 31.1℃であるため低温で処理が可能である。これは食品や医薬品などの成分の熱変性を受けやすい物質の処理に適している。そのため様々な天然物からの有効成分の抽出や分離に適していると考えられる。

超臨界二酸化炭素は通常では不活性な物質である。さらに無味、無臭であることが特徴である。無極性に近く、ヘキサンなどの有機溶媒に似た特性を持つ。さらに常温、常圧で気体であるため、分離が容易であり、温度と圧力を変化させることで密度を変化させ、溶解力を制御することが可能である。超臨界二酸化炭素は極性の小さな脂溶性物質に対する溶解度が極めて大きい。一方、極性物質や無機塩、タンパク質や糖はほとんど溶解しない。そこでこれらの溶解度の低い物質を処理する場合は水やエタノールがエントレナーとして用いられている。抽出に用いた場合は高圧力で抽出した後、低圧力に戻すことで溶媒が気体となって抽出物より容易に分離する。そのため溶媒としての安全性が大変高い。

超臨界二酸化炭素を用いた技術では微粒子製造も可能である。方法としては急速膨張法、貧

溶媒法などがある。温度と圧力を変化させることで、超臨界流体の溶解度差、つまり過飽和度を制御し核化・結晶成長を進め微粒子化がおこる。本研究では超臨界二酸化炭素の利用法と様々な有用性を検討した。

本論文は全6章で構成される。

第1章では、多用されている超臨界二酸化炭素のよる抽出操作の概要を記した。

第2章では、超臨界二酸化炭素を用いて、パラダイス種子からの抽出、分離実験について調べた。パラダイス種子は主に、スパイスとして使用されている。他にもパラダイス種子は薬理効果として主に人体の膝腫瘍の成長を防止する作用があることや抗癌効果もわかっており、注目されている。今回は温度と圧力を様々な組み合わせにて実験を試みた。結果として、重要なパラメーターが超臨界二酸化炭素の密度であることが明らかとなった。抽出温度または圧力を変化させることは成分を選択的に分離する際に大変有効であると言える。

実験手順としては、まず原料を粉碎しふるいにかけて粒径を整えた。抽出器に原料を仕込み、その底と上部にガラスビーズを設置した。抽出器を恒温槽に設置し温度を調節し、ポンプにて二酸化炭素を送液した。圧力は背圧弁にて制御した。実験条件として温度は40℃から80℃、圧力は20MPaから40MPaで行った。

分析は、GC-MS及びFT-IRで行った。機能性成分である paradols が検出された。さらに、高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いて分析を行った。結果、gingerols, shogaols そして paradols が良好な精度で検出された。さらに走査型電子顕微鏡 (SEM) にて処理後の種子表面を観察した。

この研究ではパラダイス種子に含まれる、高い薬理効果を持つ成分は超臨界二酸化炭素を用いて良質な状態で抽出が可能であることを証明した。

第3章では超臨界二酸化炭素を用いての微粒子化実験を行った。原料はリコピンを用いた。リコピンは、強力な抗酸化活性があり、その抗動脈硬化作用ならびに抗癌作用のために注目を集めている。さらに微粒子化することによりその効果が高まることがわかっている。本研究ではその特性を壊すことなく、分離し効率的に微粒子化することを目指した。リコピンは自然界ではすべてトランス体として存在している。これまでの微粒子化研究ではトランス体を保持したまま高純度で微粒子を得ることが困難であった。本研究では様々な視点から形状変化を調査することを目的に、原料としてトランス体リコピン、シス異性化リコピンおよび濾過処理のみのリコピンにて行った。原材料はすべて0.1ml/mgの濃度で酢酸エチルに溶解した。

実験手法としては、超臨界二酸化炭素を利用した貧溶媒晶析法 (SAS) の応用法である SEDS 法を用いた。このプロセスの特徴は、圧力変化のみで貧溶媒である超臨界二酸化炭素を完全に除去でき製造工程の簡略化が可能であることである。もう1点の特徴としては、超臨界二酸化炭素と溶液を同軸ノズルによって噴霧することである。リコピンは、粉碎や化学物質による製造法のような従来法では成分が劣化するという懸念がある。摩擦熱や酸素接触によって分解される恐れある。この研究では超臨界二酸化炭素の溶液分散によるリコピンの粒子生成と、トランス体微粒子リコピン生成に及ぼすシス異性体リコピン含量の影響を評価した。

原料の調整法としては、トマト含有レジンベンゼンに超音波攪拌にて溶解させた。次に不要物をロートで吸引濾過し残留物をベンゼンですすいだ。得られた赤色固体を超音波処理しアセトンに溶解させ、不要物を吸引濾過により除去した。残渣をアセトン、エタノール、およびヘキサンですすぎ、減圧乾燥により純度 98.0%以上のトランス体リコピンを得た。シス異性体リコピンは前記した精製トランス体リコピンを熱異性化及び濾過技術により得て原料とした。

実験手順として、温度 40℃、圧力 10MPa に達するまで二酸化炭素を流した。そこに酢酸エチル中のリコピン溶液をポンプにて送液した。その後リコピン溶液の送液を停止し二酸化炭素のみを流し、残留溶媒を除去した。最後に減圧後リコピン粒子をメンブレンフィルターより回収した。

測定は走査型電子顕微鏡 (SEM) 及び XRD 測定にて粒径、形状及び表面特性を観察した。

実験結果として原料中のシス異性体含量が増加するにつれて、得られたリコピン粒子径が小さくなることが明らかとなった。さらにその性質は安定なトランス体であった。したがって、リコピンはシス異性化前処理を行い、さらに SEDS 技術を用いることが、良質で安定した微粒子を得るのに非常に有効であることを示した。

第 4 章では、第 3 章で調査した微粒子化についての技術として超臨界貧溶媒法 (SAS 法) にてアセトアミノフェンの微粒子化実験を行った。アセトアミノフェンは世界で広く使われている医薬品である。主に鎮痛医薬品として用いられている。そのためさらにその効果を向上させるために粒子の微粒子化が求められている。しかし従来法では熱変性や有機溶媒残留など問題点が多い。

実験方法としてはまず、アセトアミノフェン粉末をジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し溶液とした。SAS 法により、反応場に投入する際は二重管ノズルを使用するが、本研究ではマイクロスワールミキサーを使用し旋回流により回転渦を発生させることを利用して二酸化炭素が効率的に溶液と接触することを目指した。

分析は UV-vis 分光光度法および GC-MS (ガスクロマトグラフ質量分析) を行った。結果として処理後のアセトアミノフェン粒子中に DMF 溶媒が残存していないことを示した。これは、二酸化炭素がアセトアミノフェン粒子製品から DMF を首尾よく除去したことを示している。さらに走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像からの結果では、アセトアミノフェン粒子生成物が、1 μ m 未満のサイズを有する非球形形状で良好に調製されたことを示した。これらの結果に基づいて、このプロセスは、アセトアミノフェン粉末を微粒子製造する有効な方法であると証明した。マイクロスワールミキサーを用いることで大幅に装置を小型化でき大変有効であった。

第 5 章では超臨界二酸化炭素を用いた応用技術としてリポソーム生成法を検討した。リポソームは脂質二重膜のベシクルであり、内部水相に水溶性薬剤などを保持させることによって、マイクロカプセルとして薬品や化粧品、飲料などに使用されている。

原料はスフィンゴミエリンを用いた。スフィンゴミエリンは動物細胞膜に含まれるスフィンゴ脂質でありリポソーム生成の物質として利用されている。しかしカプセル化する過程で使用される人体に有害な有機溶媒残留が問題となっている。ここでは、有機溶剤を使用せずスフィ

ンゴ脂質と精製水のみを原料として超音波照射下での超臨界二酸化炭素によるスフィンゴミエリン溶液からのリポソームの作製を試みた。

実験方法としては、まずスフィンゴミエリン粉末を精製水に溶解し反応容器に封入した。次に反応容器に二酸化炭素を満たし超臨界状態にした。反応容器は水を張った水槽に設置し、超音波を付与した。条件としては、温度 40°Cから 60°C、圧力は 10MPa から 20MPa、超音波を 28kHz にて行った。60 分間処理後、二酸化炭素を排出し生成物を回収した。

TEM 画像解析では、リポソーム生成物が、多重膜であり球状の形態で形成されたことを示した。さらに DLS 測定にて生成したリポソームのサイズ分布を調べた。圧力 20MPa では、40°C の場合、105~122nm から 396~712nm、60°C の場合 164~220nm から 615~955nm の範囲で形成された。結果としてこのプロセスは、スフィンゴミエリン溶液からのリポソーム生産技術にとって有機溶媒を使用しない画期的な手法であり、より安全なリポソームカプセルを作製するために有効な技術であることを示した。将来的には適した内包物の検討等を行う。

第 6 章では本研究のまとめと総括を述べた。

本研究では、超臨界二酸化炭素を用いてそれぞれ従来法の問題点の改善を目指した抽出・微粒子形成技術を検討した。これらの技術は、より広い分野で使用することが可能である。現在、世界ではすでに工業分野や商業的に使用されている。超臨界二酸化炭素は有機溶媒の代わりにグリーン溶媒として使用することができるということが大きな利点である。二酸化炭素は抽出・分離後、常温常圧で気体に戻る特性から、容易に回収することができ、製品中に残留しない。今後、超臨界流体技術は、さらに多くの分野で多岐にわたり実用化が進むと考える。