

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月25日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380075

研究課題名（和文） 多糖類・脂質マイクロ分散系の作出と大腸送達システムの構築

研究課題名（英文） Formulation of micro-dispersions of polysaccharides and lipids for development of colon delivery system

研究代表者

中嶋 光敏 (NAKAJIMA MITSUTOSHI)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：30150486

研究成果の概要（和文）：薬物送達システム（DDS）においては、目的成分を目的部位に的確に送達するための材料設計が必要である。経口摂取においては胃で分解されず、小腸や大腸に送達可能な壁材を利用することになる。小腸送達システムについては多くの実用化例があるが、大腸送達システムは確立されていない。本研究は難消化性多糖類を壁材とする新規大腸送達システムの構築、難消化性多糖類の微粉碎化技術の開発、またビーズミル等による微粒化や界面工学的処理により、親水性部と疎水性部を有する脂質のマイクロ分散系の作出と、包含する機能性成分が胃や小腸で分解吸収を受けずに大腸まで送達されるシステムの構築を目指した。キノア由来のスターチを用いることで、スターチ粒子を含有する水中に安定な油滴分散系を得ることができた。酪酸を経口投与して直接大腸に送り届ける手法として、酪酸・キトサン混合液で調製した固形物粒子を、常温で固化して油をカプセル化する方法が有力であることを示した。健康を促進する成分として注目を浴びている食物繊維の加工研究として、微細化を試み、微高 pH の水溶液でニンジン煮沸処理し、粉碎することでサブミクロンの大きさの粒子を作製できることが示された。

研究成果の概要（英文）：In DDS (Drug Delivery System), material design will be needed in order to target functional components into targeted organ. This research was focused on developing new principle for the encapsulation of functional compounds with high carrying capacity and the possibility of colon targeting. Morphological characterization of various starches, as well as hydrophobic modification and characterization of native starch, for the purpose of using modified starch to stabilize O/W emulsions were carried out. n-Octenyl succinic anhydride modified-quinua starch was found to be effective for oil in water emulsification. For colon delivery system of butyric acid, butyric acid-chitosan aqueous phase was mixed with tripalmitin for getting stable W/O emulsions. Besides these, pulverization of carrot was conducted, and submicron carrot-based fiber was found to be formulated by high pressure homogenizer at slightly alkali, boiling conditions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2011年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	12,800,000	3,840,000	16,640,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：大腸送達、酪酸、カプセル化、食物繊維、マスコロイダー、ナノマイザー、ニンジン、パームステアリン

### 1. 研究開始当初の背景

DDSにおいては、目的成分を目的部位に的確に送達するための材料設計が必要である。経口摂取においては胃で分解されずに腸に送達可能な壁材を利用することになる。小腸送達システムについては多くの事例があるが、大腸送達システムは、わずかな実用例があるのみで限られている。大腸送達が期待される系として、短鎖脂肪酸(酪酸)がある。酪酸は腸内細菌により産生され大腸粘膜のエネルギー源として利用されることが報告されている。短鎖脂肪酸は経口摂取しても胃・小腸で消化吸収され大腸に到達することはできず、汎用的な大腸送達システムの開発が望まれる。本提案はこの大腸送達システムの開発のための基礎研究を展開する。具体的には難消化性糖類を壁材とするマイクロカプセル等の分散系作出を検討する。応募者はマイクロチャネル乳化技術を開発し単分散液滴やマイクロカプセルの作製を進めてきた。界面活性剤を使用せずにシリカナノ粒子を用いることで、水中油滴エマルションを作製できることを明らかにしている。ナノ粒子を分散させた水中にマイクロチャネルを介して植物油を送り込むことで、界面活性剤がなくても油/ナノ粒子の安定な分散系の作製に成功した。シリカナノ粒子のかわりに生体成分で構成される微粒子を用いた生体適合性を有する安全な脂質乳化系を作製できれば、医薬品や食品などの広い用途展開が考えられる。多糖類はすでにゲル化作用などにより増粘剤や安定化剤として乳化系に利用されているが、単独での乳化は多糖類において困難とされている。

### 2. 研究の目的

薬物送達システム(DDS)や食品機能性成分送達システム(FDS)においては、目的成分を目的部位に的確に送達するための材料設計が必要である。経口摂取においては胃で分解されずに、小腸や大腸に送達可能な壁材を利用することになる。小腸送達システムについては多くの実用例があるが、大腸送達システムは確立されていない。本研究は難消化性糖類を壁材とする新規大腸送達システムの構築を図る。難消化性多糖類の微粉碎化技術の開発、またビーズミル等による微粒化や界面工学的処理により、親水性部と疎水性部を有する脂質のマイクロ分散系の作出と、包含する機能性成分が胃や小腸で分解

吸収を受けずに大腸まで送達されるシステムの構築を図る

### 3. 研究の方法

ポテトスターチやタピオカスターチなどさまざまな由来の多糖類の乳化性を検討する。適宜、化学的修飾を施したものと比較検討し、乳化特性を明らかにする。通常の高圧乳化は100 $\mu$ m程度の大きさであるが、ビーズミルを用いて湿式粉碎により微細化を行う。さまざまなスターチ粒子に湿式粉碎を適用し、微細化限界の把握など粉碎特性を明らかにする。

乳化実験では、ポリトロンホモジナイザーを用いた機械的攪拌乳化をコントロールとし、適宜、超音波乳化、高圧乳化、膜乳化、マイクロチャネル乳化を利用する。また基礎特性解明のための実験では、植物油脂として、大豆油を使用する。高圧乳化は、強力な衝撃力とせん断力により微細化するものであり、界面活性剤を利用した通常の水の中油滴エマルションの作製において、数10~数100nmの超微細な液滴サイズの乳化系発現に利用可能であり、申請者らのグループの他のプロジェクトでナノ脂質粒子作製に適用している。新たに多糖類乳化系への適用と特性解明を図る。マイクロチャネル乳化は微細加工により作製した $\mu$ mスケールのチャネルアレイに対して、分散相液体を送り込み液滴化を行うものである。

高圧乳化を用いた多糖類や食物繊維を含む食品系と油の乳化の可能性について検討する。乳化性などの新たな特性の発現を調べる。数10~数100nmの超微細な液滴サイズの水中油滴エマルションの作製が適切な乳化剤を用いることで可能であるが、多糖類や食物繊維などを含む乳化系への適用と特性解明を図る。スターチと改質スターチの乳化性を検討する。

### 4. 研究成果

まず、大腸送達の例として、酪酸を対象として検討を開始した。酪酸は大腸の蠕動運動の促進に貢献する効果を持っている。高濃度で酪酸の大腸送達をめざして5%の酪酸水溶液を調製した。小腸で酪酸吸収を防ぐため難消化性多糖類のキトサンを混合して、酪酸・キトサン水溶液を作製し、水溶液とトリパルミチンを高温乳化してW/Oエマルションを作製し、固化後、細かく砕きサンプルとした。

油相としてトリパルミチンの他にミリスチン酸も用いた。酪酸水溶液にキトサンを5%の割合で混合し、作製した固形物を小片化して、高温融解したトリパルミチンやミリスチン酸に浸し、すぐに取り出してサンプルとした。これらの調製サンプルを用いて胃モデル液や小腸モデル液を用いた消化実験を行った。W/O エマルジョンのサンプルが小腸消化終了時に溶出した酪酸量が多いが、胃消化時に3割ほど溶出してしまった。油相に分解されにくいミリスチン酸を使用した場合は、消化後も酪酸は溶出しなかった。キトサン混合物サンプルは胃消化後に10%ほど溶出し、小腸消化後の残存酪酸量は40%程度であった。酪酸を経口投与して胃および小腸を通り抜けて直接大腸に送り届ける手法として、酪酸水溶液にキトサンを5%の割合で混合して作成した固形物粒子を、常温で固化して油をカプセル化する方法が有力であることが示された。

さらに油をスターチ粒子で安定化する手法について検討をおこなった。スターチは親水性を示すが、表面改質により疎水性を付与することができる。これは、次の段階として難消化性スターチの利用を考えた予備検討である。すなわち、難消化性スターチに由来する物質で内包することで、大腸送達を可能とするものである。表面改質としては、スターチ粒子へのアルケニル官能基の付与と、得られた粒子を用いた乳化特性を検討した。スターチ粒子を、オクテニルこはく酸無水物のエタノール溶液に浸漬し、その表面特性の変化を解析した。得られた改質デンプン粒子を乳化剤として、予備乳化および高压乳化(20-160 MPa)を用いて、油/水分散系の作出を試みた。コーンスターチを用いた場合、FT-IR スペクトル分析により処理時間が増やしても-OH基から-C=O基への変換が十分起こらなかった。これはpHや温度条件のさらなる検討が必要である。スターチの種類により異なり、キノア由来のスターチを用いた場合、30wt%のスターチ粒子を含有する水中に、ドデカンの安定な乳化分散系を得ることができ、より高い圧力条件下でより小さい分散系を作出することができた。酪酸を経口投与して胃および小腸を通り抜けて直接大腸に送り届ける手法として、酪酸水溶液にキトサンを5%の割合で混合して作成した固形物粒子を、常温で固化して油をカプセル化する方法が有力であることが示された。

酪酸を高含量で溶解した水相を油相(大豆油やパームステアリン)に分散系の作出を検討した。数100ナノスケールの粒子径をもつ安定な分散系の作出が可能であることを明らかにした。あわせて、体内摂取後も安定性の高い食物繊維の微細化について検討した。

食物繊維は健康を促進する成分として注目を浴びており、加工研究も行なわれているが、詳細な微細化研究はみられない。そこで繊維質を含む野菜や未利用資源の湿式粉碎を行い、前処理条件、粉碎条件と微細化特性(粒度分布、粘度、粒子の形状)の関係を明らかにした。試料としてニンジン、ゴボウ、等を用いて、煮沸処理が微細化特性に与える影響と異なるpH条件での煮沸処理が微細化特性に与える影響についてマスコロイダーとナノマイザーを用いて粉碎を行った。煮沸処理の影響は特にニンジンでみられた。ナノマイザー処理後の粒子径10 $\mu$ m以下の割合が煮沸したニンジンの方が40%多くなった。その他の試料では、顕著な違いはみとめられなかった。異なるpH条件での煮沸処理が与える影響では、特にニンジンで見られた。pH9、pH10の水溶液中で煮沸処理したニンジンはナノマイザー処理後の粒子径1 $\mu$ m以下の割合が全量になった。以上食物繊維含量だけでなく、粒子の形状も微細化特性に影響している可能性を示した。また微高pHの水溶液でニンジンを煮沸処理し、粉碎することでサブミクロンの大きさの粒子を作製できることがわかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Marcos Neves, Isao Kobayashi, Mitsutoshi Nakajima, Nanotechnology for Bioactives Delivery Systems, Journal of Food and Drug Analysis, 査読有, 2012, accepted
- ② Isao Kobayashi, Marcos Neves, Yoshihiro Wada, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima, Large microchannel emulsification device for producing monodisperse fine droplets, Procedia Food Science, 査読有, Vol.1, 2011, 109-115.
- ③ Isao Kobayashi, Marcos Neves, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima, Production characteristics of uniform large soybean oil droplets by microchannel emulsification using asymmetric through-holes, Procedia Food Science, 査読有, Vol.1, 2011, 123-130.

[学会発表] (計13件)

- ① M. Nakajima, I. Kobayashi, M. A. Neves, Microfabricated Formulation of Microparticles Using Microchannels, The 1<sup>st</sup> Morocco-Japan Symposium - Sustainable Society through Advanced Sciences -, 2012年3月15日, Marrakesh, Morocco

- ② M. Nakajima, I. Kobayashi, M. A. Neves, Nanotechnology for Bioactives Delivery Systems, 2011 International Conference on Food Factors, 2011年11月20日, Taipei, Taiwan
- ③ Z. Wang, M. A. Neves, I. Kobayashi, K. Uemura, M. Nakajima, Preparation of beta-Carotene Nanodispersions by Emulsification-Evaporation Method Using Polyglycerol Esters of Fatty Acids, Tunisian Japanese Symposium on Science, Society and Technology, 2011年11月12日, Hammamet, Tunisia
- ④ M. Nakajima, I. Kobayashi, M. A. Neves, Precision Formulation of Size-Shape Controlled Microparticles Using Microchannel Array Devices, Tunisian Japanese Symposium on Science, Society and Technology, 2011年11月12日, Hammamet, Tunisia
- ⑤ 王政, Marcos A. Neves, 小林功, 植村邦彦, 中嶋光敏,  $\beta$ -カロテン内包ナノ分散系の作製における分散相の組成の影響, 化学工学会第43回秋季大会, 2011年9月15日, 名古屋工業大学, 名古屋市
- ⑥ Marcos A. NEVES, Petr DEJMEK, 小林功, 中嶋光敏, Hydrophobically modified starch: morphological characterization and evaluation of its emulsifying properties in O/W emulsions, 日本食品工学会, 2011年8月5日, 京都テルサ, 京都市
- ⑦ 王政, M. A. NEVES, 小林功, 植村邦彦, 中嶋光敏, O/Wエマルジョンゲルの作製および in vitro 胃腸消化特性, 日本食品工学会, 2011年8月5日, 京都テルサ, 京都市
- ⑧ Abdelilah EL ABBASSI, Marcos A. NEVES, Abdellatif HAFIDI, 中嶋光敏, Preparation and characterization of highly stable monodisperse argan oil-in-water emulsions, 日本食品工学会, 2011年8月5日, 京都テルサ, 京都市
- ⑨ 中嶋光敏, 小林功, Marcos A. Neves, 植村邦彦, 非対称貫通孔を用いたマイクロチャンネル乳化による微小大豆油滴の作製特性, 11th International Congress on Engineering and Food, 2011年5月24日, Athens, Greece
- ⑩ Neves M.A., Kobayashi I., Dejmek P., Nakajima M., Characterization of modified starch and evaluation of its emulsifying properties in O/W emulsions, 化学工学会第76年会, 2011年3月22日, 東京農工大学
- ⑪ 王政, M. A. Neves, 小林功, 植村邦彦, 中嶋光敏, サブミクロン粒子を用いた粒度分布計の特性評価, 日本食品工学会 第11回(2010年度)年次大会, 2010年8月4日, 東京海洋大学
- ⑫ Mitsutoshi Nakajima, Marcos A. Neves, Isao Kobayashi, Production of Monodisperse Emulsions by Micro/Nano-channel Emulsification, International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies, NANOAGRI. 2010年6月22日, São Pedro/SP, Brazil
- ⑬ Neves M. A., Kobayashi I., Dejmek P., Nakajima M., Size Reduction of Modified Starch Using Various Types of Mill. 第41回化学工学会秋季大会, 2009年9月17日, 広島

〔図書〕(計1件)

- ① Neves M. A., Nakajima M., CMC出版, フードナノテクノロジー, 2009, 20.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中嶋 光敏 (NAKAJIMA MITSUTOSHI)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：30150486