

機関番号：11301
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22360317
 研究課題名（和文） 柑橘果皮中の薬効成分分離を目指した溶媒循環型超臨界抽出 - 精留法の開発
 研究課題名（英文） Development of supercritical fluid extraction-distillation system for separation of high-value products from *Citrus* peels
 研究代表者 猪股 宏（INOMATA HIROSHI）
 東北大学・大学院工学研究科・教授
 研究者番号：10168479

研究成果の概要（和文）：

柑橘果皮中の薬効成分分離を目指した溶媒循環型超臨界抽出 - 精留法の開発を目的とし、2010年度は溶媒循環型超臨界流体抽出-精留装置の開発、2011年度は構築した装置とモデル化合物2種を用いた実験の評価、2012年度は実サンプルとして柑橘果皮成分への応用を検討した。まず、温度付与型精留塔の妥当性評価のため標準物質として入手可能な化合物2種（7-hydroxy flavone および Anthracene）を選定し、精留実験を実施した結果、CO₂-Ethanol系の気液平衡関係に従ってそれぞれ2種の化合物が親水性の尺度のもと精留塔塔頂と塔底より連続的かつ高度に分離されることを確認した。2012年度は引き続き基礎データの蓄積とさらなる応用のため青島温州果皮成分へと方法論を展開した結果、抽出物のノビレチンやその他ポリメトキシフラボンにも本法が適用できることが確認された。特に、水を添加した抽出-精留実験では、ノビレチンを含む透明な液体が塔頂から、その他光合成色素を含む着色した液体が塔底からそれぞれ回収できることが判明し、本法の有用性が実証された。

研究成果の概要（英文）：

Supercritical fluid extraction-distillation system for separation of high-value products from natural resources was developed. In this system, orange peel powers were extracted by supercritical CO₂ with an addition of ethanol and the extract was transferred to thermally controlled distillation tower in which in which extract constituents could be separated into upstream and downstream according to vapor-liquid phase equilibrium for CO₂-ethanol systems at specified temperature and pressure. For evaluation of the developed apparatus, two substances (7-hydroxy flavone and anthracene) possessing the similar chemical structures were selected as test samples. The results of distillation showed that the anthracene was highly concentrated in the distillate from the top of the distillation column without accompanying 7-hydroxy flavone at pressure of 12 MPa and temperatures of the tower controlled to be between 353 K at the top and 363 K at the bottom. Nobiletin is one of the highly active natural compounds was also concentrated in the distillate from the top by adding a slight amount of water entrainers. It was demonstrated that the developed system was well-worked towards the highly-selected separation of polymethoxyflavone from Citrus peels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	11,300,000	3,390,000	14,690,000
2011年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2012年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	15,500,000	4,650,000	20,150,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学・ 化工物性・ 移動操作・ 単位操作

キーワード：(1) 超臨界流体抽出, (2) エタノール, (3) 水, (4) ノビレチン, (5) 相分離, (6) 精留, (7) 分画, (8) 溶媒循環

1. 研究開始当初の背景

当研究室では、柑橘果皮などの未利用バイオマスを対象とした機能性成分の超臨界 CO₂+エタノール(EtOH)抽出を検討しており、これまで EtOH 濃度および温度を操作因子としたフラボノイドなどの機能性成分の分画可能性を示してきた¹⁾。しかしながら、従来の単抽出では運転の長時間化や単純な条件での検討に限られるという課題があった。また、分離選択性の向上に資する方法論の構築が必要であった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、さらなる分画性能の向上を目指し、超臨界 CO₂+EtOH 抽出後部における温度を操作因子とした精留プロセスを考案し、装置を製作した。この精留は、低下圧下での温度誘起による相分離により発生する自然還流に基づくものである。このプロセス開発にあたり、まずは抽出・分留性能の検証実験のために、図 1 に示す 2 種類の化合物を選定した。具体的には、フラボノイドの 1 種である 7-Hydroxyflavone (7HF) およびフラボノイド類似化合物である Anthracene (ANT) の精留効果を定量化した。さらに、精留挙動を向流抽出平衡モデルによる表現も検討した。

3. 研究の方法

図 2 に実験装置を示す。本装置は、溶媒供給部、抽出部、精留部、受液部および上部・下部回収部からなる。各部で独立の温度制御が可能であり、精留部はさらに、下部フランジ、充填塔(Dixon Packing φ1.5 mm)、上部フランジの 3 段で温度制御できる。実験では、まずセルに試料とガラスビーズを仕込んだ後に、系内を所定温度に保った。次に、CO₂ を導入して昇圧し、所定圧になった後に EtOH を導入した。その後、所定時間毎に塔上部および塔下部からの留出物をトラップによりサンプリングした。塔下部は、V5 を閉めて V6 を開けることでサンプリングした。実験条件は、抽出部温度(T1)333 K、精留部温度(T3-T5)353 K~363 K、圧力 12 MPa、EtOH 濃度 8.5~11.8 mol%、CO₂ 流量速度 1.3 L(STP)/min とした。なお、温度、圧力、EtOH 濃度条件は図 3 に示す CO₂-EtOH 系気液平衡関係²⁾より、抽出部では均一相、精留部では気液 2 相となるように設定した。また、受液部 (T2)は下部フランジ(T3)と同じ温度に保った。サンプリング試料の組成は試料の UV 吸光度より算出した。

平衡計算は、以下の 5 つの仮定に基づき検討した。

①系内は定常状態である。②精留部を体積 0 の n 個の槽とする。③各段の平衡は瞬時に

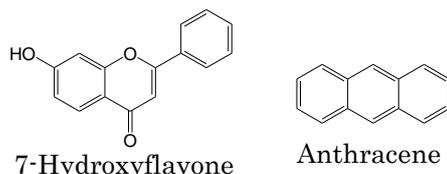


図 1 分離対象として選定した化合物

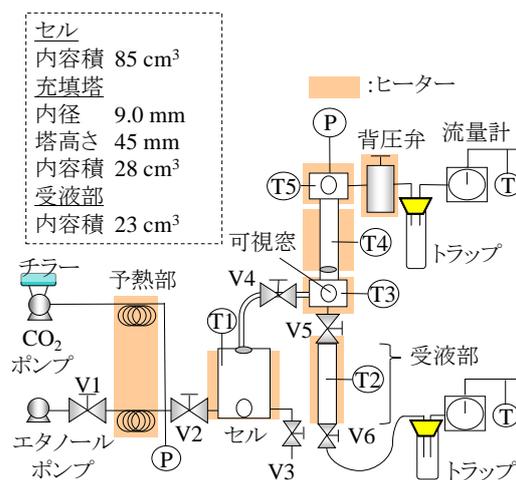


図 2 超臨界流体抽出-精留実験の概略図

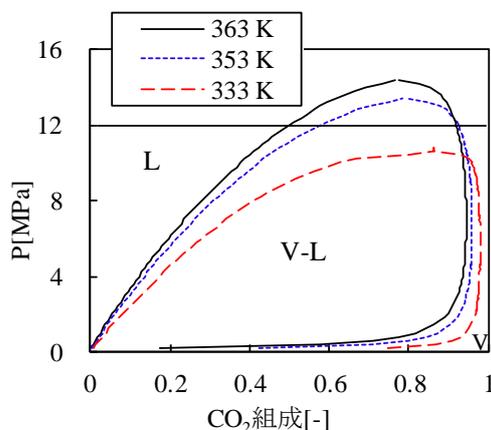


図 3 CO₂-EtOH 系気液平衡²⁾

$$y_{j(i)} = K_{j(i)} \cdot x_{j(i)} \quad (1) \quad F = L_{(1)} + V_{(n)} \quad (2)$$

$$Fz_j = L_{(1)}x_{j(1)} + V_{(n)}y_{j(n)} \quad (3)$$

$$V_{(i-1)} + L_{(i+1)} = V_{(i)} + L_{(i)} \quad (4)$$

$$V_{(i-1)}y_{j(i-1)} + L_{(i+1)}x_{j(i+1)} = V_{(i)}y_{j(i)} + L_{(i)}x_{j(i)} \quad (5)$$

達成され、その平衡の気・液相がすみやかに上昇・下降する。④抽出物は n 段目の気体組成で系外へ流出し、ホールドアップは無視する。⑤溶質は溶媒に比して極微小であるため、V, L 量には影響しない。

計算では、まず CO₂-EtOH 系気液平衡比(1)式

+各段物質収支(2)~(5)式より各段のV,Lを算出し、その後、(1),(3),(5)式より溶質の各段組成を決定した。ここで、Fは精留部に流入する全量とした。この場合、CO₂-EtOH系気液平衡組成と溶質の気液平衡比K値が必要となる。前者は、Peng-Robinson状態式³⁾により推算した。また、後者は溶質を溶解させたEtOH溶液に超臨界CO₂を流通させ、その気体組成を測定することで算出した。このときK値は、温度依存性を示したが、溶質濃度依存性は示さないことを確認している。

4. 研究成果

図4に、抽出部333 K、精留部353 Kの条件における、ANT、7HF各々の抽出部溶解度での留出量に対する上部回収率を示す。このとき、精留部条件での溶解度を別途流通式装置⁴⁾により測定したところANT $y=6.95 \times 10^{-5}$, 7HF $y=5.96 \times 10^{-6}$ であり、自然還流がない場合の7HFに対するANTの選択率は89.7 wt%であった。図より、ANTはCO₂総流量200 L程度まで増加した後一定値を保ったが、7HFは200 L程度まで減少した後、検出限界以下となった。即ち、最終的にはANTの選択率は100 wt%となった。これは精留部において、分子構造中にOH基を有する高極性の7HFは、EtOH-richの液に全て溶解するが、ANTの溶解量は一部であったためである。また、初期に分離能が小さかったのは、操作手順に起因する初期の未定常のためであると考えられる。

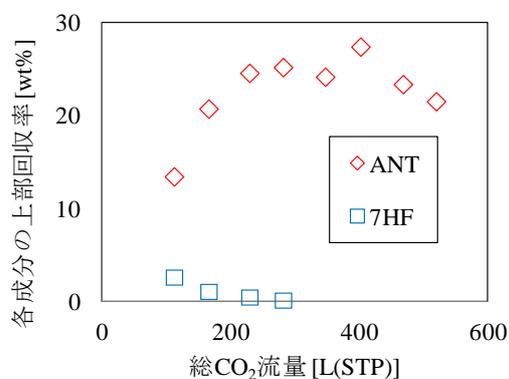


図4 超臨界流体抽出-精留装置 (T1:333 K, T2-T4:353 K, 12 MPa, CO₂ 流量 1.3 L(STP)/min, EtOH 11.4 mol%)

表1 上部ANT留出率の実験値と計算値

実験条件				上部ANT回収率[wt%]	
T3 [K]	T4 [K]	T5 [K]	EtOH [mol%]	実験値	計算値
363	358	353	11.5	22.4	12.0
353	353	353	11.4	23.8	12.9
353	353	353	8.2	48.6	28.7

(T1:333 K, T2=T3, 12 MPa, CO₂ 流量 1.3 L(STP)/min)

次に、温度分布あるいはEtOH濃度を変化させて実験を行ったところ、いずれも7HFは図4と同様の傾向を示した。一方、ANTはCO₂総流量200 L程度まで増加する傾向は見られたが、定常時のANT回収率には差異が現れた。表1に各条件におけるANTの実験値および計算値を示す。ここで実験値はCO₂総流量200 L以降を定常と考え、その平均値とした。また、計算では温度分布に従い段数は3段とした。表より、温度分布による差はほぼ見られなかったが、EtOH濃度が減少するにつれてANTの回収率は向上した。これは、EtOH濃度が減少することで、気相割合が増大するため、下部より留出するANT量が減少したためと考える。モデルによる計算値はこの傾向を表現しており、手法の妥当性が示されたと考える。実験値との偏差の要因としては、温度差に基づく溶解度差、気液固3相、およびホールドアップなどの未考慮が挙げられる。以上より、本手法による分画の可能性が示され、ANTと7HFの分離においては、EtOH濃度操作が有効であることが示された。また、モデルによりこの留出傾向を表現できた。

最後に柑橘果皮成分への展開に向けて、助溶媒としてさらに水を添加した系についての結果の1例を図5および図6に、その際の実験条件を表2にそれぞれ示す。

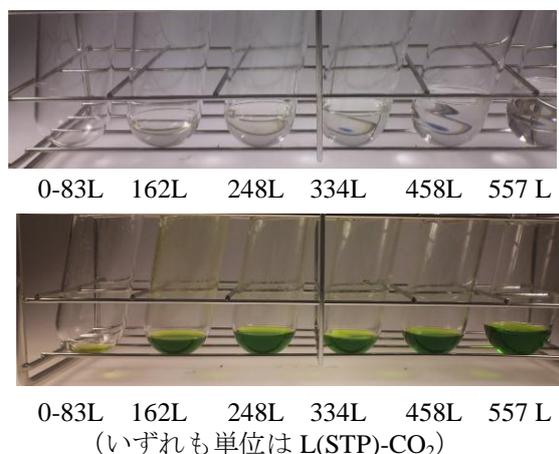


図5 回収物の写真 (上: 塔頂, 下: 塔底)

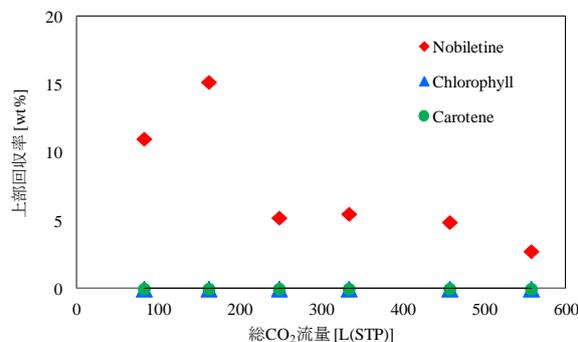


図6 塔頂でのノビレチン回収率

表 2 CO₂-エタノール-水系抽出-精留実験条件

抽出部温度	313 K
精留部温度	353K
圧力	12 MPa
エタノール組成	7.4 mol%
水組成	0.87 mol%
CO ₂ 流量	1.4 L(STP)/min

図 5 より塔頂からは透明な抽出精留液が、到底からは光合成色素を含む着色液がそれぞれ得られていた。ここで、低極性成分であるノビレチンは塔頂から回収されたことが想定されるため、HPLC による分析を行った結果、図 6 に示すように塔頂にていずれのサンプルにもノビレチンが含まれていることが判明した。安定的操作条件を導くにはさらなる検討が必要であるが、本法にて当初の目的を達成できることがわかった。

以上より、本超臨界流体抽出-精留法にて助溶媒種、濃度および精留塔の温度分布を適切に調整することにより柑橘果皮成分が高選択的に分離されることが示唆された。また、本法が特にポリメトキシフラボン類やカロテノイド類の濃縮分離に極めて有用であることも示唆された。現在同時展開している抗認知症向けの神経細胞の CRE (Cyclic AMP Response Element) 依存型転写活性試験からは、若干量のエタノールおよび水添加系において転写活性が高まることも示唆されており、今後は得られた抽出物の活性評価も含めた総合評価が必要と考えている。

【記号】K:気液平衡比 [-], F: フィード物質量 [mol], x :液相組成[-], y :気相組成[-], z: フィード組成[-], V: 気物質量[mol], L: 液物質量 [mol] 【添え字】(i): i 段, j: j 成分

【参考文献】1) 入内島斎, 東北大学修士論文 (2008). 2) Z.Knez et al., J. of Supercritical fluids, 43, 393 (2008). 3) D. Peng and D. B. Robinson, Ind. Eng. Chem. Fundam., 15, 59-64 (1976). 4) 橋本吉晃, 東北大学学位論文(2010).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

- 1) 大田昌樹, 9.2 超臨界抽出・分離, 化学工学, 75, 667-668 (2011). <査読無>
- 2) 大田昌樹, 入内島斎, 野村幸一郎, 佐藤善之, 猪股宏, 抽出実験に基づく超臨界二酸化炭素に対する稀少天然物の溶解度推定, 日本食品科学工学会誌, 57, 464-471 (2010). <査読有>
- 3) 佐藤恵, 武田圭右, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 超臨界 CO₂ 中溶解度測定による溶質 SP 値の実験的推定, 化学工学論文集, 36,

466-471 (2010). <査読有>

[学会発表](計 20 件)

- 1) Hiroshi Inomata, Extraction and Fractionation of Flavonoid Compounds from Citrus Peels Using Supercritical CO₂, 2nd FRENCH-JAPANESE WORKSHOP ON SUPERCRITICAL FLUIDS, 招待講演, France Valence, 2012 年 9 月 24 日.
- 2) 大場千聖, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 柑橘果皮からの超臨界流体抽出ならびに抽出物中の薬理活性成分の推定, 化学工学会第 44 回秋季大会, 口頭, 仙台, 2012 年 9 月 19 日.
- 3) 大田昌樹, 天然物のカスケード利用における超臨界流体抽出, 化学工学会第 44 回秋季大会, 招待講演, 仙台, 2012 年 9 月 19 日.
- 4) 大場千聖, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 柑橘果皮からの超臨界流体抽出成分が薬理活性に与える影響, 第 11 回宮城懇話会先端研究発表会, 口頭, 仙台, 2012 年 9 月 10 日.
- 5) Hiroshi Inomata, Supercritical Fluid Fractionation of Bioactive Compounds Contained in Orange Peels, 2012 International Symposium on Chemical Environmental-Biomedical Technology, 招待講演, 台湾国立成功大学, 2012 年 9 月 2 日.
- 6) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 超臨界流体抽出-精留法に基づく柑橘果皮含有成分の分離濃縮実験, 日本食品科学工学会第 59 回大会, 口頭, 札幌, 2012 年 8 月 29 日.
- 7) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 超臨界流体抽出-精留法に基づく柑橘果皮含有成分の分離濃縮実験, 日本食品科学工学会第 59 回大会, ポスター, 札幌, 2012 年 8 月 29 日.
- 8) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 天然機能性成分の分画を目的とした超臨界抽出-精留プロセス, 化学工学会第 77 年会, 口頭, 東京, 2012 年 3 月 15 日.
- 9) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 天然物含有成分の高度分離を目的とした超臨界抽出プロセス, 第 10 回宮城懇話会先端研究発表会, 口頭, 仙台, 2012 年 3 月 8 日.
- 10) 大場千聖, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 紫外可視分光法に基づく新規装置開発と希少成分の昇華圧測定, 2011 年度化学系学協会東北大会, ポスター, 秋田, 2011 年 9 月 15 日.
- 11) 野村幸一郎, 大場千聖, 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 早生みかん果皮からのノビレチン含有超臨界抽出物の抗認知症活性, 日本食品科学工学会第 58 回大会, ポスター, 仙台, 2011 年 9 月 9 日.
- 12) 野村幸一郎, 大場千聖, 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 早生みかん果皮からのノビレチン含有超臨界抽出物の抗認知症活性, 日本食品科学工学会第 58 回大会, 口頭, 仙台, 2011 年 9 月 9 日.

13) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 大泉康, 超臨界流体を用いた摘果みかん果皮機能性成分の環境調和型濃縮法, 第 10 回 GSC シンポジウム, ポスター, 東京, 2011 年 6 月 3 日.

14) 大場千聖, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 紫外可視分光法に基づく新規装置によるフラボノイド類の昇華圧の測定および推算, 分離技術会年会 2011, ポスター, 東京, 2011 年 6 月 3 日

15) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 柑橘果皮含有機能性成分の超臨界流体を用いた高度分離, 分離技術会年会 2011, ポスター, 東京, 2011 年 6 月 3 日.

16) 野村幸一郎, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 大泉康, 川畑伊知郎, 山國徹, 柑橘果皮含有フラボノイドの超臨界流体抽出分離と薬理活性, 化学工学会 76 年会, 口頭, 東京, 2011 年 3 月 22 日.

17) 野村幸一郎, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 大泉康, 山國徹, 超臨界流体による柑橘果皮からのフラボノイドの高度濃縮, 口頭, 日本食品科学工学会第 57 回大会, 東京, 2010 年 9 月 1 日.

18) 野村幸一郎, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 大泉康, 山國徹, 超臨界流体による柑橘果皮からのフラボノイドの高度濃縮, ポスター, 日本食品科学工学会第 57 回大会, 東京, 2010 年 9 月 1 日.

19) 橋本吉晃, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 超臨界 CO₂ 中のフラボノイド溶解度に対するエタノールの添加効果の定量化, 分離技術会年会 2010, ポスター, 東京, 2010 年 6 月 3 日.

20) 野村幸一郎, 大田昌樹, 佐藤善之, 猪股宏, 大泉康, 山國徹, 柑橘果皮からのフラボノイドの超臨界流体抽出とその薬理活性, 分離技術会年会 2010, ポスター, 東京, 2010 年 6 月 3 日.

[その他]

ホームページ等

<http://www.che.tohoku.ac.jp/~scf/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

猪股 宏 (INOMATA HIROSHI)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：10168479

(2)研究分担者

佐藤 善之 (SATO YOSHIYUKI)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：50243598

大田 昌樹 (OTA MASAKI)
東北大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：50455804

(3)連携研究者 該当なし