

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02081

研究課題名（和文）マイクロ波常温発泡乾燥による生物製剤の革新的ガラス化保存法の確立

研究課題名（英文）A novel preservation method for biological materials with use of microwave room-temperature foam drying

研究代表者

鶴田 隆治（Tsuruta, Takaharu）

九州工業大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：30172068

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：ペプチド、アミノ酸などのタンパク質系生体高分子を用いた生物製剤の製造において、凍結乾燥に代わる高効率・高品位乾燥法が求められている。これに応えるべく、本研究ではマイクロ波を用いた常温での発泡乾燥法を新たに提案し、ガラス化処理の実現によってタンパク質の機能が失活しないことを実証した。

具体的には、豚胎盤由来のプラセンタ抽出液を主たる対象とし、減圧環境下におけるマイクロ波エネルギー供給によって常温にて乾燥・濃縮し、泡形状を維持したまま固化させることに成功した。乾燥後の残存活性も既存の凍結乾燥法以上に良好であるという結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質を含む水溶液の乾燥は、その機能を残したまま長期間保存するために不可欠であり、製薬や機能性食品の分野等において、より高品位かつ高効率な方法が切望されている。現在は、凍結乾燥が主流であり、長時間かつ高エネルギーを要することや、氷晶によるタンパク質構造の損傷などの課題があり、それを克服する革新的な新技術が求められている。

本研究では、低圧下の常温においてマイクロ波によるエネルギー供給によってタンパク質系水溶液を泡状に薄膜化し、熱・物質抵抗の少ない状況を作り出して高速にガラス固化する方法を開発した。その結果、タンパク質機能の残存活性が高く、短時間での効果的な乾燥が可能となった。

研究成果の概要（英文）：Efficient and high-quality drying methods are required to replace freeze-drying in the production of biologics using protein-based biopolymers such as peptides and amino acids. This study proposed a new microwave-foaming drying method under room temperature, and demonstrated that the protein function is not deactivated by the glassification. Specifically, the placenta extract from porcine placenta was dried and concentrated at room temperature by microwave energy supply under reduced pressure, and stable foam was formed by microwave control, which was successfully solidified as it was. It was confirmed that the residual activity after drying was also better than that of existing freeze-drying methods.

研究分野：熱工学

キーワード：熱工学 タンパク質 マイクロ波乾燥 ガラス化 生物製剤

1. 研究開始当初の背景

タンパク質、酵素、ペプチドなどの生体高分子を用いた生物製剤は1980年代に発明されており、タンパク質本来の生理活性に基づく優れた薬効や速攻性および治療範囲の広さから利用が急速に進んでいる。その保存においては、水溶液状態では物理化学的に不安定なため、乾燥によるガラス化処理が行われており、機能を失活させない製造技術として現在は凍結乾燥法(FD)が多用されている。しかしながら、凍結過程を経ることで低温によるpH変化、凍結濃縮による水和状態の変化、氷晶形成による物理的ダメージをうけ失活する危険性がある。また、図1の状態図に示すように、FDでは過冷却凍結を含む経路(A→B→C→D)を経てガラス化に至るが、凍結曲線に沿って進む凍結濃縮と氷晶の昇華には極めて長い時間と多大なエネルギーを要するという問題点がある。そのため、新規薬剤開発を目指す製薬分野においては、その製造技術の高度化においてFDに代わる革新的な技術が切望されている。

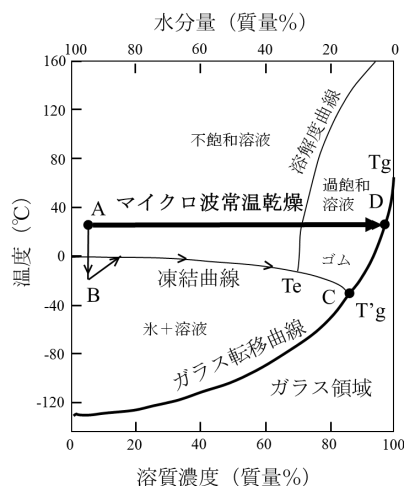


図1 温度-組成状態図

そこで研究代表者らは、図1のA→D、すなわち固相を経ず直接的な蒸発乾燥を常温で行うことによってガラス化に至る方法に着目した。この方法はパーマザイム法(Permazyme Process)と呼ばれ、1990年代に提案されているが、常温での高速乾燥法として適切なものが無かったため、積極的な活用には至っていない。これに対し、研究代表者はマイクロ波を用いた常温(真空)乾燥技術(特許第4474506:以下MVDと略す)を有しており、常温での高速乾燥(A→D)が可能であって、さらに泡形成を加えることによってガラス状態という化学的・物理的安定となる状態に速やかに達することができると考えた。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、上に述べたMVDを基本技術として、これに発泡による泡形成を加えたマイクロ波常温発泡乾燥技術(以下MFDと略す)を開発し、その有効性を示すことである。泡形成の無いMVDでは静的なフィルム状の2次元形状に止まるが、MFDでは立体的な泡の3次元構造により蒸発界面となる気液界面が格段に大きくなる。さらには、泡の薄膜構造により液内部の水分移動抵抗が減少し、蒸発界面の増大効果を増長し、乾燥速度を桁違いに速くすることが期待される。(特許出願済み:特願2018-124490)

具体的な目的としては、発泡乾燥に必要な発泡条件と泡形状、そして蒸発乾燥速度について詳細に調べることである。また、乾燥後のタンパク質がその機能を失活していないかを確認する必要があるため、乾燥後のタンパク質の機能評価も目的としている。

3. 研究の方法

(1) マイクロ波常温発泡乾燥の乾燥特性と泡形状および泡形成条件の把握

先ず、マイクロ波常温乾燥(MVD)における圧力とマイクロ波照射強度をパラメーターとして、泡形成に至る条件を把握するとともに、その際の泡形状および乾燥特性を明らかにすることから始めた。実験試料には、タンパク質製剤のモデルとして、実績のある卵白アルブミンとリゾチーム、そして豚胎盤由来のプラセンタを使用した。乾燥実験には、一連のマイクロ波関連研究で独自に開発した内容積100Lのステンレス製容器と、最大マイクロ波出力3kW(2.54GHz)のマグネトロンを有するマイクロ波真空乾燥システムを使用した(図2)。このシステムは低出力で連続照射可能な特徴を有しており、高真空状態から80kPa程度の大気圧近傍までの実験ができ、広範囲の条件設定が可能である。

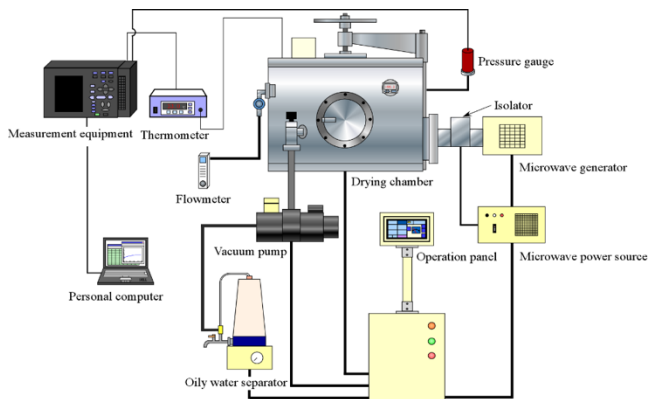


図2 マイクロ波真空乾燥システム

(2) 発泡性と泡の安定性評価のための粘度・表面張力測定

発泡性と泡の安定性に及ぼす水溶液の粘度や表面張力の影響を確認した。乾燥の進行とともに水溶液の濃度が上昇するため、特に粘度は大きく変化する。各濃度における粘度とガラス転位温度を測定して、発泡乾燥において考慮すべき要点を検討した。

(3) 発泡乾燥後のタンパク質の残存活性評価

発泡によってタンパク質の変質や活性変化が生じないかについて、卵白の α -helix 構造や、紫外可視分光光度計を使用したリゾチーム、プラセンタ等の残存活性評価を行った。

4. 研究成果

(1) マイクロ波常温発泡乾燥の乾燥特性と泡形状および泡形成条件の把握

発泡乾燥 (MFD) は、圧力 5kPa、マイクロ波出力 100~200W の条件下で、乾燥中の温度を主として 50℃以下に管理して実施した。ブタ胎盤由来プラセンタについては、その抽出法により、酵素分解法によって得たプラセンタ液 (以下 E 液) と、凍結破砕処理法によるプラセンタ液 (以下 D 液) の 2 種類を比較した。なお、プラセンタ E 液と D 液については、発泡挙動と粘度の関係を調べるために水分ごとの粘度測定を行っている。図 3 に溶質濃度と粘度、および光ファイバー温度計で計測した乾燥中の温度との関係について、一例として示す。E 液は D 液に比べて粘度の上昇が顕著であり、E 液の方が D 液より泡状に乾燥固化が進んだことから、MFD における泡形成とその形状維持には粘性が強く関係していることが分かった。

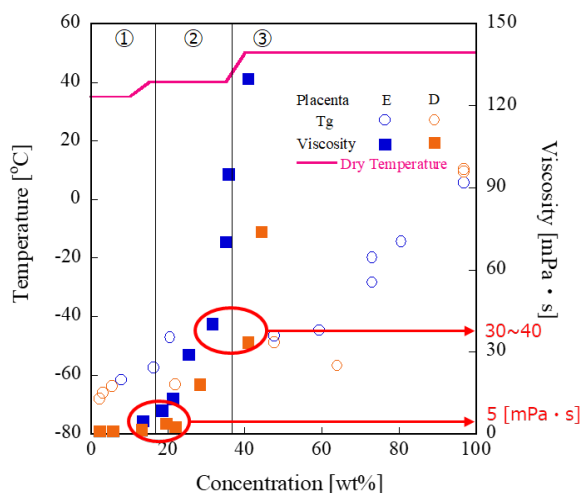


図 3 豚由来プラセンタの濃度と粘度、ガラス転移温度との関係

(2) 発泡性評価のための粘度・表面張力測定と泡の安定性評価

タンパク質水溶液ごとの発泡乾燥特性を把握するために、常温における起泡力と表面張力との関係、そして泡形成後の泡の安定性評価を行った。その結果を図 4 と 5 に示す。

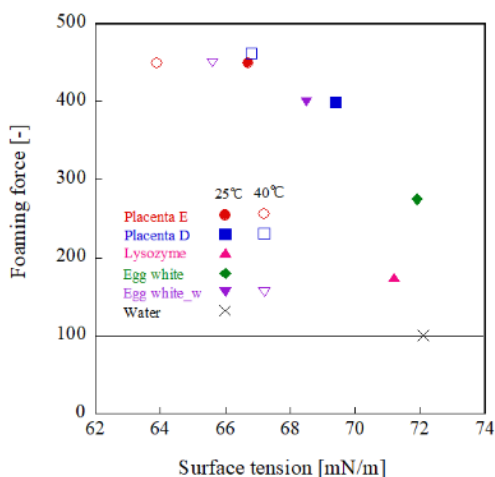


図 4 起泡力と表面張力

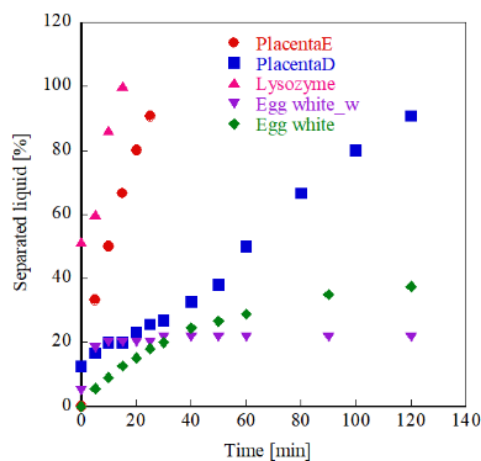


図 5 泡の安定性

これより、卵白は起泡力と安定性の両方ともにおいて優れているが、他のタンパク質系水溶液では表面張力が大きくなると起泡力が低下し、泡の安定性も卵白ほど高くないことがわかった。また、同じプラセンタでも D 液の起泡力が E 液よりも小さいことがわかった。このことから、プラセンタについては、E 液が発泡乾燥により適しているという知見を得た。

(3) 泡乾燥後のタンパク質構造解析と残存活性評価

乾燥後の残存活性評価については、乾燥後のプラセンタを試料として、紫外可視分光光度計を用いて試料及び基準物質であるトロロックスの 517nm の吸光度を測定した。MFD および FD による乾燥後の試料についてのトロロックスの抗酸化力との比較により、試料の抗酸化力を評価した結果、MFD 後は FD 後よりも高い抗酸化力を維持できていることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 藤田琴音, 松野日菜子, 谷川洋文, 鶴田隆治
2. 発表標題 水溶性タンパク質のマイクロ波発泡乾燥
3. 学会等名 第58回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaharu Tsuruta, Takuma Ogawa, Kotone Fujita, Hirofumi Tanigawa
2. 発表標題 Microwave Foam-Drying of Egg White
3. 学会等名 EuroDrying'2019, 7th European Drying Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷川 洋文 (Tanigawa Hirofumi) (80197524)	九州工業大学・大学院工学研究院・助教 (17104)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------