

<平成 30 年度助成>

天然色素素材の高効率抽出法の開発

神田 英輝

(名古屋大学大学院 工学研究科物質プロセス工学専攻)

緒言

人体に無害な天然色素素材は食品の着色だけでなく、口紅や化粧品や医薬品や乳幼児の玩具の着色といった用途でも有効である。しかし天然色素素材のカロテノイドは植物が合成する際には *trans* 体である。この *trans* 体カロテノイドは結晶性が高いので、各種溶媒への溶解度が低い。この低い溶解度は生体への吸収性が低い原因になるだけに留まらず、植物からの抽出、乳化、微粒化といった工業的なハンドリングが困難な原因にもなる。また、人体から検出されるカロテノイドには *cis* 体が多く含まれていることから、人体に吸収可能な *cis* 体カロテノイドを多く取り出すことが重要である。

我々は過去の研究で *trans* 体のカロテノイドを有毒なジクロロメタンとともに加熱することで、結晶性が低い *cis* 体に異性化できるとともに、カロテノイドの有機溶媒への溶解度が劇的に向上することを見いだした。しかし、植物中に含まれるカロテノイドにも同様の手法を適用して抽出できるかは不明である。本研究では、ニンジンミキサーで粉砕した後に *cis* 異性化を促進する天然有機物を触媒として添加して、圧力容器中で高圧の亜臨界水によって 140, 160, 180°C で加熱処理し、含まれる β カロテンの *cis* 異性化を試みた。さらに環境調和型のグリーン溶媒である超臨界 CO₂ による抽出が可能か検討した。

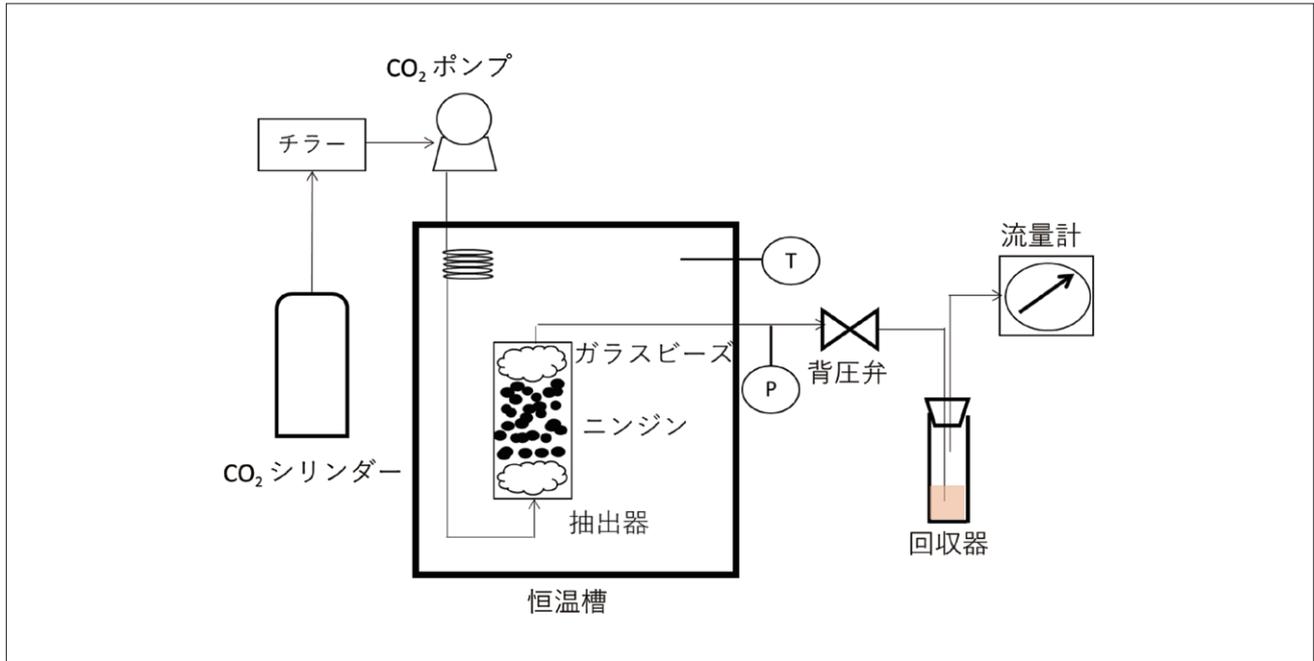
ここで、本研究で *cis* 異性化の触媒として用いる二硫化アリルはネギ科の植物に含まれる可食性の有機物である。亜臨界水は沸点以上で高圧で液体状態を保持した活性が高い水であり、当然ながら常温で

は生物への毒性は無い。超臨界 CO₂ も生物に無害であるうえに、気体並みの高い拡散性と液体並みの高い溶解度を有しており、さらに常温常圧では気体であるので抽出物に残留しない。つまり、全く無毒な物質だけを用いて、生体吸収性が高いカロテノイドを植物から取り出すことが本研究の目的である。

実験方法

市販のニンジン 6.0g をミキサーで粉々に粉砕して 5°C で冷蔵保管した後に、有機触媒である二硫化アリル 5 μ L (2500ppm に相当) を添加した純水 2mL を混合した。これを円筒容器 (SUS304、内容積 8.8mL) に充填し、電気炉 (Akico, Tokyo, Japan) で 140, 160, 180°C に昇温して 15, 30, 60 分間震盪することで、亜臨界水処理による *cis* 異性化を促した。比較対象として、二硫化アリルを添加しない純水でも同様の亜臨界水処理を施した。亜臨界水処理後の圧力容器は直ぐに常温の水で冷却し、高温による反応を停止させた。亜臨界水処理後のニンジンは高含水であるので、凍結乾燥処理によって乾燥させた。乾燥したニンジン抽出カラムに充填しニンジンに含まれるカロテノイドである β カロテンの抽出を試みた。

図 1 に超臨界 CO₂ 抽出装置の構成を示す。チラーで冷やした液化 CO₂ を、ポンプで CO₂ シリンダーから恒温槽内に 3mL/min で送液した。抽出カラムに亜臨界水処理と凍結乾燥処理を経たニンジン 0.6g とその上下にガラスビーズ 11g を充填して恒温槽内で 80°C に昇温した。CO₂ 圧力は背圧弁によって 40MPa に調整した。一般的にこの温度・圧力のも

図1 超臨界CO₂抽出装置の構成

とでCO₂は超臨界状態になる。この超臨界CO₂により抽出器からβカロテンを2時間かけて抽出した。抽出物は超臨界CO₂に溶解した状態で背圧弁で減圧され、その際にCO₂は気体となるので抽出物は固体や液体として回収器に得られる。得られた抽出物に含まれるβカロテンを全量回収するために、カロテノイドの溶解度が高いジクロロメタン5mLに溶解した。

βカロテンの含有量を逆相HPLCによって測定した。カラムはC30 carotenoid column (250 × 4.6 mm i.d., 5mm, YMC, Kyoto, Japan)、移動相はMTBE/methanol (11:89, v/v)、移動相の流量と温度は1mL/minと40℃とそれぞれ設定した。βカロテンの*cis*異性体を*trans*体から分離し、UV-vis detector (UV-2075 Plus, Jasco Co., Tokyo, Japan)で453nmの検出波長でのピークエリアを元に定量した。βカロテンの*cis*異性体のピークは過去のHPLCリテンションタイムとスペクトルデータをもとに把握した。HPLC分析の前にサンプルはアセトンに溶解させ孔径0.2-μm PTFE フィルターに通し、アセトンに不溶性成分を除去した。

結果と考察

まず、160℃における15, 30, 60分間の亜臨界処理後を比較すると、二硫化アリル添加時には時間が経つほど*cis*βカロテン量が増大することが明らかになった。無添加の場合は、添加した場合よりも明らかに*cis*βカロテン量が少なく、また*cis*βカロテン量が最大となるのは30分処理の場合であった。このため、以後は全て60分間の亜臨界水処理の結果を示す。

図2に60分間の亜臨界処理後のニンジンの外観の変化を示す。図2の上側は二硫化アリルを添加しない亜臨界水処理、下側は二硫化アリルを添加した亜臨界水処理の後のサンプルの状態である。図の左に比較対象として元のニンジンを示した。亜臨界水処理の温度が高いほど、ニンジンの色が黒へと近くなり、特に二硫化アリルを添加しない場合180℃での亜臨界水処理の後は濃い焦茶色になった。

図2のサンプルを凍結乾燥した後に、超臨界CO₂で抽出された抽出物のHPLCによるUV-Vis検出結果の一例を図3に示す。図3上は二硫化アリルを添加して160℃で亜臨界水処理したニンジン、図3中は二硫化アリルを添加せずに160℃で亜臨界水処理

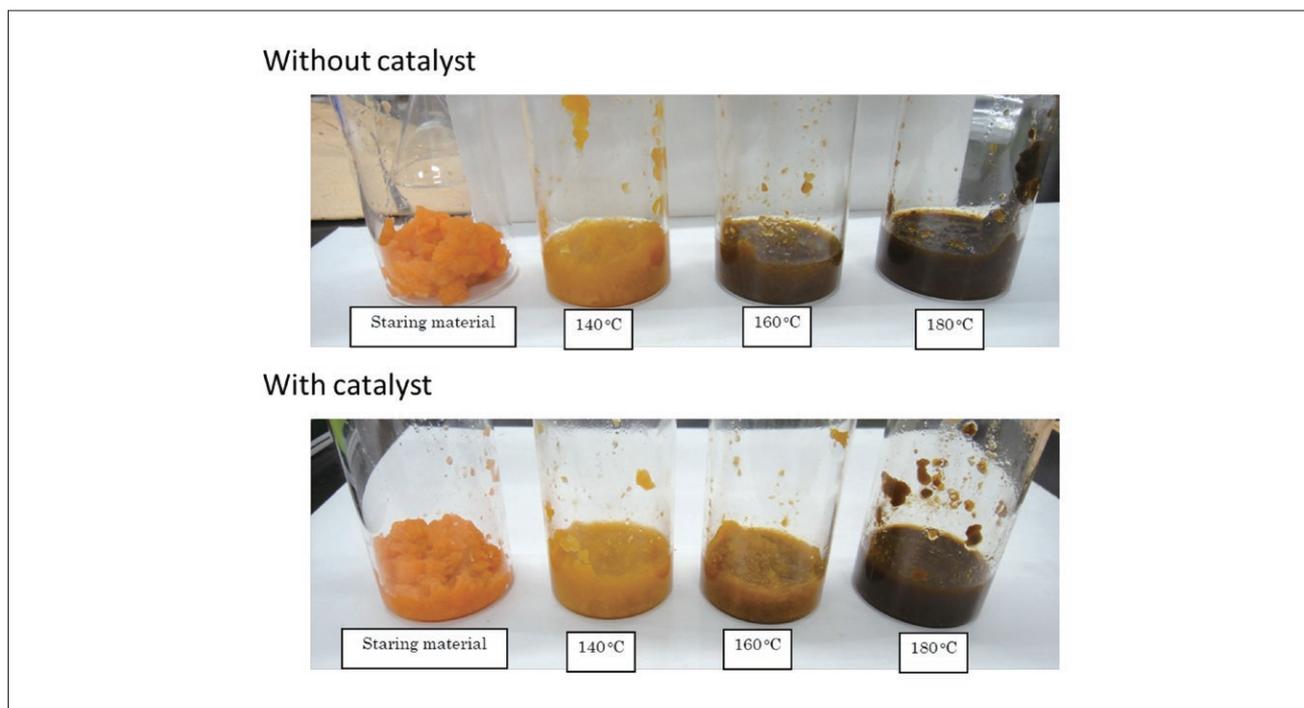


図2 亜臨界水処理によるニンジンの変化

したニンジン、図3下は元のニンジンから、それぞれ超臨界CO₂で抽出されたβカロテンの検出結果である。まず元のニンジンでは *trans* 体と 13-*cis* 体のβカロテンが検出された。これに対して、二硫化アリルを添加して亜臨界水処理した場合には、9-*cis* 体、15-*cis* 体も検出され、さらに全てのβカロテンの検出ピーク強度が増大した。これは抽出物に含まれるβカロテンの濃度が増加したことを意味する。二硫化アリルを添加しなかった場合でも、添加した場合ほどではないが元のニンジンより全てのβカロテンの検出ピーク強度が増大し、抽出物に含まれるβカロテンの濃度が増加したことが裏付けられた。

続いて亜臨界水処理の後に超臨界CO₂で抽出されたβカロテンの総量を図4に示す。図4の総βカロテン量は、HPLC分析で検出された *trans* 体と *cis* 体の全てのβカロテンの量を、原料であるニンジンの重量基準に換算したものである。図より亜臨界水処理によってβカロテンの分解が進み、得られる総βカロテン量が元のニンジンよりも減少したことが解る。特に二硫化アリルを添加した場合には、減少幅がより大きかった。また温度依存性は140～180℃の範囲内では有意にみられなかった。

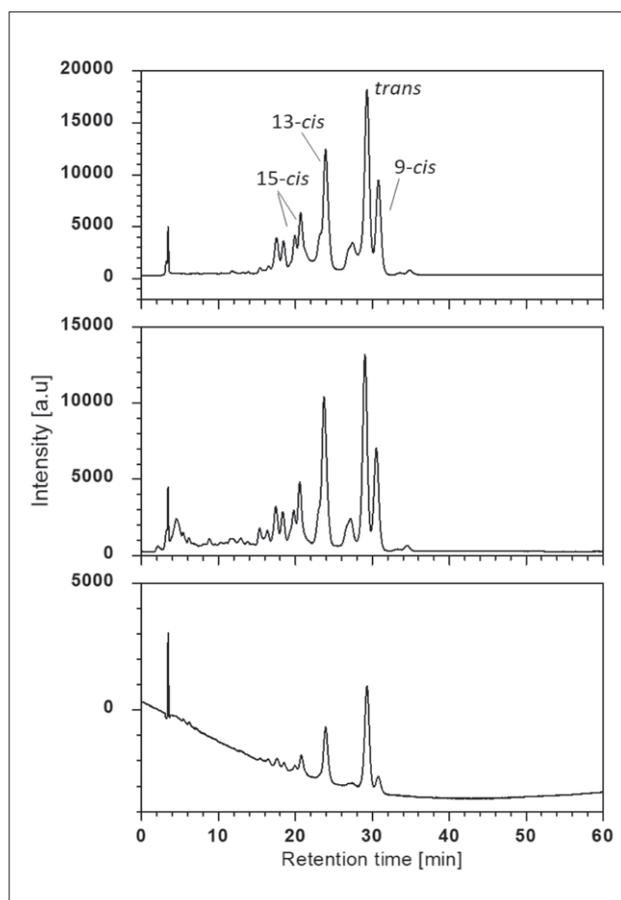


図3 HPLCによるβカロテンの検出結果
(上：二硫化アリルを添加した亜臨界水処理、中：二硫化アリルの添加なし、下：元のニンジン)

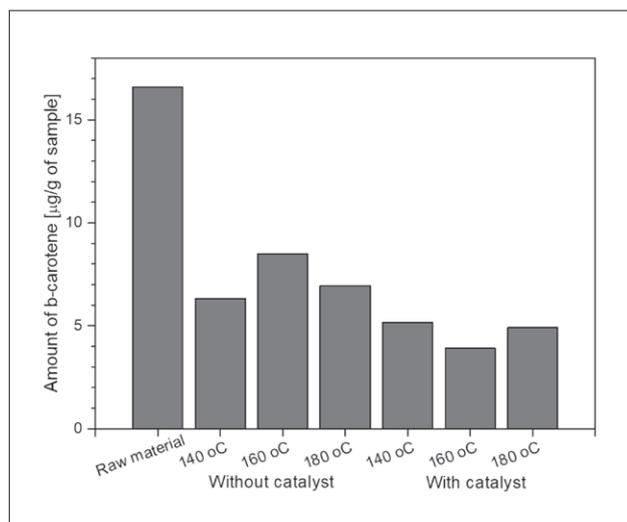


図4 亜臨界水処理と超臨界 CO₂ 抽出により得られた総カロテン量

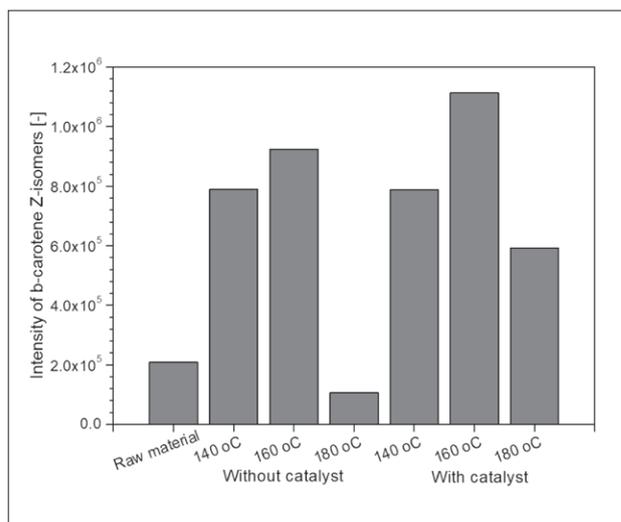


図5 亜臨界水処理と超臨界 CO₂ 抽出により得られた *cis* βカロテン量

最後に、図5に抽出されたβカロテンのうち *cis* 体だけの量を示す。図より、亜臨界水処理により *cis* βカロテンの量は元のニンジンよりも増大し、160°Cで *cis* βカロテン量が最大になることが明らかになった。亜臨界水処理温度が180°Cになると *cis* βカロテンの分解速度も進むことから、*cis* βカロテン量がさほど増加しないことも明らかになった。また、当初の予測の通りに、二硫化アリルを添加した場合には、*cis* βカロテン量が増大することも明らかになった。つまり、亜臨界水処理によってβカロテンの大部分を占める *trans* 体が分解して減少するものの、一部は人体に吸収される *cis* 体へと異性化され、*cis* 体に限れば元のニンジンよりも増大すること、さらに二硫化アリルを添加することによって *cis* 体への異性化が促進され、超臨界 CO₂ に溶解して抽出されることが明らかになった。

結 言

亜臨界水処理するとニンジン中の *trans* βカロテンが熱分解するものの、その一部は人体に吸収可能な *cis* 体へと異性化され、超臨界 CO₂ によって得られる *cis* βカロテン量は増加した。特に160°Cで有機触媒とともに亜臨界水処理した場合に *cis* βカロテン量が最大となった。この結果、二硫化アリルを有機触媒に用いた亜臨界水処理と超臨界 CO₂ 抽出は、有毒な物質を一切使うことなく、人体に吸収可能な *cis* βカロテンをニンジンから取り出す手法として有効であることが明らかになった。

謝 辞

本研究は、公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団の研究助成により実施しました。ここに財団の皆さまと選考委員の先生方に謝意を表します。

Development of an efficient extraction method for natural pigments

Hideki KANDA

Department of Materials Process Engineering, Nagoya University

Natural pigment materials that are harmless to the human body are convenient not only for coloring foods, but also for coloring lipsticks, cosmetics, pharmaceuticals, and baby toys. However, carotenoids, which are natural pigment materials, are in the *trans* form when synthesized by plants. Since *trans*-carotenoids have a high crystallinity, their solubility in various solvents is very low. This low solubility not only results in low absorbability in the living body, but also causes difficulties for industrial handling, such as extraction from plants, emulsification, and micronization. In contrast, carotenoids detected in the human body contain many *cis*-forms. In other words, the amount of *cis*-carotenoids, rather than the usual *trans*-carotenoids, is important for human body absorption.

With this in mind, we considered the fact that previous studies have demonstrated that by heating *trans*-carotenoids with organic catalysts, it is possible to make *cis* isomers with low crystallinity, and thus improve the solubility of carotenoids in organic solvents. However, it is unclear whether the same technique can be applied to the carotenoids contained in plants. In this study, diallyl disulfide, which is capable of promoting isomerization, was added after carrots were ground with a mixer, and heat treatment was performed at 140, 160, and 180°C with subcritical water in a pressure vessel for *cis* isomerization. Afterwards, β -carotene was extracted using supercritical carbon dioxide at 40 MPa and 80°C. The extracted β -carotene was then quantified via HPLC. Subcritical water treatment increased the β -carotene extract and increased the proportion of *cis* isomers. As a result, it became clear that subcritical water treatment at 160°C with an organic catalyst was effective in increasing the amount of *cis*- β -carotene extracted.