

氏 名	い 生 しま 島 ゆたか 豊
授 与 学 位	博 士 (工 学)
学位授与年月日	平成 3 年 10 月 9 日
学位授与の根拠法規	学位規則第 5 条第 2 項
最 終 学 歴	昭 和 57 年 3 月 東北大学大学院工学研究科化学工学専攻 前期 2 年の課程修了
学 位 論 文 題 目	超臨界二酸化炭素による生理活性脂質類の抽出分離に 関する研究
論 文 審 査 委 員	東北大学教授 斎藤正三郎 東北大学教授 高橋 信次 東北大学教授 新井 邦夫

論 文 内 容 要 旨

本論文は、超臨界二酸化炭素の特性を生かした生理活性脂質類をその類似化合物から選択的に抽出・分離する研究を行ったものである。

二酸化炭素の臨界温度は室温付近にあるので、超臨界二酸化炭素は熱的に不安定な溶質を変性することなしに抽出できる上、無毒なので、食品、医薬関連の物質を抽出する場合にも安全に使用できる。

ある種の魚類や植物中には、ドコサヘキサエン酸（以下、DHA 或いは C_{22-6} と記す）のような高度不飽和脂肪酸やトコフェロールのような生理活性脂質類が比較的多く含まれており、その利用に関心が集まっている。しかし、これら生理活性脂質類は、熱変性を受け易い不揮発性化合物であるため変性することなしに抽出することが難しい上、天然物中には生理活性脂質とともに、性質を類する脂質類も多種含まれていることから、生理活性脂質類のみを濃縮分離することは極めて難しい。

そこで、本研究では超臨界二酸化炭素の特性を生かし、天然物から生理活性脂質を濃縮分離する上で極めて重要である脂質類の抽出分離に関してのデータの蓄積とその定量化の研究を行った。論文は全編 7 章より構成されている。

第1章 緒 論

本章では、本研究の意義、問題点、目的、及び論文の構成について述べた。

第2章 既往の研究

本章では、本研究に関する既往の研究について延べ、本論文の立場を明確にした。

第3章 生理活性脂質類とその類似化合物の分離

本章では、超臨界流体クロマトグラフィー（以下、SFCと記す）による混合物からの生理活性脂質の分離効果について検討した。

Fig. 1 (a) に、7 wt%硝酸銀担持シリカゲル充填カラム SFC によるステアリン酸 (C_{18-0})、オレイン酸 (C_{18-1})、リノール酸 (C_{18-2})、リノレン酸 (C_{18-3}) メチルエステル混合物の抽出分離の結果を示した。条件は仕込み試料量 8 g、カラム長 800mm、カラム内径 5 mm、カラム温度 333K である。仕込み試料の C_{18-0} 、 C_{18-1} 、 C_{18-2} 、 C_{18-3} の濃度は、それぞれ 25.1、26.4、32.5、17.0wt% である。

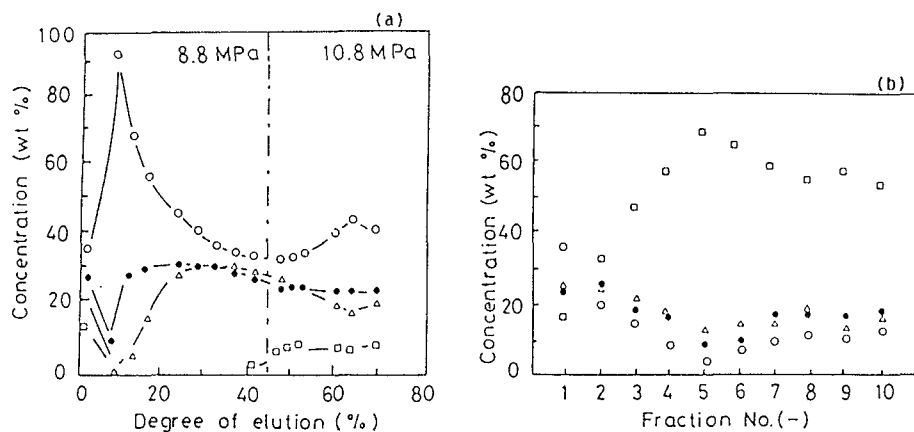


Fig. 1 (a) Change of concentrations of extract on the extraction of a mixture of (○) C_{18-0} , (●) C_{18-1} , (△) C_{18-2} , and (□) C_{18-3} with supercritical CO_2 using 7 wt% $AgNO_3$ supported on silica gel column at a column temperature of 333K. (b) Change of the concentrations during treatment with supercritical CO_2 and ethyl acetate as entrainer at 10.8 MPa following the extraction shown in Fig. 1 (a). Final degree of extraction (at fraction No. 10) is ca. 76%.

である。図より溶出率10%までに C_{18-0} が高濃度で濃縮されることが分かる。特に、溶出率10%付近で最高97wt%に達した。しかし、図から明らかなように C_{18-3} はほとんど溶出してこない。これはカラム内で硝酸銀と付加物を形成しているためである。かくて、 C_{18-3} を何等かの方法で溶離できれば C_{18-3} が高濃度で溶離できるはずである。そこで、本研究では酢酸エチルをエントレーナーとして添加することによる C_{18-3} の溶離を検討した。Fig. 1 (b) は Fig. 1 (a) の実験に引き続いて酢酸エチルを添加したときの脂肪酸組成を示したものである。この結果、 C_{18-3} が70wt%の高濃度で溶出してくるのが分かる。このように、硝酸銀担持シリカゲル充填カラム SFC により、脂肪酸

エステル混合物中から C_{18-3} を高濃度、高収量で分離できる。これにより、本方法を天然物に適用することによっても不飽和度の大きい DHA を C_{18-3} 同様、効果的に濃縮分離できる可能性が示された。

第4章 超臨界二酸化炭素の溶媒特性の定量化

本章では、超臨界二酸化炭素の溶解度パラメーターを推算し、それによる溶媒特性の定量化を計るとともに、分光学的手法を用いて超臨界二酸化炭素の水素結合性について検討した。

熱力学的関係式より超臨界二酸化炭素の溶解度パラメーターを決定した。その値は、圧力増加につれ増加し、温度上昇につれて減少する傾向を示した。

超臨界二酸化炭素の水素結合供与（酸性）の密度依存性について、Kamlet-Taft の α パラメーターを用いて検討した。その結果、Fig. 2 に示したように、密度低下につれて急激に増大し、密度 0.25 g/ml 以上では $\alpha = 0.195$ とアセトニトリルに匹敵する酸性度を有した。超臨界二酸化炭素の水素結合受容（塩基性）の密度依存性については、IR 法によって $B_{M\cdot OD}$ パラメーターを用いて検討したところヘキサンのそれよりも小さく、その塩基性は非常に小さいことが確認できた。

超臨界二酸化炭素の水素結合供与・受容性の寄与が小さいものみなして、IR 法により超臨界二酸化炭素の極性・分極率の π^* パラメーターを求めた。その結果、超臨界二酸化炭素の極性・分極率は密度とともに増大した。

第5章 抽出・分離効果の相関

本章では、超臨界二酸化炭素の溶解度パラメーターによる抽出・分離効果の相関を試み、その相関法が適用できないような抽出・分離作用については超臨界二酸化炭素の相互作用機構を考慮した線形溶媒和エネルギー関係式による検討を行った。

超臨界二酸化炭素中の溶質の溶解度やエントレーナー添加効果については、それぞれ規格化溶解度パラメーター、エントレーナー添加による溶解エ

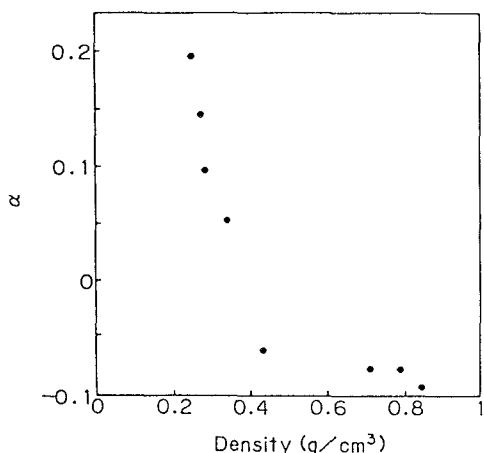


Fig. 2 Plot of α versus density of supercritical CO_2 at 323 K.

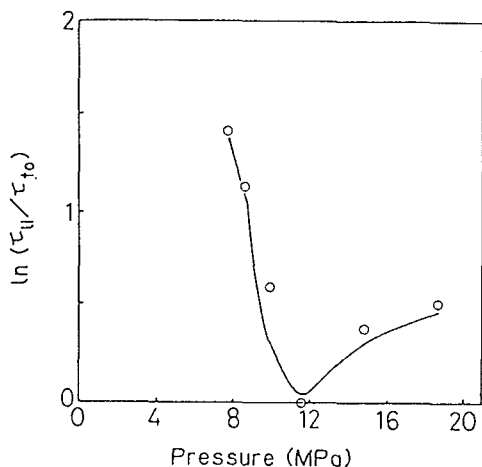


Fig. 3 Correlation of $\ln(\tau_{1i}/\tau_{1o})$ with linear energy relationship for the separation of a mixture of linolenic (subscript li) acid methyl ester and tocopherol (subscript to) using silica gel column with supercritical CO_2 at 323 K. τ represents a retention time. —: best fitted.

エネルギーの変化量によって良好にその作用を相関できることが分かった。しかし、SFC による分離作用については溶解度パラメーターだけでは相関することができなかった。そこで、本研究では4章で求めた超臨界二酸化炭素の溶媒和力を考慮した線形溶媒和エネルギー関係式による相関を行ったところ、Fig. 3 に示したように良好に実験結果を相関できることが分かった。さらに、各々の相互作用機構の分離効果への寄与度について検討したところ、超臨界二酸化炭素の酸性度がSFC分離効果の向上に影響していることが明らかになった。

第6章 天然物からの生理活性脂質の濃縮分離

本章では、イカ油がDHAを多く含んでいる上、価格も安いことから、イカ油を含むイカ内蔵を抽出分離原料として、3章の結果に基づき硝酸銀担持シリカゲル充填カラムSFCによるDHAの濃縮分離を検討した。

Fig. 4 に抽出率と脂肪酸組成、及びカラムからの溶出量と要した二酸化炭素量の関係を示した。溶出初期に硝酸銀と相互作用力の弱い不飽和度の少ない脂肪酸が溶出する一方、DHAは硝酸銀と付加物を形成しカラム内に高濃度で保持される。そこで、14.7MPaに昇圧しDHAを溶出させることにより、原料中に含まれていたDHA量の80wt%を90wt%以上の高濃度で濃縮できた。

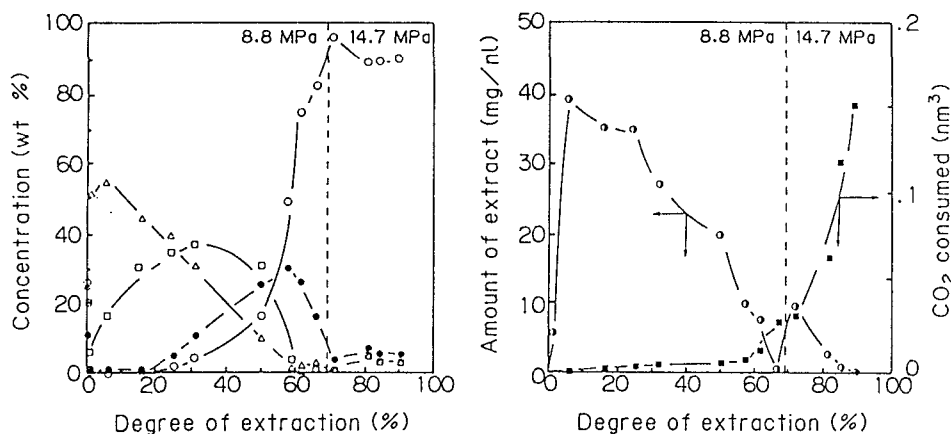


Fig. 4 Change of concentration of fatty acids and amount of extract on the extraction of esterificated squid oil with supercritical CO_2 at a column temperature of 333 K using 7 wt% AgNO_3 supported on silica gel. \circ : C_{20-5} , \triangle : C_{16-0} , \square : C_{18-1} .

第7章 総括

本章では、第3章から第6章までの結果を総括し、さらに今後の課題について述べた。

審査結果の要旨

動植物や菌体等のバイオマス資源中に含まれる生理活性物質の効率的な分離法の開発は工業的にも重要な課題である。例えば、生理活性脂質類であるドコサヘキサエン酸（DHA）やトコフェロールは多種類の性質の類似した物質との混合物として天然に存在し、しかも熱変性を受けやすく、酸化されやすいことから、液体抽出や蒸留等の従来の分離法では濃度が極めて困難である。本論文は、超臨界二酸化炭素の溶媒特性に着目し、それを移動相とした超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）による生理活性脂質類の分離濃縮法を提案し、その分離能の定量的評価法を明らかにしたもので、全編7章よりなっている。

第1章は緒論であり、本研究の意義と目的を述べている。

第2章では既往の研究を調査し、本研究の立場を明確にしている。

第3章は超臨界二酸化炭素を移動相としたSFCによるトコフェロール及び不飽和脂肪酸エステルの分離濃縮に関する実験的研究を行っている。超臨界二酸化炭素抽出のみでは分離が困難なトコフェロールとリノレン酸メチルエステル及びステアリン酸とリノレン酸の各メチルエステルの2成分系モデル混合物を用いて、SFC分離用充填剤の探索を行っている。その結果、前者の分離にはシリカゲルが、後者には硝酸銀担持シリカゲルが有効なSFC充填剤であることを見いだしている。さらに、炭素数が同一で、2重結合数が一つずつ異なるステアリン酸からリノレン酸の各メチルエステルの4成分系混合物を用いて、硝酸銀担持量、圧力や温度条件を変えた実験を行い、これらの条件を調節することにより、不飽和度の最も大きなりノレン酸エステルを効率的に分離出来ることを明らかにしている。

第4章では超臨界二酸化炭素の溶媒特性を定量化するために、溶解度パラメーターの温度、圧力依存性を計算により求めている。さらに、分光学的手法を用いて、溶解度パラメーターでは特定出来ない分極率、ルイス酸性度及び塩基性度の測定を行い、密度依存性を明らかにしている。

第5章では前章で求めた超臨界二酸化炭素の溶媒パラメーターを用いて、第3章のSFC分離実験の分離能の相関法の提案を行っている。分子構造の類似した脂肪酸エステルの混合物のSFCの分離能は各溶質の移動相及び固定相の活量を正則溶液論を用いて、溶質、溶媒及び充填剤の各溶解度パラメーターで表し、これより求まる溶質間の保持力の差により相関し得ることを示している。しかしながら、トコフェロールと脂肪酸エステルの混合物のSFCの分離能は上記の方法では相関が出来ないことを見いだしている。この原因として、両者の分子構造が異なるため、溶解度パラメーターのみでは溶媒溶質間の分子間相互作用の差が明確に表現できないことに着目し、超臨界二酸化炭素の分極率、酸性、塩基性度をさらに線形結合で加えた線形溶媒和エネルギー関係式によってこの系の分離能が相関し得ること及びルイス酸性度が大きく寄与していることを明らかにしている。

第6章は硝酸銀担持シリカゲルを充填剤に用いたSFCによるいか油からのDHAの分離濃縮実験を行い、本研究の実用化を検討している。その結果、原料中のDHAを回収率80%で純度90%以上に容易に濃縮出来ることを述べている。

第7章は結論である。

以上要するに本論文は従来法では分離困難な脂質類の SFC 分離法を提案し、その分離能の定量的相関を行ったもので、化学工学ならびに分離工学に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（工学）の学位論文として合格と認める。