

超臨界二酸化炭素抽出法を用いたブロッコリースプラウトからの  
有価物の回収に関する研究

2022年3月修了 47-196779 王若瑤 指導教員：秋月 信 講師

キーワード：超臨界二酸化炭素抽出、エントレーナ、二相系混合溶媒

1. 緒言

二酸化炭素の臨界点は  $T=31.1^{\circ}\text{C}$ 、 $P=7.38\text{ MPa}$  であり、この温度・圧力を超えると超臨界状態になる。超臨界状態の二酸化炭素の密度は液体の密度に近いため、溶質を溶解する能力が大きく、また拡散係数はガスに近いため拡散性に優れ、抽出分野で多く利用されている。超臨界二酸化炭素抽出法では、対象物を超臨界二酸化炭素と接触させ、異なる成分の溶解度の差を利用して極性、分子量の異なる成分を選択的に抽出することができる。また、抽出後減圧することで、二酸化炭素は迅速に気体状態になるため、抽出物からの分離が容易である。食品からの成分抽出に使う場合に、二酸化炭素抽出法の利点として低温での抽出が可能であり、有機溶媒を使用しないので、製品の安全性が高いことが挙げられる。

二酸化炭素は無極性に近い溶媒のため、極性物質の溶解度が小さく、十分な抽出は困難である。そのような場合、極性の添加物（エントレーナ）を用いることで、溶質の溶解度を高める方法が用いられる。既往研究から、エントレーナの代表として、エタノール、メタノール<sup>[1]</sup>が挙げられる。また近年、エントレーナとして水などの二酸化炭素と混合しないエントレーナを用いた二相系混合溶媒による抽出が提案されている。既往研究ではコーヒー生豆の抽出が検討され、成分のうち、カフェインは超臨界二酸化炭素相および水相の両相に溶解するが、クロロゲン酸は水のみ

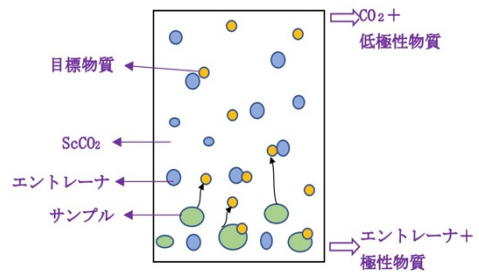


図 1.1 二相系混合溶媒のイメージ

に溶解することが報告されている<sup>[1]</sup>。ブロッコリースプラウトは栄養素が豊富に含まれ、特に二次代謝産物であるスルフォラファンが多く含まれている。スルフォラファンは、抗酸化作用や抗がん作用などの効果を持つことが知られている。ブロッコリースプラウト中の有価物含有量を表 1.1 に示す<sup>[2]</sup>。タンパク質やミネラルやビタミンや植物繊維などの栄養成分が豊富に含まれ<sup>[2]</sup>、さらに高付加価値のスルフォラファンが含まれている。今までのところ、ブロッコリースプラウトからの栄養素の抽出に関する検討例は限られている。

本研究はブロッコリースプラウト中の有価物に注目した。二相系超臨界二酸化炭素抽出法をブロッコリースプラウトの抽出に用いられることで、抗酸化成分を抽出しつつ、二酸化炭素またはエントレーナに溶けるほかの有価物も回収できると考えられる。そのための基礎的検討をして、適切な抽出条件やエントレーナの効果を実験的に解明する必要がある。

表 1.1 ブロッコリースプラウト中有価物の含有量<sup>[2]</sup> (100 g あたり)

水分	脂質	タンパク質	ミネラル	ビタミン	食物繊維 (可溶)	食物繊維 (不溶)	スルフォラファン グルコシノレート
87.4 g	0.7 g	4.7 g	340.15 mg	7.97 mg	0.3 g	1.8 g	424 mg

## 2.研究目的

本研究ではエントレーナを用いた超臨界二酸化炭素抽出法を主な手法とし、ブロッコリースプラウトからの有価物回収に関する基礎的検討を行うことを目的とした。温度、圧力、抽出時間、エントレーナの種類などの条件を変え、条件における抽出物の量と組成を明らかにした。エントレーナとしてエタノールと水を使用した。

## 3.実験方法

実験は図 3.1 に示す実験装置を用いて行った。ブロッコリースプラウトサンプル中の水の影響を排除するために、実験する前に前処理としてオーブンで完全に乾燥させた。乾燥後のサンプル 1.50g を秤量し、反応器に入れ、二酸化炭素とエントレーナを流して抽出した。温度は予熱部と反応器をオーブンに入れることで制御し、圧力は背圧弁により制御した。抽出物と溶媒の混合物を得た後、ロータリーエバポレーターを使い、溶媒を完全蒸発させ、抽出物を得た。抽出率は、総サンプルの質量に対する抽出物の質量の比率から計算された。抽出物の抗酸化成分の分析は DPPH レジカル消去法<sup>[3]</sup>で行い、TEAC（抗酸化活性）はサンプルおよび標準物質である Trolox が DPPH ラジカルを 50%消去する濃度(IC<sub>50</sub>)を基準として算出した。タンパク質の測定は Bradford 法<sup>[4]</sup>、糖類の測定はフェノール硫酸法<sup>[5]</sup>で行なった。

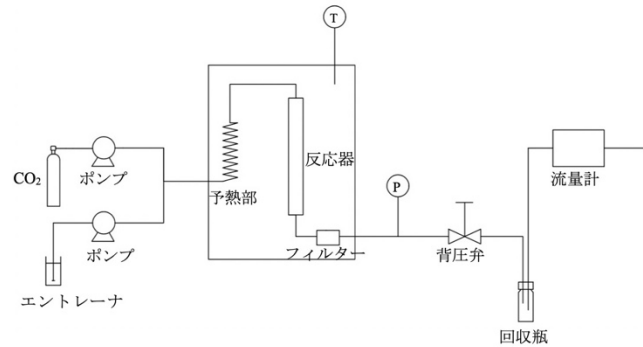


図 3.1 実験装置

研究においては、まず超臨界二酸化炭素を溶媒として実験を行い、続いてエントレーナを二酸化炭素に加えた条件で実験を行い、結果を比較した。また、異なる条件で得られた抽出物を比較することにより、有価物の分取の可能性を検討した。

各実験の条件を表 3.1 に示す。

表 3.1 各実験の条件

	溶媒	温度(°C)	圧力(MPa)	CO <sub>2</sub> 流量 (ml/min)	エントレーナ 流量(ml/min)	抽出時間
1	CO <sub>2</sub>	40~60	12 MPa	1.5	-	1h
2	CO <sub>2</sub>	40	12~18 MPa	2	-	1h
3	CO <sub>2</sub> +エタノール	40	12 MPa	2	0.2~1	1h
4	CO <sub>2</sub> +エタノール	40	12~16 MPa	2	1	1h
5	エタノールのみ	40	12 MPa	-	1	1h
6	CO <sub>2</sub> +水	40	12 MPa	2	0.02~1	15min

## 4.実験結果と考察

抽出実験からの抽出物は、溶媒と一緒に回収された。エタノールを使用した場合（図 4.1A）と水を使用した場合（図 4.1B）の写真が示す。

### 4.1 抽出率

#### 4.1.1 CO<sub>2</sub> のみの抽出率

まず二酸化炭素のみを溶媒として実験を行った。結果

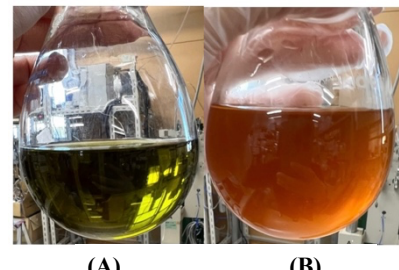


図 4.1 抽出物+溶媒の写真

を図 4.2 に抽出率の圧力依存性を示す。図 4.3 には、抽出率の温度依存性を示す。圧力を上昇すると抽出率が高くなった。温度に変化させた場合、40℃から 50℃の範囲で、温度が上昇すると収率が下がった。実験結果により、圧力は温度よりも収率に大きな影響を与えた。つまり、CO<sub>2</sub>のみを抽出に使用する場合、密度が高いほど抽出率が高い。原因として、密度の増加により CO<sub>2</sub>への溶解度が増大すると考えられる。

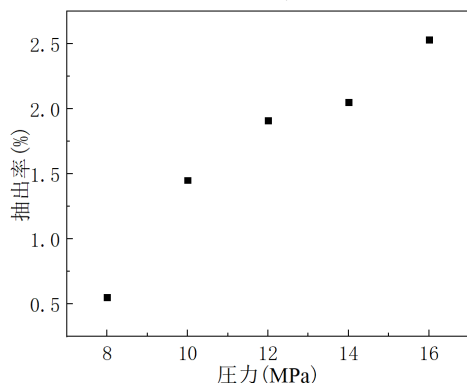


図 4.2 抽出率の圧力依存性 (CO<sub>2</sub>のみで抽出)

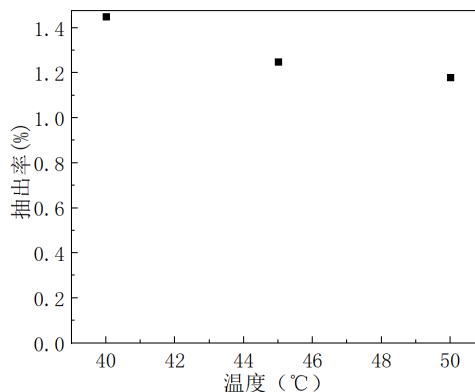


図 4.3 抽出率の温度依存性 (CO<sub>2</sub>のみで抽出)

#### 4.1.2 CO<sub>2</sub>+エタノールの抽出率

エントレーナとしてエタノールを用いた実験を行った。図 4.4 にエタノール流量/CO<sub>2</sub> 流量の抽出率依存性を示す。結果を見れば、エタノールの流量/CO<sub>2</sub>の流量=0.5 の場合、抽出率が最も高い。そこで、エタノールの割合の増加に伴い抽出率が上昇したことがわかった。CO<sub>2</sub>のみを溶媒として用いた場合の結果との比較することにより、エタノールを用いた場合の抽出率が大幅に上昇した。さらに、エタノールの割合が多いほど、抽出率が高い。しかしながら、100%のエタノールを使用した場合、抽出率が 19.72%に達し、エタノールの流量/CO<sub>2</sub>の流量=0.5 の場合より低い。

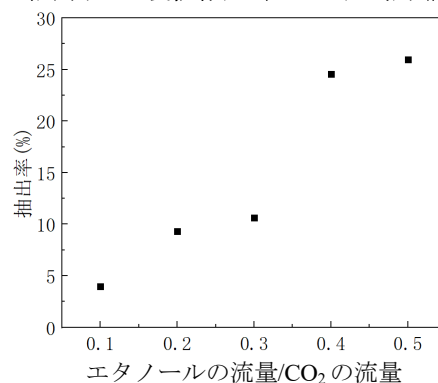


図 4.4 抽出率のエタノール : CO<sub>2</sub> 依存性

#### 4.1.3 CO<sub>2</sub>+水の抽出率

エントレーナとして水を用いた二相系の条件で、反応の進行に伴い、含水率が高くなったサンプルが、溶媒に圧縮され続けることにより、反応器出口のフィルターで詰まり、圧力が急速に上昇した現象が見られた。水の流量/CO<sub>2</sub>の流量=0.5 の場合に、抽出時間は約 20 分で詰まりが発生し始め、圧力が急激に上昇した。正確なデータを測定するために、実験の抽出時間が 15 分とした。

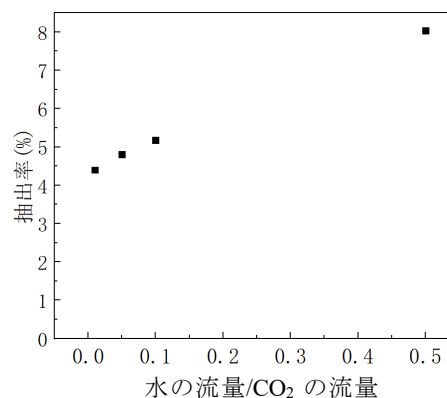


図 4.5 抽出率の水 : CO<sub>2</sub> 依存性

実験結果は図 4.5 に示す。水の割合が与える影響を検討した結果とし、水の割合が多い場合に、高い収率を得ることができた。CO<sub>2</sub>のみを溶媒として用いた場合の結果との比較することにより、水をエントレーナとして用いた場合は、より高い抽出率が得られた。また、エタノールをエントレーナとして使用した場合と比較することにより、水をエントレーナとして使用した場合の抽出率のエントレーナ流量/CO<sub>2</sub>流量依存性が小さいことがわかった。

## 4.2 抽出物の組成

溶媒を完全蒸発された後の CO<sub>2</sub>のみによる抽出物は図 4.6(A)に示すように黄色の油状物

であった。また、エタノールをエントレーナとして用いた場合の抽出物は図 4.6(B)の示すように緑の固体と暗緑色の流動性物質が存在している混合物であった。一方、水をエントレーナとして用いた場合の抽出物は図 4.6(C)の示すように赤茶色の固体であった。

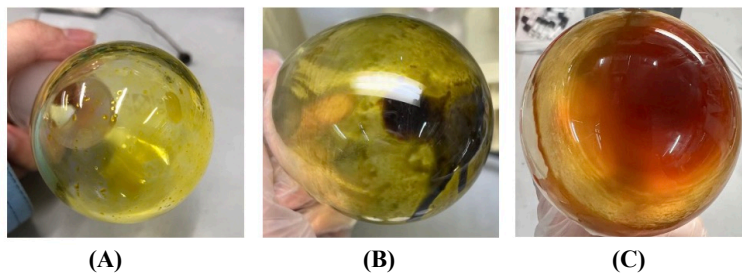


図 4.6 抽出物の写真

抗酸化性と抽出物中のタンパク質と糖類の濃度を表 4.1 に示す。濃度では抽出物全体の重量を 100%とした時の濃度である。エントレーナが添加した場合に、割合が 0.5 のサンプルを採取して測定した。

表 4.1 抽出物の測定結果

	CO <sub>2</sub> (12 MPa)	CO <sub>2</sub> + エタノール (12 MPa)	CO <sub>2</sub> + エタノール (14 MPa)	CO <sub>2</sub> +水 (12 MPa)	CO <sub>2</sub> +水 (14 MPa)	エタノール (12 MPa)
蛋白質	0.74%	1.83%	1.88%	4.80%	4.99%	1.6%
糖類	3.42%	5.45%	6.54%	10.78%	10.62%	5.09%
TEAC	0.40	0.97	0.97	0.55	0.52	0.47

CO<sub>2</sub> から得られた抽出物は、いずれも含有量が比較的少ない。その原因は無極性物質やビタミンなどの二酸化炭素に溶けやすい成分が含まれていると考えられる。CO<sub>2</sub>+エタノールを使う場合、エタノールの流量/CO<sub>2</sub>の流量=0.5 までエタノールの流量が高いほど抽出率が高いが、エタノールのみを使用した場合、抽出物中の抗酸化物質、タンパク質、糖類の含有量はすべて減少した。一方、水をエントレーナとして使用した場合、抽出物中のタンパク質と糖類の含有量が高いが、抗酸化活性が低下した。原因として、CO<sub>2</sub> とエタノールは無極性に近い溶媒のため、無極性の抗酸化成分がとけやすい、水は極性溶媒のため、ほかの極性物質に溶けやすいことが考えられる。

## 5.結言

本研究では、ブロッコリースプラウトを対象とし、超臨界二酸化炭素抽出法で有価物を抽出について検討を行なった。異なる条件における抽出物の量と組成を測定することにより、特にエントレーナとしてのエタノールと水の効果を検討した。

CO<sub>2</sub> を用いてブロッコリースプラウトからの有価物抽出が可能であり、溶媒を調整することで、成分が異なる抽出物が得られる。したかつて、エントレーナとしてタンパク質と糖類の抽出に有効で、エタノールをエントレーナとして抗酸化成分の抽出に顕著的効果が見られた。また、抽出率を増加させることを目的としたプロセスの最適化を検討しつつ、有価物の抽出および精製プロセスを継続的に調査および最適化することが期待できる。

## <参考文献>

- [1] 高压二酸化炭素・水混合流体による抽出分離 高压力の科学と技術 Vol. 25, No. 3 (2015)
- [2] 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂)
- [3] Applicability of the DPPH Assay for Evaluating the Antioxidant Capacity of Food Additives – Inter-laboratory Evaluation Study. T. Shimamura et al. Anal. Sci. 2014, 30, 717 - 721
- [4] TaKaRa Bradford Protein Assay Kit. <http://www.takara-bio.co.jp/>
- [5] 還元糖の定量法 (福井作蔵 著, 東京大学出版会)