

(第16回) 2020年度・研究助成報告

研究題名	凍結噴霧乾燥による非加熱プロセスを利用した機能性食品粉体の設計
研究期間	2020年4月1日～2022年3月31日
研究機関・所属 研究者名	大阪医科薬科大学・薬学部 門田 和紀

1. 2020 (2021) 年度研究成果の概要

本研究では、従来の凍結乾燥および熱処理を要する噴霧乾燥法の性質を併せ持つ、凍結噴霧乾燥法を用いて、機能性粉体の作製を試みた。特に、近年高齢化社会に伴い、医療費削減の一つの施策として、政府は2015年に機能性表示食品制度を導入し、セルフメディケーションを推進させており、その中で注目されるポリフェノール類の難溶性および水易溶性粉体の開発が望まれている。さらに、そのポリフェノール類は酸化しやすいなどの問題点がある。そこで、ターゲットとなる化合物を分散させるキャリア粒子として、水への溶解性が極めて高い、数種類の糖類を用いて凍結噴霧乾燥法により粉体を作製したところ、その操作条件および糖類等の種類によって、様々な粒子形態が作製された。そこで、その1つである多糖類にモデル物質として、フラボンを使用し複合粒子を作製したところ、水への溶解性を改善させることが可能となった。調製した複合粒子は、多孔質粒子となることが確認されたが、その使用した糖類の分子量を変化させることで、多孔質粒子の細孔径が変化した。

2. 助成期間内での研究成果の概要

1. はじめに

ポリフェノール類が持つ抗酸化作用は、活性酸素を除去する作用を持つため、様々な病気に対抗する力やアンチエイジング効果が期待されているとされ、その生理活性を含めて多くの研究が進められている。ポリフェノール類の中には、水への溶解性が低いものが多く存在しているため、様々な生理活性の研究が進みながらも、食品（サプリメントなど）で実際に製品化された例は限られている。従って、難溶性物質が水に容易に溶解/分散できる技術の確立は、更なる機能性食品の開発と普及へとつながるため期待されている。水難溶性物質の溶解性を改善した粉体作製のためには2つのプロセスが必要である。1つ目は難溶性成分の可溶化処理、2つ目はその粉末化処理である。これまで、先行研究では熱的負荷を要する噴霧乾燥プロセスを利用されてきたが、熱による分解や酸化といった問題点が挙げられる。そこで本検討では、熱的処理を利用しない凍結噴霧乾燥法を用いて、ポリフェノール類の糖への非晶質粒子を作製し、水易溶性粉体の作製について検討した。

2. 実験方法

2.1 使用化合物

本検討内においてフラボン(Flavone, Sigma Aldrich 製)をモデル物質として使用した。また、糖には、乳糖(富士フィルム和光製)、分子量が異なる 3 種類のデキストラン(Dextran40, 70, 200, 東京化成製)および高分子多糖類であり食品添加剤としても使用されている高度分岐環状シクロデキストリン (Highly branched cyclic dextrin: HBCD, 江崎グリコ製)を使用した。

2.2 凍結乾燥法による粒子の調製

各デキストランを溶質濃度が 10%(w/v)になるよう、水へ溶解し、凍結装置 (PFR-1000、東京理化工械) を用いて -40°C で 2 時間凍結し、その後約 2Pa で 24 時間凍結乾燥(FDU-830、東京理化工械)を行った。また、フラボンを含む凍結乾燥粒子の調製は、フラボンとデキストラン(割合: 1/10,w/w)(濃度: 10%(w/v))を *tert*-ブタノールと水(15/85, v/v)に溶かし、上記と同様の条件で行った。

2.3 凍結噴霧乾燥法による粒子の調製

Fig. 1 に凍結噴霧乾燥装置の概略を示す。まず、糖類で分子量の違いによる作製粒子への影響について調べるために、デキストラン 40、70、200 を使用した。異なる溶質濃度(5%, 10%, 20%) (w/v)で各デキストランを水に溶解させ、凍結噴霧乾燥粒子を調製した。送液流速は 5 mL/min、圧縮空気は 10、15、20 L/min の流速で噴霧した。容器内の凍結液滴は、凍結乾燥機を用いたて一次乾燥した後、 $1.56^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度で 25°C まで徐々に昇温し、その後 12 時間以上 25°C を維持した。また、フラボンを含む凍結噴霧乾燥粒子の調製は、フラボンとデキストラン(割合: 1/10,w/w)(濃度: 10%, w/v)を *tert*-ブタノールと水(15/85, v/v)それぞれに溶かし、上記と同様な条件で行った。

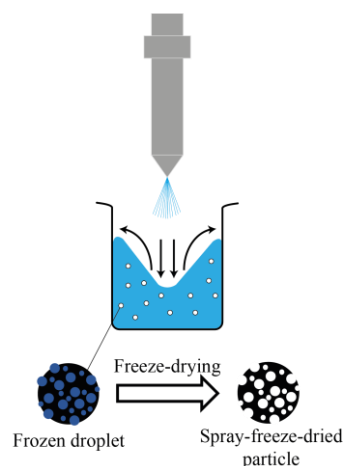


Figure 1 Schematic diagram of spray-freeze-drying process

2.4 粒子物性評価

作製した粒子について、電子顕微鏡(Miniscop TM3030)により粒子形態および表面状態について観察した。粉体物性として、かさ密度、タップ密度、Carr's index、Hausner ratio、水分含有量、比表面積を評価した。さらに、粉末 X 線回折装置により、作製粒子の結晶構造についても評価した。

2.5 溶出試験

フラボンの溶出挙動は、37°Cの振盪水浴を用いて測定した。各粉体を 2.0 mg 相当のフラボン総量を保つように計量し、100 ストローク/分の振盪速度で 30 mL リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (pH 7.4) に溶出した。0.5, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 分後に試料を採取し、孔径 0.22 μm の PTFE 膜でろ過した後定量した。

3. 結果および考察

3.1 分子量が異なる3種のデキストランによる凍結噴霧乾燥品

例としてデキストラン 40 を用いて異なる溶質濃度で作製した凍結噴霧乾燥品の SEM 写真を示す (Fig. 2)。作製した粒子の空隙間の相関関係について、以下の式を用いて計算したところ、その架橋長さは実験値と同様の傾向を示した (Fig. 3)。それ以外のデキストランについてもほとんど同様の傾向を示した。

$$g(r) = \langle [h(\vec{x}) - h(\vec{x} - \vec{r})]^2 \rangle$$

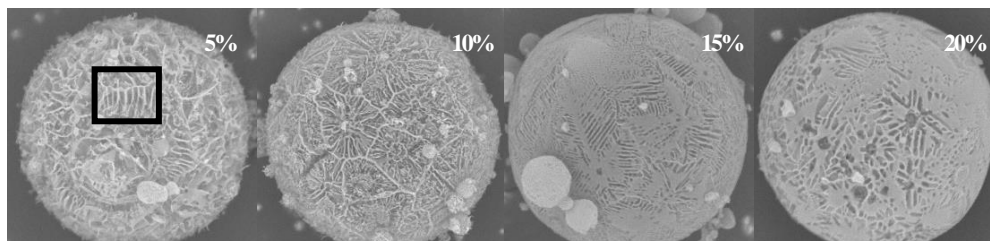


Figure 2 SEM images of Dextran 40 powder prepared by spray freeze drying under different concentration.

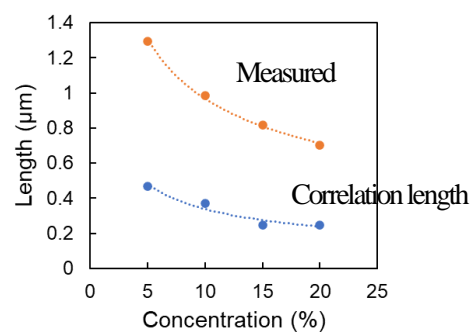


Figure 3 Correlation length underestimates pore width

3.2 高分子多糖類をキャリアとして作製したフラボン粒子

凍結噴霧乾燥前の前駆液について、HBCD 濃度を変化させて作製した粒子の SEM 写真を Fig. 4 に示す。前駆溶液の濃度が上昇するにつれて、中空粒子から中実粒子となっていることが確認できる。また、噴霧流速を上げると、液滴サイズが小さくなり、作製粒子が小さくなることも確認された (Table 1)。

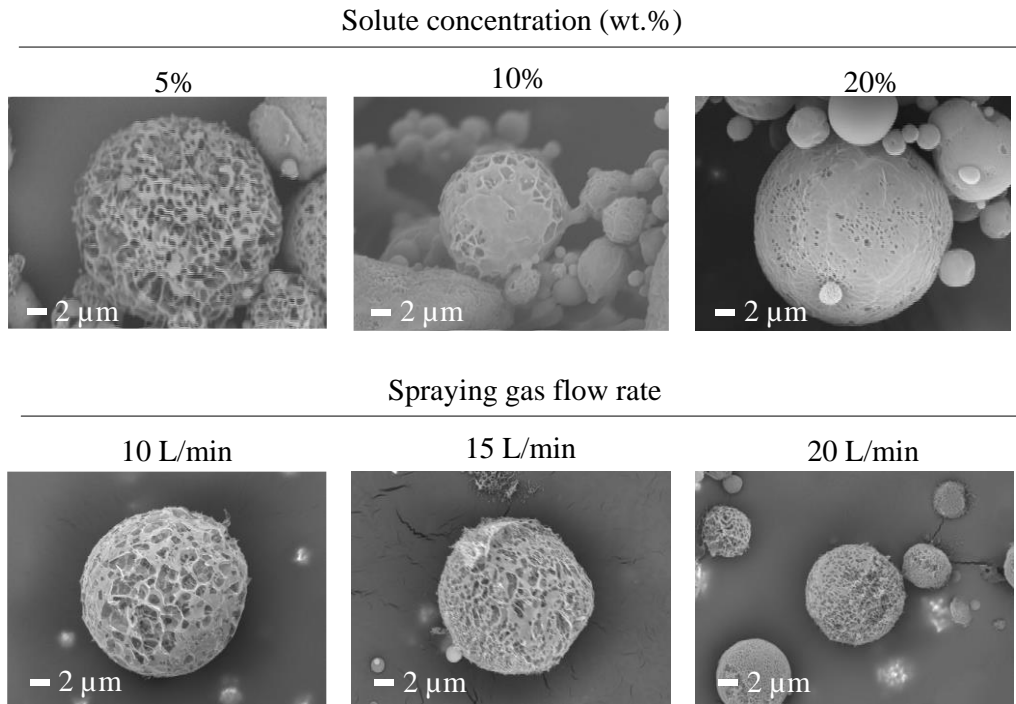


Figure 4 SEM images of spray-freeze dried highly branched cyclic dextrin particles. Adjustments in solute concentration and spraying gas flow rate were done.

Table 1 Particle size distribution of highly branched cyclic dextrin particles prepared via spray-freeze drying. Adjustments in flow rates of precursor feed and spraying gas were done.

Spray-freeze-drying parameter		Dry particle size (μm)		
Precursor feed flow rate (mL/min)	Spraying gas flow rate (L/min)	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
2	10	11.5	37.8	68.2
2	15	8.77	28.5	55.4
2	20	9.28	27.7	55.4
5	10	12.8	43.2	79.4
5	15	8.97	28.9	55.1
5	20	7.24	23.7	45.6

そこで、難溶性の化合物であるフラボンを用いて、HBCD を賦形剤として凍結噴霧乾燥粒子を作製した。この際、比較対象とするために凍結乾燥粒子についても作製した。Fig. 5 に作製した粒子の SEM 画像を示す。フラボンを含有した HBCD は、フラボン無の HBCD 噴霧乾燥粒子と比べ、球形構造が壊れているものが多く存在したものの、多孔質粒子を

維持していることが確認できる。そこで、水への溶解性について確認するために、溶出試験を実施した(Fig. 6)。噴霧凍結乾燥で作製した粒子は、凍結乾燥粒子と比べても溶出速度および溶解度が上昇していることが確認された。これは、凍結乾燥によりフラボンがHBCD中に非晶質で分散し、さらに噴霧したことで非表面積が増大したためであると考えられる。

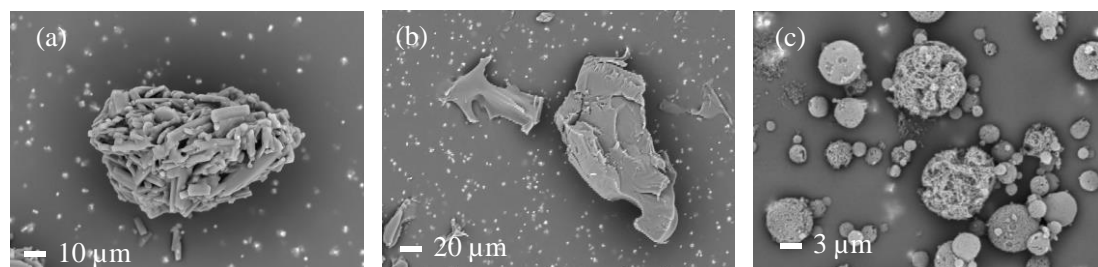


Figure 5 SEM images of (a) untreated flavone, (b) freeze dried composite of flavone and highly branched cyclic dextrin, and (c) spray-freeze dried particles of flavone and highly branched cyclic dextrin.

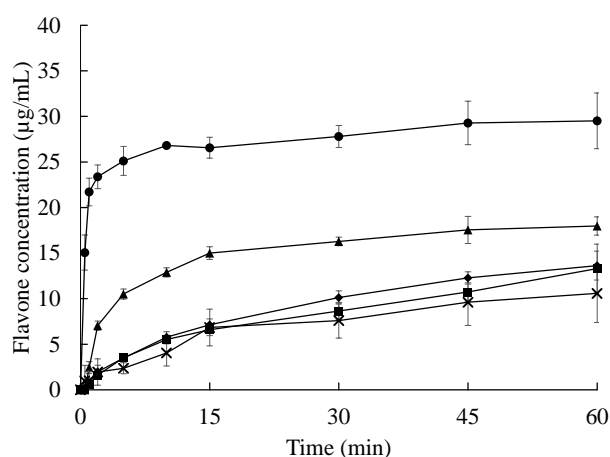


Figure 6 Dissolution behavior of (×) untreated flavone, (■) spray-freeze dried flavone, (◆) physical mixture of flavone and highly branched cyclic dextrin, (▲) their composite freeze-dried particles, and (●) composite spray-freeze dried particles.

4. まとめ

本研究において、凍結噴霧乾燥法により、糖を用いて中空粒子の作製が可能となった。特に分子量の異なるデキストラン粒子を用いてその粒子構造に関する濃度が及ぼす粒子形態に関する解析を実施した。

さらに、モデル物質として水への溶解性が低いフラボンを用いて、機能的食品添加剤として利用されている高分子多糖類の高度分岐環状シクロデキストリンと噴霧することで、水への溶解性が高い粒子を作製することが可能となった。今後、この凍結噴霧乾燥法については、その粒子生成メカニズムを数理的に明らかにすることでより他のポリフェノール類等機能的表示食品やサプリメント開発に有用な方法として検討することが期待できる。

最後に、本研究に対しまして助成を賜りました粉体工学情報センターの関係者各位に深く御礼申し上げます。

3. 研究発表

【学会発表】

1. Jun Yee Tse, Gentaro Nemoto, Hiromasa Uchiyama, Kazunori Kadota, Yuichi Tozuka, Composite spray freeze-dried particles for functional food with improved dissolution properties by enhanced water dispersibility, 8th Asian Particle Technology Symposium APT 2021, 2021/11 Osaka (Japan)
2. 門田 和紀、謝 晉頤、根本 源太郎、内山 博雅、戸塚 裕一、凍結噴霧乾燥法による医薬品含有の高分子多糖類微粒子調製及び物性評価、化学工学会第 86 年会、2021/3、オンライン開催
3. 大家星利奈、内山博雅、門田和紀、戸塚裕一、カテキンの渋味を抑制したゼリー製剤の設計と評価、日本薬学会第 142 年会、2022/3、オンライン開催