

目次

第1章 緒言	1
1.1 研究の背景	1
1.1.1 ベシクルとその応用	1
1.1.2 両親媒性物質が水中で作る自己組織体	2
1.1.3 ベシクルの調製法	3
1.2 本研究の目的	4
1.3 研究計画	5
1.4 参考文献	5
第2章 化学添加物法によるラメラ-ベシクルの液晶転移	8
2.1 緒言	8
2.2 実験	10
2.2.1 試薬	10
2.2.2 測定	11
2.2.3 DEAE ラメラ液晶の確認	12
2.2.4 化学物質の添加によるラメラ-ベシクル転移の発現	12
(1) DEAE ラメラ液晶に対する無機塩の添加効果	13
(2) DEAE ラメラ液晶に対する有機物の添加効果	13
(3) DEAE ラメラ液晶に対する有機物と無機塩の添加効果	13
2.3 結果と考察	16
2.3.1 DEAE の物性	16
2.3.2 DEAE に対する化学添加物の効果	20
(1) DEAE ラメラ液晶に対する無機塩の添加効果	20
(2) DEAE ラメラ液晶に対する有機物の添加効果	31
(3) DEAE ラメラ液晶に対する有機物と無機塩の添加効果	36
2.3.3 ラメラ-ベシクル転移	40
(1) 転移メカニズム	40
(2) 無機塩・有機物の添加順を変えた場合	49
(3) 協同効果と添加物の影響	52
(4) ラメラ-ベシクル転移とその可逆性	64
2.4 本章のまとめ	71
2.5 参考文献	72

第3章 ラメラベシクル転移におけるエネルギー変化の熱力学的試算	74
3.1 緒言	74
3.2 熱力学的パラメータの算出理論	76
3.3 結果と考察	79
3.3.1 ラメラベシクル転移におけるギブス自由エネルギー変化	79
3.3.2 ギブス自由エネルギー変化と可溶化現象	82
3.3.3 ギブス自由エネルギー変化と二分子膜の振動	85
3.3.4 ラメラベシクル転移におけるエンタルピー及びエントロピー変化	87
3.3.5 ラメラベシクル転移の駆動力	92
3.4 本章のまとめ	94
3.5 参考文献	95
第4章 ベシクル系三相乳化エマルションの調製とその吸着特性	96
4.1 緒言	96
4.2 エマルションの吸着理論	98
4.3 実験	101
4.3.1 試薬	101
4.3.2 測定	102
4.3.3 エマルションの調製	103
4.3.4 吸着試験	103
4.4 結果と考察	106
4.4.1 固体基板に対するベシクルの吸着	106
4.4.2 固体基板に対するエマルションの吸着	108
4.4.3 固体基板に対するエマルションの吸着等温線	112
4.4.4 固体基板に対する三相乳化エマルションの吸着メカニズム	117
4.4.5 固体基板に対する三相乳化エマルションの表面被覆率	119
4.5 本章のまとめ	121
4.6 参考文献	122
第5章 結論	124

謝辞

第1章 緒言

1.1 研究の背景

1.1.1 ベシクルとその応用

生体膜の構成に重要な役割を果たしているリン脂質は、細胞膜の構成成分として知られ、その分子内に親水基と疎水基を持ち合わせた二鎖型の両親媒性物質である。リン脂質を水中で分散させると球状の自己組織体(閉鎖小胞体)を形成することが、Banghamらによって1965年に初めて報告された^[1]。この組織体はリポソーム(liposome)と呼ばれており、細胞膜と類似の構造を持つ人工的な脂質膜小胞体である。その後の研究において、リン脂質に限らず合成で得られた様々な新規両親媒性有機化合物であっても、リン脂質と同様の閉鎖小胞体を形成することが報告された^{[2]-[6]}。このような両親媒性物質が水中で形成する閉鎖小胞体は、一般的にベシクル(vesicle)と呼ばれている。すなわち、ベシクル形成はリン脂質固有の現象ではないことが明らかになっている。

近年、有用な薬理効果を持つ薬剤が、短期間の内に見出されるようになった。しかしながら、強力な薬理効果を有する薬剤であっても、生体内への吸収率が低く、速やかに生理的分解を受ける場合も多い。そこで、薬剤を目的部位に送り届け、その放出速度を制御する機能を持つ新しい概念が、Al-Raziによって提唱された^[7]。これをドラッグデリバリーシステム(Drug Delivery System, DDS)と呼び、生体内における薬剤の動きを精密にコントロールすることができる新しい投与形態である。ベシクルは、生体膜のモデル膜として基礎的な研究がなされると同時に、応用研究としてもすぐにドラッグデリバリーシステムのキャリアーとしての役割が期待された^{[8]-[10]}。その理由として、ベシクルは内部に水相と二分子膜の球状小胞体構造を持っているため、水溶性または油溶性の薬剤を二分子膜中に包含させることができるので、ベシクル中に様々な有効成分を保持させることができるからである。

例えば、期待されるベシクルの機能として、直接投与すると重篤な副作用を引き起こすような薬剤である場合、これらの薬剤をベシクル中に内包することで、生体膜と直接接触することを避けることができる。また、体内で不安定な薬剤である場合であっても、それらをベシクル中に内包することで、薬剤が目的とする臓器まで到達することが期待される。しかしながら、現実的にはベシクルの最大の欠点は、生体中のみならず溶液中でも構造的に非常に不安定であることである。そのため、現今まで医学に実用化された市販品はほとんどないのが現実である^{[11]-[13]}。

1.1.2 両親媒性物質が水中で作る自己組織体

有機分子性結晶は、温度や圧力変化によって、サーモトロピック(thermotropic)液晶を生じる。一方、親水基と疎水基を共に保持している両親性物質は適切な操作によって水和するが、このとき水中で液晶状態が出現する。このような液晶は、リオトロピック(lyotropic)液晶と呼ばれており、両親媒性物質の濃度や温度に依存することが知られている。両親媒性物質が水中で作る自己組織体は、水に対する溶解性の違いによって次のように分類することができる^{[14]-[21]}。

1) 水溶性両親媒性物質

水溶性両親媒性物質は、水に溶解し、その濃度によって溶存状態が変化する。低濃度のときは、種類によらず両親媒性物質は単分散状態で水に溶解する。そして界面に吸着して、表面張力や界面張力を下げ、界面状態を熱力学的に安定化するように作用する。濃度が増加すると、約 50 から 100 個程度の分子が、親水基を外側へ向け疎水基を内側へ向けた球状の正ミセル(normal micelle)と呼ばれる会合体を形成する。この会合体形成濃度を境にして、界面活性剤水溶液の電気伝導度・表面張力・光散乱度・浸透圧等は急激な変化を示す。そしてさらに濃度が増加すると、ミセルは棒状やひも状と呼ばれる分子会合数の大きな構造を形成するようになる。両親媒性物質は棒状ミセルが六方晶に配列したヘキサゴナル液晶、二分子膜が層状に配列したラメラ液晶へと変化していく。このような相転移を引き起こす両親媒性物質の分子構造は一鎖型であることが多く、二鎖型であってもその鎖長が短いことが多い。

2) 難水溶性両親媒性物質

難水溶性両親媒性物質は安定な二分子膜を形成し、炭化水素部位が融解する温度 T_m (この温度はゲル-液晶転移点と呼ばれる) 以上でラメラ液晶を形成することが知られている。さらに加熱すると、キュービックやヘキサゴナル液晶を形成することもある。一方、ラメラ液晶を T_m 以下まで冷却すると、二分子膜の炭化水素部位が固化し、水和ゲル相が形成される。このような相変化を示すのも難溶性の両親媒性物質の特徴である。また、適切な温度範囲において、この難溶性両親媒性物質はその量に依存せずに定常的なベシクルを形成することも知られている。その際、ベシクルを形成するためには、系内に機械力等の外部エネルギーを付与する必要がある。このような特徴を持つ両親媒性物質の分子構造は、長鎖の二鎖型であることが多い。

1.1.3 ベシクルの調製法

1965年に Bangham らがベシクル形成を見出して以降、再現可能なベシクル調製法の開発に関心が持たれるようになり、その調製法が報告されている。そして、粒度分布や安定性といったベシクルの物理的性質は、その調製法に依存することが知られている。以下は、報告されている代表的なベシクル調製法の例を示す。

1) 薄膜法 (thin layer method)

薄膜法は、Bangham らが 1965 年に発表してから今日に至るまで、ベシクル調製法の基本となっている^[1]。両親媒性物質を適当な揮発性有機溶媒中へ溶解させ、その後容器中の有機溶媒を除去すると、容器底部に薄膜を形成する。この薄膜に水を添加すると、薄膜は水和・膨潤し、多重層ベシクル (multilamellar vesicle, MLV) が形成する。

2) 超音波法 (sonication method)

薄膜法にて調製した多重層ベシクルに対し、さらに超音波を照射すると、単一膜ベシクル (small unilamellar vesicle, SUV) が得られる。Papahadjopoulos らは、リン脂質分散液を超音波処理すると、約 50 nm のベシクルを形成することを報告した^[22]。しかしながら、系に対し膨大な外部エネルギーを必要とし、エネルギーの散逸に伴いベシクルの不安定化が起こるという問題点がある^[10]。

3) フレンチプレス法 (French process extrusion method)

薄膜法にて調製した多重層ベシクル (MUV) をフレンチプレスに入れ、細かい隙間から高圧で押し出すことで均一なベシクルが得られる^[23]。Barenholz らは、1 回の押し出し操作のみでは全体の約 60% の多重層ベシクル (MUV) が残ったままであるが、この操作を 4 回繰り返すことによって、全体の約 94% が 31.5 から 52.5 nm の単一膜ベシクル (SUV) になることを見出した^[24]。また、この種の調製機器として、高圧ホモジナイザーを使用しても、同様のベシクルが得られることが知られている^[25]。

4) 逆相蒸発法 (reverse phase evaporation method)

両親媒性物質を溶解した有機溶媒に水を添加し、超音波処理することで W/O 型エマルジョンを調製する。次に、W/O 型エマルジョン中の有機溶媒を減圧下で除去した後、攪拌することでベシクルが得られるという方法である。この手法は、他の手法に比べて、より効率的に薬剤をベシクル中へ内包させることが可能であると知られている^[26]。

このように、一般的なベシクルの調製法においては、その工程中で超音波照射や機械的攪拌のような外部エネルギーが利用されている。しかしながら、このような手法にて調製されたベシクルは、エネルギー的に準安定状態であるため、経日によって付与されたエネルギーの緩和が起こり、ベシクルからラメラ構造に転移する。したがって、現今ではベシクルが安定にその構造を維持することができるのは、濃度や温度、イオン強度等にも依存するが、おおよそ数日から数週間とされる^[10]。

1.2 本研究の目的

本研究は、両親媒性物質のベシクル形成の熱力学的解析、ベシクルを使用した三相乳化エマルジョンの吸着特性について解明を試みることを目的とした。以下に、これらの詳細を述べる。

1) 化学添加物法によるラメラ-ベシクルの液晶転移

最初に、外部エネルギーの代わりに化学添加物によって生じる系内のギブス自由エネルギーを利用することで、ラメラ液晶からベシクルを調製することを試みた。この新規手法は、例えば、ラメラ液晶に対して無機塩を添加すると二分子膜の電荷密度が変化するなど、両親媒性物質の親水基部位に影響を与えることが期待できる。また、ラメラ液晶に対して有機物を添加すると二分子膜の炭化水素部位の配列や充填状態が変化するなど、両親媒性物質の疎水基部位に影響を与えることが期待できる。このような化学物質の添加は、両親媒性物質に直接作用するものであり、相転移を期待して分散媒の物性を変化させる従来の考え方^{[27]-[30]}とは、本質的に異なるものである。

2) ラメラ-ベシクル転移におけるエネルギー変化の熱力学的試算

ベシクルは、ミセルに代表される他の自己組織体のように、単分子と集合体との間に会合平衡を持たない。したがって、実際に付与された外部エネルギーの値を正確に見積もることができない限り、ベシクル形成における熱力学パラメータを算出することはできない。そのため、そのような報告例は調べた範囲内においては存在せず、ベシクルを長期安定化するための因子については、何ら明らかになっていない。しかしながら、新規手法によってラメラ液晶からベシクルの調製をすることができるのであれば、外部エネルギーを一切利用せず化学添加物のみによる作用であるため、ラメラ-ベシクル転移は、ギブス自由エネルギーを連続関数とした相転移であると考えられる。つまり、ベシクル形成における熱力学パラメータを初めて算出することが可能になる。そこで本研究は、次にこの熱力学的パラメータを試算し、ベシクルを熱力学

的に長期安定化するための要因を明らかにすることを目的とした。

3) ベシクル系三相乳化エマルションの調製とその吸着特性

ベシクルを熱力学的に安定に使用することができれば、先述した DDS を始め、様々な分野でベシクルの有効利用が可能になる。例えば、DDS においては分子状で少量の薬剤しか目的部位に送り届けることができないのに対し、ベシクルが油滴に吸着しエマルション化することができるのであれば、適宜量の薬剤を相として運ぶことが可能になる。そこで本研究は、ベシクルの応用例の一つとして、ベシクルが油滴に吸着したエマルションが、固体界面に対し吸着するか否かについて実験的に検証することを目的とした。従来の界面活性剤エマルションでは、エマルションがその構造を維持したまま固体界面に吸着することは熱力学的に不可能であるため、本研究によるエマルション吸着に関する検討は、初めての試みとなる。また、ベシクルが固体界面上の油に吸着固定されるのであれば、更なる応用として、ベシクルによる油脂汚染面の洗浄効果も期待できるであろう。

1.3 研究計画

ベシクルが長期安定化するためのメカニズムを解明し、ベシクルを工業的に有効利用することを旨とした研究を進める上で、以下に示した計画の基に研究を進めた。

- 1) 外部エネルギーを一切利用せず、ラメラ液晶に対し化学物質を添加することによる新規手法よって、熱力学的に安定なベシクルの調製を試みる。
- 2) ベシクル形成における熱力学的パラメータを試算し、ベシクルが長期安定化するための必要因子を明らかにする。
- 3) ベシクルを有効利用するための一例として、ベシクルが油滴界面に吸着したエマルションを調製し、固体基板に対する吸着特性を調べる。

1.4 参考文献

- [1] A. D. Bangham; M. M. Standish; J. C. Watkins. *J. Mol. Biol.* 13, 238 (1965)
- [2] Kunitake, T.; Okahata, Y. *Chem. Lett.* 1337–1340 (1977)
- [3] Aparna R.; Monali M.; Sumita R. *Langmuir.* 28, 12696–12703 (2012)

- [4] Mingwei Z.; Jie Y.; Liqiang Z. *Colloids Surf., A.* 407, 116–120 (2012)
- [5] Rakesh B.; Sujan D.; Souvik P.; Dibakar D. *J. Phys. Chem. B.* 117, 3624–3633 (2013)
- [6] Carlos R. L.; Dongcui L.; Leo D.; Madivala G. B.; Norman J. W. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 20728–20732 (2012)
- [7] DiCicco, R. L. *Annual Meeting of the Licensing Executives Society International.* Melbourne. Australia. April 28. (1999)
- [8] G. Gregoriadis; P. D. Leathwood; B. E. Ryman. *FEBS Lett.* 14, 95–99 (1971)
- [9] Y. E. Rahman; M. W. Rosenthal; E. A. Cerny; E. S. Moretti. *J. Lab. Clin. Med.* 83,640–647 (1974)
- [10] Danilo, D. L. *Biochem. J.* 256, 1–11 (1988)
- [11] Oda, Y.; Suzuki, R.; Maruyama, K. *Drug Delivery Syst.* 30, 486–488 (2015)
- [12] Kikuchi, H.; Ishihara, H.; Suzuki, T. *Drug Delivery Syst.* 26, 99–105 (2011)
- [13] J.S. Dua; A. C. Rana; A. K. Bhandari. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research.* 3, 14–20 (2012)
- [14] Derek M. *Hand book of lipid bilayers.* CRC press Inc., the United States, pp. 3–5 (1990)
- [15] Imai, Y.; Koshinuma, M.; Nakamura, A.; Tajima, K. *Colloid and Surface research Trends.* Nova Science Publishers, Inc. the United States, pp. 233–248 (2007)
- [16] Janiak M. J.; Small, D. M.; Shipley, G. G. *J. Biol. Chem.* 254, 6068 (1979)
- [17] Powers, L.; Pershan, P. S. *Biophys. J.* 20, 137 (1977)
- [18] Grabielle-Madelmont, C.; Perron, R. *J. Colloid Interface Sci.* 95, 471 (1983)
- [19] Arvidson, G.; Brentel, I.; Khan, A.; Lindblom, G.; Fontell, K. *Eur. J. Biochem.* 152, 753 (1985)
- [20] Seddon, J. M.; Ceve, G.; Kaye, R. D.; Marsh, D. *Biochemistry.* 23, 2634 (1984)
- [21] Shipley, G. G.; Avecilla, L. S.; Small, D. M. *J. Lipid Res.* 15, 124 (1974)
- [22] D. Papahadjopoulos; N. Miller. *Biochim. Biophys. Acta.* 135, 624 (1967)
- [23] R. L. Hamilton; J. Goerke; L.S. S. Guo; M. C. Williams; R. J. Havel. *J. Lipid Res.* 21, 98 (1980)
- [24] Y. Barenholz; S. Ameselem; D. Lichtenberg. *FEBS Lett.* 99, 210 (1979)
- [25] Nii, T; Ishii F. *Colloids Surf., B.* 298, 198 (2005)
- [26] F. Szoka Jr; D. Papahadjopoulos. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75, 4194 (1978)
- [27] Pucci, C.; Salvia, A.; Ortore, M. G.; La Mesa, C. *Soft Matter.* 9, 9000-9007 (2013)
- [28] Vlachy, N.; Drechsler, M.; Verbavatz, Jean-M.; Touraud, D.; Kunz, W. *J. Colloid Interface Sci.* 319, 542–548 (2008)

[29] Jiang L.; Wang K.; Deng M.; Wang Y.; Huang J. *Langmuir*. 24, 4600–4606 (2008)

[30] Brooks, M. S.; Moggridge, G. D. *Chem. Eng. Res. Des.* 84, 139–146 (2006)

第2章 化学添加物法によるラメラ-ベシクルの液晶転移

2.1 緒言

カチオン性有機化合物が、生体膜に良く似た二分子膜構造を形成するか否かの検証は、Kunitake らによって、1977 年に初めて実験的に試みられた^[1]。その結果、超音波照射下で二鎖型のアンモニウム塩を水中に分散させると、カチオン性ベシクルが形成することを見出した^[2]。その後、数多くの研究がなされ、様々なカチオン性有機化合物が水中でベシクルを形成することが明らかとなった。例えば Sudhoelter らは、新規合成化合物の 17-(4-N-methylpyridinium)tritriacontane iodide や 3,5-di-carbo-n-hexadecyloxy-1-methylpyridinium iodide 等が、水中で単一膜ベシクル (small unilamellar vesicle, SUV) または多重層ベシクル (multilamellar vesicle, MLV) を形成することを電子顕微鏡観察によって明らかにした^[3]。しかしながら、このようなカチオン性有機化合物からベシクルを調製する際、いずれの場合においても、超音波照射のような強い外部エネルギーの付与が必要である。このとき付与された外部エネルギーは、経日につれてベシクル分散系から徐々に緩和していくため、ベシクルは長期間その構造を維持することはできない。そのため、ベシクルは熱力学的に準安定状態であるといえる。そのため、様々な手法を用いて現今までにベシクルをドラッグデリバリーシステムへ応用することが試みられているが、薬剤として実用化された市販品の数は非常に少ない^{[4], [5]}。

一方、リン脂質を用いたベシクルの調製方法に関しては、1965 年に Bangham らがベシクル形成を見出した。それ以降、様々な手法が提案されている。上述したようなドラッグデリバリーシステムのキャリアー等にベシクルを応用するためには、ベシクルは自発的に自然形成することが好ましい。そのため、近年、水溶性界面活性剤からベシクルを調製することを試みた研究が、多数報告されている^{[6]-[13]}。水溶性のカチオン界面活性剤とアニオン界面活性剤を水中で混合すると、電気的相互作用が主な駆動力となって、ベシクルが容易に形成するというのが典型例である。しかしながら、このような手法で調製されたベシクルは、例えば、無限希釈をしたりイオン強度を変化させたりすることによって、そのベシクル型の構造が維持できなくなることは明らかである。ベシクルは、水中の単分子と熱力学的に可逆的な会合平衡を持たないという点において、ミセルのような他の自己組織体とは本質的に異なる。したがって、水溶性ではなく難水溶性 (実質的には不溶性も考えられる) の両親媒性物質が、ベシクル形成剤として用いられるべきである。こうした理由から、水系で難水溶性両親媒性物質からベシクルを調製するためには、外部エネルギー (機械力) を利用しなければならない^{[14]-[24]}。このとき、実際に水中に付与された

外部エネルギーの値を正確に見積もることはできない。そのため、カチオン性ベシクルを調製する際に要する熱力学的パラメータを算出した報告例は、調べた範囲内においては存在しない。その結果、ベシクルを長期安定化するための因子も、何ら明らかになっていない。

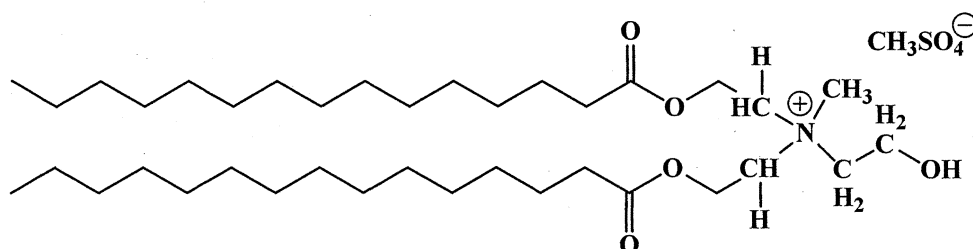
そこで本章では、従来の手法で利用していた外部エネルギーを使用せず、化学添加物によって生じるギブス自由エネルギーを代わりに使用することで、カチオン性ラメラ液晶からベシクルを調製することを試みた。このような新規手法にて、ラメラ液晶からベシクルが調製できるのであれば、この転移現象は化学添加物のみによって引き起こされるものであるため、ベシクル形成における熱力学的パラメータの試算が可能になると考えられる。そこで、カチオン性ラメラ液晶に対し無機塩や有機物を定量的に添加することで、ベシクルが形成するためのエネルギー的条件を検討した。さらに、この添加物によって起こるラメラベシクル転移のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

2.2 実験

2.2.1 試薬

化学添加物によって生じるギブス自由エネルギーを使用することで、カチオン性ラメラ液晶からベシクルを調製するにあたって、液晶形成剤であるカチオン性両親媒性物質、添加物である有機物、無機塩は以下のものを使用した。

液晶形成剤 モデル物質として、二鎖型のカチオン性両親媒性物質である 2-Hydroxyethyl di(alkanol)oxyethyl methylammonium methylsulfate (DEAE と略す, MW: 667.98) を用いた (**Scheme 2-1**)。DEAE は、難水溶性の四級アンモニウム塩であり、工業的には一般的に柔軟剤として使用される。



Scheme 2-1 2-Hydroxyethyl di(alkanol)oxyethyl methyl ammonium methylsulfate (DEAE).

添加有機物 DEAE が形成する二分子膜の疎水基部位に対する可溶化剤として、7 種類の炭化水素油 (C_nH_{2n+2} , $n = 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18$), cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-cyclohexene (limonene と略す) と、2 種類の炭化フッ素油 (perfluorohexane, perfluorononane) を用いた。全ての有機物は和光純薬工業から特級品を購入し、精製することなくそのまま使用した。

添加無機塩 一方、DEAE が形成する二分子膜の親水基部位に対する添加剤として、8 種類の中性塩 (塩化カルシウム, 塩化マグネシウム, 塩化ナトリウム, 塩化カリウム, 臭化ナトリウム, 臭化カルシウム, 硫酸ナトリウム, 硝酸カルシウム) と、1 種類の酸性塩 (塩化アンモニウム), そして 4 種類の塩基性塩 (酢酸ナトリウム, 酢酸カルシウム, 炭酸ナトリウム, ホウ酸ナトリウム) を用いた。全ての無機塩は、和光純薬工業から特級品を購入したものをそのまま使用した。

2.2.2 測定

測定に使用した装置を以下に示す。

X線回折(X-ray diffraction, XRD)測定 DEAE液晶の回折ピークは、X線回折装置(Rigaku, RU-200B)を用いて測定した。低角領域において、通常のガラスセルとDEAE液晶の二分子膜構造に起因する回折ピークが重なることを避けるため、特別なアルミニウムセルを用いた。測定は、発散スリット: 1/2°, 散乱スリット: 1/6°, 受光スリット: 0.15 mm, 走査速度: 1.00°/min, 走査範囲: 0.2–5.00°, 電圧・電流: 40 kV・50 mA で行った。

粘度測定 DEAE水分散液の粘度は、Brookfield型粘度計(Shibaura Systems, VS-A1)を用いて測定した。測定はそれぞれの試料について5回行い、平均値を求めた。

pH測定 30°CにおけるDEAE水分散液のpHは、卓上型pHメータ(HORIBA, F-23)を用いて測定した。

ゼータ電位測定 25°Cから60°CにおけるDEAE水分散液のゼータ電位は、電気泳動光散乱光度計(Otsuka Electronics, ELS-8000)を用いて測定した。濃厚な液晶は動的光散乱法による測定が困難なため、測定時にDEAE水分散液を水で希釈した。また、DEAE水分散液に塩を含む場合は、同濃度の塩水溶液で希釈した。

粒子径測定 30°CにおけるDEAE液晶の大きさは、動的光散乱法(Otsuka Electronics, FPAR-1000)を用いて測定した。

走査型電子顕微鏡(scanning electron microscopy, SEM)観察 DEAE液晶の形状は、走査型電子顕微鏡(Hitachi, S-4000)を用いて観察した。この濃厚な試料をガラス基板上に少量マウントし、観察しやすくするために、ウェハ全面に試料を広げた。そしてデシケーター内で一晩乾燥させた後、カーボン蒸着して観察した。

原子間力顕微鏡(atomic force microscopy, AFM)観察 DEAE液晶の表面形状は、原子間力顕微鏡(SII, SPA 400)を用いて観察した。測定は、シリコンウェハ上にサンプルをマウントし、カンチレバー(SI-DF40P)によるDynamic Force Microscope (DFM)モードで行った。DFMは共振させた針の振動振幅が一定になるように探針・試料間の距離を制御しながら走査することにより、表面形状を画像化する手法の一種であり、形状測定の最も一般的なモードである。

偏光顕微鏡観察 30°CにおけるDEAE液晶の構造は、偏光顕微鏡(Olympus, BX-51)を用いて観察した。

可溶化物の定量 DEAE液晶に可溶化したlimoneneの量は、dodecaneを内部標準としてガ

スクロマトグラフィ(Yokogawa Electric Corporation, HP5890 SERIES II)を用いて定量した。

近赤外吸収スペクトル測定 液晶に固定化された束縛水の量は、紫外可視分光光度計(JASCO Corporation, V-570)を使用して比較した。濃厚な試料を測定するため、試料の光路長を一定にするための方法として、以下のように行った。二枚の 1 mm 石英板の間にシリコンウェハーを固定させ、厚さを 250 μm 一定としたものをセルとして用いた。測定条件は、バンド幅 2.0 nm, 近赤外バンド幅 8.0 nm, 測定範囲 2500–200 nm とし、走査速度 400 nm/min で行った。ベースラインは air で測定し、参照試料との差スペクトルから、試料の状態を検討した。

2.2.3 DEAE ラメラ液晶の確認

ラメラベシクル転移を実証するために、DEAE がモデル物質として適切であるか否かについて確認した。DEAE 水分散液は濃厚状態になると、その粘度は上昇し^{[25]-[28]}、系内で確実にラメラ液晶を形成することが期待できる^[29]。さらに、ラメラ液晶からベシクルへの転移が引き起こされるとき、状態変化に伴う粘度変化が起こるのであれば、目視による確認が容易になると考えられる。試料は、DEAE と水を混合し、1 分間手で十分に攪拌することで様々な濃度の DEAE 水分散液を調製した。**Fig. 2-1** は、DEAE の濃度とその分散液の粘度との関係を示す。DEAE の濃度が 20 wt%を超えると、粘度は約 10^5 mPa·s 一定となった。そこで試料は、DEAE の濃度が 20 wt%である濃厚な DEAE 水分散液を用いることとした。試料の調製後は 30°C の恒温槽中で熟成させた。最初に、DEAE が間違いなくラメラ液晶を形成することを、DEAE 水分散液の XRD 測定及び偏光顕微鏡観察によって確認した。

2.2.4 化学物質の添加によるラメラベシクル転移の発現

従来の手法で利用していた外部エネルギーを使用せず、代わりに化学添加物によって生じるギブス自由エネルギーを代わりに使用することで、カチオン性ラメラ液晶からベシクルを調製することが期待できるので試みた。そこで、ラメラベシクル転移を引き起こすために、(1) 無機塩、(2) 有機物、(3) 有機物と無機塩の両方を添加した場合について検討した。

(1) DEAE ラメラ液晶に対する無機塩の添加効果

ラメラ液晶に対して無機塩を添加すると二分子膜の電荷密度が変化するなど、両親媒性物質の親水基部位に影響を与えることが期待できる。そこで、DEAE 水分散液に対する中性塩、酸性塩、塩基性塩の添加効果について調べた。試料は、含水量に対し 0.1 mmol kg^{-1} から $1500 \text{ mmol kg}^{-1}$ となるように、2.2.3 で述べた方法で調製した DEAE 水分散液に無機塩を添加し、1 分間手で十分に攪拌することで無機塩を含む DEAE 水分散液を調製した。調製後は 30°C の恒温槽で熟成させた。

(2) DEAE ラメラ液晶に対する有機物の添加効果

香料として使用される limonene は、分子容が大きく難揮発性物質であるため、DEAE 液晶の疎水基部位に対して、分子配列や充填状態の変化等の特徴的な作用を与えること、また limonene の揮発によってそれらの変化が消滅することが期待できる。そこで、DEAE 水分散液に対する様々な油状物質を添加し、その効果が分子構造に依存するか否かについて調べた。

DEAE を 2-propanol (IPA と略す) に完全溶解させ、その DEAE 溶液に有機物を DEAE に対しモル分率 X_H が 0.001 から 0.3 となるように添加した。そしてエバポレータや減圧装置にて IPA を除去し、DEAE と有機物の分子混合結晶を得た。

分子混合結晶中の有機物のモル分率 X_H は、式(2-1)で定義した。

$$X_H = \frac{n_H}{n_{\text{DEAE}} + n_H} \quad (2-1)$$

ここで、 n_{DEAE} 及び n_H はそれぞれ DEAE と有機物のモル数を表す。

得られた分子混合結晶と水の質量比が 1:4 (20 wt %) となるように水を添加し、1 分間手で十分に攪拌することで、有機物を含む DEAE 水分散液を調製した。調製後は 30°C の恒温槽で熟成させた。

(3) DEAE ラメラ液晶に対する有機物と無機塩の添加効果

DEAE は両親媒性物質であるため、DEAE 水分散液に有機物と無機塩の両方を添加するとき、これらの化学物質は DEAE の親水基と疎水基に対し同時に作用することができるため、協同効果が生じることが期待できる。そこで、両添加物をラメラ液晶に対し添加し、その効果を調

べた。

(2)で述べた方法で調製した DEAE 水分散液に、含水量に対し 0.1 mmol kg^{-1} から 750 mmol kg^{-1} となるように無機塩を添加し、1 分間手で十分に攪拌することで、試料を調製した。調製後は 30°C の恒温槽で熟成させた。

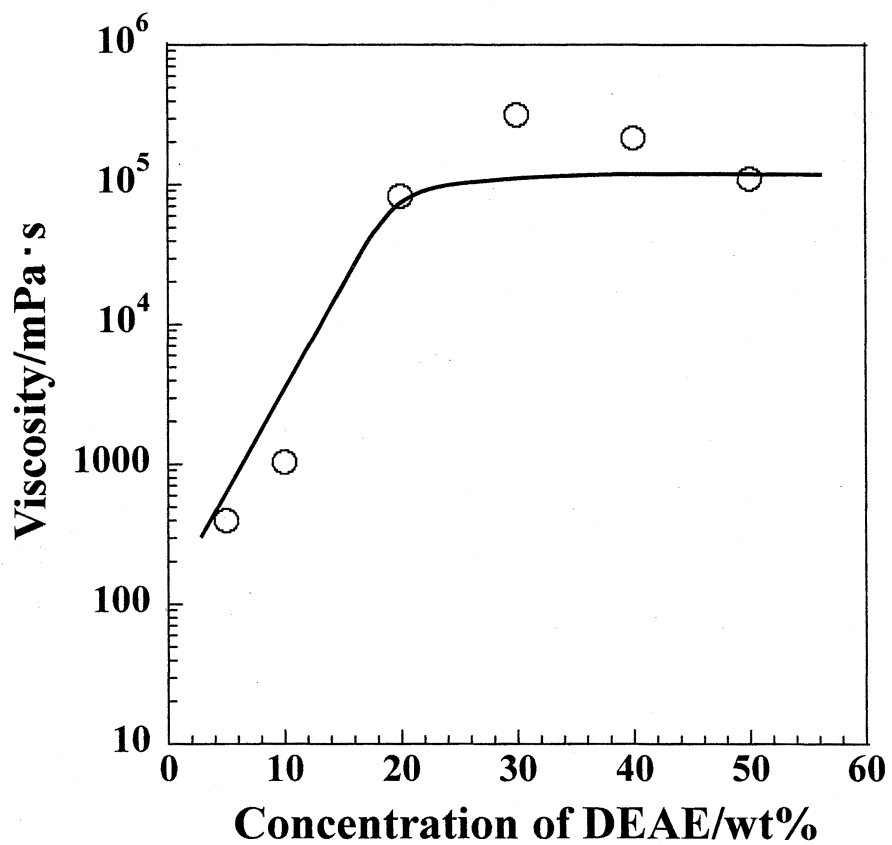


Fig. 2-1 Viscosity of DEAE dispersions at 30°C as a function of DEAE concentration.

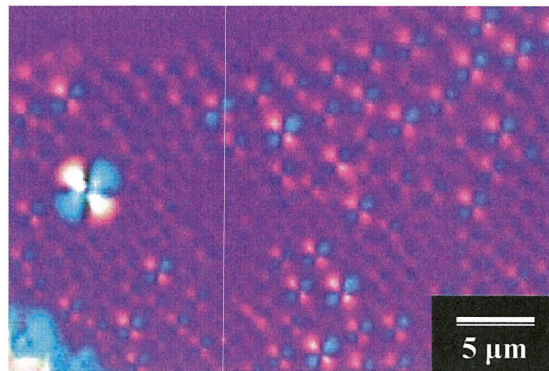
2.3 結果と考察

2.3.1 DEAE の物性

最初に、20 wt% DEAE 水分散液がラメラ液晶を形成し、ラメラベシクル転移において、適切なモデル物質となり得るか否かについて調べた。

この濃厚な DEAE は、**Photo 2-1** で示すように、偏光顕微鏡観察にて光干渉によって多くの十字ニコル (conoscopic figure) を確認することができた。これは、一般的な両親媒性物質と同様に、DEAE もラメラ相を形成したことが示唆された。さらに XRD 測定において、**Fig. 2-2** で示すように、規則的な構造が存在することに起因する回折ピークを確認することができた。DEAE の分子構造から、低角側のピークは DEAE 二分子膜の厚さ、高角側のピークは DEAE 二分子分の炭化水素部位の長さに相当すると推察できる。すなわち、DEAE は水中で二分子膜構造を形成した。これらの結果から、20 wt% DEAE 水分散液は水中でラメラ液晶を形成することが明らかとなった。したがって、この系を用いて、実験的にラメラベシクル転移を検証する試料とした。

次に、DEAE ラメラ液晶を直接観察するために XRD 測定で用いた試料について AFM 観察を行った。その結果、**Photo 2-2** に示すようにその表面は隆起状の連続の平滑面が観測された。DEAE ラメラ液晶は粒子状ではなく、大きな層状になった。AFM 観察にて液晶粒子それぞれの表面を区別することは困難であった。また SEM 観察においても、**Photo 2-3** に示すように、ラメラ液晶の形状を確認することはできなかった。しかしながら、厚さ 50–100 nm のラメラ液晶は、確かに存在することがわかった。これは、DEAE 水分散液をガラスセル上にマウントし乾燥すると、液晶粒子が凝集し単一表面を形成するためであると考えた。



**Photo 2-1 Polarized image of the 20 wt% DEAE
dispersion at 30°C.**

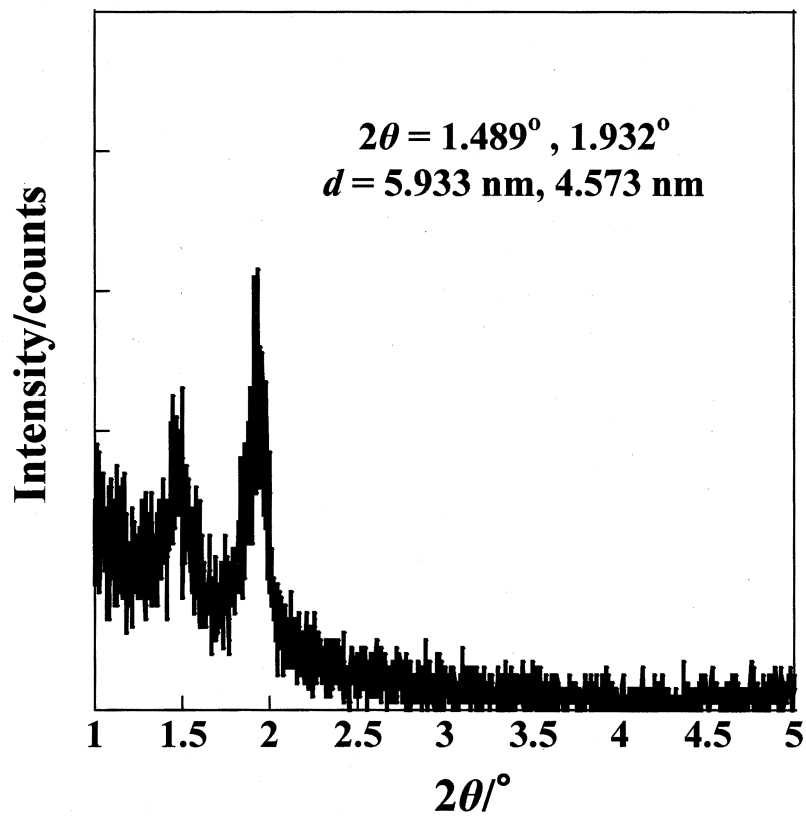


Fig. 2-2 XRD pattern for the 20 wt% DEAE dispersion.

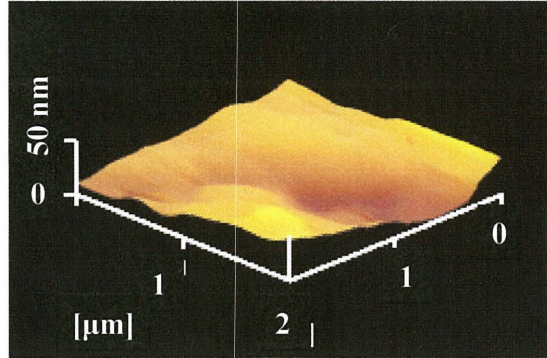


Photo 2-2 AFM images of the 20 wt% DEAE.

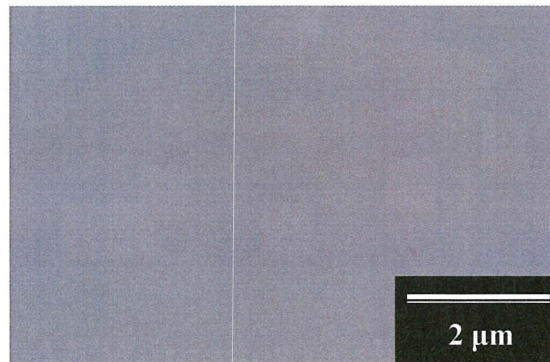


Photo 2-3 SEM images of the 20 wt% DEAE.

2.3.2 化学物質の添加によるラメラベシクル転移の発現

2.3.1 項にて、DEAE はラメラ液晶を形成することが明らかになった。ここでは、このラメラ液晶に対し化学物質を添加することで、ラメラベシクル転移が起こるか否かについて検討した。

(1) DEAE ラメラ液晶に対する無機塩の添加効果

最初に、無機塩が DEAE の親水基部位へ作用することを期待して、DEAE 水分散液に対する無機塩の添加効果を調べた。このとき、ラメラ液晶に何らかの構造変化が生じるのであれば、それに伴い分散液の粘度も急激に変化することが考えられる。Fig. 2-3(▼)は、20 wt% DEAE 水分散液に対する塩化カルシウム濃度と分散液の粘度との関係を示す。塩化カルシウム濃度が 0–750 mmol/kg の範囲においては、その濃度が高くなるにつれて分散液の粘度はわずかに低下したが、塩化カルシウムを 750 mmol/kg 以上添加すると、塩析により分散液が増粘していく傾向が見られた。Table 2-1 は、無機塩が完全解離したと仮定したとき、生じる陰イオンの濃度が 1000 mmol/kg となるように無機塩を添加したときの DEAE 水分散液の粘度(30°C)を示す。その結果、塩化カルシウムの添加時と同様に、無機塩はその種類によらず分散液の粘度をわずかに低下させることがわかった。

Table 2-1 Viscosity of the 20 wt% DEAE dispersions both in the presence and absence of additives at 30°C

Additive (anion concentration = 1000 mmol/kg)	Viscosity/mPa·s
None	78640
Calcium chloride	19440
Kalium chloride	20400
Sodium chloride	11820
Magnesium chloride	14900

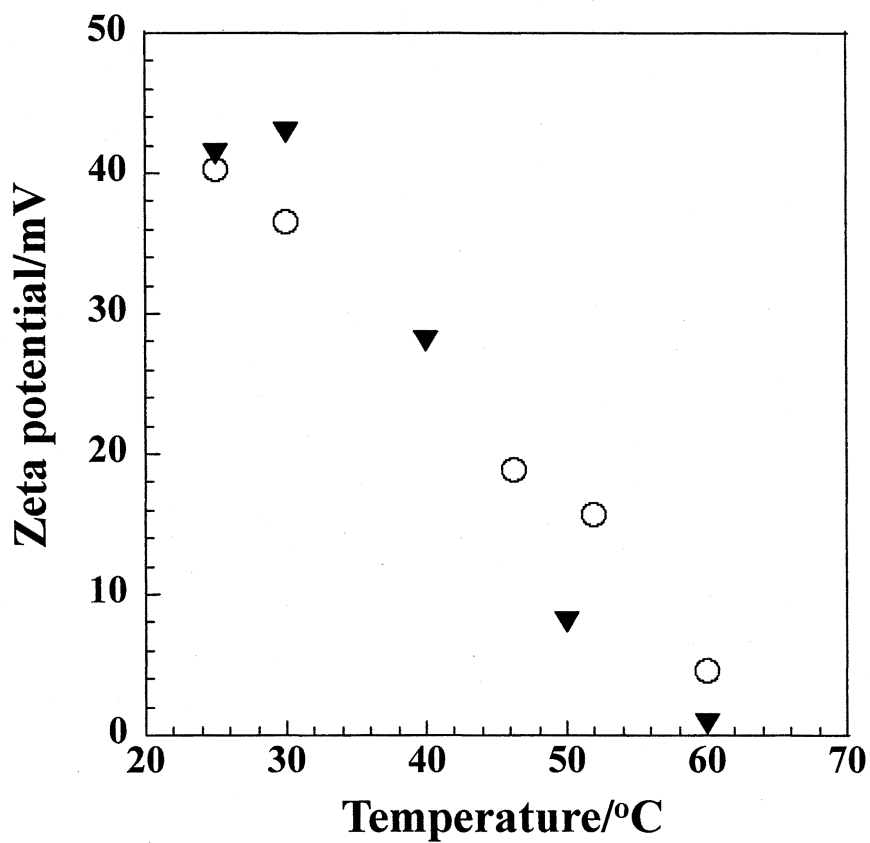
一方、ラメラ液晶に無機塩を添加すると、液晶粒子が形成する拡散電気二重層を縮退することが期待できる。Fig. 2-4(▼)は、塩化カルシウムを 500 mmol/kg 添加した系における液晶のゼータ電位を示す。無機塩を添加しても、DEAE 単独の場合と液晶のゼータ電位に大きな差異は生じず、温度依存性も同様の傾向であった。したがって、無機塩が DEAE の親水基部位へ作用していないように見える。しかしながら、塩化カルシウム濃度が 0–750 mmol/kg の範囲に

においては、その濃度が高くなるにつれて液晶の粒子径(重量分布換算)は、わずかに小さくなった(**Fig. 2-5**)。したがって、ゼータ電位測定において添加塩効果は明確に確認できなかったが、二分子膜の拡散電気二重層がわずかに縮退し、見かけ上の液晶粒子径が小さくなったと考えられる。しかしながら経日と分散液の粘度の関係を調べると、**Fig. 2-6** で示すように、調製直後における無機塩添加系(▼)の粘度は DEAE 単独系(○)と比べてわずかに低下するが、経日によって DEAE 単独系の粘度に近づいていくことがわかった。

そこで、経日による粘度変化は液晶粒子の束縛水の量が増えたためであると考え、近赤外吸収スペクトル測定を行った。最初に、自由水と束縛水の吸収波長を調べた。**Fig. 2-7** に DEAE 水系の測定結果を示す。水単独の近赤外吸収スペクトルの波長は 1450 nm と 1940 nm の 2 つ確認できた。これを自由水の波長(λ_1 とする)と判定した。DEAE の含水量が多くなるにつれて、水は λ_1 から λ_2 (1200 nm と 1750 nm)に移っていくのが確認できた。それゆえ、 λ_2 は束縛水の波長と判定した。ここでは、自由水の量は 1870 nm–2160 nm におけるピーク面積、束縛水の量は 1680 nm–1780 nm におけるピーク面積に相当するとして考え、これらピーク面積の比から束縛水の量を検討することとした。**Fig. 2-8** は、調製 14 日後の塩化カルシウムを添加した系の近赤外吸収スペクトル測定結果を示す。自由水のピーク面積に対する束縛水のピーク面積比を求めたところ、DEAE 単独のときは 0.0072、塩化カルシウム 500 mmol/kg を添加したときは 0.0019 であった。そのため、添加塩によって DEAE に束縛される水の量が減少したことがわかった。しかしながら、調製 174 日後になるとその値は 0.0057 まで上昇し、束縛水の量が増加する傾向が見られた(**Fig. 2-9**)。したがって、経日による増粘現象は、束縛水の量が増加することによって引き起こされたと考えた。

さらに、液晶形状に対する無機塩の添加効果を調べるために、塩化カルシウムを 500 mmol/kg 添加した系の SEM および AFM 観察を行った。その結果、DEAE 単独系のときと同様に、液晶の形状を確認することはできなかった(**Photos 2-4A, 2-5A**)。このとき、XRD 測定において二分子膜構造の存在に起因する回折ピークが観察された(**Fig. 2-10**)ことから、高濃度の塩化カルシウムの存在下においても、ラメラ液晶を維持したままであることが明らかとなった。

以上より、DEAE 水分散液に対する無機塩の添加によって、DEAE の親水基部位への作用を確認することはできたが、ラメラ液晶からベシクルへ転移させることはできなかった。



○: DEAE 20%

▼: DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-4 Temperature dependence of zeta potential for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.

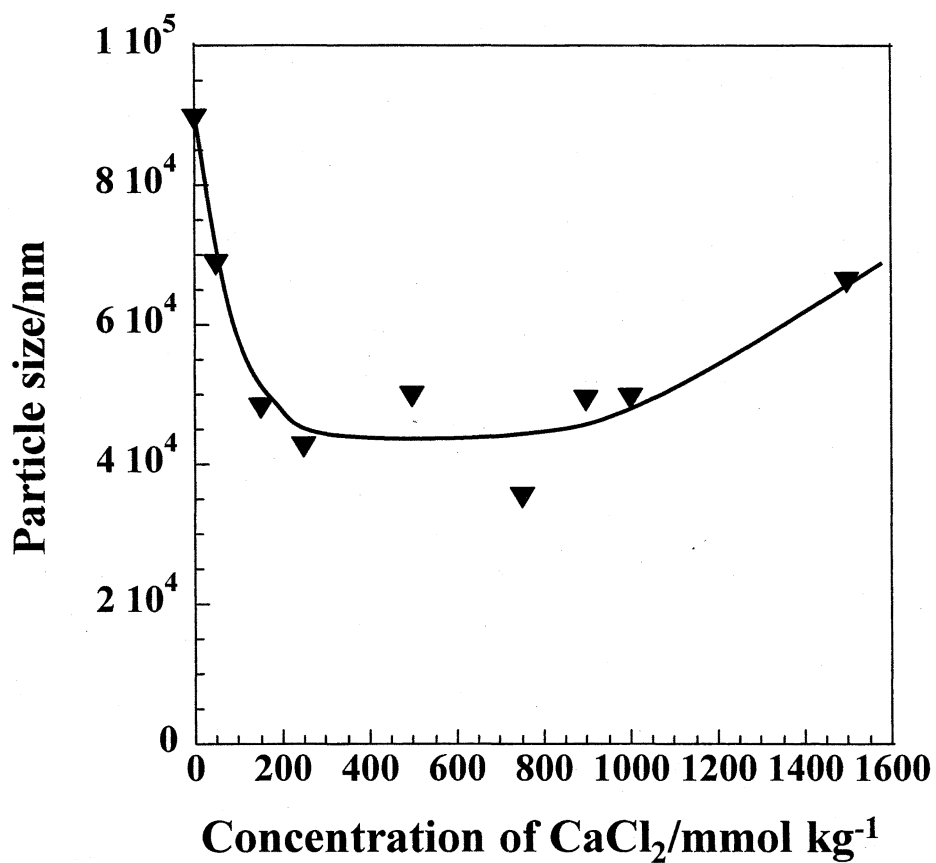
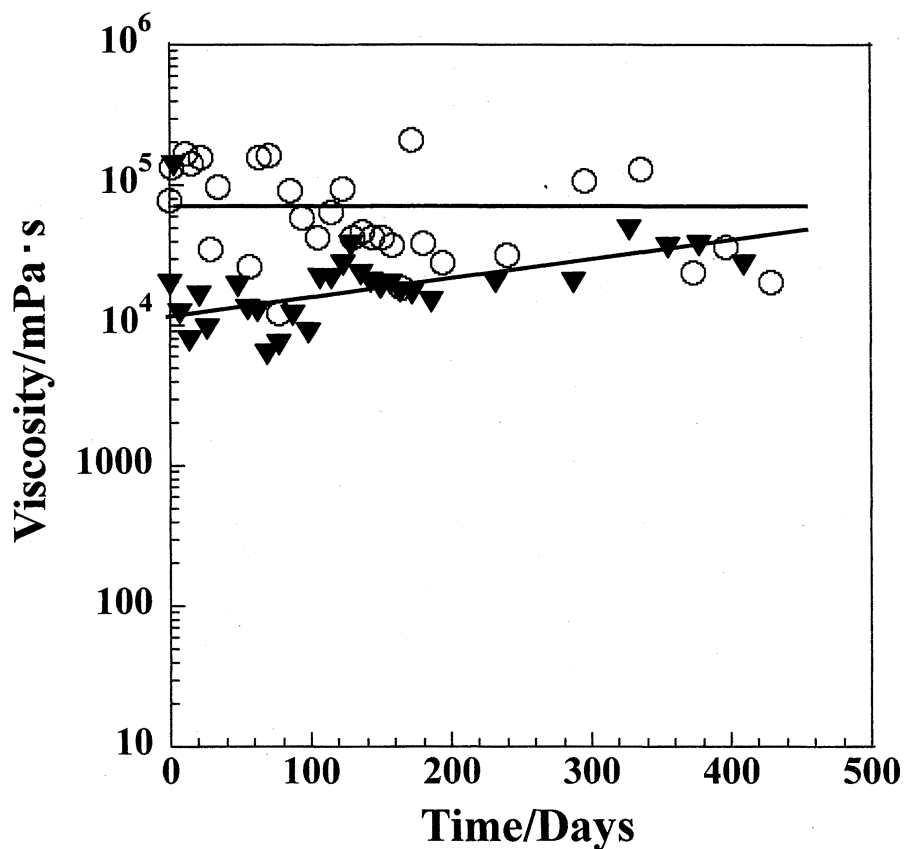


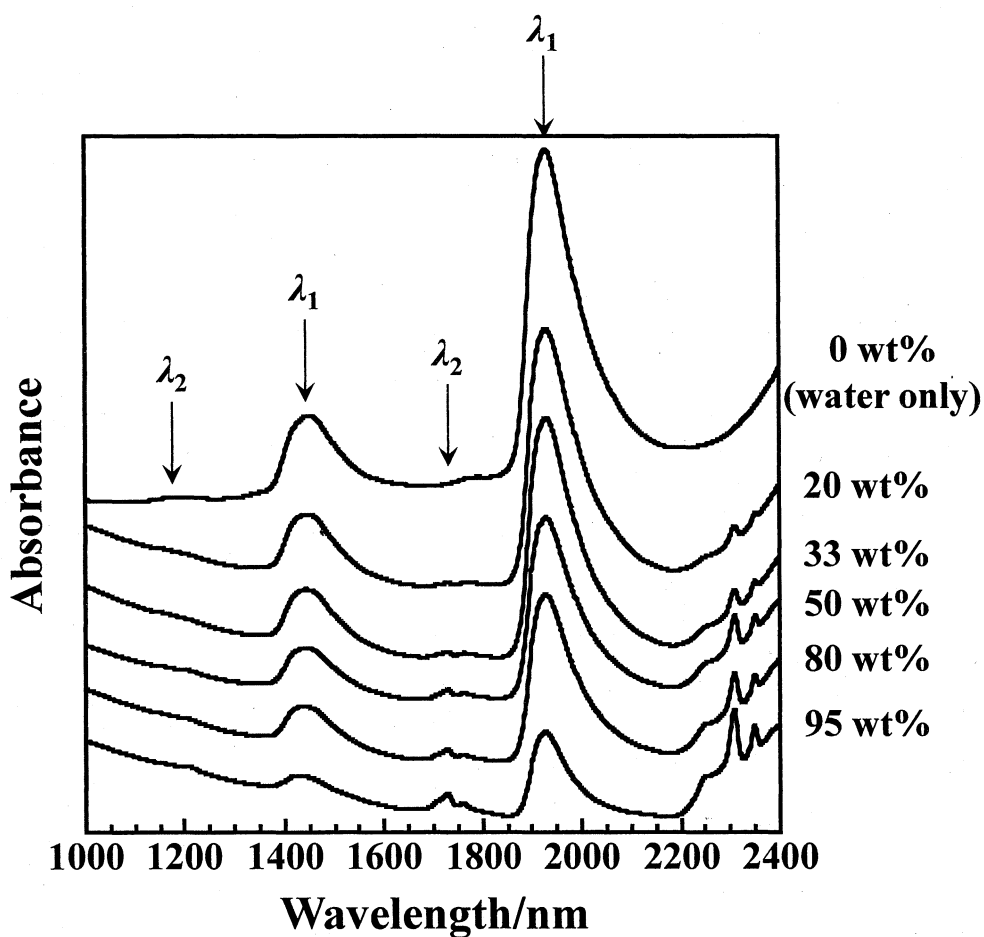
Fig. 2-5 Variation in weight-average diameter with salt concentration in the 20 wt% DEAE dispersions.



○: DEAE 20%

▼: DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

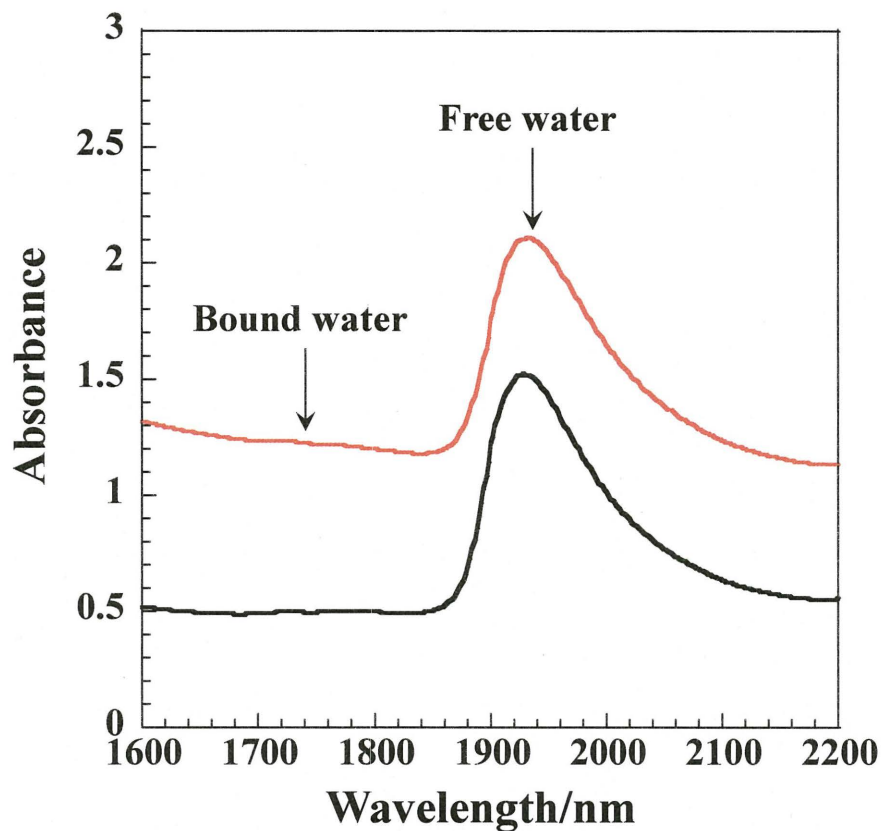
Fig. 2-6 Variation in viscosity over time for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



λ_1 : Free water (1450 nm, 1940 nm)

λ_2 : Bound water (1200 nm, 1750 nm)

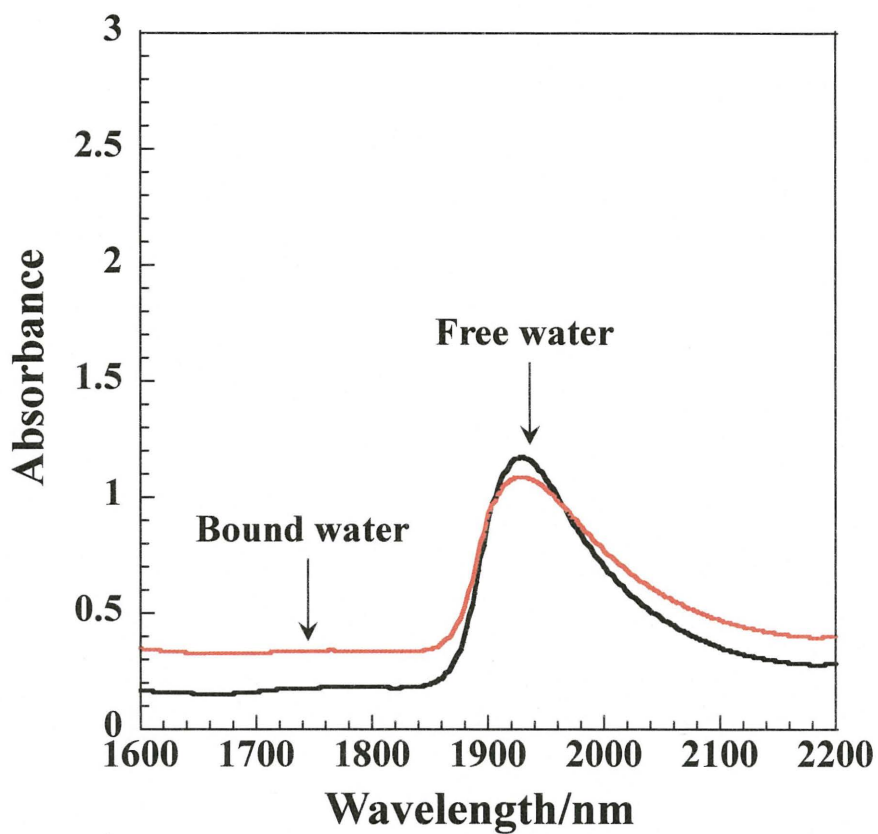
Fig. 2-7 NIR charts for dispersions with various concentration of DEAE.



— : DEAE 20%

— : DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-8 NIR charts for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives after 14 days.



— : DEAE 20%

— : DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-9 NIR charts for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives after 174 days.

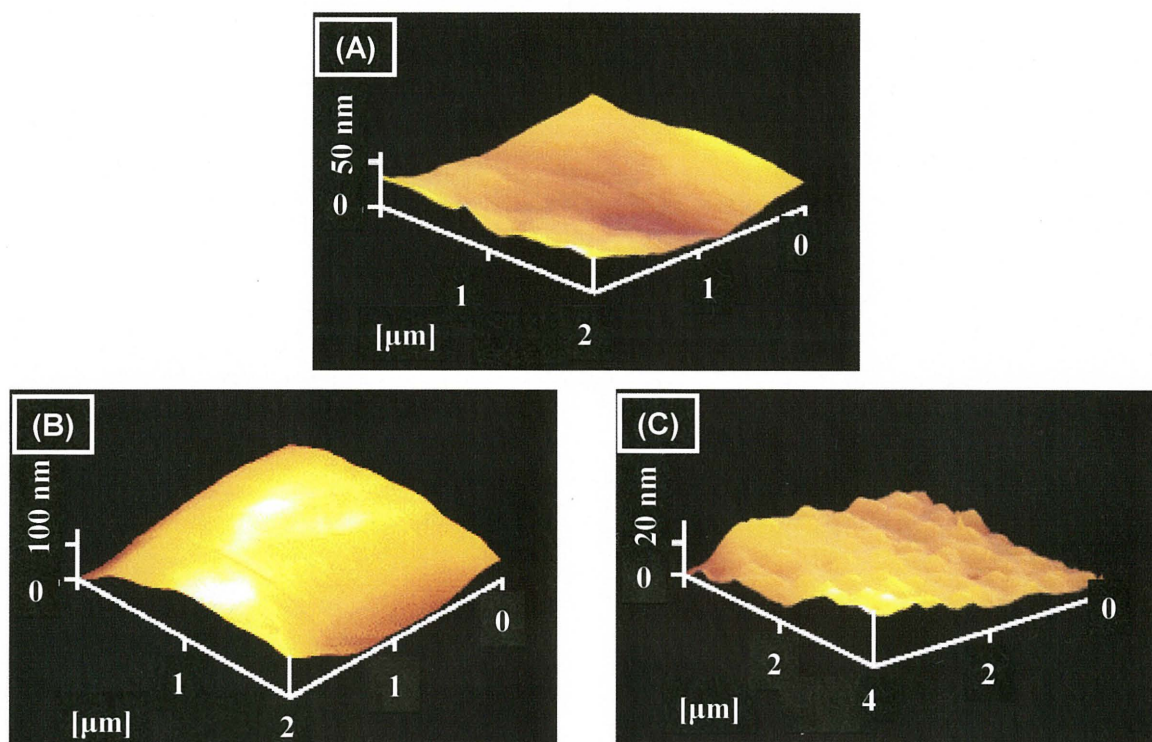


Photo 2-4 AFM images of the 20 wt% DEAE dispersion containing (A) 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂, (B) limonene ($X_H = 0.1$), and (C) both limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂.

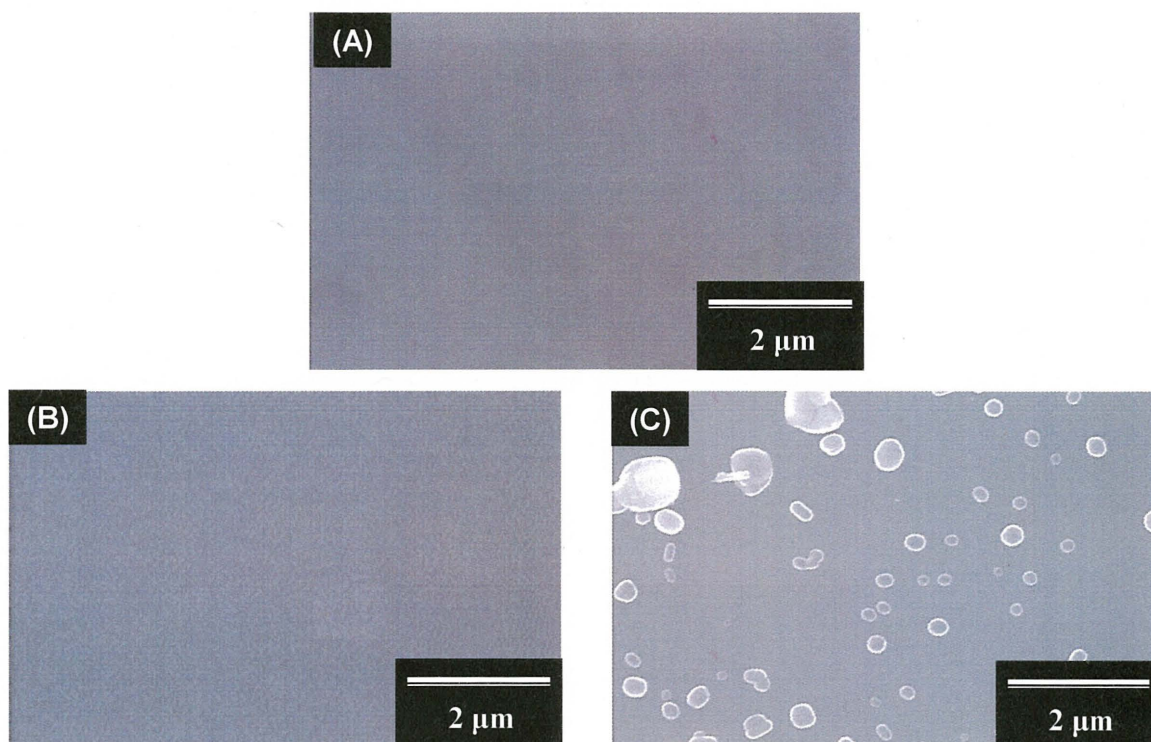
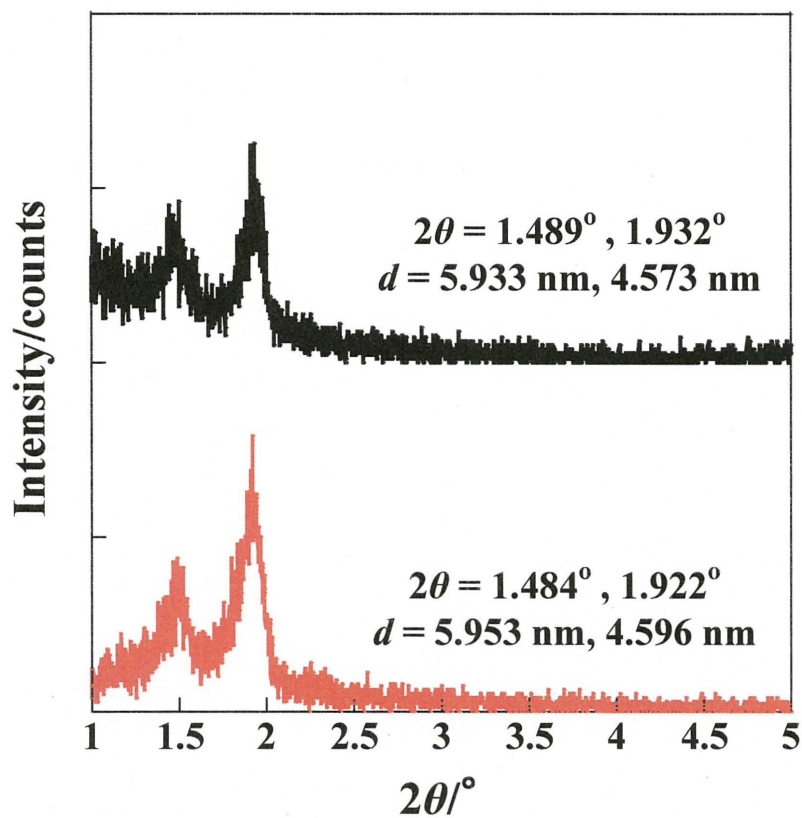


Photo 2-5 SEM images of the 20 wt% DEAE dispersion containing (A) 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂, (B) limonene ($X_H = 0.1$), and (C) both limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂.



- : DEAE 20%
- : DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-10 XRD pattern for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.

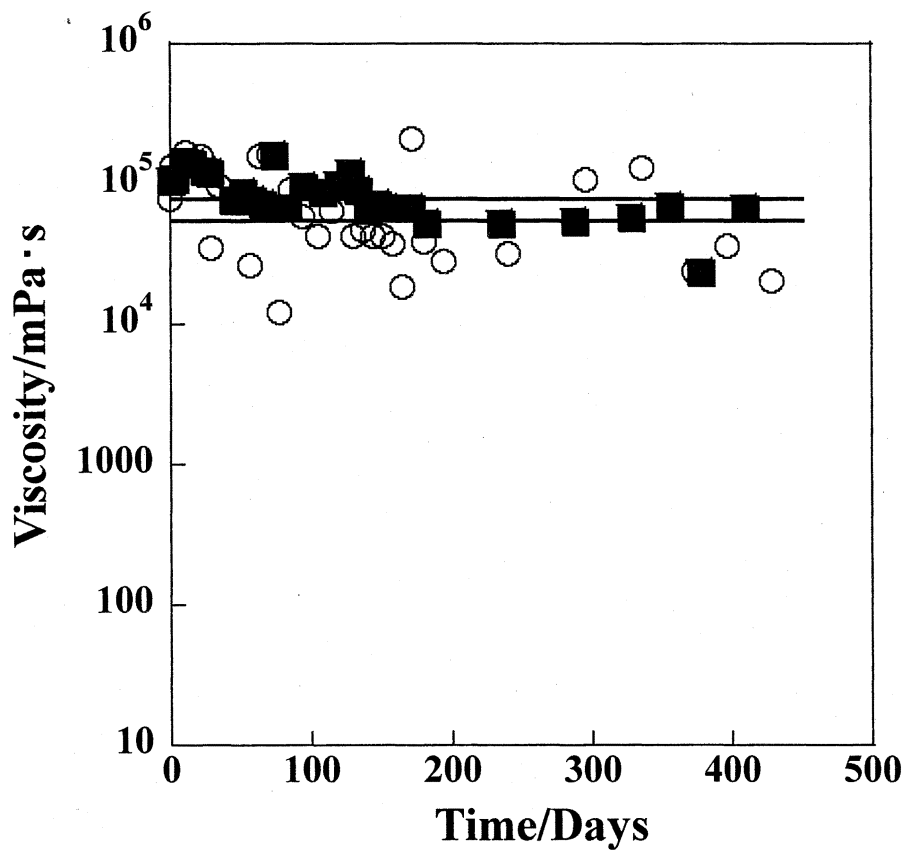
(2) DEAE ラメラ液晶に対する有機物の添加効果

有機物が DEAE の疎水基部位へ作用することを期待して、DEAE 水分散液に対する有機物の添加効果を調べた。Fig. 2-11 は、limonene ($X_H = 0.1$) が可溶化した系 (■) における粘度の経日変化を示す。limonene がラメラ液晶に可溶化したとしても、この系の粘度は DEAE 単独と同程度であり、経日によっても変化を示さなかった。また、無機塩添加系と同様に近赤外吸収スペクトル測定を行い自由水のピーク面積に対する束縛水のピーク面積比を求めた結果、DEAE 単独のときは 0.0072、limonene ($X_H = 0.1$) を添加したときは 0.0074 であった (Fig. 2-12)。したがって、両者の束縛水の量に明確な差異は見られなかったため、粘度に変化が起こらなかったと考えられる。

次に、液晶形状に対する有機物の添加効果を調べるために、limonene ($X_H = 0.1$) が可溶化した系の SEM および AFM 観察を行った。その結果、DEAE 単独系のときと同様に、液晶の形状を確認することはできなかった (Photos 2-4B, 2-5B)。このとき、XRD 測定において二分子膜構造の存在に起因する回折ピークが観察された (Fig. 2-13) ことから、limonene の存在下においても、ラメラ液晶を維持したままであることが明らかとなった。

一方、非電解質である limonene を DEAE 液晶に添加したにもかかわらず、それが可溶化した DEAE 液晶のゼータ電位は、添加前と比べて上昇することが明らかとなった (Fig. 2-14)。例えば、30°C における DEAE 単独のゼータ電位は +36.51 mV であったのに対し、limonene が可溶化すると +64.05 mV まで上昇した。これは、DEAE 二分子膜中へ有機物がパリセード型で可溶化すると、DEAE の疎水基部位の柔軟性が増加し、DEAE の対イオン (CH_3SO_4^- イオン) の解離が増えるが、より一層カチオン化された状態であっても液晶を形成できることを意味している。ラメラ液晶に対する有機物の可溶化メカニズムは、2.3.3 項(1)にて詳細に述べる。

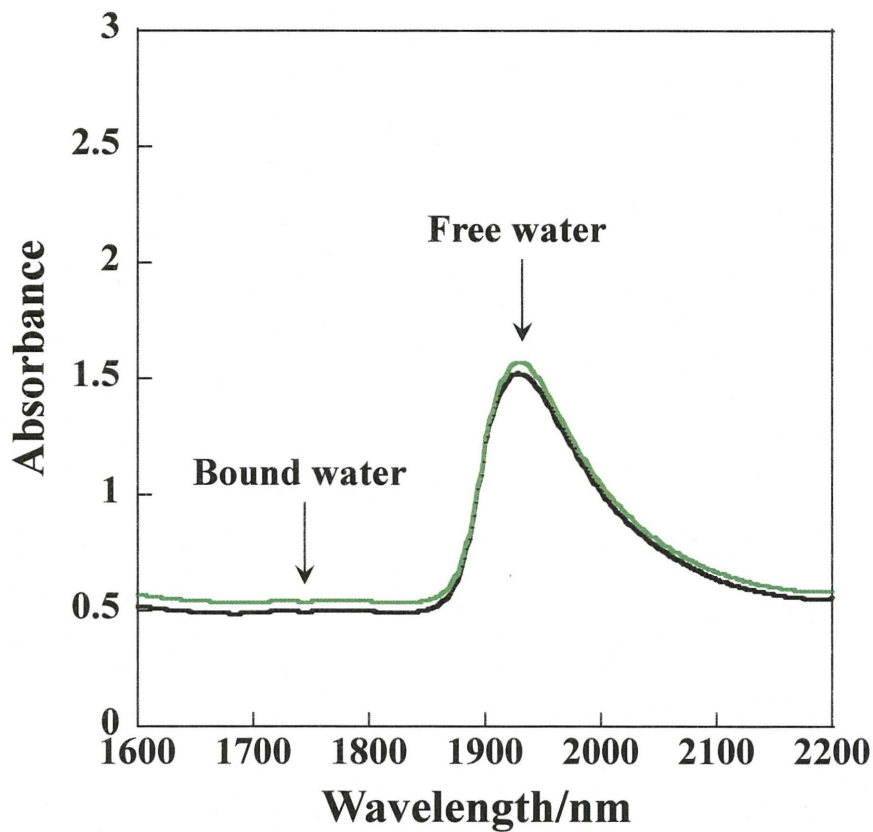
以上より、DEAE 水分散液に対する有機物の添加によって、DEAE の疎水基部位への作用を確認することはできたが、無機塩添加時と同様に、ラメラ液晶からベシクルへ転移させることはできなかった。



○: DEAE 20%

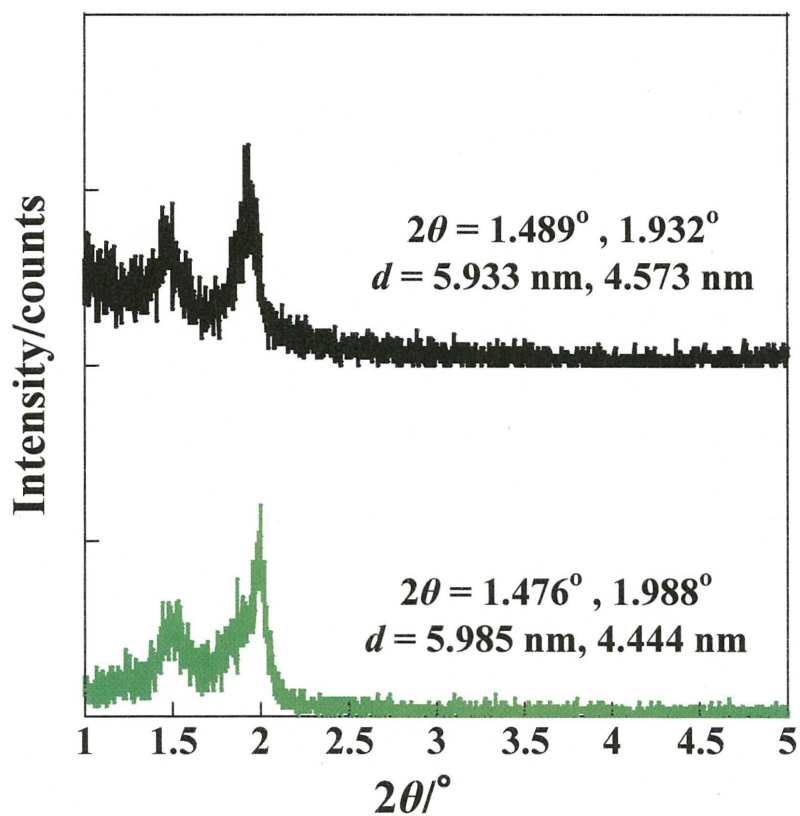
■: DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)

Fig. 2-11 Variation in viscosity over time for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



- : DEAE 20%
- : DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)

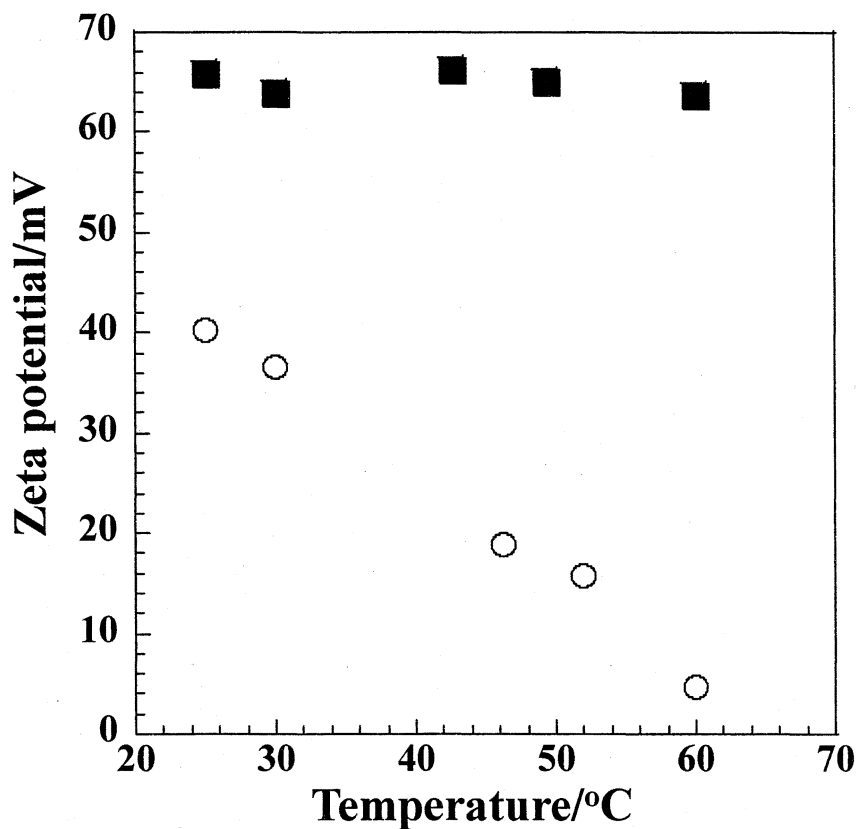
Fig. 2-12 NIR charts for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



— : DEAE 20%

— : DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)

Fig. 2-13 XRD pattern for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



○: DEAE 20%

■: DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)

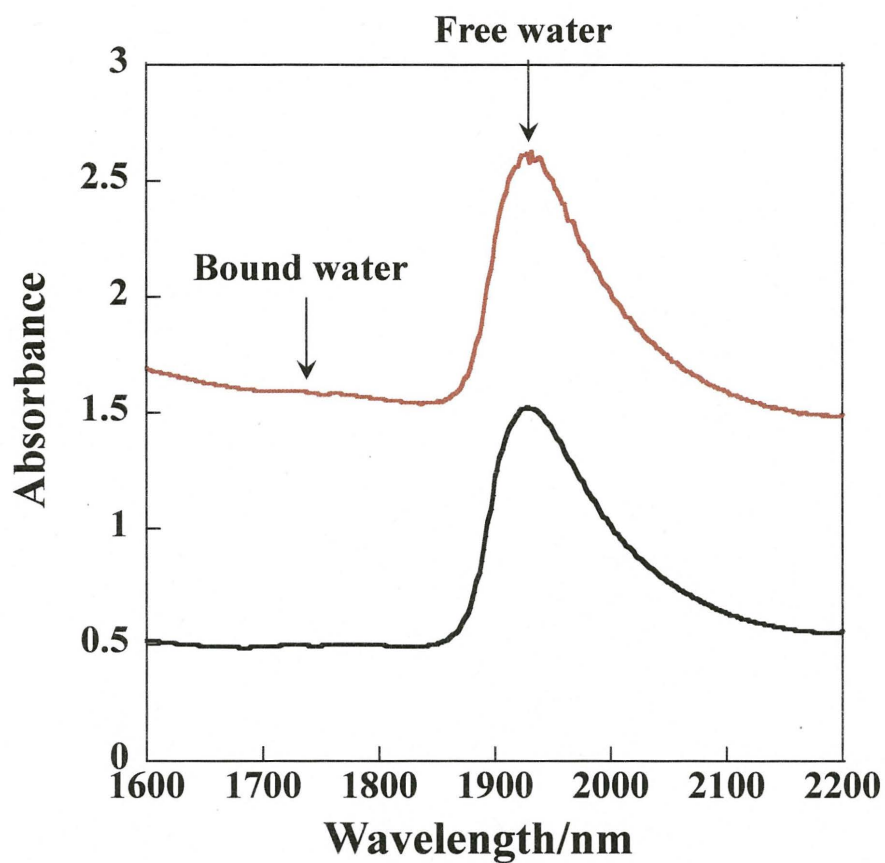
Fig. 2-14 Temperature dependence of zeta potential for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.

(3) DEAE ラメラ液晶に対する有機物と無機塩の添加効果

limonene が可溶化したラメラ液晶の 30°C におけるゼータ電位は+64.05 mV であり、油状物質である limonene を添加したにもかかわらず、DEAE の親水基部位の変化に起因する現象が発現した。そこで、この系に対しさらに塩化カルシウムを添加することで、有機物と無機塩が共存することによる協同効果が引き起こされることが期待できる。そこで、limonene と塩化カルシウムの両方を添加した 20 wt% DEAE 水分散液の二分子膜特性について調べた。

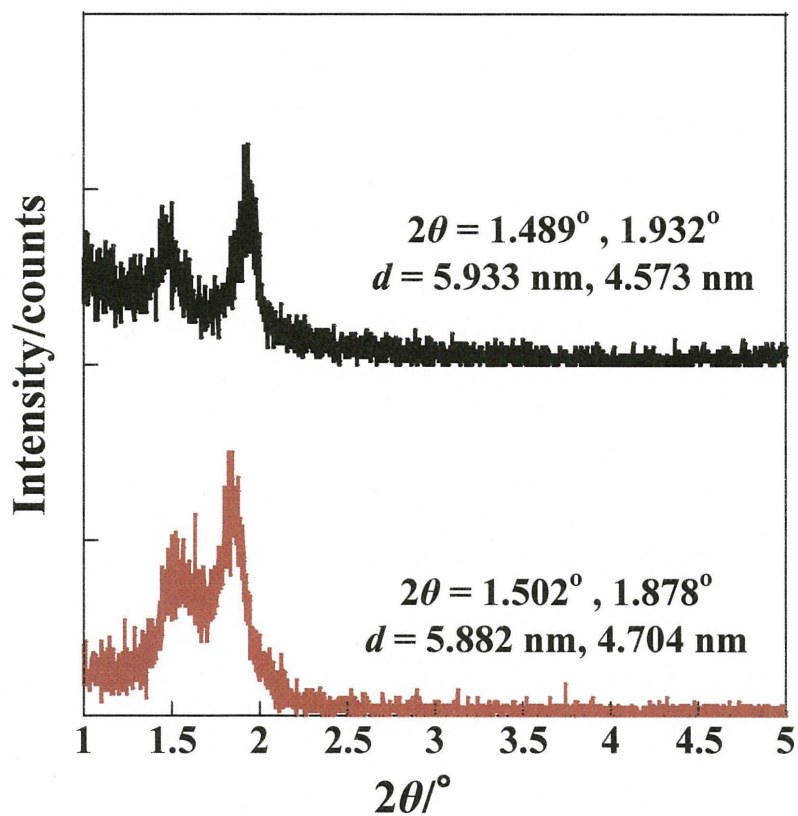
Fig. 2-3 (◇) は、limonene ($X_H = 0.1$) が可溶化したラメラ液晶に対する塩化カルシウム濃度とその分散液の粘度との関係を示す。塩化カルシウム濃度が 10 mmol/kg を超えると、分散液の粘度は低下し始め、100 mmol/kg 以上に達すると 10^5 から 10^2 mPa·s まで急激に低下した。一方、近赤外スペクトル測定を行い、自由水のピーク面積に対する束縛水のピーク面積比を求めた結果、DEAE 単独のときは 0.0072 であったが、limonene ($X_H = 0.1$) と塩化カルシウムを 500 mmol/kg 添加したときは 0.0009 であった (Fig. 2-15)。この結果は、両者の値に明確な差異が見られ、これまでの他の分散液系とは明らかに異なるものであった。また、近赤外スペクトルの全波長領域において、この系のみベースライン全体が上昇することがわかった。系の組成から推定して全波長領域で吸収が起こるとは考えにくいので、照射光が散乱されるためであると考えた。そこで、この低粘度化した分散液の SEM および AFM 観察を行ったところ、Photo 2-4C と Photo 2-5C で示すように、他の系とは異なる球状の組織体を確認することができた。動的光散乱法による粒子径測定においても、このとき観察された組織体の大きさに相当する個数平均粒子径が得られた。一方、XRD 測定において二分子膜構造の存在に起因する回折ピークが観察された (Fig. 2-16) ことから、この組織体は二分子膜構造を形成しており、ラメラ液晶が転移したことによって形成したベシクルであることがわかった。このとき DEAE 二分子膜が曲率を持つようになるため、回折ピークに変化が見られた。

このとき、Fig. 2-17 で示すように、limonene ($X_H = 0.1$) が可溶化したラメラ液晶に塩化カルシウムを 500 mmol/kg 添加すると、このとき形成したベシクルのゼータ電位は急激に低下した。例えば、30°C における limonene ($X_H = 0.1$) が可溶化したラメラ液晶のゼータ電位は+64.05 mV であったのに対し、さらに塩化カルシウムを添加すると+17.57 mV まで低下した。これは、このとき生じた Cl⁻イオンが、DEAE に束縛されたと考えた。可溶化ラメラ液晶に対する無機塩の添加メカニズムは、2.3.3 項(1)にて詳細に述べる。



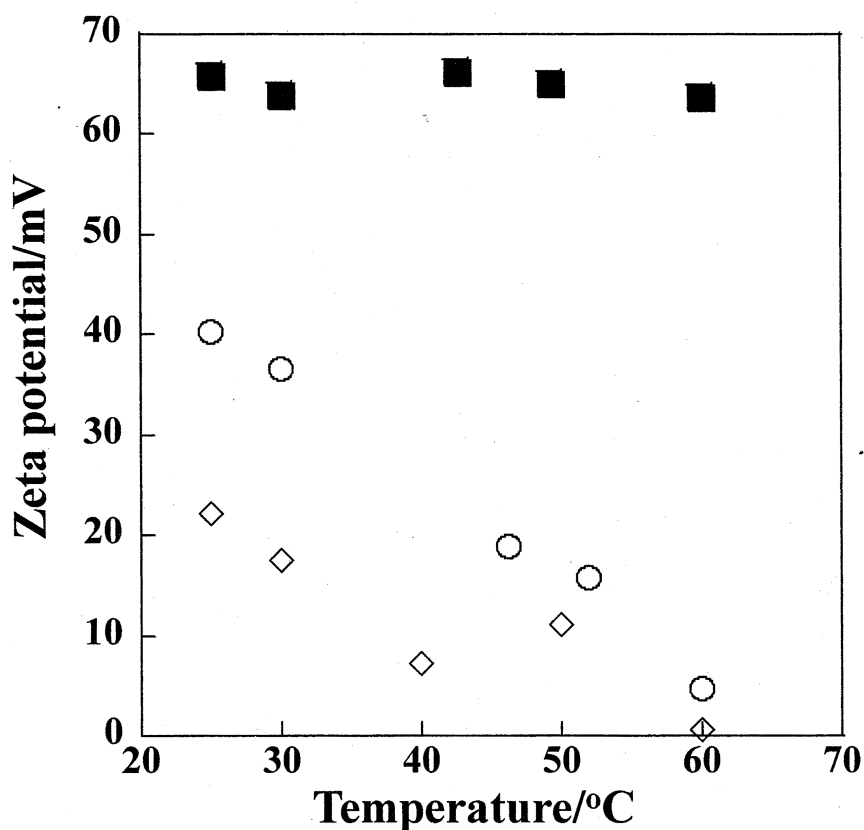
- : DEAE 20%
- : DEAE 20% containing both limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-15 NIR charts for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



- : DEAE 20%
- : DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)
and $500 \text{ mmol kg}^{-1} \text{ CaCl}_2$

Fig. 2-16 XRD pattern for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.



○: DEAE 20%

■: DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$)

◇: DEAE 20% containing both limonene ($X_H = 0.1$)
and $500 \text{ mmol kg}^{-1} \text{ CaCl}_2$

Fig. 2-17 Temperature dependence of zeta potential for the 20 wt% DEAE dispersions in the presence and absence of additives.

2.3.3 ラメラベシクル転移

DEAE ラメラ液晶に有機物である limonene を可溶化させ、さらに無機塩である塩化カルシウムを添加することによって、協同効果によりラメラからベシクル状へ転移することがわかった。そこで、化学添加物のみによって引き起こされるラメラベシクル転移のメカニズムについて検討し、最適な添加物種や転移の可逆性について検討した。

(1) 転移メカニズム

塩化カルシウムや limonene を単独で DEAE ラメラ液晶に添加しても、その分散液の粘度はほとんど変化せず、当初のラメラ液晶の構造を維持したままであった。したがって、このような手法では、ラメラ液晶からベシクルを調製することはできなかった。しかしながら、DEAE ラメラ液晶に有機物である limonene を可溶化させ、さらに無機塩である塩化カルシウムを添加することによって、協同効果によりラメラからベシクル状へ転移することがわかった。ここでは、各添加系におけるゼータ電位や pH 等から、化学添加物によるラメラ液晶からベシクルが形成するときのメカニズムについて、次に詳細に述べる。

DEAE ラメラ液晶に対する化学添加物の効果を解明するために、30°C における各添加系のゼータ電位と pH の測定を行った結果を **Table 2-2** に示す。得られたこれらの結果から、ラメラベシクル転移が引き起こされるメカニズムを次のように考えた。

Table 2-2 Zeta potentials and pH values for the 20 wt% DEAE dispersions both in the presence and absence of additives at 30°C

Additive	Zeta potential/mV	pH
None	+36.51	2.8
Limonene ($X_H = 0.1$)	+64.05	2.8
Limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg ⁻¹ CaCl ₂	+17.47	3.4

1) DEAE ラメラ液晶 (state 0)

Scheme 2-2 は、ラメラベシクル転移のメカニズムを模式的に表した図である。DEAE が水に分散すると、その液晶のゼータ電位は正を示した。もしメチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の解離が起これなければ、DEAE の誘電率は水より小さいため、DEAE 液晶のゼータ電位は負になるこ

とが予想される。したがって、DEAE の対イオンであるメチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の一部が解離し、DEAE は水中でカチオン性のラメラ液晶を形成する。解離したメチル硫酸イオン CH_3SO_4^- は水を加水分解するので、水酸化物イオン OH^- が増加するが、このとき生じた水酸化物イオン OH^- の一部は、解離したメチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の代わりに DEAE に束縛される。そのため、DEAE 水分散液は酸性 (pH 2.8) になったと考えた。

このときラメラ液晶を形成している DEAE は、いずれのイオンも束縛していない状態(1)、水酸化物イオン OH^- を束縛している状態(2)、メチル硫酸イオン CH_3SO_4^- を束縛している状態(3)の3つが共存していると考えられる。そこで、これら3つの状態が共存しながらラメラ液晶を形成している状態を state 0 と定義し、**Scheme 2-2** の左側にそのモデル図を示す。

2) Limonene が可溶化した DEAE ラメラ液晶 (state 1)

次に、state 0 に limonene を添加したときを考える。Limonene を添加すると、DEAE 液晶のゼータ電位は +36.51 mV から +64.05 mV まで上昇した。そこで、このようなゼータ電位の上昇が、limonene の可溶化によって引き起こされるか否かを調べるために、DEAE 液晶中の limonene 含有量を測定した。

Limonene が可溶化した DEAE 水分散液中の水を遠心分離機によって除去することで、DEAE と limonene の混合物を得た。そして、この混合物を IPA に溶解し、ガスクロマトグラフィにて limonene 含有量を測定した。その結果、添加時の limonene のモル分率が 0.1 であったのに対し、液晶中にはモル分率 0.081 に相当する limonene が含まれており、確かに limonene が DEAE ラメラ液晶に可溶化していることが明らかとなった。したがって、有機物の可溶化に伴うゼータ電位の上昇は、確かに DEAE の物性変化によるものであると確認することができた。

Limonene が DEAE 二分子膜のパリセード型で可溶化すると、DEAE の分子間距離を広げることができる。その結果、DEAE 分子間の静電的反発が緩和されるため、DEAE 分子がイオン解離によってよりカチオン化したとしても、DEAE は二分子膜構造を維持することができる。そのため、メチル硫酸イオン CH_3SO_4^- や水酸化物イオン OH^- は DEAE に束縛される必要がないため、これらイオンの解離が促進されたと考えた。このとき、limonene の添加前後で pH に変化はなかったことから、メチル硫酸イオン CH_3SO_4^- だけが解離したことがわかった。本研究において、limonene の可溶化が起こることによって、DEAE 二分子膜は随伴的に電離現象が誘発され、DEAE の電離現象が自然に起こることが確認された。この状態を state 1 と定義し、**Scheme 2-2** の中央にそのモデル図を示す。

3) 塩化物イオン Cl^- が束縛された DEAE ラメラ液晶 (state 2)

最後に, state 1 に塩化カルシウムを添加したときを考える。Limonene が可溶化したラメラ液晶に 500 mmol kg^{-1} の塩化カルシウムを添加すると, ゼータ電位は $+64.05 \text{ mV}$ から $+17.47 \text{ mV}$ に低下し, pH は 2.8 から 3.4 まで上昇した。そこで, 添加した塩化カルシウムの働きを調べた。

塩化カルシウムを 1 mmol/kg 以上添加すると, 500 mmol/kg までの範囲内で pH がほぼ一定となるため (Fig. 2-18), limonene ($X_{\text{H}} = 0.1$) と 1 mmol/kg の塩化カルシウムの両方を添加した系について, 塩化物イオン Cl^- 濃度の測定を行った。その結果, 塩化カルシウムを 1 mmol/kg を添加したにもかかわらず, 自由水中の塩化物イオン Cl^- 濃度は 0.67 mmol/kg になることがわかった。

次に, 塩化物イオン Cl^- 濃度の減少量と pH の上昇現象との関係について検討した。pH が 2.8 から 3.4 まで上昇しているため, 増加した水素イオン H^+ 濃度と減少した水酸化物イオン OH^- 濃度が等しいとして計算すると, 式(2-2)から水酸化物イオン OH^- 濃度は 1.19 mmol/dm^3 であることがわかった。

$$[\text{OH}^-] = 10^{-2.8} - 10^{-3.4} = 1.19 \text{ mmol/dm}^3 \quad (2-2)$$

続いて, limonene が可溶化された DEAE 液晶に束縛したと考えられる塩化物イオン Cl^- 濃度は, 塩化カルシウムが水中で完全解離したとして計算すると, 式(2-3)から 1.33 mmol/dm^3 であることがわかった。

$$[\text{Cl}^-] = (1 \times 2) - 0.67 = 1.33 \text{ mmol/dm}^3 \quad (2-3)$$

式(2)と(3)から求めた水酸化物イオン OH^- 濃度と塩化物イオン Cl^- 濃度がほぼ一致することから, limonene が可溶化された DEAE 液晶は, 水酸化物イオン OH^- の代わりに塩化物イオン Cl^- を束縛していると考えられる。

そこで, この系の塩化物イオン Cl^- が DEAE 液晶に束縛されているか否かを調べるために, エネルギー分散型 X 線分析 (energy dispersive X-ray analysis, EDX) による塩化物の確認を行った。Photos 2-6-2-8 の SEM 像に示されている白枠内の EDX 測定の結果を Schemes 2-3-2-5 に示す。基盤であるガラス, ラメラ液晶からは塩化物の確認はできなかったが, ベシクル状の液晶中には塩化物 (Cl) が存在することを確認できた。

State 1 において, ラメラ液晶を形成している DEAE は, いずれのイオンも束縛していない DEAE (1) と, メチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の解離後水酸化物イオン OH^- を束縛している DEAE (2) の 2 つの状態が共存していると考えられる。この系に塩化カルシウムを添加すると, これら 2

つの状態は次のように変化する。いずれのイオンも束縛していない DEAE (1) に塩化カルシウムを添加すると、このとき生じた塩化物イオン Cl^- は DEAE 二分子膜のカチオン化した親水基部位に束縛される。その結果、DEAE 液晶のゼータ電位の低下を引き起こすことがわかる。一方、水酸化物イオン OH^- を束縛している DEAE (2) に塩化カルシウムを添加すると、塩化物イオン Cl^- は水酸化物イオン OH^- の代わりに束縛されるため、この対イオン交換によって pH が上昇することがわかる。両者の現象が同時に起こるため、**Table 2-2** で示すような変化が起きたと考えた。どちらの場合においても、塩化物イオン Cl^- は DEAE の親水基部位に束縛されるため、二分子膜中へ入り込むことがわかる。この状態を state 2 と定義し、**Scheme 2-2** の右側にそのモデル図を示す。

このとき、塩化物イオン Cl^- は大量の束縛水を伴って DEAE 二分子膜の親水基部位へ進入するため、ラメラ液晶を構成する二分子膜は親水基間で分離させられる。分離した液晶粒子の形状として球状構造が最も安定であるため、分離した二分子膜は結果としてより安定なベシクルが形成したと考えた。DEAE 二分子膜の運動変化の観点からもラメラベシクル転移を考察できるが、次章でギブス自由エネルギー変化と関連付けながら詳細に議論する。

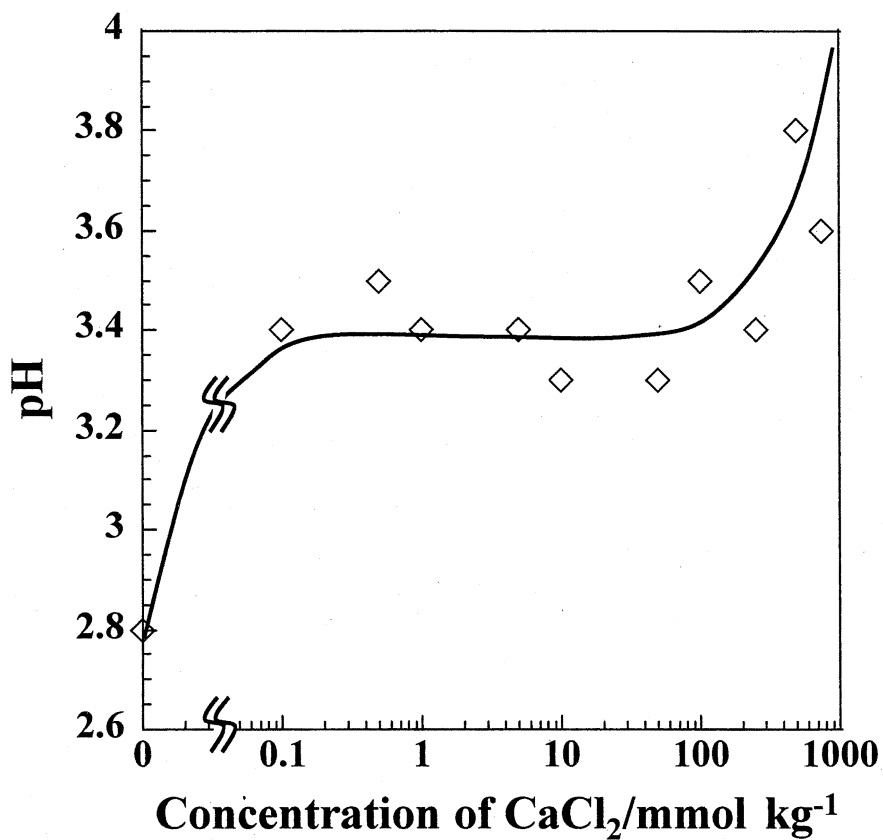
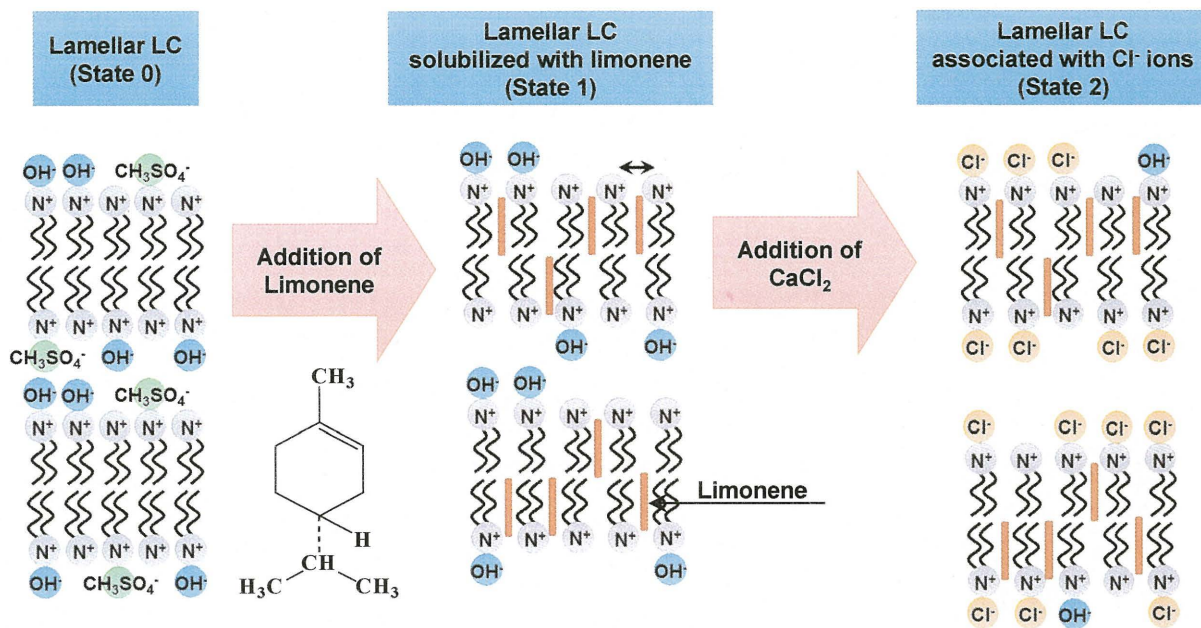


Fig. 2-18 pH values of the 20 wt% DEAE dispersion with $X_H = 0.1$) as a function of concentration of CaCl_2 .



Scheme 2-2 Mechanism for the lamellar-vesicle transition.

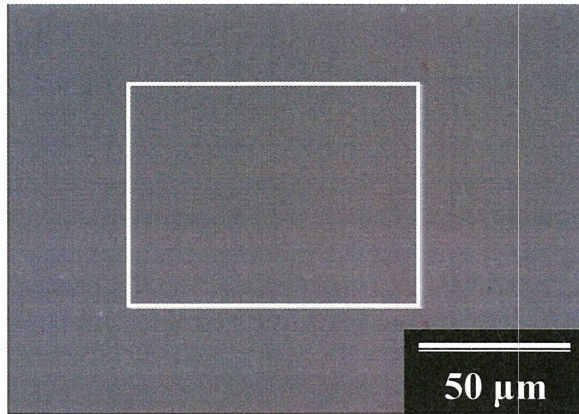
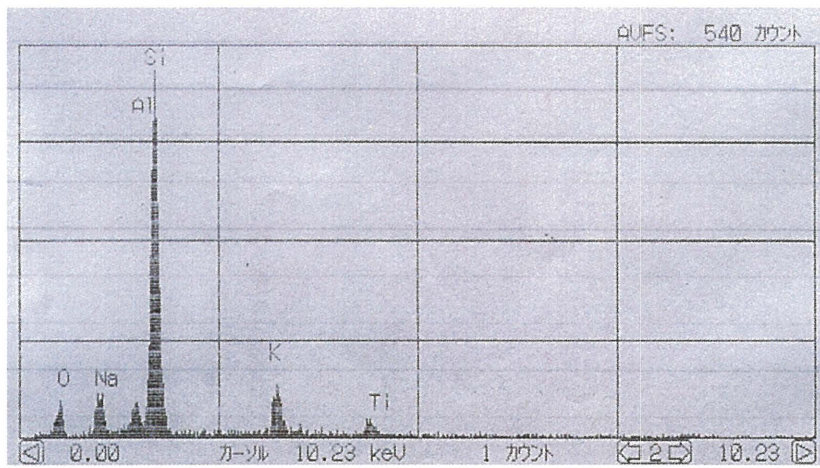


Photo 2-6 SEM image for glass wafer.



Scheme 2-3 EDX spectrum for glass wafer.

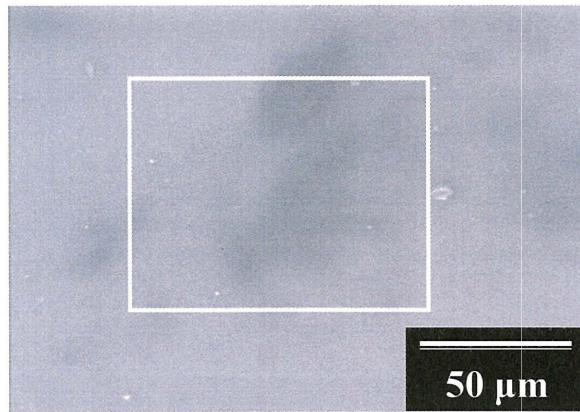
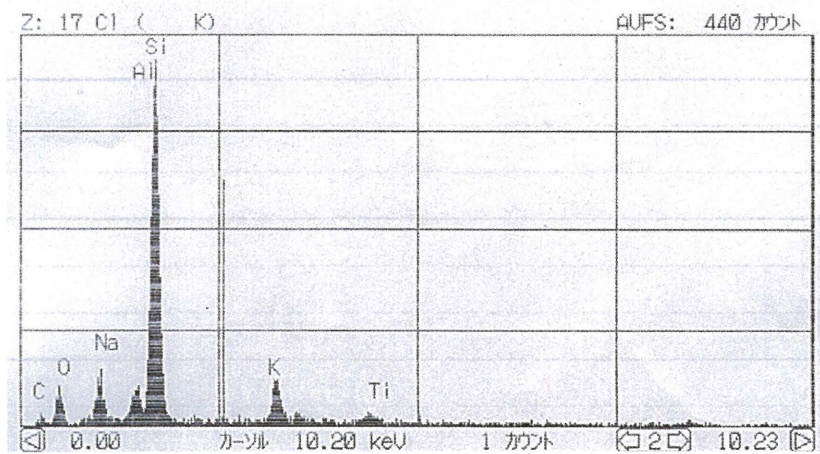


Photo 2-7 SEM image for DEAE 20% dispersion.



Scheme 2-4 EDX spectrum for 20 wt% DEAE dispersion.

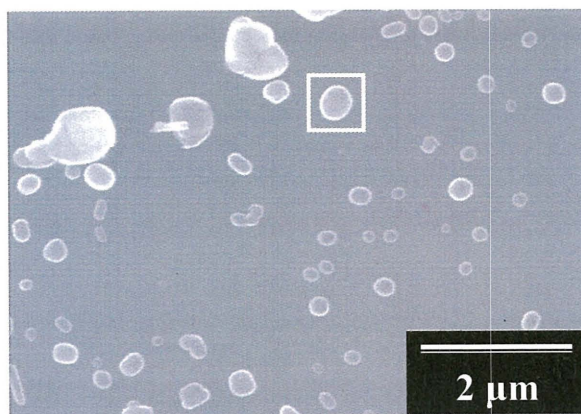
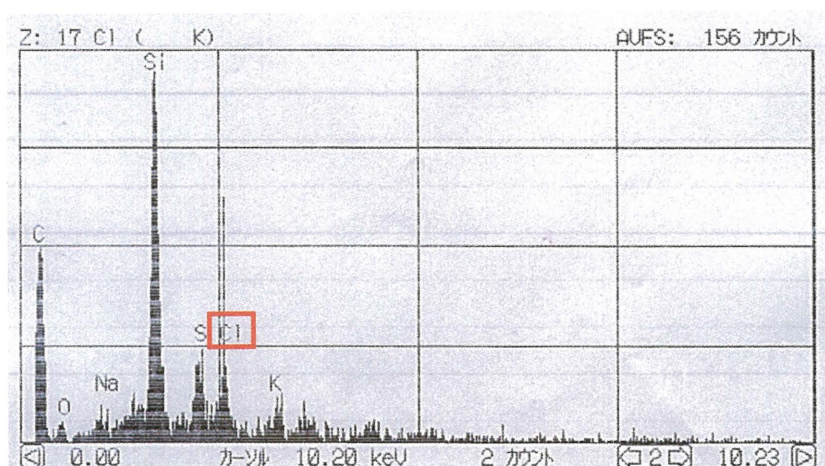


Photo 2-8 SEM image for DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg^{-1}



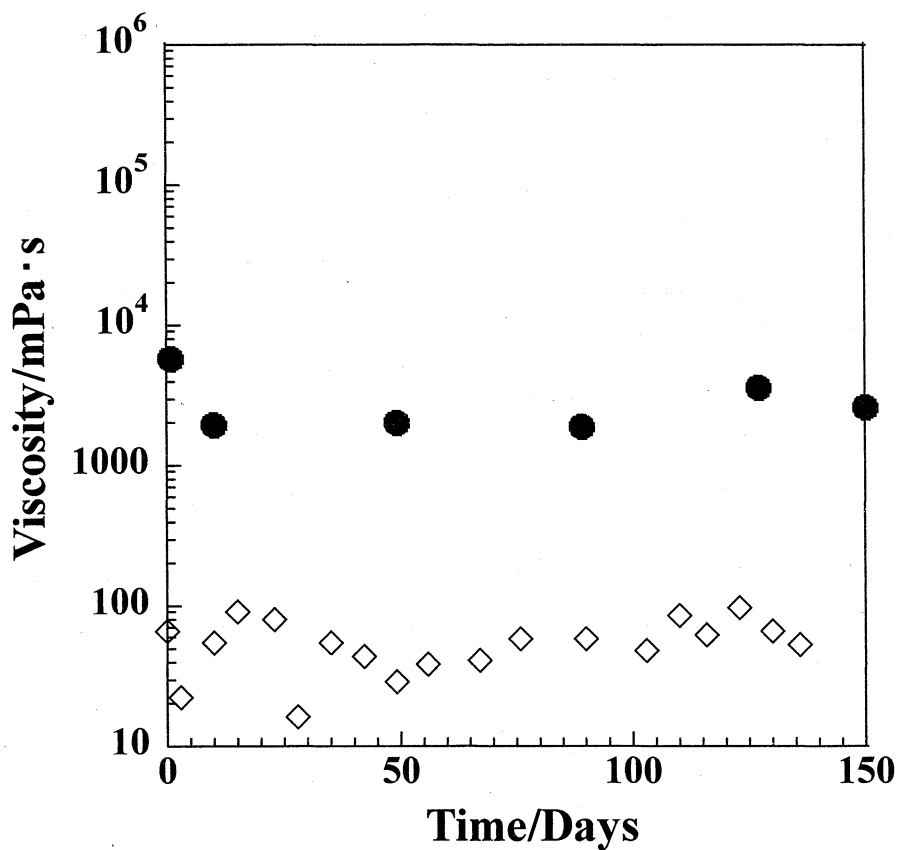
Scheme 2-5 EDX spectrum for DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$) and 500 mmol kg^{-1}

(2) 無機塩・有機物の添加順を変えた場合

(1)で述べたメカニズムが正しいのであれば、ラメラベシクル転移が起こるためには、化学添加物の順序が重要である。そこで、従来の添加順とは異なり、DEAEラメラ液晶に対して塩化カルシウム、limoneneの順に添加した場合に、ベシクルが形成するか否かを調べた。

2.2.4 項(1)で述べた方法で調製した 500 mmol/kg の塩化カルシウムを含む DEAE 水分散液に対し、モル分率が 0.1 となるように limonene を添加し、1 分間手で十分に攪拌することで試料を調製した。**Fig. 2-19** は、この系の粘度測定の結果を示す。従来の limonene、塩化カルシウムの順に添加した場合と比べ、この系の分散液の粘度は低下しないことが明らかとなった。さらに、この系の SEM 観察を行ったところ、limonene と塩化カルシウムの両方を添加したにもかかわらず、**Photo 2-9** で示すようにベシクル状の組織体を確認することはできなかった。

以上より、ラメラベシクル転移が引き起こされるためには、有機物と無機塩の添加する順序が重要であり、(1)で述べたラメラベシクル転移のメカニズムを支持する結果が得られた。



- ◇: Addition in order of limonene and successively calcium chloride
 ●: Addition in order of calcium chloride and successively limonene

Fig. 2-19 Time dependence of viscosity for 20 wt% DEAE dispersions prepared by the different order of additives.



Photo 2-9 SEM image for DEAE 20% added in order of 500 mmol/kg CaCl₂ and successively limonene ($X_H = 0.1$).

(3) 協同効果と添加物の影響

DEAE ラメラ液晶 に有機物である limonene を可溶化させ、さらに無機塩である塩化カルシウムを添加することによって、協同効果によりラメラからベシクル状へ転移することがわかった。そこで、協同効果が起こるための条件として、無機塩や有機物の種類について検討した。

【最適な無機塩】

ここでは、有機物として limonene ($X_H = 0.1$) を用い、最後に添加する無機塩種を変えたとしても、塩化カルシウムのと看のようにラメラベシクル転移が引き起こされるか否かを調べた。

1) 中性塩を用いた場合

無機塩である塩化カルシウムを添加することにより、協同効果によってラメラベシクル転移が引き起こされることを見出した。2.3.3 項(1)で述べたラメラベシクル転移においては、塩化物イオン Cl^- の働きが重要であった。そこで、ラメラベシクル転移が引き起こされる因子として、無機塩の陽イオン種に依存するかを調べるために、無機塩として塩化マグネシウム、塩化カリウム、塩化ナトリウムを用いた。試料は塩化物イオン Cl^- 濃度が 1000 mmol/kg となるように調製し、これらの試料について塩化カルシウムを用いた場合と比較・検討した。

Table 2-3 は、これらの試料の粘度測定の結果を示す。無機塩に塩化カルシウムを用いた場合と同様に、塩化物塩以外のいずれの場合でも、その分散液の粘度は著しく低下することがわかった。したがって、添加する無機塩の陽イオン種には依存せず、塩化物イオン Cl^- がラメラベシクル転移を引き起こす因子であることがわかった。

Table 2-3 Viscosity of the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$)
as a function of salt concentration at 30°C

Additive (anion concentration = 1 mol/kg)	Viscosity / mPa·s
None	106800
Calcium chloride	50
Magnesium chloride	110
Potassium chloride	110
Sodium chloride	150
Sodium bromide	100
Calcium nitrate	150
Sodium sulfate (0.1 mol/kg)	100

次に、塩化物イオン Cl^- 以外の陰イオン種であってもラメラベシクル転移を引き起こすか否かを調べるために、臭化物イオン Br^- 、硝酸イオン NO_3^- 、硫酸イオン SO_4^{2-} にした場合について検討した。無機塩として臭化ナトリウム、硝酸カルシウム、硫酸ナトリウムを用いた。硫酸ナトリウムを用いる場合、硫酸イオン SO_4^{2-} は 2 価であるため、最初に最適添加量について調べた。**Fig. 2-20** は、limonene が可溶化したラメラ液晶に対する硫酸ナトリウム濃度と分散液の粘度との関係を示す。硫酸ナトリウムの濃度が 100 mmol/kg に達すると、分散液の粘度は著しく低下した。一方塩化カルシウムの場合は、250 mmol/kg に達すると分散液の粘度は著しく低下した。このときの塩化物イオン Cl^- 濃度は 500 mmol/kg となるので、硫酸ナトリウムは塩化カルシウムの 5 分の 1 の濃度で低粘度化を引き起こすことがわかった。これは、イオン強度はイオン種の重量モル濃度とイオン価の 2 乗の積で決まるため、硫酸ナトリウムの最適添加量が減少したと考えられる。そこで、硫酸ナトリウムを用いる場合、最適添加量は 100 mmol/kg に決定した。臭化ナトリウムと硝酸カルシウムについては、陰イオン濃度が 1000 mmol/kg となるようにした。これらの試料は、塩化カルシウムを用いた場合と比較・検討した。

Table 2-3 は、これらの試料の粘度測定の結果を示す。無機塩に塩化カルシウムを用いた場合と同様に、いずれの塩化物塩以外の場合も、その分散液の粘度は著しく低下することがわかった。さらに硝酸カルシウム添加系と硫酸ナトリウム添加系の SEM 観察を行ったところ、**Photo 2-10** に示すように、無機塩に塩化カルシウムを用いた場合と同様に、いずれの系からもベシクル状の液晶が観察された。したがって、無機塩は塩化カルシウムに限らず、中性塩を用いることでラメラベシクル転移が引き起こされることがわかった。

2) 酸性塩を用いた場合

次に、酸性塩として無機塩に塩化アンモニウムを用い、塩化カルシウムを用いた場合と比較・検討した。**Fig. 2-21** は、limonene が可溶化したラメラ液晶に対する塩化アンモニウム濃度と分散液の粘度との関係を示す。無機塩に塩化カルシウムを用いた場合とは異なり、塩化アンモニウムを用いても分散液の粘度を低下させることができなかった。したがって塩化アンモニウムは、ラメラベシクル転移における塩化カルシウムの働きをしていないと考えられる。

そこで、塩化カルシウムと塩化アンモニウムの添加塩効果の違いについて検討した。2.3.3 項 (1)でも述べたように塩化カルシウムを 1 mmol/kg 以上添加すると、500 mmol/kg までの範囲内で pH がほぼ一定となる。そこで、塩化物イオン Cl^- 濃度が 2 mmol/kg 一定となるようにして塩化アンモニウムを添加した系について pH 測定を行い、塩化カルシウム添加系と比較・検討し

た。Table 2-4 は、塩化カルシウム 1 mmol/kg 添加系と塩化アンモニウム 2 mmol/kg 添加系の pH 測定の結果を示す。塩化カルシウムを添加したときは pH が 2.8 から 3.6 まで上昇したが、塩化アンモニウムを添加したときは pH がほとんど上昇しなかった。これは、メチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の加水分解が塩化アンモニウムの添加により抑制されないため、pH が上昇しなかったと考えた。

Table 2-4 pH values for the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$) and inorganic salts at 30°C

Inorganic salt	pH
None	2.8
1 mmol kg ⁻¹ CaCl ₂	3.6
2 mmol kg ⁻¹ NH ₄ Cl	2.9

Fig. 2-22 は、limonene が可溶化したラメラ液晶に対する塩化アンモニウム濃度とゼータ電位の関係を示す。無機塩に塩化アンモニウムを用いた場合では、ラメラベシクル転移が引き起こされた塩化物イオン Cl^- 濃度であっても、ゼータ電位は著しく低下することはなかった。

以上の測定結果の考察から、塩化アンモニウムを添加したとしても、DEAE 液晶の対イオンとして塩化物イオン Cl^- が束縛されていないことが示唆された。そこで、塩化アンモニウムを 2 mmol/kg 添加した系の自由水中に含まれる塩化物イオン Cl^- 濃度の測定を行った。その結果、塩化アンモニウム添加系における自由水中の塩化物イオン Cl^- 濃度は、0.59 mmol/kg になることがわかった。

そこで、塩化物イオン Cl^- 濃度の減少量と pH の上昇現象との関係について検討した。pH が 2.8 から 2.9 までわずかに上昇しているので、増加した水素イオン H^+ 濃度と減少した水酸化物イオン OH^- 濃度が等しいとして計算すると、式(2-4)から水酸化物イオン OH^- 濃度は 0.33 mmol/dm³ であることがわかった。

$$[\text{OH}^-] = 10^{-2.8} - 10^{-2.9} = 0.33 \text{ mmol/dm}^3 \quad (2-4)$$

続いて、limonene が可溶化された DEAE 液晶に束縛したと考えられる塩化物イオン Cl^- 濃度は、塩化アンモニウムが水中で完全解離したとして計算すると、式(2-5)から 1.41 mmol/dm³ であることがわかった。

$$[\text{Cl}^-] = 2.00 - 0.59 = 1.41 \text{ mmol/dm}^3 \quad (2-5)$$

式(4)と(5)から求めた水酸化物イオン OH^- 濃度と塩化物イオン Cl^- 濃度が一致しないことから、limonene が可溶化された DEAE 液晶は、水酸化物イオン OH^- の代わりに塩化物イオン Cl^- を束縛していないと考えられる。これは DEAE 水分散液が酸性であるために、酸性条件において塩化アンモニウムの解離は抑制される。そのため、DEAE 液晶の膜中に十分侵入するだけの塩化物イオン Cl^- が存在せず、ベシクル化が起こらなかったと考察した。

以上より、ラメラ-ベシクル転移が引き起こされるためには、酸性塩の添加は適さないことがわかった。

3) 塩基性塩を用いた場合

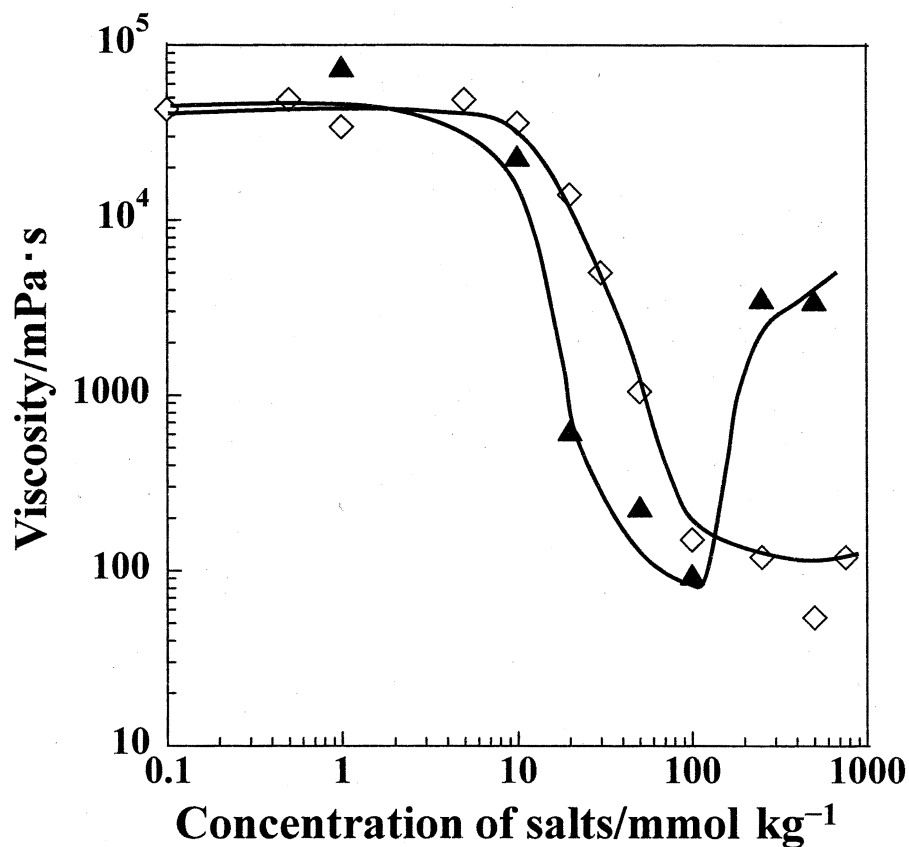
最後に、塩基性塩を用いた場合についても検討した。無機塩は、酢酸ナトリウム、酢酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウムを用い、塩化カルシウムを用いた場合と比較・検討した。Table 2-5 は、これらの試料の粘度測定の結果を示す。塩基性塩を用いた場合は、塩化カルシウムを用いた場合と比べて、著しく粘度を下げるができなかった。

Table 2-5 Viscosity of the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$) and inorganic salts at 30°C

Inorganic salt (anion concentration = 1 mol/kg)	Viscosity / mPa·s
None	106800
Calcium chloride	50
Sodium acetate	780
Calcium acetate	530
Sodium carbonate	46000
Sodium borate	6600

DEAE 液晶は、無機塩を添加する前の液性は酸性であり、水酸化物イオン OH^- を束縛した状態で存在している。塩基性塩は水を加水分解するので、解離によって水酸化物イオン OH^- が生成する。そのため、元々水酸化物イオン OH^- を束縛した状態で存在している DEAE 液晶に対して塩基性塩を添加しても、対イオンの交換は起こらない。そのため、陰イオンが DEAE 液晶の膜中へ十分侵入するだけの陰イオンが存在せず、ラメラ-ベシクル転移が起こらなかったと考えられる。以上より、ラメラ-ベシクル転移が引き起こされるためには、塩基性塩の添加は

適さないことがわかった。



◇: Calcium chloride
 ▲: Sodium sulfate

Fig. 2-20 Variation in viscosity with salt concentration in the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$).

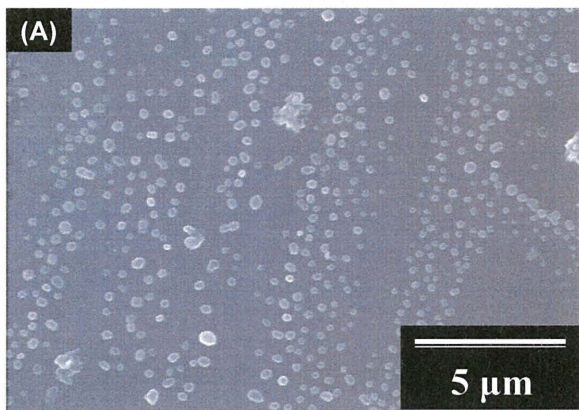


Photo 2-10 SEM images for DEAE 20% containing limonene ($X_H = 0.1$) and (A) 500 mmol kg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, and (B) 100 mmol kg

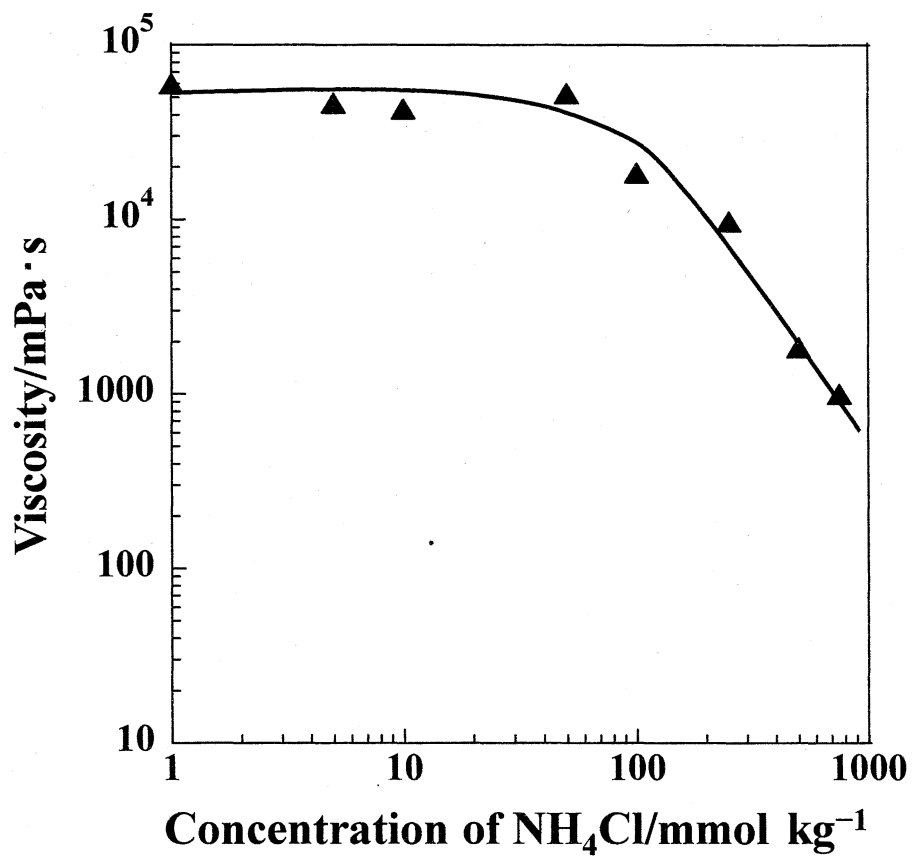


Fig. 2-21 Viscosity of 20 wt% DEAE dispersion containing limonene ($X_H = 0.1$) as a function of NH_4Cl concentration.

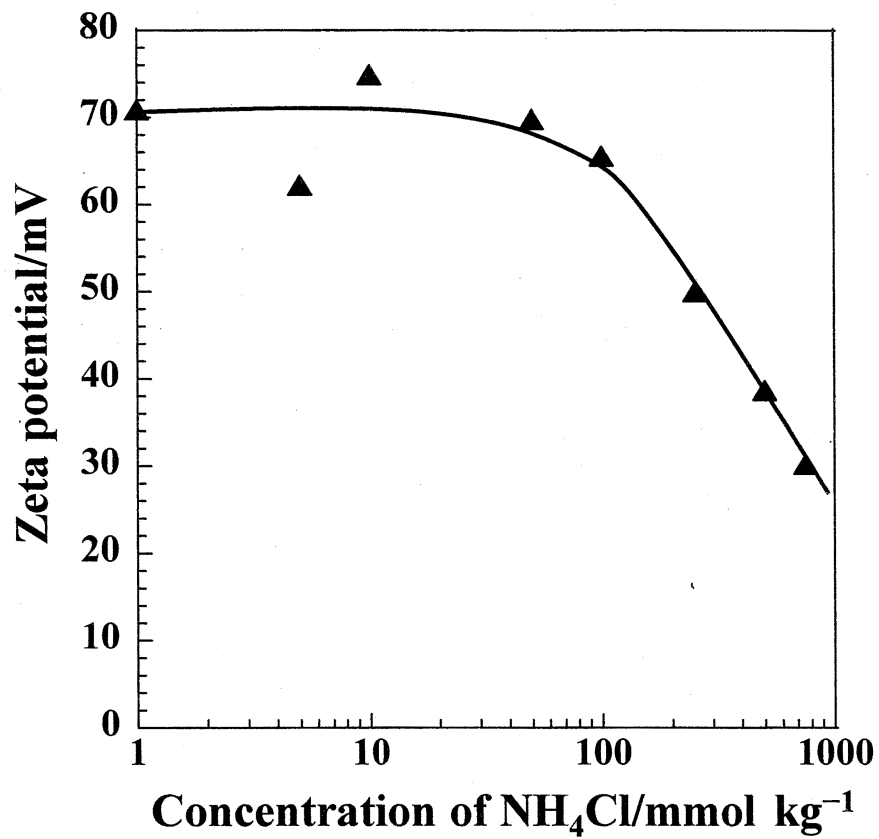


Fig. 2-22 Zeta potentials for 20 wt% DEAE dispersion containing limonene ($X_{\text{H}} = 0.1$) as a function of NH_4Cl concentration.

【最適な有機物】

ここでは、最後に添加する無機塩は 500 mmol/kg 塩化カルシウムとし、有機物種を変えたとしても、limonene のときのようにラメラベシクル転移が引き起こされるか否かを調べた。

Limonene は、分子容が大きな有機化合物である。ラメラベシクル転移において、有機物は DEAE 二分子膜中にパリセード型で可溶化することが重要であった。そこで、ラメラベシクル転移が引き起こされる因子として、添加有機物の分子構造に依存するかを調べるために、7 種類のフレキシブルな炭化水素油 (C_nH_{2n+2} , $n = 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18$), 分子容の大きな cyclohexane と、2 種類の剛直な炭化フッ素油 (perfluorohexane, perfluorononane) を用いた。試料は $X_H = 0.1$ となるように調製し、これらの試料について、limonene を用いた場合と比較・検討した。

Table 2-6 は、これらの試料の粘度測定の結果を示す。有機物に limonene を用いたときと同様に、いずれの有機物の場合も分散液の粘度は著しく低下した。

Table 2-6 Viscosity of the 20 wt% DEAE dispersions containing 500 mmol/kg $CaCl_2$ and organic substances at 30°C

Organic substance ($X_H = 0.1$)	Viscosity/mPa·s
None	78640
Limonene	50
Cyclohexane	80
Hexane	100
Octane	70
Decane	130
Dodecane	80
Tetradecane	70
Hexadecane	80
Octadecane	80
Perfluorohexane	70

ラメラベシクル転移が引き起こされるためには、DEAE ラメラ液晶に有機物を可溶化したとき、液晶のゼータ電位が上昇しなければならない。そこで、これら有機物が可溶化した液晶のゼータ電位を測定したところ、非電解質であるにもかかわらず limonene 以外の有機物であって

も、液晶のゼータ電位が上昇した。その結果を **Table 2-7** に示す。

Table 2-7 Zeta potentials of the 20 wt% DEAE dispersions both in the presence and absence of organic substances at 30°C

Organic substance ($X_H = 0.1$)	Zeta potential/mV
None	+36.51
Limonene	+64.05
Cyclohexane	+59.02
Hexane	+54.24
Octane	+66.71
Decane	+62.79
Dodecane	+76.33
Tetradecane	+74.83
Hexadecane	+66.94
Octadecane	+58.68
Perfluorohexane	+62.28

DEAE は難水溶性物質であるため、limonene のみならず様々な非電解質である有機物を可溶化する。ところが可溶化が起こることによって、DEAE の組織体は随伴的に電離現象が誘発され、自然に起こることが確認された。このように、非電解質が二分子膜への可溶化に伴い誘発的に解離が増大する現象は、多く非電解質で観察できたことから、一般的現象と認識することができる。この結果は、次章で述べる熱力学的パラメータの試算において、重要な結果となる。

さらに、decane 添加系と perfluorohexane 添加系の SEM 観察を行ったところ、**Photo 2-11** に示すように、有機物に limonene を用いた場合と同様に、いずれの系からもベシクル状の液晶が観察された。したがって、有機物は limonene に限らず、油状物質を用いることでラメラベシクル転移が引き起こされることがわかった。

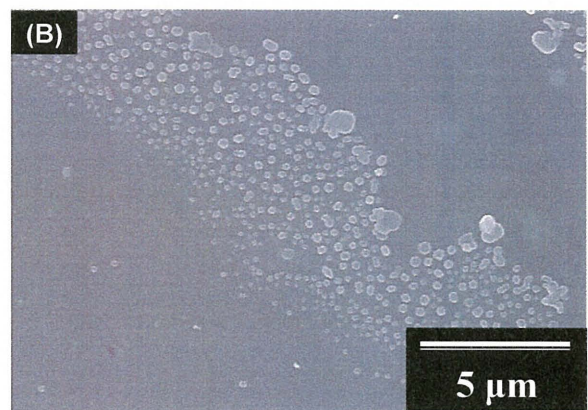
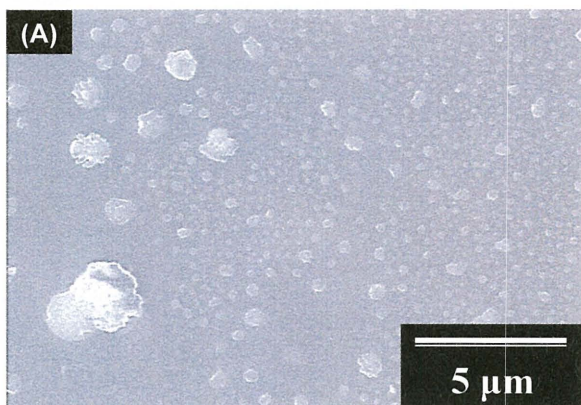


Photo 2-11 SEM images for DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂ and (A) decane ($X_H = 0.1$), and (B) perfluorohexane ($X_H = 0.1$).

(3) ラメラベシクル転移とその可逆性

Fig. 2-23(◆)で示すように、同一試料による測定を繰り返していると、limonene-塩化カルシウム系であっても、経日約 250 日から粘度が漸次増大した。この試料の経日 670 日後について SEM 観察を行ったところ、Photo 2-12 で示すように、調製直後に観察されたベシクルを観察することができなかった。そのため経時による増粘現象は、ベシクル状からラメラ化したためであることがわかった。

一方、limonene-塩化カルシウム系において、密封容器中に保存し開封回数の少ないものは、Fig. 2-23(△)で示すように、経日約 330 日後でも調製直後と同様の低粘度を保持していた。添加塩である塩化カルシウムが、液晶中から減少することは考えられない。そのためラメラ化現象は、添加有機物である limonene の蒸気圧が高いために起こる揮発によって、DEAE 液晶中の limonene 可溶化量が減少したためであると考えた。そこで、ガスクロマトグラフィにより limonene の残存量を定量し、30°C における粘度との関係について検討した。Table 2-8 は、その結果を示す。調製直後においては $X_H = 0.081$ に相当する limonene が可溶化していたが、経日 670 日後には 0.006 まで減少した。したがって、経日による増粘現象は、limonene の可溶化量が減少したために起こったことがわかった。

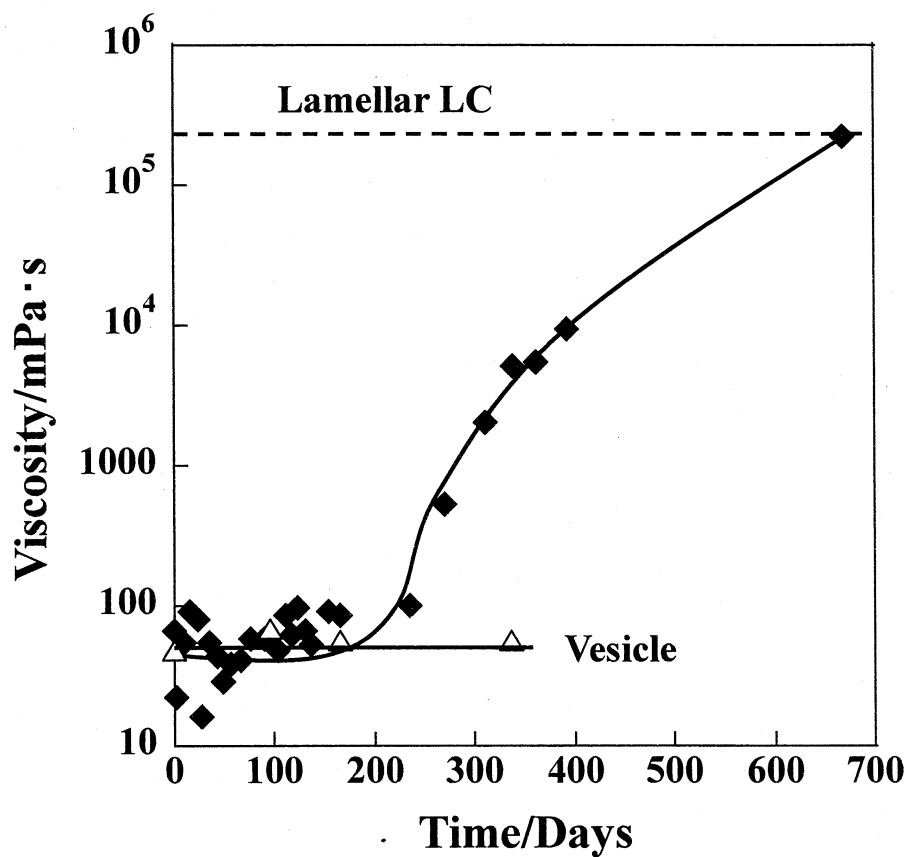
Table 2-8 Viscosity and mole fraction of limonene for 20 wt% DEAE dispersions containing limonene and 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂ at 30°C

Aging time/Day	Viscosity/mPa·s	Mole fraction
0	50	0.081
670	217200	0.006

そこで、化学添加物の量によってラメラベシクル転移を制御できるのではないかと考え、塩化カルシウムの濃度を 500 mmol/kg 一定として、limonene のモル分率と分散液の粘度との関係を調べた。Fig. 2-24 は、その関係を示す。limonene のモル分率が増加するにつれて、分散液の粘度が低下することがわかった。さらに、Fig. 2-25 でも示すように、DEAE 液晶に対する limonene のモル分率によって、液晶のゼータ電位を変化させることができた。ラメラベシクル転移において、DEAE ラメラ液晶に limonene を添加するとゼータ電位は上昇し、さらに塩化カルシウムを添加するとゼータ電位は急激に低下する必要がある。すなわち、ベシクル構造を

維持するためには、有機物が二分子膜中に一定量以上可溶化している必要があることがわかった。また **Fig. 2-26** で示すように、limonene が可溶化したラメラに対して一定量以上の塩化カルシウムを添加することで、液晶のゼータ電位が急激に低下することがわかった。

以上より、ラメラベシクル転移は、化学添加物の量によって制御することができることが明らかになった。そのため、DEAE ラメラ液晶ベシクル転移は、ギブス自由エネルギーを連続関数とした相転移であるとみなすことができる。それゆえ、このような化学量論的現象を熱力学的に解析することによって、今まで不可能であったラメラベシクル転移における熱力学的パラメータの算出が、初めて可能になる。



◆: Dispersion in opened container
 △: Dispersion in sealed container

Fig. 2-23 Variation in viscosity over time for the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$) and $500 \text{ mmol kg}^{-1} \text{ CaCl}_2$.



Photo 2-12 SEM image for the the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$) and $500 \text{ mmol kg}^{-1} \text{ CaCl}_2$ after 670 days.

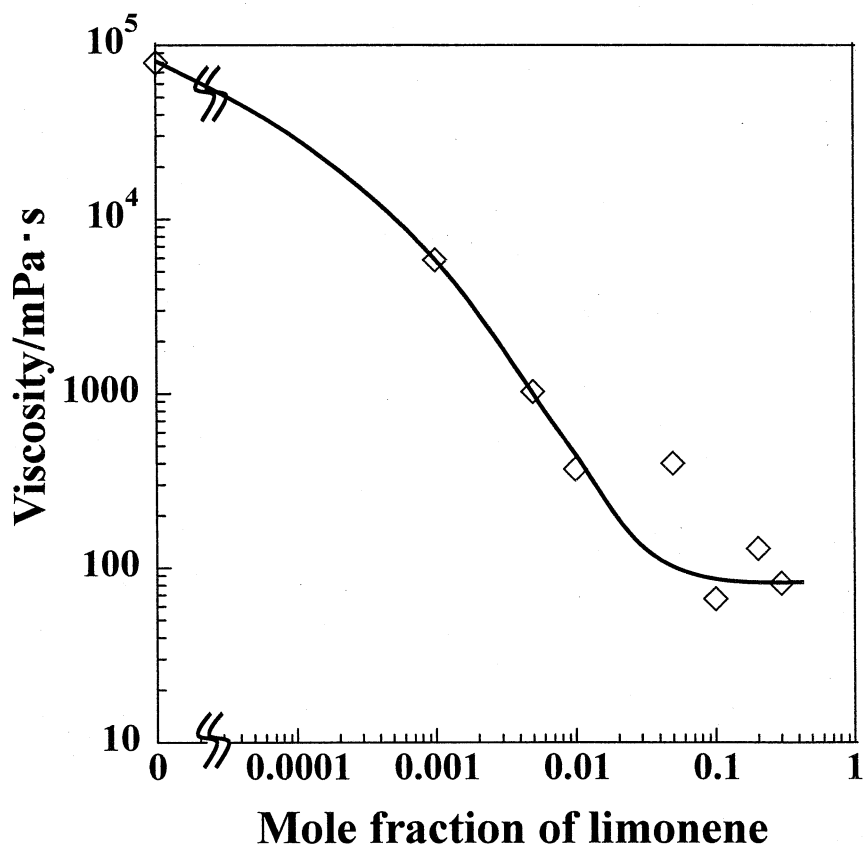
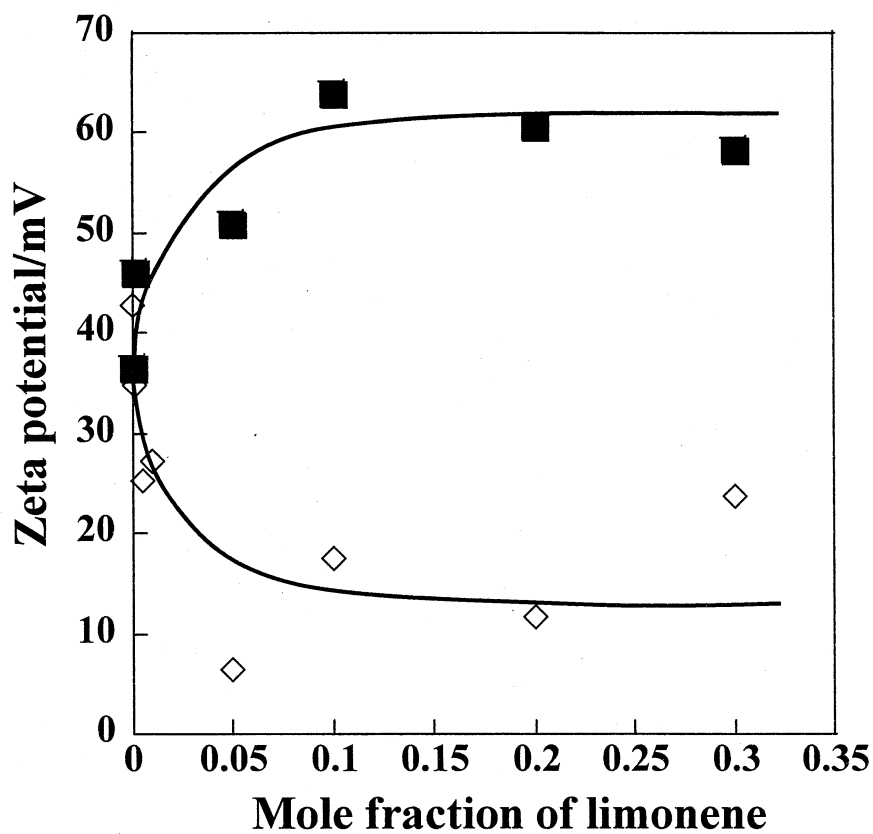


Fig. 2-24 Variation in viscosity with mole fraction of limonene in the 20 wt% DEAE dispersions containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂



■: DEAE 20%
 ◇: DEAE 20% containing 500 mmol kg⁻¹ CaCl₂

Fig. 2-25 Variation in zeta potential with mole fraction of limonene in the 20 wt% DEAE dispersions.

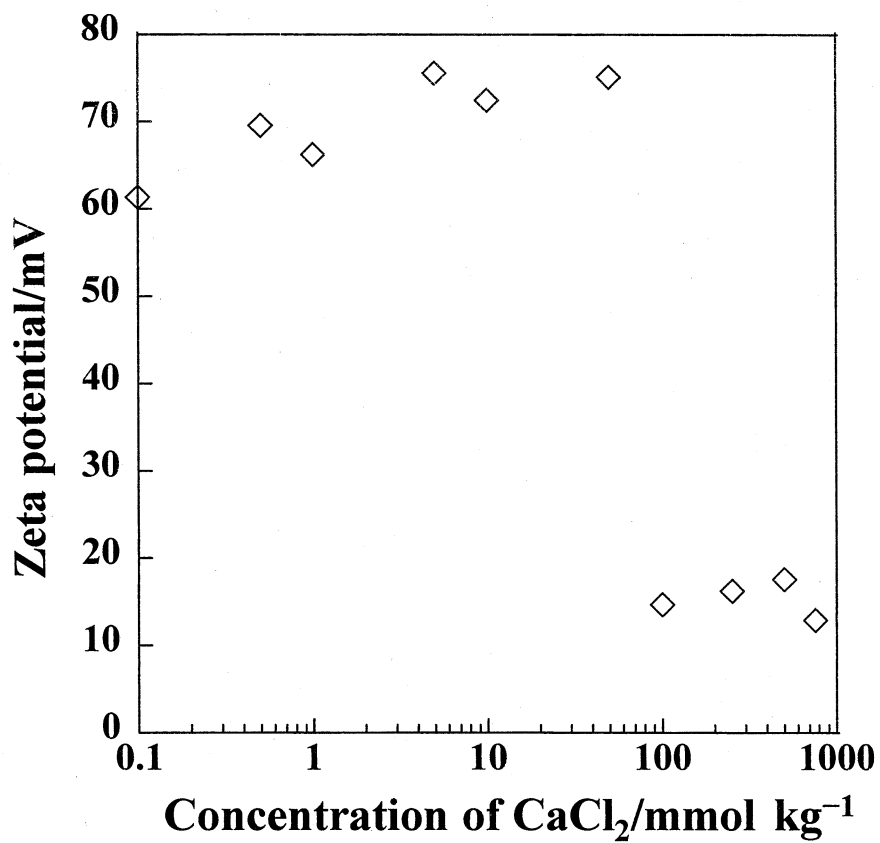


Fig. 2-26 Variation in zeta potential with concentration of CaCl₂ in the 20 wt% DEAE dispersions containing limonene ($X_H = 0.1$)

2.4 本章のまとめ

カチオン性ラメラ液晶に対し無機塩や有機物を定量的に添加することで、ベシクルが形成するためのエネルギー的条件を検討した結果、次のような知見を得た。

本章で用いた DEAE は、濃厚な 20 wt%水分散液中でラメラ液晶を形成したことから、ラメラベシクル転移を検証するためのモデル物質として最適であった。このラメラ液晶に対し塩化カルシウムや limonene をそれぞれ単独で添加した場合は、ラメラ液晶を維持したままであり、ベシクルへの相転移は起こらなかった。しかしながら(塩化カルシウムと limonene の)両物質を同時添加した場合は、両物質による協同効果によって、ラメラ液晶からベシクルが形成するラメラベシクル転移が発現することを確認できた。この協同効果の現象は、有機物に油状物質、無機塩に中性塩を同時に添加すると、いずれの場合も、limonene-塩化カルシウム系と同様のラメラベシクル転移を確認できた。さらに、このとき起こるラメラベシクル転移のメカニズムを明らかにすることができた。

一方、このような方法によってベシクルを調製しても、可溶化された有機物が(揮発等で)減少すると再びラメラ液晶に転移することがわかった。すなわち、DEAE の液晶状態は化学添加物の量で決まることを意味する。したがって、本章で示したラメラベシクル転移は、攪拌や超音波照射等の外部エネルギーを一切利用せず化学添加物のみによる作用であるため、ギブス自由エネルギーを連続関数とした相転移であると考えられることができる。言い換えると、本方法のような工程によるベシクル形成によって、初めて熱力学パラメータの算出を可能になる。

そこで次章では、本章で得られた知見を元に、ラメラ液晶からベシクルが形成する際に要する熱力学的パラメータの算出を試みる。

2.5 参考文献

- [1] Kunitake, T.; Okahata, Y. *J. Am. Chem. Soc.* 99, 3860–3861 (1977).
- [2] Kunitake, T.; Okahata, Y.; Tamaki, K.; Kumamaru, F.; Takayanagi, M. *Chem. Lett.* 4, 387–390 (1977).
- [3] Sudhoelter, E. J. R.; Engberts, J. B. F. N.; Hoekstra, D. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 2467–2469 (1980).
- [4] Ghosh, S.; Ambade, B.; Ray, A. *Sci. Adv. Mater.* 5, 1837–1846 (2013).
- [5] Qiu, C.; Blanchard, G. J. *Spectrochim. Acta, Part A.* 110, 383–390 (2013).
- [6] Sun, Y.; Liu, C.; Qiao, W.; Zhou, M. *Tenside, Surfactants, Deterg.* 53, 47–55 (2016).
- [7] Han, X.; Song, W.; He, X.; Li, Y.; Li, S. *Huagong Shikan.* 28, 12–14, 17 (2014).
- [8] Zheng, Z.; Zhou, M.; Qiao, W.; Luo, L. *J. Surfactants Deterg.* 18, 171–178 (2015).
- [9] Liu, C.; Zhao, X. *Jingxi Yu Zhuanyong Huaxuepin.* 21, 40–41 (2013).
- [10] Banerjee, R.; Dutta, S.; Pal, S.; Dhara, D. *J. Phys. Chem. B.* 117, 3624–3633 (2013).
- [11] Zhao, M.; Yuan, J.; Zheng, L. *Colloids Surf., A.* 407, 116–120 (2012).
- [12] Shome, A.; Kar, T.; Das, P. K. *ChemPhysChem.* 12, 369–378 (2011).
- [13] Cui, L.; Fu, L. *Adv. Mater. Res. (Durnten-Zurich, Switz.).* 953–954 (2014).
- [14] Bangham, A. D.; Horne, R. W. *J. Mol. Biol.* 8, 660–668 (1964).
- [15] Benson, A. A. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 43, 265–270 (1966).
- [16] Zhang, M.; Meng, L.; Cao, X.; Jiang, M.; Yi, T. *Soft Matter.* 8, 4495–4500 (2012).
- [17] Brito, R. O.; Marques, E. F. *Chem. Phys. Lipids.* 137, 18–28 (2005).
- [18] Santucci, E.; Carafa, M.; Coviello, T.; Murtas, E.; Riccieri, F. M.; Alhaique, F.; Modesti, A.; Modica, A. *S.T.P. Pharma.* 6, 29–32 (1996).
- [19] Turanek, J.; Kasna, A.; Zaluska, D.; Neca, J. *Methods Enzymol.* 367, 111–125 (2003).
- [20] Yamaguchi, S.; Tsuchiya, K.; Sakai, K.; Abe, M.; Sakai, H. *J. Oleo Sci.* 65, 21–26 (2016).
- [21] Wang, L.; Pileni, M. *Langmuir.* Ahead of Print (2016).
- [22] Niu, W.; Feng, S.; Zhou, X.; Zhang, W.; Liu, Q.; Kong, L. *Shipin Gongye Keji.* 36, 238–242, 247 (2015).
- [23] Chen, S.; Lu, Q.; Liu, X.; Yu, C.; Chen, L.; Xie, F. *Huaxue Gongcheng (Xi'an, China).* 41, 58–61 (2013).
- [24] Oliveira, C. B.; Rigo, L. A.; Dalla R., L.; Gressler, L. T.; Zimmermann, C. E.; Ourique, A. F.; Da S., A. S.; Miletti, L. C.; Beck, R. C.; Monteiro, S. G. *Parasitology.* 141, 761–769 (2014).

- [25] Kunieda, H.; Shinoda, K. *J. Phys. Chem.* 82, 1710–1714 (1978).
- [26] Umemura, J.; Kawai, T.; Takenaka, T.; Kodama, M.; Ogawa, Y.; Seki, S. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 112, 293–309 (1984).
- [27] Kodama, M.; Kuwabara, M.; Seki, S. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 64, 277–282 (1981).
- [28] Laughlin, R. G.; Munyon, R. L.; Fu, Y. C.; Fehl, A. J. *J. Phys. Chem.* 94, 2546–2552 (1990).
- [29] James, A. D.; Ogden, P. H. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56, 542–547 (1979)
- [30] Tajima, K.; Imai, Y.; Nakamura, A.; Koshinuma, M. *Colloids Surf., A.* 155, 311–322 (1999).

第3章 ラメラベシクル転移におけるエネルギー変化の熱力学的試算

3.1 緒言

多くの研究者によって、ミセル形成のエネルギー論に関する報告がなされている^[11-17]。水溶性で比較的長い疎水基を有する両親媒性物質は、水に対しある濃度以上溶解すると、モノマーとして溶液中に存在するよりも、その疎水基同士が集まってミセル会合体を形成することで、安定なエネルギー状態になる。この会合体形成が現れる濃度は、臨界ミセル濃度 (critical micelle concentration, CMC) と呼ばれている。このミセル会合体が形成されると、その溶液の性質が急激に変化する。このミセル会合体は、単分散状態の界面活性剤分子と離合集散の繰り返しの状態でのみ存在することができるので、溶液中のモノマーと動的な会合平衡にある^[8]。

ミセルは、1 ミセルあたりモノマーの会合数が 50 から 100 分子なので、化学種としてみなすには会合数が多い。しかしながら、ミセルを化学種であるとみなし、会合数の均一な単分散ミセルを考え、モノマーとミセルの形成反応による質量作用モデルが提唱されている^[9]。このような会合平衡に基づくミセル形成を考え、さらに一方、ミセル形成における会合定数を実験にて測定することができるので、ミセル形成の熱力学的パラメータの算出に関する研究が、これまで多数報告されている^[10-19]。

一方、ベシクルはミセルのような分子会合体と異なり、ベシクルはモノマーが存在しないので平衡状態が存在しない。すなわちベシクルは、独立した相として存在する。そのため、形成するベシクルのサイズ(分子数)は任意である。したがって、ベシクル形成にあたり、系に付与された外部エネルギーの量を正確に知ることができない限り、ベシクル形成における熱力学的パラメータを算出することは不可能である。そのため、カチオン性両親媒性物質のベシクル形成における熱力学的パラメータを算出した報告例は、調べた範囲内においては存在していない。そのため、ベシクルの安定化についても、実験的に明らかにされていない。

しかしながら、本論文の第2章において、機械的攪拌や超音波照射等の外部エネルギーを使用することなく、化学物質をラメラ液晶に添加することでベシクルが自然形成することを見出した^[20]。例えば、有機物が可溶化した DEAE ラメラ液晶に対し、ある量以上の塩化カルシウムを添加することによって、ベシクルが自発的に形成することを見出した。また、ベシクルに可溶化した有機物が減少すると、ベシクルから再び最初のラメラ液晶へと転移することがわかった。すなわち、このとき生じたラメラベシクル転移は、化学添加物の量によって制御することができることが明らかになった。そのため、DEAE ラメラ液晶-ベシクル転移は、ギブス自由エネルギー

ギーを連続関数とした相転移であるとみなすことができる。それゆえ、このような化学量論的現象を熱力学的に解析することによって、今まで不可能であったラメラベシクル転移における熱力学的パラメータの算出が、初めて可能になる。

そこで本章では、ラメラベシクル転移における熱力学的パラメータの算出を試みた。ラメラ液晶に対する化学添加物によって生じる化学ポテンシャル変化と電気化学ポテンシャル変化から、ギブス自由エネルギー変化を算出することができる。さらに、ギブス自由エネルギー変化の温度依存性を調べることで、エンタルピー変化及びエントロピー変化を算出することができる。そして、このとき得られた熱力学的パラメータを用いて、ラメラ液晶を構成する二分子膜構造がどのような状態変化をしてベシクル形成に至るのかについて、分子論的観点から推論することを目的とした。

3.2 熱力学的パラメータの算出理論

前章にて述べたように、化学添加物のみによってベシクルを調製することができた。この手法は、ラメラ液晶に対し最初に油溶性物質を添加し、続いて中性塩を添加するものである。ここでは、一例として油状物質に limonene, 中性塩に塩化カルシウムを使用し、次の考え方に従って、DEAE ベシクル形成における熱力学的パラメータの試算を試みた。

最初に、ラメラベシクル転移において DEAE が取り得る 3 つの状態について、(1) 20 wt% DEAE 水分散液 (state 0), (2) state 0 に対し limonene が添加された状態 (state 1), (3) state 1 に対し塩化カルシウムを添加した状態 (state 2) を定義した。Scheme 2-2 はこれらの状態をモデル化したものであり、前章で述べたとおりである。

DEAE に対するモル分率 X_H が 0.1 以上の limonene と、濃度が 500 mmol kg^{-1} 以上の塩化カルシウムを DEAE ラメラ液晶に対し添加すると、SEM や AFM によってベシクル状の自己組織体が形成することが明らかになった^[20]。そこで、ラメラベシクル転移における熱力学的パラメータを試算する際、転移に要するこれらの最小濃度を用いることとした。Table 3-1 は、DEAE ラメラ液晶に対し添加した化学添加物のモル数、モル分率及びそれぞれの状態におけるゼータ電位と pH の値を示す。これらの値は、上述した各化学添加物の最小濃度を別の単位で換算したものである。

Table 3-1 Changes in material composition, zeta potential, and pH for each state

		State 0 (Lamellar)	State 1 (Lamellar)	State 2 (Vesicle)	
Composition per mol DEAE	DEAE	molar number 1	1	1	
		mole fraction 1	0.91	0.91	
	Limonene		0.1	0.1	
			0.09	0.09	
	CaCl ₂			1.34	
Zeta potential / mV		298 K	+40.23	+65.95	+22.18
		303 K	+36.51	+64.05	+17.47
		313 K	+18.87	+65.55	+7.28
		333 K	+4.62	+63.78	+0.51
pH	303 K	2.8	2.8	3.4	

各状態間における分散液の化学ポテンシャル変化及び電気化学ポテンシャル変化は、**Table 3-1** の値を用いることで算出することができる。さらに、ベシクル形成における熱力学的パラメータは、以下に示す熱力学的関係式を使用することで試算することができる。

DEAE に対する化学物質の添加は、化学ポテンシャル変化として考えることができる。さらに、その過程が理想混合であると仮定すると、ギブス自由エネルギー変化 ΔG_m は式(3-1)で与えられる。

$$\Delta G_m = -T\Delta S_m = RT(n_D \ln X_D + n_L \ln X_L) \quad (3-1)$$

ここで、 R は気体定数、 T は絶対温度、 n_D および n_L はそれぞれ DEAE と limonene のモル数を表す。 X_D および X_L はそれぞれ DEAE と limonene のモル分率、 ΔS_m はエントロピー変化を表す。

同様に、ゼータ電位の変化は電気化学ポテンシャル変化として考えることができる。このとき、ギブス自由エネルギー変化 ΔG_e は式(3-2)で与えられる。

$$\Delta G_e = n z_i e N_A \Delta\phi = n z_i F \Delta\phi \quad (3-2)$$

ここで、 n は DEAE のモル数、 z_i は DEAE の価数、 e は電気素量、 N_A はアボガドロ数、 F はファラデー定数、 $\Delta\phi$ は電位差を表す。

全ギブス自由エネルギー変化 ΔG は ΔG_m と ΔG_e の和で表すことができるため、式(3-3)で与えられる。

$$\Delta G = \Delta G_m + \Delta G_e \quad (3-3)$$

系に対し、定圧下でなされる仕事が体積変化のみであると仮定すると、全エントロピー変化 ΔS は、式(3-4)で与えられる。

$$\Delta S = -(\partial\Delta G / \partial T)_P \quad (3-4)$$

さらに, 全エンタルピー変化 ΔH は, 式(3-5)で与えられる。

$$\Delta H = \Delta G - T(\partial\Delta G / \partial T)_P \quad (3-5)$$

したがって, ベシクル形成における熱力学的パラメータについて, 式(3-3)から ΔG が得られ, ΔS と ΔH は, ΔG の温度依存性を調べることによって, 式(3-4)と(3-5)から得ることができる。

3.3 結果と考察

3.3.1 ラメラベシクル転移におけるギブス自由エネルギー変化

最初に, state 0 から state 1 に変化するときを考える。Limonene の添加に伴うギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} は, 式(3-1)–(3-3)から算出することができる。Table 3-2 は, 各温度における ΔG_{01} の計算結果を示す。この結果からわかるように, ΔG_{01} は正となった。

Table 3-2 Change in the Gibbs free energy, ΔG_{01} , on transition from states 0 to 1 at various temperatures

Temperature/K	$\Delta G_{01m}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$\Delta G_{01e}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$\Delta G_{01}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
298	-0.83	2.48	1.65
303	-0.84	2.66	1.82
313	-0.87	4.50	3.63
333	-0.93	5.71	4.78

次に, 塩化カルシウムの添加によって state 1 から state 2 に変化するときを考える。前章の実験結果から, 塩化カルシウムを添加すると DEAE に束縛されている水酸化物イオン OH^- と塩化物イオン Cl^- の交換が起こるため, pH が上昇することがわかった。しかしながら, 水酸化物イオン OH^- と塩化物イオン Cl^- は共に 1 価の陰イオンであるため, これらのイオン交換が起こったとしても系内のモル数やモル分率は変化しない。したがってイオン種の違いは無視し, この対イオン交換による化学ポテンシャルの変化は考えないこととした。すなわち, 式(3-1)で算出される ΔG_{12m} は 0 となる。一方, Stern 層内で塩化物イオン Cl^- は DEAE とイオン対を作るので, 液晶のゼータ電位は低下した。それゆえ, 電気化学ポテンシャル変化に伴う ΔG_{12e} は, 式(3-2)で算出することができる。そして, 塩化カルシウムの添加に伴うギブス自由エネルギー変化 ΔG_{12} は, 式(3-3)から算出することができる。Table 3-3 は, 各温度における ΔG_{12} の計算結果を示す。この結果からわかるように, limonene の添加時とは異なり, ΔG_{12} は負となった。

Table 3-3 Change in the Gibbs free energy, ΔG_{12} , on transition from states 1 to 2 at various temperatures

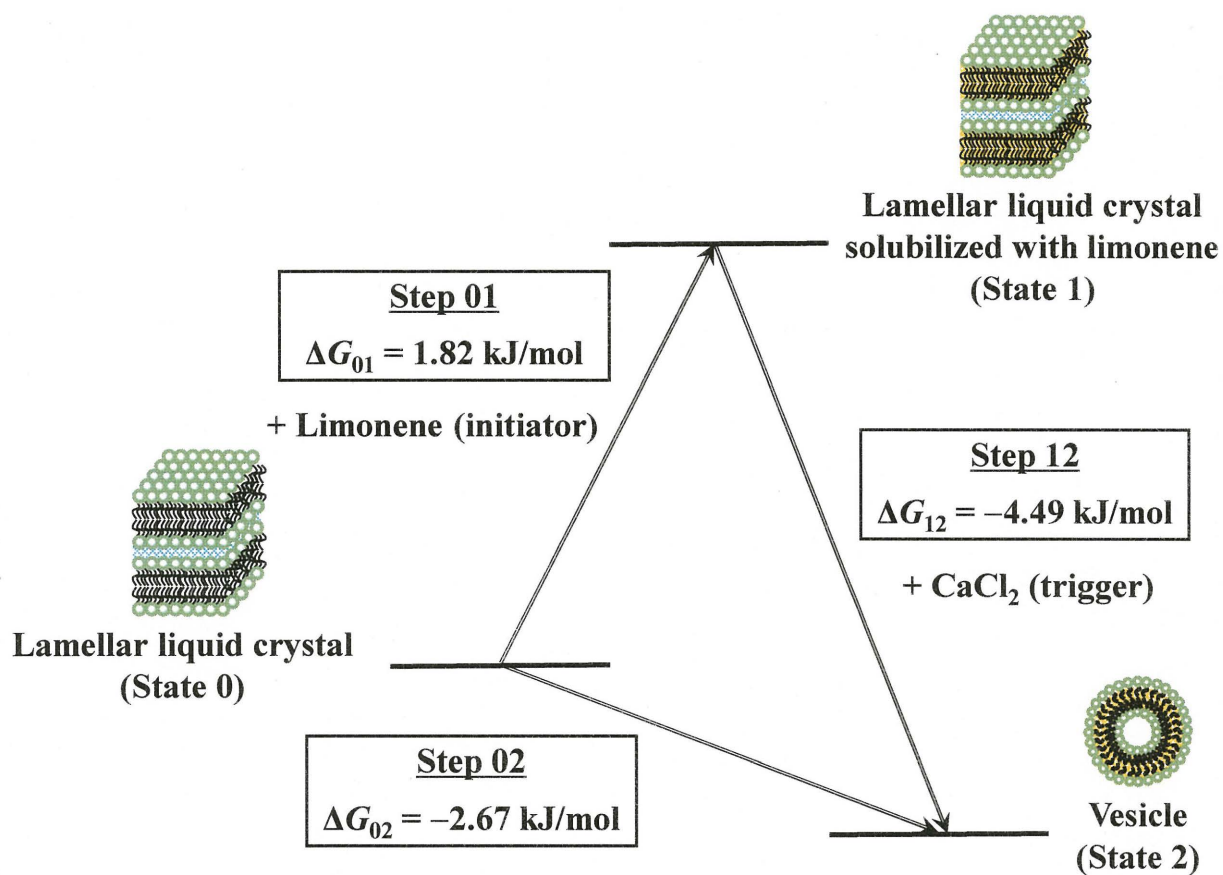
Temperature/K	$\Delta G_{12m}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$\Delta G_{12e}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$\Delta G_{12}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
298	0	-4.22	-4.22
303	0	-4.49	-4.49
313	0	-5.62	-5.62
333	0	-6.10	-6.10

最後に、最初のラメラ液晶から直接ベシクルが形成したとして、state 0 から state 2 への変化を考える。得られた ΔG_{01} と ΔG_{12} の和は、ラメラベシクル転移に要するギブス自由エネルギー変化 ΔG_{02} に相当すると考えることができる。そこで、式(8)から ΔG_{02} を算出した。Table 3-4 は、各温度における ΔG_{02} の計算結果を示す。この結果からわかるように、 ΔG_{02} は負となった。

Table 3-4 Change in the Gibbs free energy, ΔG_{02} , on transition from states 0 to 2 at various temperatures

Temperature/K	$\Delta G_{02}/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
298	-2.57
303	-2.67
313	-1.99
333	-1.32

以上の結果から、Scheme 3-1 で示すように、303 K (30°C) における DEAE の液晶状態とギブス自由エネルギー変化との関係を得ることができた。



Scheme 3-1 Relationship between the liquid crystalline state and change in the Gibbs free energy at 303 K.

3.3.2 ギブス自由エネルギー変化と可溶化現象

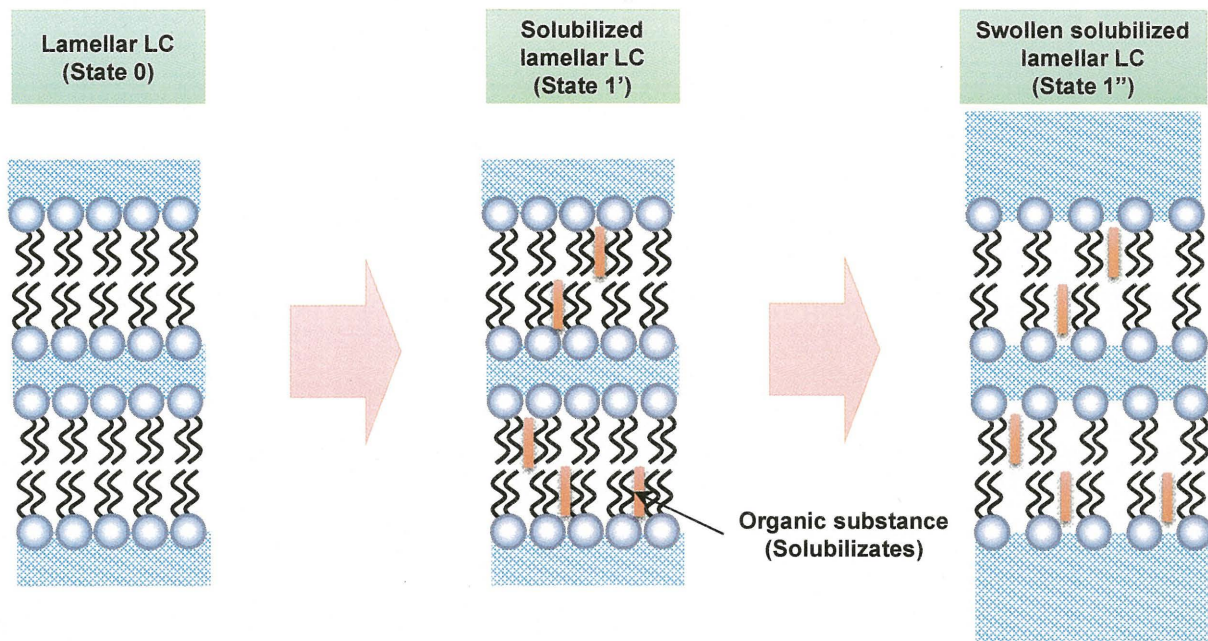
通常、ラメラ液晶に可溶化が起こるためには、必ず系のギブス自由エネルギーが減少しなくてはならない。しかしながら **Scheme 3-1** からわかるように、DEAE ラメラ液晶に有機物が可溶化すると、ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} が正になった。

前章で述べたように、DEAE ラメラ液晶に有機物の可溶化が起こることによって、DEAE 二分子膜は随伴的に電離現象が誘発され、DEAE の電離現象が自然に起こることが確認された。この現象は、limonene のみならず多くの系で共通に起こった。そこで、有機物の添加によって起こる可溶化過程を state 1', それに付随して起こる解離膨潤平衡過程を state 1'' と定義し、state 1 を 2 つの状態に分けて考えた。**Scheme 3-2** は、それらの状態を模式的に表したものである。ここでは、ギブス自由エネルギー変化と可溶化現象について考察する。

State 0 から state 1' への変化は、可溶化によって起こる炭化水素部位の混合現象である。一方 state 1' から state 1'' への変化は、熱力学的に安定な可溶化現象とは全く別に、水との水和状態を変化させることによって随伴的に起こる可溶化二分子膜の安定化現象である。すなわち可溶化現象とは、有機物と炭化水素部位の混合によって二分子膜を構成する分子間距離が広がり、炭化水素部位が幾分疎の状態になることを意味する。その後、二分子膜を構成する分子がイオン性化合物であればその親水基部位における電離が促進され、非電解質であれば親水基部位の水和が促進される。DEAE のような難水溶性物質から成る二分子膜であっても、水の存在がなければ二分子膜を形成することはできないため、このような現象は必然的に起きる。その結果、熱力学的な全ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} には、可溶化現象におけるギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01m} とイオン解離や水和促進に伴うギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01e} が含まれることになる。

二分子膜に限定してギブス自由エネルギー変化の算出を行うと、state 0 から state 1' への可溶化過程における ΔG_{01m} は負になるが、state 1' から state 1'' への二分子膜安定化過程における ΔG_{01e} は、イオン解離や水和が促進されるため正になる。しかしながら、水も考慮してギブス自由エネルギー変化を算出すると、その結果は必ず負になるはずである。しかし本研究では、熱力学的な系の主体は二分子膜であり、イオン解離や水和等の溶媒項を考える必要はない。例えば、水中で起こる無機塩の電離を考えるとときであっても、議論するのは解離熱であって、通常イオン解離や水和等の溶媒項を考えることはしない。一方 Debye-Hückel の理論は、溶媒変化を中心にしてイオンの相互作用を統計力学的に解析したものである。

以上より ΔG_{01} が正になったのは, DEAE 二分子膜を扱う系の範囲においてギブス自由エネルギー変化を求めたために, 生じた結果であるといふことができる。



Scheme 3-2 Mechanism for the solubilization into DEAE bilayers.

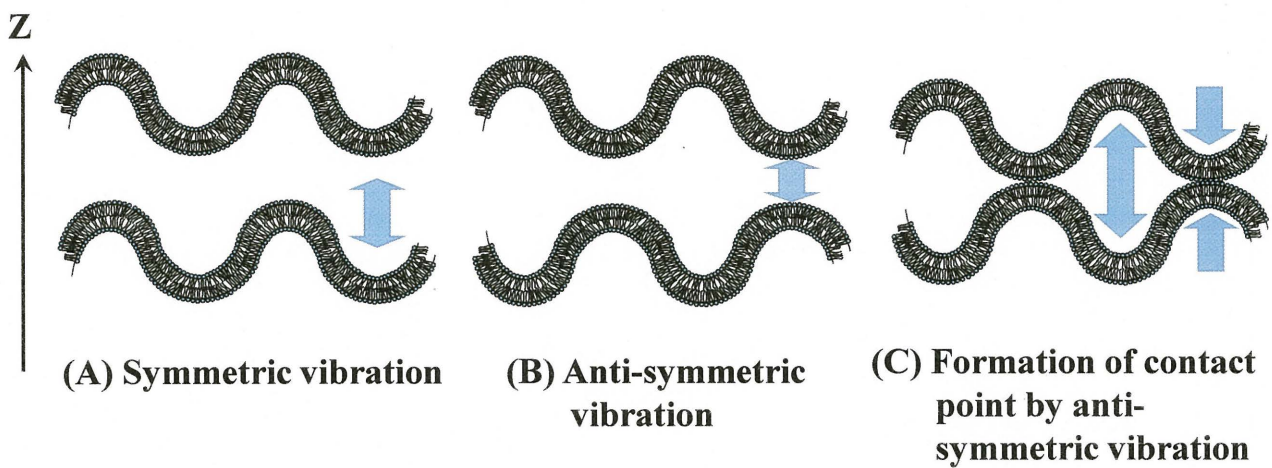
3.3.3 ギブス自由エネルギー変化と二分子膜の振動

化学添加物によって引き起こされる可溶化現象は、上述したように炭化水素部位の混合過程とイオン解離過程に分けることができる。これらの過程は、何ら人為的操作を要することなく従属的に進行するため、どちらか一方の過程のみが単独的に独立して起こることはあり得ない。そこで、得られたギブス自由エネルギー変化から、各添加系における DEAE 二分子膜の状態を次のように考察した。

ラメラ液晶に limonene を添加すると、DEAE 二分子膜中の分子間距離が広がるため、DEAE の分子運動が活発になる。したがって可溶化ラメラ液晶は、見かけ上外部エネルギーが ΔG_{01} だけ付与された励起状態とみなすことができる。この可溶化状態の DEAE 二分子膜は多重層間で 2 種類の波状のゆらぎ振動(対称振動と逆対称振動)が熱運動で起こると仮定する。

Scheme 3-3(A), (B)は、これらの振動を模式的に表したものである。

さらに可溶化したラメラ液晶に対して塩化カルシウムを添加すると、 ΔG_{12} は負となり、DEAE 二分子膜間の静電的反発が減少する。その結果、疎水性相互作用が作用し DEAE 二分子膜が逆対称振動を起こすときに、局部的に膜間凝集が可能になり接点が形成される (**Scheme 3-3(C)**)。こうした一連の変化によって、ベシクルが直接形成されると推測した。



Scheme 3-3 Schematic representation on two types of thermal vibrations for the solubilized DEAE bilayers.

3.3.4 ラメラベシクル転移におけるエンタルピー及びエントロピー変化

ギブス自由エネルギーの温度依存性をプロットすることで、得られる直線性からエンタルピー及びエントロピー変化を算出することを試みた。

特に、state 0 から state 1 への変化を考えると、全ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} は式(3-6)で与えられる。

$$\begin{aligned}\Delta G_{01} &= \Delta H_{01} - T\Delta S_{01} = \Delta G_{01m} + \Delta G_{01e} \\ &= RT(n_D \ln X_D + n_L \ln X_L) + \Delta G_{01e} \\ \Delta G_{01e} &= \Delta H_{01} - T\{\Delta S_{01} + R(n_D \ln X_D + n_L \ln X_L)\}\end{aligned}\quad (3-6)$$

このとき、全エントロピー変化 ΔS_{01} は式(3-4)で定義されるので、式(3-7)で与えられる。

$$\begin{aligned}(\partial \Delta G_{01e} / \partial T)_P &= -\{\Delta S_{01} + R(n_D \ln X_D + n_L \ln X_L)\} \\ \Delta S_{01} &= -(\partial \Delta G_{01e} / \partial T)_P - R(n_D \ln X_D + n_L \ln X_L)\end{aligned}\quad (3-7)$$

Fig. 3-1 は、温度と ΔG_{01e} の関係をプロットしたものである。直線の傾きは $(\partial \Delta G_{01e} / \partial T)_P$ を表すので、 ΔS_{01} は式(3-7)から算出することができる。一方、式(3-6)を変形し式(3-7)を式(3-6)へ代入すると、式(3-8)が得られる。

$$\Delta H_{01} = \Delta G_{01e} - T(\partial \Delta G_{01e} / \partial T)_P \quad (3-8)$$

ΔG_{01e} と $(\partial \Delta G_{01e} / \partial T)_P$ の値から、式(3-8)を用いて各温度における全エンタルピー変化 ΔH_{01} を算出することができる。

同様にして state 1 から state 2 への変化を考えると、全ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{12} は式(3-9)で与えられる。

$$\Delta G_{12} = \Delta H_{12} - T\Delta S_{12} = \Delta G_{12m} + \Delta G_{12e} = \Delta G_{12e} \quad (3-9)$$

state 0 から state 2 への変化に関しても、全ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{02} は式(3-10)で与

えられる。

$$\Delta G_{02} = \Delta H_{02} - T\Delta S_{02} = \Delta G_{01} + \Delta G_{12} \quad (3-10)$$

Figs. 3-2, 3-3 は、温度と ΔG の関係をプロットしたものである。 ΔS と各温度における ΔH は、同様の手順で式(3-4), (3-5)から算出した。**Table 3-5** は、得られた ΔS と ΔH の値を示す。

Table 3-5 Entropy, ΔS , and enthalpy, ΔH , changes at different temperatures

Thermodynamic parameter		State 0 → 1	State 1 → 2	State 0 → 2
Entropy change $\Delta S/\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$		-94.1	54.8	-39.2
Enthalpy change $\Delta H/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	298 K	-26.4	12.1	-14.1
	303 K	-26.7	12.1	-14.6
	313 K	-25.8	11.5	-14.3
	333 K	-26.6	12.1	-14.4

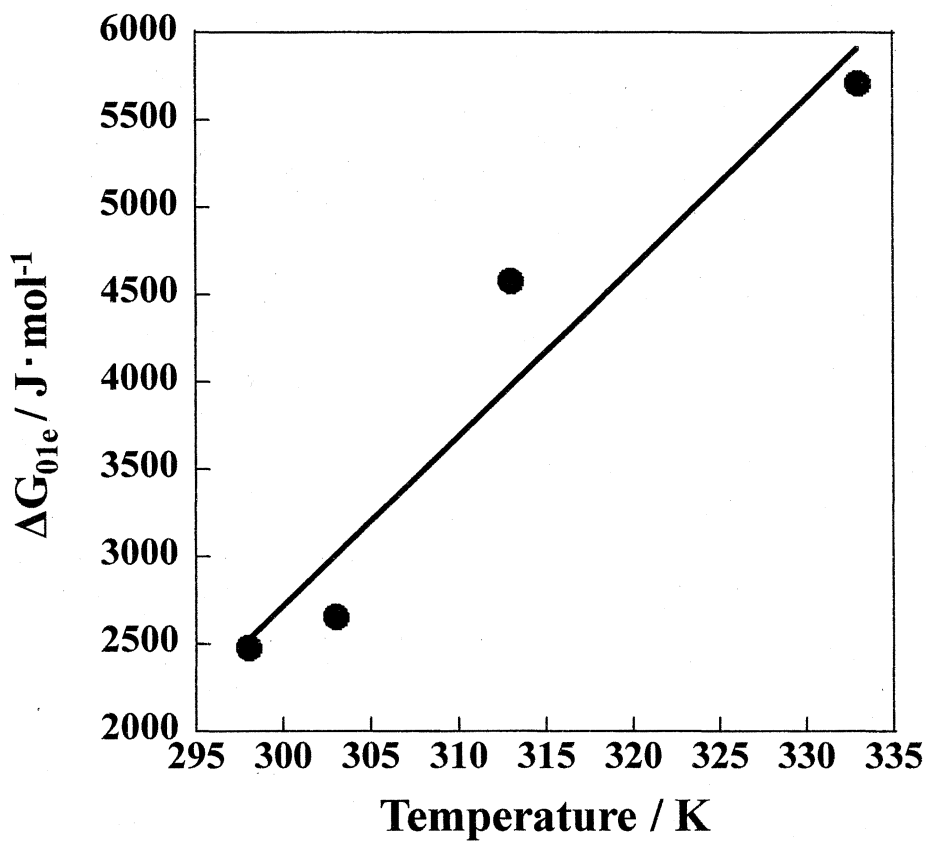


Fig. 3-1 Relationship between temperature and change in Gibbs free energy for transition from States 0 to 1.

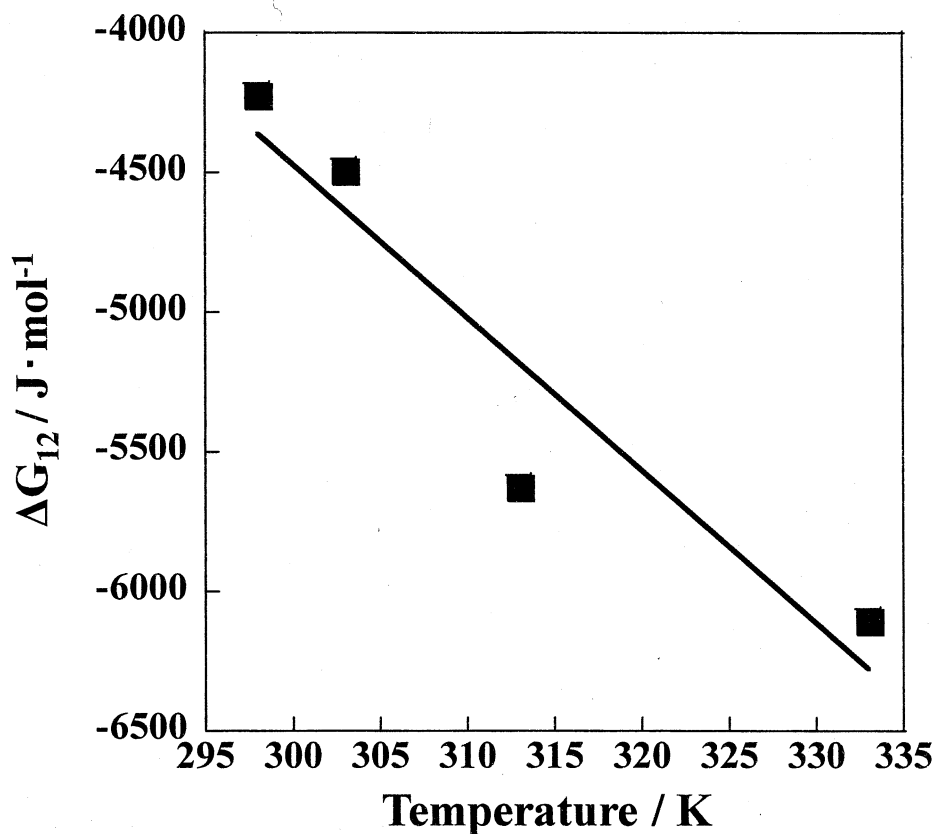


Fig. 3-2 Relationship between temperature and change in Gibbs free energy for transition from States 1 to 2.

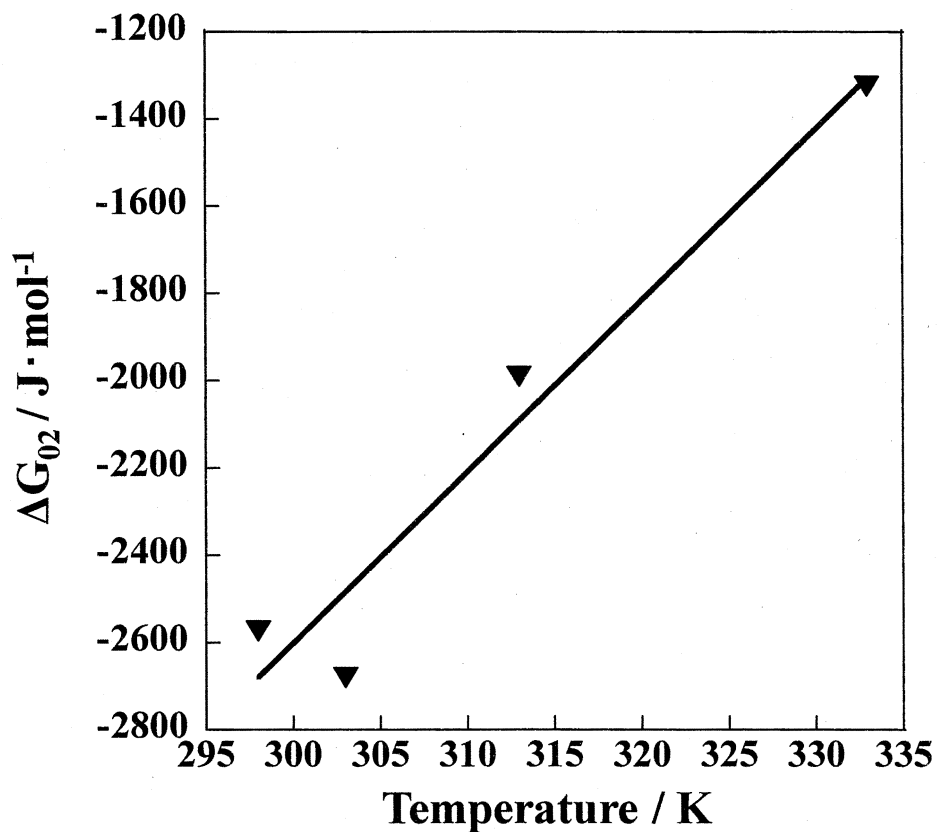


Fig. 3-3 Relationship between temperature and change in Gibbs free energy for transition from States 0 to 2.

3.3.5 ラメラベシクル転移の駆動力

算出した ΔS と ΔH から、ラメラベシクル転移における制御因子を決定した。Table 3-6 は、303 K における各添加系間の熱力学的パラメータ変化を示す。

Table 3-6 Changes to thermodynamic parameters at 303 K

Transition	$\Delta G/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$\Delta H/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$T\Delta S/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
State 0 \rightarrow 1	1.82	-26.7	-28.5
State 1 \rightarrow 2	-4.49	12.1	16.6
State 0 \rightarrow 2	-2.67	-14.6	-11.9

Table 3-6 の結果から、state 0 から state 1 への変化は、エントロピーが支配的となって引き起こされたことがわかった。前章で述べたように、DEAE ラメラ液晶に limonene を添加すると、液晶のゼータ電位は上昇したが pH に変化は見られなかった。それゆえ、エントロピー支配となってギブス自由エネルギー変化が正になった理由は、解離したメチル硫酸イオン CH_3SO_4^- の水和に伴う自由水の減少であると考えられる。これは、3.3.1 項で説明した内容とも一致する。

次に、state 1 から state 2 への変化も、エントロピーが支配的となって引き起こされたことがわかった。前章で述べたように、可溶化ラメラ液晶に塩化カルシウムを添加すると、液晶のゼータ電位は低下したが pH は上昇した。それゆえ、エントロピーが支配的となった理由は、pH の上昇に伴う自由水の増加であると推測した。

最後に state 0 から state 2 への変化を考えると、エンタルピーが支配的になってしまい、state 0 から state 1, state 2 の変化のエントロピー支配とは異なった。この知見から state 0 から state 2 への直接移行において、従来からラメラ液晶からベシクルを直接調製するためには超音波や機械的攪拌など、大きな外部エネルギーを必要とする理由が理解できる。state 0 から state 1, state 2 の移行では水が介在していて、水が再び元の状態に戻るために可能となったことがわかる。

以上より、それぞれの状態変化が起きる大きな要因は、水の物性変化によることが明らかになった。

類似した現象として、界面活性剤-ミセル形成が挙げられる。この形成はエントロピーが支配的であり、その結果ギブス自由エネルギーが減少する^[21]。すなわち、界面活性剤分子の親水基部位に束縛されていた水分子がミセル形成時に切り離され、自由水となることでエントロピ

ーが増大することがギブス自由エネルギー減少の駆動力となっている。

ミセル形成におけるギブス自由エネルギーの減少と同様に、本研究の場合も **Table 3-6** で示したように、ラメラ-ベシクル転移はエントロピーが支配的になって起こることがわかった。したがって、この転移はラメラ状態での束縛水がベシクル状態になるときに自由水へ変化することが、転移を引き起こす駆動力になっていることを初めて確認することができた。

3.4 本章のまとめ

ラメラベシクル転移における熱力学的パラメータの算出を試み、得られた熱力学的パラメータを用いて、ラメラ液晶を構成する二分子膜構造がどのような状態変化をしてベシクル形成に至るのかについて、分子論的観点から推論した結果、次のような知見を得た。

Limonene と塩化カルシウムの協同効果によるラメラベシクル転移における熱力学的パラメータを求めたところ、DEAE のラメラ液晶に limonene を添加(第一工程)することによるギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} は、正の値となった。次に、塩化カルシウムの添加(第二工程)によるギブス自由エネルギー変化 ΔG_{12} は、大きな負の値となった。したがって、ラメラベシクル転移による全ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{02} は、負の値となった。このようにして、全工程のギブス自由エネルギー変化を求めることができた。

ミセル形成におけるギブス自由エネルギーの減少と同様に、本研究の場合もラメラベシクル転移はエントロピーが支配的になって起こることがわかった。したがって、この転移の駆動力は束縛水から自由水へ変化することで引き起こされたことを初めて確認することができた。

前章において、ベシクル中の可溶化物量が著しく減少した結果、ベシクルは徐々にラメラ状に変化することが確認された。すなわち、これはベシクル状態を維持するためのエネルギー緩和が起こったことを意味する。したがって、ベシクルが安定にその構造を維持できるためには、低分子有機物のパリセード層への可溶化状態による長鎖炭化水素間の凝集を防ぎ、熔融状態を保持することが必要であると推察した。

一方、Tajima らは、リン脂質ベシクルを用いて安定なエマルションを調製できることを報告し、三相乳化法と名付けた。三相乳化で使用したベシクルは、長期間安定であることが観察されている。しかし、そのベシクルの安定化機構についての解析は、明らかになっていなかった。

本研究の結果から、三相乳化におけるベシクルの長期安定化機構は、ベシクルとエマルション形成の油状物質が共存し、常にベシクルの長鎖炭化水素部位を液状に保持することによって可能になると説明することができた。この知見から、ベシクルを利用するためには、油剤と共存する必要があることがわかった。

3.5 参考文献

- [1] Corrin, M. L.; Harkins, William D. *J. Am. Chem. Soc.* 47, 683–688 (1969).
- [2] Hobbs, M. E. *J. Phys. Colloid Chem.* 55, 675–683 (1951).
- [3] Schick, M. J. *J. Phys. Chem.* 68, 3585–3592 (1964).
- [4] Emerson, M. F.; Holtzer, A. *J. Phys. Chem.* 71, 1898–1907 (1967).
- [5] Sudhoelter, E. J. R.; Engberts, J. B. F. N. *J. Phys. Chem.* 79, 1854–1859 (1983).
- [6] Singh, H. N.; Shanti S.; Saleem, S. M. *J. Colloid Interface Sci.* 68, 128–134 (1979).
- [7] Moroi, Y.; Sakamoto, Y. *J. Phys. Chem.* 92, 5189–5192 (1988).
- [8] E. G. A. Anianson; S. N. Wall; M. Almgren; H. Hoffmann; I. Kielmann; W. Ulbricht; R. Zana; J. Lang; C. Tondre. *J. Phys. Chem.* 80, 905–922 (1976)
- [9] P. Mukerjee. *J. Phys. Chem.* 76, 565–570 (1972)
- [10] Sugihara, G.; Arakawa, Y.; Tanaka, K.; Lee, S.; Moroi, Y. *J. Colloid Interface Sci.* 170, 399–406 (1995).
- [11] Fujiwara, M.; Okano, T.; Nakashima, T. H.; Nakamura, A. A.; Sugihara, G. *Colloid Polym. Sci.* 275, 474–479 (1997).
- [12] Nakamura, A. A.; Hisatomi, M.; Sugihara, G.; Fujiwara, M.; Okano, T. *J. Surf. Sci. Technol.* 14, 23–34 (1998).
- [13] Hisatomi, M.; Abe, M.; Yoshino, N.; Lee, S.; Nagadome, S.; Sugihara, G. *Langmuir.* 16, 1515–1521 (2000).
- [14] Tausk, R. J. M.; Karmiggelt, J.; Oudshoorn, C.; Overbeek, J. Th. G. *Biophys. Chem.* 1, 175–179 (1974)
- [15] Tausk, R. J. M.; van Esch, J.; Karmiggelt, J.; Voordouw, G.; Overbeek, J. Th. G. *Biophys. Chem.* 1, 184–203 (1974)
- [16] Kramp, W.; Pieroni, G.; Pinckard, R. N.; Hanahan, D. *J. Chem. Phys. Lipids.* 35, 49–62 (1984)
- [17] Schmidt, D.; Gahwiller, Ch.; C. Von, Planta. *J. Colloid Interface Sci.* 83, 191–198 (1981)
- [18] Galla, H.-J.; Theilen, U.; Hartmann, W. *J. Chem. Phys. Lipids.* 23, 239–251 (1979)
- [19] King, M. D.; Marsh, D. *Biochemistry.* 26, 1224–1231 (1987)
- [20] Enomoto, Y.; Imai, Y.; Tajima, K. *J. Oleo Sci.* (submitted).
- [21] Joensson, B.; Wennerstroem, H. *J. Colloid Interf. Sci.* 80, 482–496 (1981).

第4章 ベシクル系三相乳化エマルジョンの調製とその吸着特性

4.1 緒言

ベシクルの利用は長年の間、医薬や農薬の分野において強い関心がもたれている。ベシクルは機能性の有機薬剤や水溶性の薬剤を保持・運搬をするマイクロベッセルやドラッグデリバリーとしての機能が期待され長年に亘って研究開発が進められている。しかし、ベシクル状態をキャリアーとして利用する上で、まだ解決されていない点がある。その例として、ドラッグデリバリーシステムについての最近の問題点を考えてみる。

ドラッグデリバリーシステムは、人間の局所のみならず全身治療にも効率的な手法の一つである^[1]。そのベシクルの構造は、内部の水相と二分子膜相から成り立っている。そのため、油性物質は二分子膜中に可溶化させることができ、一方水溶性物質は内水相へ溶解させる等をして、ベシクル中に様々な薬剤を内包することができる^{[2]-[7]}。したがって、ドラッグデリバリーシステムのキャリアーとして、ベシクルの利用が試みられている。特に、コレステロールとアルキルまたはジアルキルポリグリセロールエーテル型の非イオン界面活性剤とを混合し、超音波照射下で水溶性の溶媒中で水和することによって、ベシクルを形成することができる^{[8], [9]}。そのベシクル大きさは 10 から 1000 nm と大きく分布しているが^[10]、薬物の局所送達のためのキャリアーとして、副作用に配慮しながら薬剤の治療効果を改善することが試みられている^[11]。

先述した第2章および3章において、ベシクル構造を安定な状態に保持するためには、ベシクルは油と共存する必要があることを見出した。ベシクルをドラッグデリバリーシステムのキャリアーとして使用する場合、油性物質は疎水基部位に可溶化して分子状態で内包される。しかし、もしベシクルが乳化能を持つのであれば、可溶化量に比べてより大量の油剤を相として送達することが可能になると考えられる。その結果、ドラッグデリバリーシステムのキャリアー以上の効果的な応用が期待できるであろう。

近年新規な乳化現象として、1-2 wt%のベシクルもしくはラメラ水分散液と 20-50 wt%の油を混合することで、安定なエマルジョンが形成することが、Tajima らによって見出された^[12]。この乳化技術は、ナノ粒子の不可逆的な付着を利用するものであり、分子吸着による界面張力の低下を利用した従来の乳化技術とは全く異なる。もし、親水性ナノ粒子が油滴と合一することなく、その油滴の全界面に付着したまま留まることができるのであれば、油滴界面を疎水性から親水性へと変化させることができる。すなわち、親水性ナノ粒子の油滴への付着によって乳化現象が発現する。この現象は、Tajima らによって三相乳化法と命名されている^{[13]-[18]}。三相乳化

法は、第3章で記述したように、ベシクルを安定化しながら乳化作用へ効果的に応用した例の一つであり、現在、神奈川大学が開発した技術として多方面で実用化されている^[19]。

三相乳化法におけるナノ粒子と油滴間の作用力は、ナノ粒子と油滴間に作用するファンデルワールス力に基づくもので、その大きさは使用する物質の種類で決まるため、Hamaker 定数に依存すると考えられる^[20]。したがって三相乳化エマルションは、従来の界面活性剤エマルションのように、水と油に対する界面活性剤の共溶条件を必要としない。そのため、無限希釈をしたりイオン強度を変化させたりしても、三相乳化エマルションは安定に分散しており、油水分離等の崩壊をすることはない。また、三相乳化エマルションの形状は電子顕微鏡によって直接観察されたことから、その三相構造を維持したまま固体表面上に固定化されることが明らかになっている^[21]。

一般に、農薬や表面処理剤のような機能性油剤は、目的物の表面に対して噴霧して使用することが多い。そのうえ、環境保護やコスト削減の面から、これら機能性油剤の使用量削減や高い吸着特性を示すような技術が注目されている^{[22]-[26]}。このような社会的および環境的要望から、もし機能性油剤の三相乳化エマルションが固体基板に対し高い吸着・固定特性を示すことが実証されれば、乳化物の内相として保持された油溶性物質による薬理効果や徐放効果の向上も期待できる。エマルションは、一般に様々な界面活性剤を用いて形成されているが、エマルションの形状を維持した状態で固体表面に安定に吸着・固定された報告はされていない。

そこで、本章は三相乳化エマルションが水中で固体基板に吸着するか否かについて、実験的に確証することを目的とする。そして、従来の界面活性剤エマルションと三相乳化エマルションの吸着特性の差異を、エマルション構造の違いと固体表面に対する被覆率の点から明らかにし、エマルション吸着による農薬や医薬などのキャリアーとして、ベシクルの使用の可能性について言及する。

4.2 エマルションの吸着理論

界面活性剤で調製されたエマルションが固体や液面にエマルション状態で吸着をした現象は、今まで報告例が存在しない。この理由は、界面活性剤エマルションが界面に吸着することが熱力学的に起こり得ないためである。一方、三相乳化エマルションは、従来使用されてきた界面活性剤エマルション構造との違いから、界面へ吸着することが期待できる。ここでは、界面に対する O/W 型(水中油滴型)エマルション吸着の可能性について理論的に解析を試みる。

最初に、界面活性剤エマルションと固体基板が共存する吸着系を考える。水溶性界面活性剤は水相に成分として存在することができ、しかも全ての界面相は単純化のために単一であると仮定することができるのであれば、ギブスの相律を用いて界面活性剤エマルション系を常法に従って議論することができる^[27]。

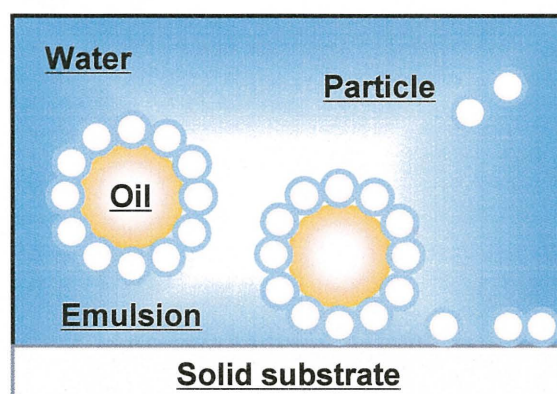
一方、三相乳化エマルション系におけるナノ粒子は、水と油の両相に対して不溶であるため、一つの独立相として取り扱うことができる。したがって、三相の相間を移行する成分が存在しないため、溶解成分を一切含まない三相乳化エマルション系は、ギブスの相律を用いて議論することは不適切である。しかしながら、三相乳化エマルション系の相や接触界面の数は、容易に数えることはできる。

固体界面への界面活性剤エマルションの吸着を考えるとき、(1) 水、(2) 油、(3) 固体基板の計 3 つの相が存在する。それゆえ、(1) 油/水、(2) 水/固体基板、(3) 油/固体基板の計 3 つの接触界面が形成し得る。このとき、油/水界面に吸着している界面活性分子は、水溶液中の溶存モノマーと吸脱着平衡にある。さらに水溶液相においてはモノマーとミセルとの間に会合平衡が存在し、モノマーとミセルとが常に共存している。これらの溶存状態から明らかのように、界面活性剤は熱力学的には水相に対して従属相であり独立相とはなり得ない。したがって、もしも界面活性剤エマルションが固体基板に吸着すると、吸着面に存在する界面活性剤は、溶液中に溶存する界面活性剤モノマーと吸脱着平衡を保つことができなくなる。すなわち、同一の界面活性剤分子は、油/水界面と水/固体基板界面の両方に対して同時に吸着し、油相と固体基板に同じ界面活性を示すことは熱力学的に不可能となる。このような理由から、固体基板上に界面活性剤エマルションが吸着するとしても、エマルション/固体基板界面は形成することは不可能となる。界面活性剤エマルションは固体界面に吸着をすると同時に崩壊し、油相分離を起こすことになる。

一方、固体界面への三相乳化エマルションの吸着を考えるとき、(1) 水、(2) 油、(3) ナノ粒

子, (4) 固体基板の計4つの相が存在する。それゆえ, (1) 油/ナノ粒子, (2) 水/固体基板, (3) 水/ナノ粒子, (4) 油/固体基板, (5) 油/水, (6) ナノ粒子/固体基板の計6つの接触界面を形成し得る。上述したように, ナノ粒子は独立相として取り扱われるので, 三相乳化エマルション系においては, いずれの相においても従属関係を持つ成分は存在しない。したがって **Scheme 4-1** で示すように, ナノ粒子は油/水界面および水/固体基板界面の両方に対して, 同時に吸着することができる。すなわち, 三相乳化エマルションは, そのナノ粒子が独立相であるために, エマルションの油相面に吸着をしても, そのナノ粒子の他の面はその構造を維持したまま固体表面に直接吸着することが熱力学的に可能となる。本章では, このようなエマルション吸着に関する論理的な解析に基づいて, 三相乳化エマルションが固体基板面に対して吸着するか否かについて, 実験的に検証することを目的とした。

三相乳化エマルション系におけるナノ粒子の固体基板に対する吸着は, 独立相であるために本来「付着」と表現されるべきである。しかしながら, ここでは現象論的観点から, 吸着と表現することにした。



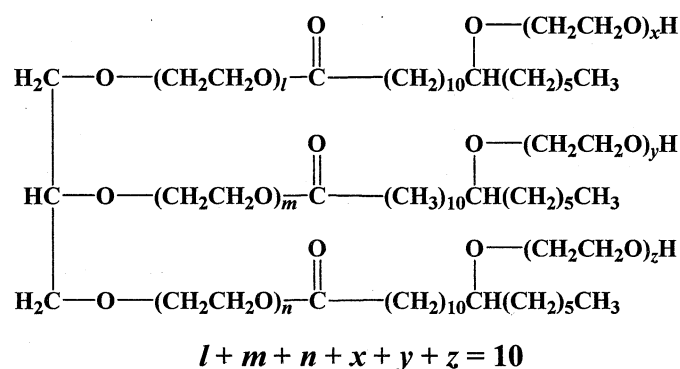
Scheme 4-1 Illustration of three-phase-emulsion adsorption on a solid substrate.

4.3 実験

4.3.1 試薬

三相乳化エマルジョンを調製するにあたり、以下の試薬を使用した。

ベシクル形成剤 三相乳化エマルジョンを調製するときに使用する乳化粒子ためのベシクル形成剤として、Polyoxyethylene-(10) hydrogenated castor oil (HCO-10 と略す、MW: 1380) を用いた (Scheme 4-2)。HCO-10 は日光ケミカルズから購入し、精製することなくそのまま使用した。HCO-10 は、水中で自発的にベシクルを形成することが知られている^{[28], [29]}。



Scheme 4-2 Polyoxyethylene-(10) hydrogenated castor oil (HCO-10).

カチオン付加助剤 エマルジョンをカチオン化することによって、一般的に固体基板に対する吸着特性が向上すると考えられる。そこで、HCO-10 と混合してカチオン性ベシクルを調製するためのカチオン付加助剤として、Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB と略す、MW: 364.45) を用いた。また、CTAB はカチオン性界面活性剤エマルジョンの乳化剤としても使用した。CTAB は、和光純薬工業から特級品を購入し、精製することなくそのまま使用した。

油剤 三相乳化エマルジョン及び界面活性剤エマルジョンの油剤として、hexadecane を用いた。hexadecane は、和光純薬工業から特級品を購入し、精製することなくそのまま使用した。

固体基板 エマルジョンを吸着させるために、3 種類の固体基板 (シリコンウェハー・ガラス・銅) を用いた。シリコンウェハーはセミテック、ガラスは松浪ガラス、銅は三井住友金属鉱山からそれぞれ購入した。これらの基板は、クロム混酸液中に一昼夜浸漬し、洗浄処理してから使用した。

Table 4-1 で示すように、いずれの固体基板も水中で負のゼータ電位を示すが、ガラスのみ接触角が大きく異なることから、ガラスの表面は特に親水的であることがわかった。また、ベシクルを吸着させるために、セルロース繊維を用いた。セルロース繊維は、伯東から提供されたものを

水で十分に膨潤させてから用いた。

Table 4-1 Zeta potentials of the three solid substrates studied here and their contact angles with water at 20°C

Solid substrates	Zeta potential/mV	Contact angle/°
Silicon wafer	-32	88.0
Glass	-70	6.6
Copper	-100	83.0

4.3.2 測定

測定に使用した装置を以下に示す。

ゼータ電位測定 20°C におけるベシクル、エマルション水分散液及び水中での固体基板のゼータ電位は、電気泳動光散乱光度計 (Otsuka Electronics, ELS-8000) を用いて測定した。高濃度の水分散液は動的光散乱法による測定が困難なため、測定時にベシクル、エマルション水分散液を水で 10000 倍に希釈した。

走査型電子顕微鏡 (scanning electron microscopy, SEM) 観察 セルロース繊維に吸着したベシクルの形状は、走査型電子顕微鏡 (Hitachi, S-4000) を用いて観察した。カチオン性三相乳化エマルションとセルロース繊維の混合分散液をシリコンウェハー基板上に少量マウントし、観察しやすくするために、ウェハー全面に試料を広げた。そしてデシケーター内で一晩乾燥させた後、カーボン蒸着して観察した。

透過型電子顕微鏡 (transmission electron microscopy, TEM) 観察 エマルション形状は、ネガティブ染色法を用いて透過型電子顕微鏡 (JEOL, JEM-2000EX/FXII) により観察した^[29]。観察前に、次の手順に従って試料の前処理を行った。試料は銅メッシュ上に少量マウントし、デシケーター内で一晩乾燥させた。さらに、モリブデン酸アンモニウムを試料に滴下することで染色し、デシケーター内で一晩乾燥させた。一般的に有機化合物の電荷密度は小さいため、それらが作る組織体を TEM にて観察するのは困難である。ネガティブ染色法は、無構造で高電子密度の分子化合物 (モリブデン酸アンモニウム) が試料を取り囲み、試料と背景との間にコントラストを付け、集合体の形状を容易に観察できるようにするための手法である。

光学顕微鏡観察 室温において、シリコンウェハーやガラス基板上に吸着した三相乳化エマ

ルシヨンの有無は、光学顕微鏡 (KEYENCE, VHX-100F/VH-Z-100) を用いて観察した。

可溶化物の定量 固体基板に吸着したエマルシヨン中の hexadecane 量は, decane を内部標準としてガスクロマトグラフィ (Yokogawa Electric Corporation, HP5890 SERIES II) を用いて定量した。

4.3.3 エマルシヨンの調製

HCO-10 を ethanol に完全溶解させ, その HCO-10 溶液に CTAB を HCO-10 に対しモル分率 X_S が 0.01 から 0.8 となるように添加した。そして窒素ガスを溶液中に通気させることで ethanol を除去し, HCO-10 と CTAB の分子混合結晶を得た。

分子混合結晶中の CTAB のモル分率 X_S は, 式(4-1)で定義した。

$$X_S = \frac{n_{CTAB}}{n_{HCO-10} + n_{CTAB}} \quad (4-1)$$

ここで, n_{HCO-10} 及び n_{CTAB} はそれぞれ HCO-10 と CTAB のモル数を表す。

次に, 得られた分子混合結晶が 10 wt%となるように水に加え, vortex で 15 分間攪拌することで, カチオン性の HCO-10/CTAB 混合ベシクルを調製した。Fig. 4-1 は, 調製したベシクル中の CTAB のモル分率 X_S とそのゼータ電位との関係を示す。 X_S が増加するにつれてゼータ電位が -17 mV から +40 mV まで上昇し, X_S が 0.1 以上になるとゼータ電位は一定になった。そこで, カチオン性三相乳化エマルシヨンを調製する際, 必要最小モル分率となる X_S が 0.1 のカチオン性ベシクルを使用することとした。

カチオン性三相乳化エマルシヨンは, X_S が 0.1 のカチオン性ベシクル水分散液に 15 wt%の hexadecane を加え, さらに vortex で 15 分間, 超音波照射で 5 分間攪拌することで調製した。従来の界面活性剤エマルシヨンについても, 10 wt%のカチオン性ベシクル水分散液の代わりに, 10 wt%の CTAB 水溶液を用いて同様の手順で調製した。

4.3.4 吸着試験

カチオン性三相乳化エマルシヨンが様々な固体基板に対して, 吸着特性を示すか否かを実

験的に実証するために吸着試験を行った。試験手順は次の通りである。

1) 吸着工程

調製した三相乳化エマルションは、hexadecane 濃度が 0.15 から 3.0 wt%になるように水で希釈した。その中に 1 cm²の各固体基板を一定時間浸漬し、固体基板にエマルションを吸着させた。その後、吸着に無関係なエマルションの拡張ぬれができるだけ起こらないように、ゆっくりと固体基板を引き上げた。

2) リンス処理工程

次に、水流が起こらないように純水中へゆっくりと固体基板を浸漬し、さらに水の拡張ぬれが起こらないようにゆっくりと固体基板を引き上げた。このリンス処理工程は、吸着に無関係なエマルションを確実に取り除き、目的とするエマルションが吸着した固体基板を得ることができる。

3) hexadecane の定量

一連の操作によって得られた固体基板を混合溶媒(40 ml 2-propanol, 10 ml ethanol, 5 μ l decane)中に浸漬し、超音波照射をすることによって全ての基板吸着物を混合溶媒中に溶解した。そして、混合溶媒中の hexadecane 量をガスクロマトグラフィにより定量することで、固体基板に対するエマルションの吸着特性を調べた。

カチオン性界面活性剤エマルションの場合についても、同様の手順で hexadecane の定量を行った。このとき、固体基板上に界面活性剤の吸着膜が形成しないよう、長時間固体基板をエマルション中に浸漬しないようにした。

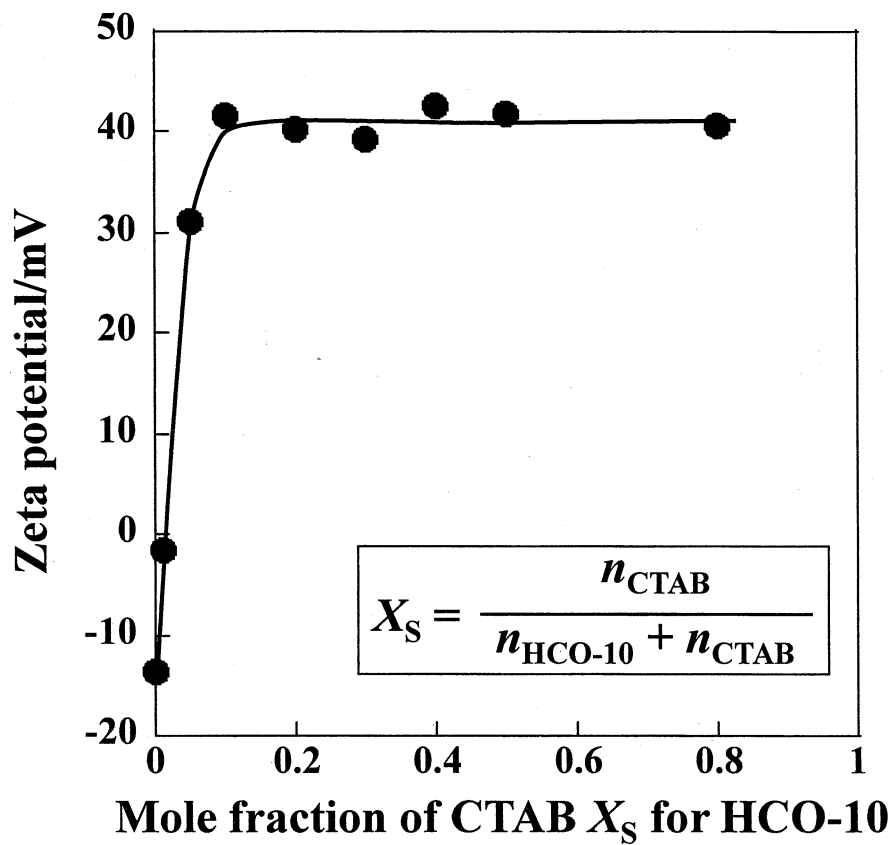


Fig. 4-1 Zeta potential vs. X_S for nanoparticles composed of mixed HCO-10 and CTAB.

4.4 結果と考察

4.4.1 固体基板に対するベシクルの吸着

4.2 節で述べたように、水中で三相乳化エマルジョンが固体基板に吸着するか否かにかかわらず、ナノ粒子が水/固体基板界面へ吸着することが期待できる。多糖類骨格のセルロースは例えば、繊維やパルプなど身近の物質であり、不溶性で親水性が強いため、水中でその表面に水を水和水として固定化している。そのため、固定化された水が障害となり、ナノ粒子が水中でセルロース表面に吸着するのは、一般に困難であると考えられる。しかしながら、もしもナノ粒子がセルロース界面に吸着することができるのであれば、一般的な疎水性の固体基板に吸着することが期待できる。そこで、この理論を実験的に確かめるために、予備実験としてナノ粒子のベシクルがセルロース繊維界面へ吸着するか否かについて吸着実験を行い、その吸着面を直接 SEM 観察することを試みた。

吸着質はカチオン性 HCO-10/CTAB の混合ベシクルとした。この 1.5 wt% の分散液を 30 g 調製し、その中に製紙用のパルプのセルロース繊維 1.57 g (乾燥質量) を室温で浸漬させた。十分攪拌して 24 時間後セルロースを取り出し、デシケーター中で十分に乾燥した。吸着面はカーボン蒸着を行い、セルロース表面の状態を SEM で観察した。

その結果、**Photo 4-1** で示すように、ベシクルが吸着したセルロース表面を確認することができた。したがって、カチオン性ベシクルで調製した三相乳化エマルジョンでも同様に、様々な固体基板に吸着することが期待できる。そこで、三相乳化エマルジョンの固体界面への吸着について次の節で示す。

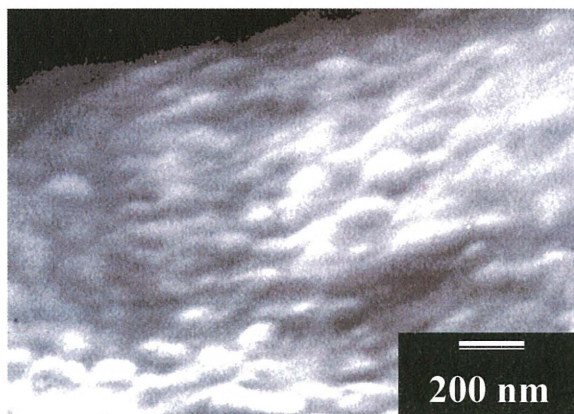


Photo 4-1 SEM image of the HCO-10 vesicles adsorbed on a cellulose surface.

4.4.2 固体基板に対するエマルションの吸着

界面活性剤分子は、様々な水/固体基板界面に吸着することが良く知られている。しかしながら、**Photo 4-2(A)**で示すように、油水界面に界面活性剤が吸着したエマルションを TEM 観察することはできなかった。一方、三相乳化エマルションは **Photo 4-2(B)**で示すように、固体表面に固定化された様子を直接観察することができた。すなわちこれら TEM 写真の結果は、三相乳化エマルションのみが、様々な固体界面の吸着環境下でその構造を維持できることを示唆している。この理由は、4.2 節で述べたように、三相乳化エマルション系では独立成分が存在しないためである。4.4.1 項で先述したように、ベシクルがその形状を保持したままでセルロース繊維に吸着することが実験的に示されたのも、同じ理由である。そこで、ベシクルを使用した三相乳化エマルションが実際に固体基板に吸着するか否かについて調べた。

最初に、エマルション吸着の予備実験を行った。エマルション吸着に使用する三相乳化エマルションは、固体面吸着の可否が光学顕微鏡で容易に観察・判断できるようにするために、粒子径の大きなエマルションを調製した。調製法は、超音波の代わりにホモキサー (IKA, ULTRA-TURRAX T 25 digital) を使用し、10000 r/min で 10 分間攪拌し、調製した。エマルション濃度は約 1 wt% で、室温で約 60 分間浸漬させた。清水で洗浄後、吸着表面を光学顕微鏡で観察した。**Photo 4-3** は、シリコンウェハーおよびガラス基板に吸着した三相乳化エマルションの様子を示す。固体基板に吸着した個々の三相乳化エマルションを観察することができた。

次に、三相乳化エマルションによる固体界面に対する吸着実験を行った。まず、浸漬時間と水/固体基板界面に対するカチオン性三相乳化エマルションの吸着量の関係を調べた。4.3.3 項で述べた方法で 1.0 wt% の hexadecane を油相とする三相乳化エマルションを調製し、その液中に 20°C でシリコンウェハーを浸漬した。そして、シリコンウェハーに対して吸着した hexadecane 量の時間依存性を調べた。**Fig. 4-2** は、その結果を示す。シリコンウェハーの浸漬直後は、静電相互作用によって急激にエマルションの吸着が起こるが、その後エマルションの吸着量は時間と共に増加し、3 時間を超えると平衡に達したかのように一定値となった。

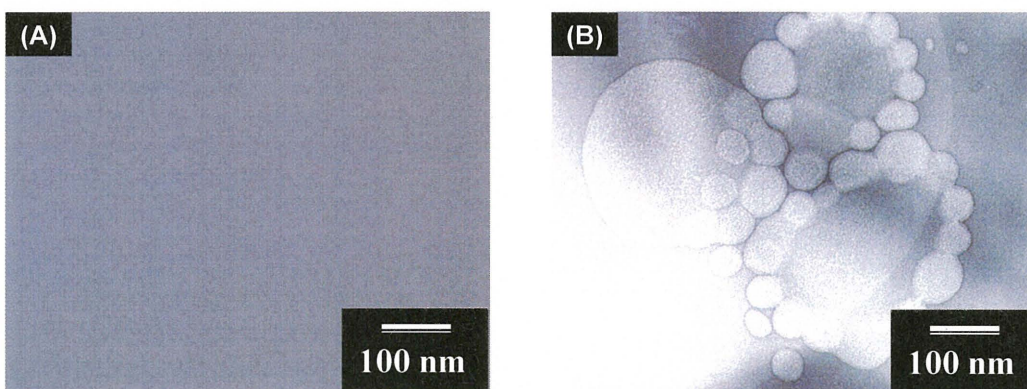


Photo 4-2 TEM image of (A) a surfactant emulsion, and (B) the three-phase emulsion on a copper surface.

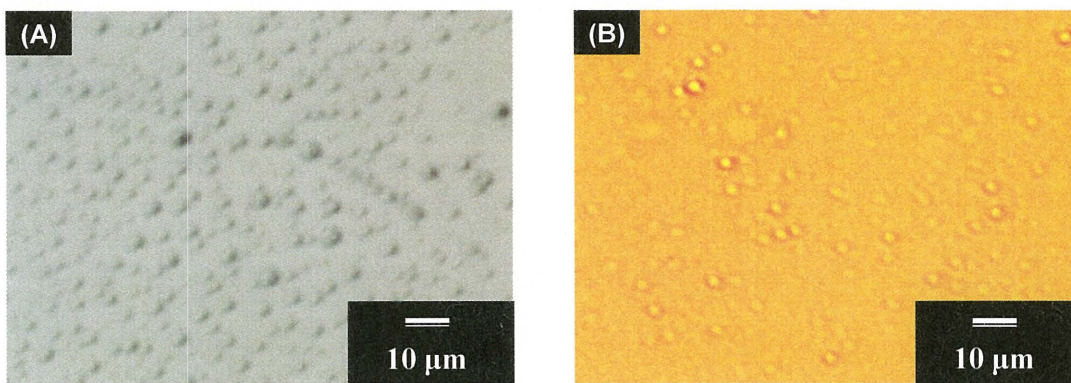


Photo 4-3 Images of optical micrographs of the three-phase emulsion adsorbed on (A) a silicon wafer, and (B) glass.

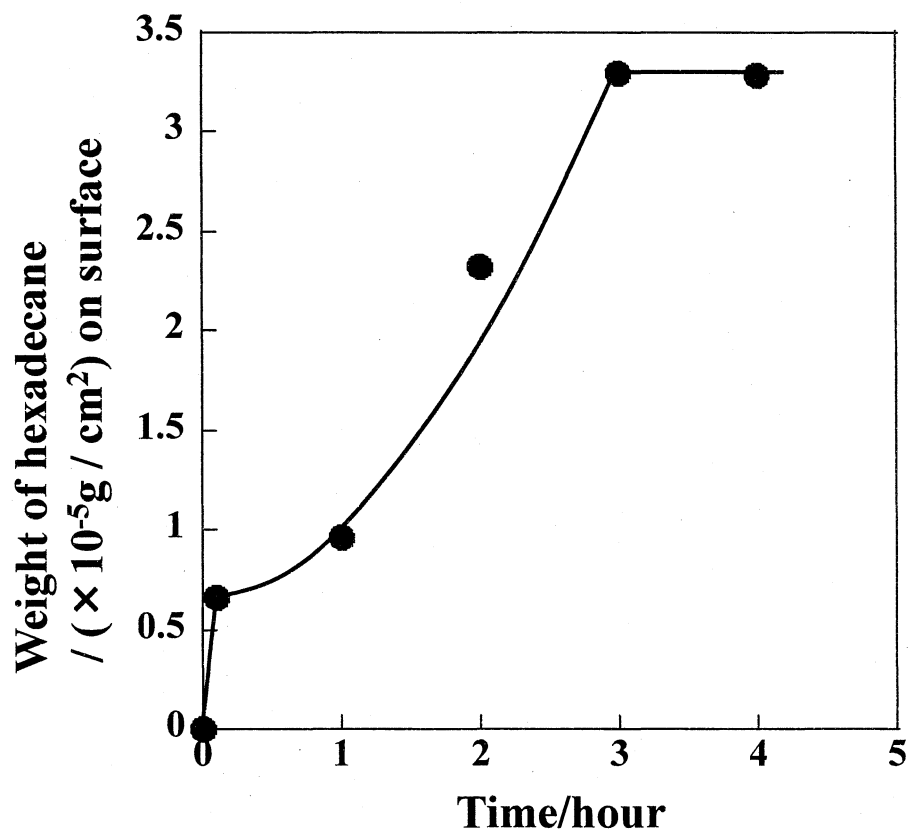


Fig. 4-2 Variation in the amount of hexadecane adsorbed from a 1 wt% hexadecane cationic emulsion on a silicon wafer surface over time at 20°C.

4.4.3 固体基板に対するエマルションの吸着等温線

三相乳化エマルションは、固体基板に吸着することがわかった。そこで、20°C における hexadecane を内相として調製したカチオン性三相乳化エマルションの濃度と固体基板面に対する吸着量(hexadecane 量)との関係から、エマルションの吸着等温線を調べた。

Fig. 4-3 は、シリコンウェハーに対する hexadecane エマルションの吸着等温線を示す。比較のために、界面活性剤による hexadecane エマルションの吸着も調べた。その結果、カチオン性界面活性剤エマルションはごくわずかながらシリコンウェハーに hexadecane の痕跡が観測され、吸着したように見えた。その吸着量は、hexadecane 濃度に依存しないことがわかった。しかしながら、先に考察をしたように界面活性剤エマルションは熱力学的にその構造を維持したまま固体基板に吸着することはできないため、この痕跡量の観察結果は 4.2 節で述べた解析とは異なっていた。そのうえ、吸着量に濃度依存性がないために吸着ではなく別の現象が起きていると考えられる。その詳細は次項で述べる。

カチオン性三相乳化エマルションの吸着量はラングミュア一型の吸着等温線となり、hexadecane 濃度と共に増加し、飽和に達したかのように一定値($4.09 \times 10^{-5} \text{g/cm}^2$)となった。すなわち、カチオン性三相乳化エマルションの吸着においては、吸着質であるナノ粒子間での粒子凝集やエマルション状態での積層が起こらないことがわかった。そこで、同様の実験条件の下で、ガラスや銅のエマルションの吸着等温線についても調べたところ、**Figs. 4-4, 4-5** で示すように、いずれもラングミュア一型の吸着等温線となった。飽和吸着量は、固体基板種によって差があった。しかし、吸着挙動全体は両基板共にシリコンウェハーのときと同様のエマルション吸着の傾向が見られた。

Figs. 4-3-4-5 の結果は、カチオン化ベシクルで調製した三相乳化エマルションの吸着等温線である。次に、非イオン性の HCO-10 ベシクルで調製した三相乳化エマルションの吸着特性についても調べた。このとき、非イオン性三相乳化エマルション系の hexadecane 濃度は、飽和吸着時でのバルクのエマルション濃度である 3.0 wt%とした。固体基板に対するエマルション吸着が静電的相互作用のみが駆動力となるのかどうかを確認するために、3 種類のエマルションのゼータ電位を測定した。**Table 4-2** は、20°C における各種エマルションのゼータ電位を示す。非イオン性三相エマルションのゼータ電位は、約-17 mV となり負であることがわかった。

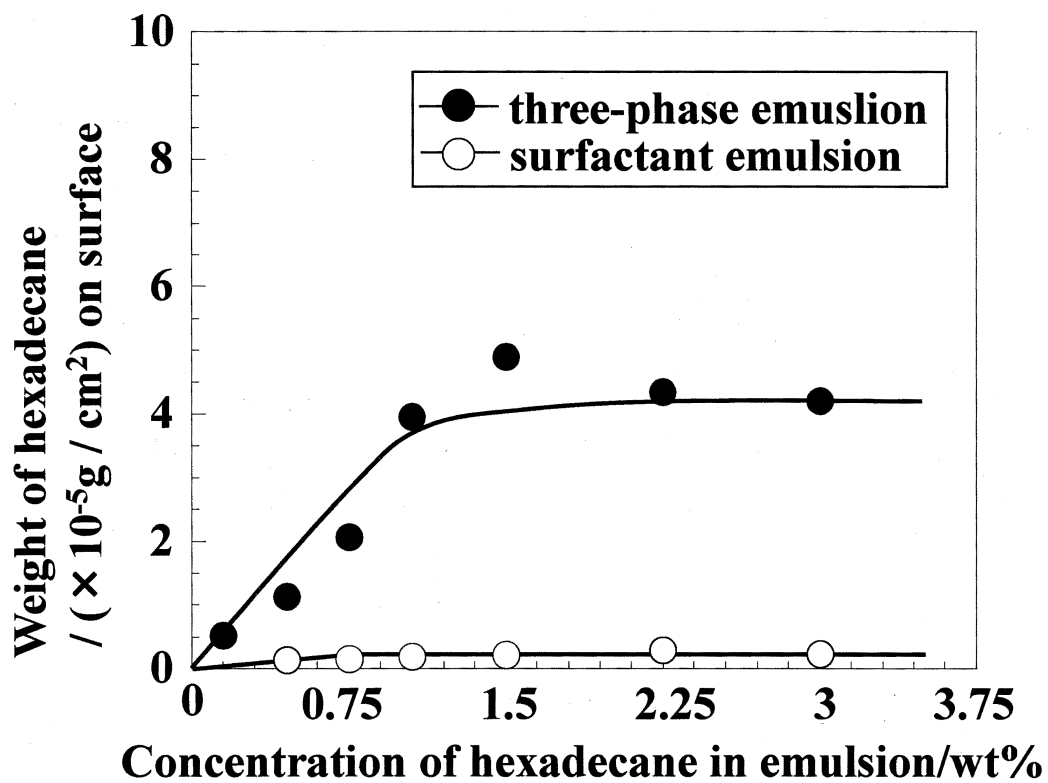
Table 4-2 Zeta potentials of the three different emulsions studied here in water at 20°C

Preparation procedures	Emulsifiers	Zeta potential/mV
Three-phase emulsion	HCO-10 + CTAB	+40
Surfactant emulsion	CTAB	+58
Three-phase emulsion	HCO-10	-17

Table 4-3 は, Figs 4-3-4-5 で決定した各種エマルションの固体基板に対する飽和吸着量を示す。カチオン性三相乳化エマルションの飽和吸着量は, 調べた全ての固体基板においても, カチオン性界面活性剤エマルションや非イオン性三相乳化エマルションと比べて, 著しく多いことがわかった。しかし興味深いことに, 非イオン性三相乳化エマルションはそのゼータ電位が負であっても, これらの固体基板に吸着することがわかった。しかしながら, ゼータ電位が負であった非イオン性三相乳化エマルションであっても, これらの固体基板に吸着することがわかった。すなわち, 三相乳化エマルションの吸着特性は, エマルションと固体基板間の電氣的相互作用だけでは説明することができない。その吸着メカニズムについては, 次項で詳細に述べる。

**Table 4-3 Amount of hexadecane adsorbed from different emulsions at saturation
on various solid substrates at 20°C**

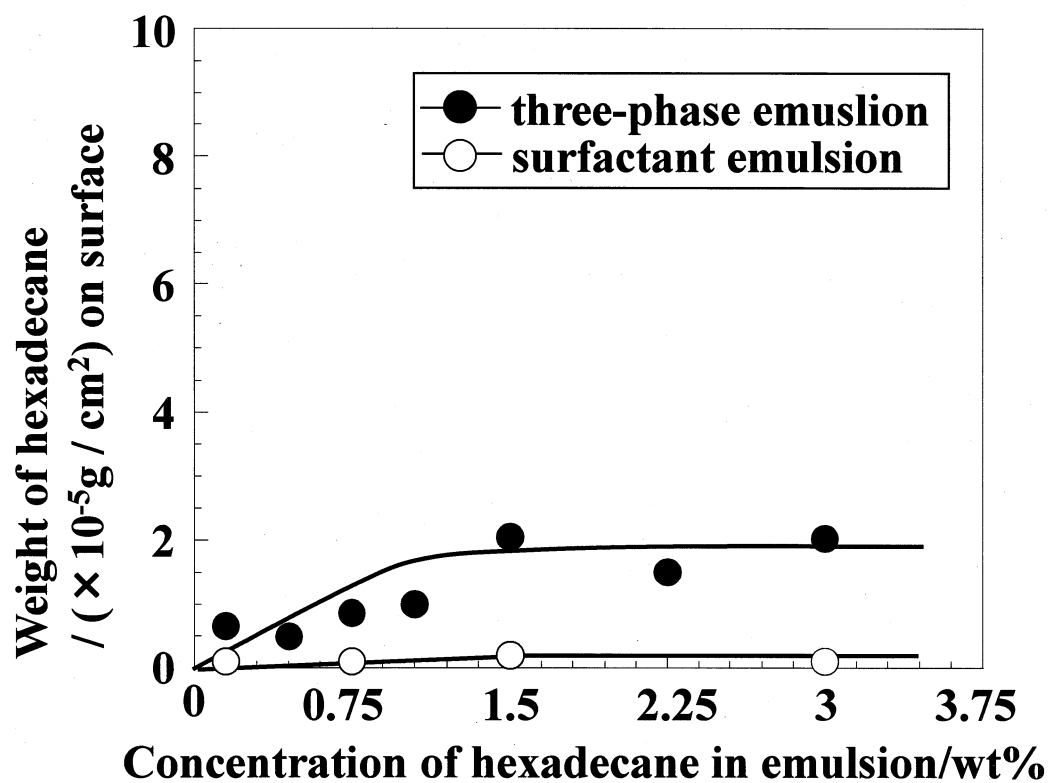
Preparation procedures	Emulsifiers	$\times 10^{-5} \text{ g / cm}^2$		
		Silicon wafer	Glass	Copper
Three-phase emulsion	HCO-10 + CTAB	4.09	1.95	4.52
Surfactant emulsion	CTAB only	0.807	0.102	0.552
Three-phase emulsion	HCO-10 only	1.219	0.710	1.013



Solid circles: the three-phase emulsion

Open circles: conventional surfactant emulsion

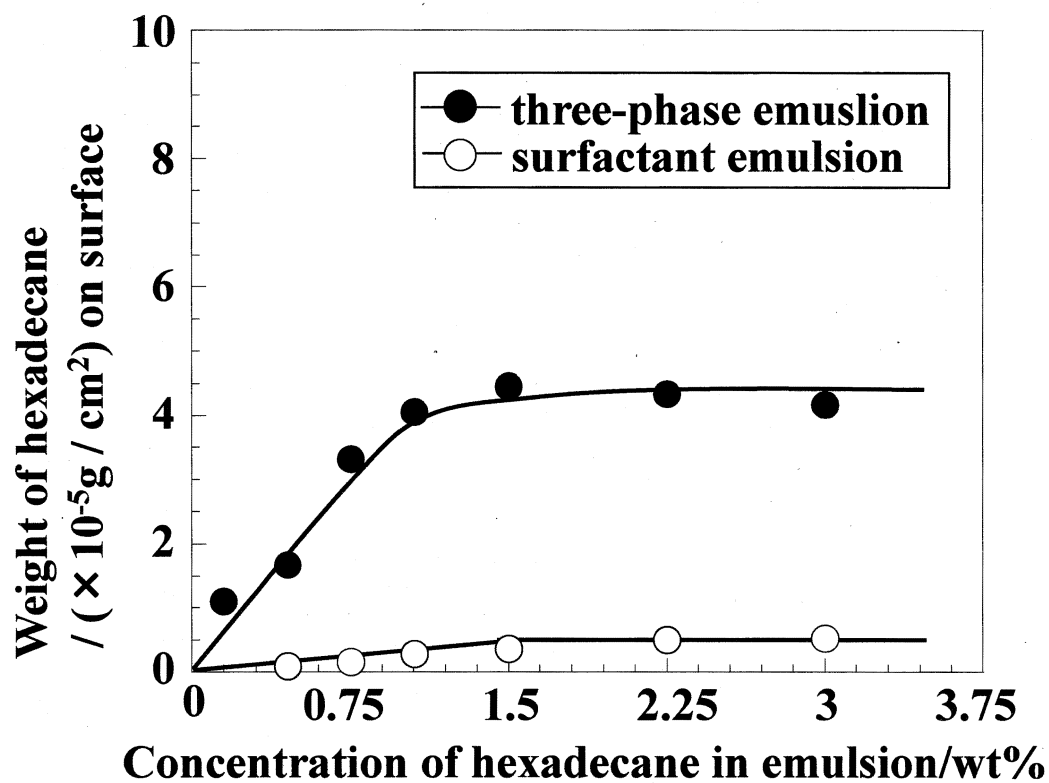
Fig. 4-3 Adsorption isotherms of emulsions on a silicon wafer surface at 20°C.



Solid circles: the three-phase emulsion

Open circles: conventional surfactant emulsion

Fig. 4-4 Adsorption isotherms of emulsions on a glass surface at 20°C.



Solid circles: the three-phase emulsion

Open circles: conventional surfactant emulsion

Fig. 4-5 Adsorption isotherms of emulsions on a copper surface at 20°C.

4.4.4 固体基板に対する三相乳化エマルションの吸着メカニズム

三相乳化エマルションは、その構造を維持したまま固体基板に吸着することを確認することができた。一方、従来のカチオン性界面活性剤エマルションであっても、その内相油の hexadecane の痕跡が固体基板で観察され、吸着しているように見えた。しかしながら、界面活性剤エマルションはその構造を維持したまま固体基板に吸着することは、先の熱力学的考察から不可能であると判断した。そのために、観測された痕跡の hexadecane 量は吸着ではない別の現象が起きていると考えられる。その理由は、次のように説明できる。

固体基板をカチオン性界面活性剤 (CTAB) エマルションに浸漬すると、エマルションが固体基板に接触する。このとき、エマルションに吸着している CTAB 分子と固体基板との間で強い静電的な引力が働くため、固体基板上に溶液中に溶存している CTAB の単分子膜を形成する。それと併発的に固体界面近傍にあるエマルションからも、CTAB が固体界面への吸着を起こすので、結果的にエマルションは崩壊する。その結果、固体基板表面は疎水化する。そして、界面活性剤エマルションの崩壊から生じる hexadecane は、CTAB の吸着単分子膜形成で疎水化している固体界面に優先的に広がり、さらにその単分子膜に拡張された hexadecane の薄層表面に水中から CTAB が吸着する。すなわち、界面活性剤エマルション系で検出されたごく微量の hexadecane は、エマルションの吸着現象に由来するのではなく、分離した hexadecane の痕跡であり、あたかも汚染した固体基板面に過ぎないと考えることができる。界面活性剤エマルション系で hexadecane の吸着量がエマルション濃度に依存しないことから、この考えが支持される。

次に、三相乳化エマルションの吸着特性について考える。三相乳化エマルションの場合、乳化粒子が油滴に付着するためのエネルギー $V(r)$ は、式(4-2)で与えられる。

$$V(r) = V_A(r) + V_E(r) + V_S(r) \quad (4-2)$$

ここで、 $V_A(r)$ はファンデルワールス引力、 $V_E(r)$ は静電的相互作用力、 $V_S(r)$ は立体斥力を表す。全ての項は、2つの物体間の距離 r の関数で与えられる。もし、 $V_E(r)$ と $V_S(r)$ の和で与えられる反発エネルギーより $V_A(r)$ が大きいならば、乳化粒子は油滴に付着する。

そこで、Table 4-3 で示した吸着特性の違いは、式(4-2)を用いて三相乳化エマルションと固体基板との間の相互作用から考えることができる。この式(4-2)は、油滴に固定化されている乳

化粒子と固体基板表面との吸着相互作用を理解する上で効果的である。

カチオン性乳化粒子の場合、負のゼータ電位である固体表面とエマルションとの間で大きな静電的引力($V_E(r) > 0$)が発生する。一方、負のゼータ電位である非イオン性乳化粒子の場合、固体表面とエマルションとの間で静電的反発力($V_E(r) < 0$)が発生する。それゆえ、非イオン性三相乳化エマルションは固体基板に吸着することは期待できなかった。しかしながら、得られた hexadecane の飽和吸着量から、非イオン性三相乳化エマルションの吸着量はカチオン性界面活性剤エマルションよりも多かったため、 $V_E(r)$ の項だけでは説明することができないことがわかる。

一方、固体基板はその表面特性によって次のように分類することができる。接触角測定の結果から、シリコンウェハーと銅の表面はガラスと比べてより疎水的であることがわかる。したがって吸着系の水中において、ガラス表面には大きな立体斥力($V_S(r) \gg 0$)を生じるような大量の水が固定化されている。すなわち、固体基板の性質によって $V_S(r)$ の項が変化する。

乳化粒子は独立相であり、あらゆる状態に依存しないことが 4.2 節で示され、ナノ粒子は **Scheme 4-1** で示したように油滴と固体基板を結びつけるように働く。したがって吸着状態は、単に長距離まで達する静電的相互作用や固体表面のぬれ性だけでは説明することはできず、先述したように Hamaker 定数に基づくファンデルワールス引力 $V_A(r)$ も考えなければならない。

以上より、三相乳化エマルションの原理を説明するために使用した式(4-2)を本章の吸着理論にも適用することで、三相乳化エマルションの吸着特性を説明することができた。すなわち、三相乳化エマルションと固体基板との組合せによって式(4-2)から得られる $V_A(r)$ の大きさに依存して、hexadecane の飽和吸着量が決定することがわかった。

4.4.5 固体基板に対する三相乳化エマルシヨンの表面被覆率

固体表面に吸着したエマルシヨンの分布を知ることは、この技術を実用的に応用する上で非常に重要である。そこで、エマルシオンが吸着したそれぞれの固体基板表面における被覆率を見積った。表面被覆率 θ は、式(4-3)で定義した。

$$\theta = S/A \times 100 \quad (4-3)$$

ここで、 S はエマルシヨンの総断面積、 A は固体基板の単位表面積を表す。

カチオン性三相乳化エマルシオン(粒子径 $1.0 \mu\text{m}$) がシリコンウェハ基板に吸着(飽和吸着量 $4.09 \times 10^{-5} \text{g/cm}^2$) したときの表面被覆率 θ は、次のように計算した。

この条件におけるエマルシオン 1 個の断面積は $7.85 \times 10^{-9} \text{cm}^2$ 、体積は $5.24 \times 10^{-13} \text{cm}^3$ である。15 wt% の hexadecane を乳化するのに 10 wt% の HCO-10 が必要であると仮定すると、HCO-10 の密度は 1.02g/cm^3 、hexadecane の密度は 0.77g/cm^3 であるとして、エマルシヨンの密度 d は、式(4-4)から 0.854g/cm^3 であるとした。

$$d = \frac{C_{\text{HCO-10}} + C_{\text{oil}}}{C_{\text{HCO-10}}/d_{\text{HCO-10}} + C_{\text{oil}}/d_{\text{oil}}} \quad (4-4)$$

ここで、 $C_{\text{HCO-10}}$ および C_{oil} はそれぞれ濃度、 $d_{\text{HCO-10}}$ および d_{oil} はそれぞれ密度を表す。

Table 4-3 で得られた hexadecane の飽和吸着量は、hexadecane と HCO-10 の和であると仮定すると、エマルシヨンの密度は 0.854g/cm^3 であるので、その吸着体積は $4.79 \times 10^{-5} \text{cm}^3$ となる。したがって、エマルシオン 1 個の体積とシリコンウェハに吸着した体積から、固体表面上のエマルシオン数は 9.15×10^7 となった。エマルシオン 1 個の断面積から、その総断面積 S は 0.719cm^2 となるので、シリコンウェハ表面 1cm^2 あたりにおける表面被覆率 θ は、71.9% となった。

ガラスや銅基板についても、同様の手法にて被覆率の計算をした。また、非イオン性三相乳化エマルシヨンの平均粒子径は $1.2 \mu\text{m}$ であったので、この値を用いて被覆率を計算し、その結果を Table 4-4 に示す。

**Table 4-4 Surface coverage of the cationic and nonionic three-phase emulsions
on various solid substrates at 20°C**

Charge	Particle size/nm	Silicon wafer/%	Glass/%	Copper/%
Cation	1000	71.9	34.3	79.4
Noncation	1200	17.8	10.4	14.8

Nakamura や Tajima によって、カチオン性両親媒性分子が気液界面に最密充填するとき、その飽和吸着量は 3×10^{-10} mol/cm² であると報告されている^[31]。CTAB の場合、その分子量は 364.45 g/mol であるので、飽和吸着量は 1.09×10^{-7} g/cm² となる。したがって、カチオン性三相乳化エマルションの飽和吸着量は、カチオン性両親媒性分子である CTAB の分子吸着に比べてと比べて、200 から 400 倍近く大きいことがわかった。

本章で得られたエマルション吸着に対する知見は、三相乳化エマルション化することで、油を大量の相として送達し、その構造を維持したまま固体表面に吸着できることである。そのため、抗菌剤や農薬等の機能性油剤を三相乳化エマルション化することで、その吸着特性を実用的に応用することが期待できる。すでに三相乳化エマルションから成る入浴剤が保温効果を有することが示されている^[32]。さらに、本研究にて三相乳化技術を利用すると油剤を固体面に吸着させることが可能になることがわかったので、例えば固体表面の残存油の除去も可能である^[33]、^[34]。

4.5 本章のまとめ

固体基板に対する三相乳化エマルションの吸着特性を実験的に検証した結果、次のような知見を得た。

固体基板上に界面活性剤エマルションが吸着することによって、エマルション/固体基板界面が形成することは起こり得ないことを実験的に実証することができた。一方、固体基板に対する三相エマルションの吸着量は、hexadecane 濃度が大きくなるにつれて増大し、最終的に分子吸着のような飽和状態に達した。このとき三相乳化エマルションは、その構造を維持したままシリコンウェハー、ガラス、銅の各表面に吸着しており、従来できなかったエマルションの吸着例を初めて見出すことができた。

三相乳化エマルション系で使用した hexadecane は、全てのエマルションにおいて共通であるため、三相乳化エマルションの吸着特性は内包油の性質には依存せず、むしろ乳化粒子の性質に依存することがわかった。さらに、乳化粒子(ベシクル)の吸着に関する解析を行った結果、三相乳化エマルションであれば、その電荷に関係なく不可逆的に固体基板に吸着することが明らかとなった。このとき、乳化粒子の電荷と固体表面の性質の組合せによって、乳化粒子が油滴に付着するためのエネルギー $V_A(r)$ が変化し、エマルション吸着量はこの変化量に依存した。すなわち、固体基板に対する三相乳化エマルションの新規吸着メカニズムは、不可逆的な付着理論に基づいて説明することができた。

三相乳化エマルションの吸着技術を工業的に応用するためには、その被覆率が高いことが重要である。そこで三相乳化エマルションの固体表面に対する被覆率を計算したところ、最大約 80% 近くまで達することがわかった。また、三相エマルション化することで大量の油相を送達することができるので、単分子吸着の場合と比較すると、その量は 200 から 400 倍近くの量になることがわかった。

以上より、三相乳化法を利用してベシクルと油を共存することで、ベシクルを有効的に利用することができた。従来の界面活性剤エマルションと構造が異なる三相乳化エマルションは、吸着のみならず様々な特異的な現象を引き起こす可能性を秘めている。

4.6 参考文献

- [1] Kaur, L. P.; Guleri, T. K. *Asian J. Biomed. Pharm. Sci.* 3, 1–5 (2013)
- [2] Sharma, M.; Bhowmick, R.; Gappa–Fahlenkamp, H. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 32, 565–573 (2016).
- [3] Bravo–Osuna, I.; Andres–Guerrero, V.; Pastoriza A. P.; Molina–Martinez, I. T.; Herrero–Vanrell, R. *Drug Delivery Transl. Res.* 6, 686–707 (2016).
- [4] Singh, S.; Vardhan, H.; Kotla, N. G.; Maddiboyina, B.; Sharma, D.; Webster, T. J. *Int. J. Nanomed.* 11, 1475–1482 (2016).
- [5] Chen, H.; Tham, H. P.; Ang, C. Y.; Qu, Q.; Zhao, L.; Xing, P.; Bai, L.; Tan, S. Y.; Zhao, Y. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 8, 24319–24324 (2016).
- [6] Saitejaswi, R.; Swapna, S.; Madhu, B. A.; Bakshi, V. *Eur. J. Biomed. Pharm. Sci.* 3, 144–150 (2016).
- [7] Singla, S.; Harjai, K.; Raza, K.; Wadhwa, S.; Katare, O. P.; Chhibber, S. *J. Virol. Methods.* 236, 68–76 (2016).
- [8] Akhilesh, D.; Bini, K. B.; Kamath, J. V. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 3, 6–12 (2012)
- [9] Kaur, H.; Dhiman, S.; Arora, S. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 15, 113–120 (2012)
- [10] Shakya, V.; Bansal, B. K. *Int. J. Res. Dev. Pharm. Life Sci.* 4, 1036–1041 (2014)
- [11] Gopalakrishnan, S.; Chenthilnathan, A. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 3, 1090–1098 (2012)
- [12] Tajima, K.; Imai, Y.; Nakamura, A.; Koshinuma, M. *Colloids Surf. A.* 155, 311–322 (1999).
- [13] Tajima, K.; Imai, Y.; Horiuchi, T. *Jpn. Pat.*, 3855203 (2006)
- [14] Tajima, K.; Imai, Y.; Maekawa, S. *Jpn. Pat.*, 5618269 (2014)
- [15] Tajima, K.; Imai, Y.; Funatsu, R. *Jpn. Pat.*, 5181354 (2013)
- [16] Tajima, K.; Imai, Y. *Jpn. Pat.*, 5344277 (2013)
- [17] Tajima, K.; Imai, Y. *Jpn. Pat.*, 5409991 (2013)
- [18] Tajima, K.; Imai, Y. *Jpn. Pat.*, 4552198 (2010)
- [19] 関東経済産業局 地域経済部 産業技術課, 平成27年度地方創生に向けた大学等知財活用等事例集, (2016)
- [20] Tajima, K.; Koshinuma, M.; Nakamura, A. *Colloid Polym. Sci.* 270, 759–767 (1992)
- [21] Imai, Y.; Toyoda, K.; Koshinuma, M.; Tajima, K. *in the 52th Annual Meeting of the Japan Oil Chemist's Society, Miyagi, Abstracts.* p. 155 (2013)
- [22] M. D. Berthiaume; J. Jachowicz. *J. Colloid Interface Sci.* 141, 299–315 (1991).

- [23] Gould–Boeder, J. M.; Malec, A. D.; Figley, T. M. *Abstracts of Papers, 239th ACS National Meeting, San Francisco, CA, United States*. 21–25 (2010).
- [24] Friloux, K. M.; Tann, R. S. *ASTM Special Technical Publication*. 59–72 (1993).
- [25] Shang, W.; Yuan, T.; Wang, F.; Hu, J.; Tu, W. *Reguxing Shuzhi*. 29, 33–38 (2014).
- [26] Fang, X.; Chen, S. *Dangdai Huagong*. 42, 574–576 (2013).
- [27] Defay, R.; Prigogine, I. *SURFACE TENSION AND ADSORPTION*, LONGMANS, 71–95 (1966)
- [28] Horiuchi, T; Tajima, K. *Yukagaku*. 41, 1197–1202 (1992).
- [29] Sun, C.; Ueno, M. *Colloid Polym. Sci.* 275, 155–161 (1997).
- [30] Johnson, S. M.; Bangham, A. D.; Hill, M. W.; Korn, E. D. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 233, 820–826 (1971).
- [31] Nakamura, A.; Tajima, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 61, 3807–3812 (1988)
- [32] Tajima, K.; Imai, Y.; et al. *Fragrance J.* 5, 18–23 (2016)
- [33] Enomoto, Y.; Takagi, K.; Imai, Y.; Tajima, K. *in the 97th CSJ Annual Meeting, Chiba, Abstracts*. 2 PC–051 (2015)
- [34] Enomoto, Y.; Takagi, K.; Imai, Y.; Tajima, K. To be published shortly.

第5章 結論

本研究は、両親媒性物質のベシクル形成の熱力学的解析およびベシクルを使用した三相乳化エマルジョンの吸着特性について解明を試みた。最初に、ベシクル形成における熱力学的パラメータを試算するために、ラメラ液晶に対して一切機械力等の外部エネルギーを付与することなく、化学添加物のみでベシクルを調製した。このとき引き起こされたラメラベシクル転移は、ギブス自由エネルギーを連続関数とした相転移であると考えられることができる。そのため、ベシクル形成における熱力学パラメータを初めて算出することが可能になった。そこで、分子論的および熱力学的観点から、今まで何ら明らかになってこなかったベシクルが安定化するための要因を導くことを考察した。そして、ベシクルを安定化しながら有効的に利用するための検討を進めた。以下に、本研究で得られたベシクル形成に関する知見および熱力学的解析さらにベシクルを利用した特異的な現象について記した。

1) 化学添加物法によるラメラベシクルの液晶転移

従来の機械力を利用することなく、DEAE ラメラ液晶に対し *limonene* と塩化カルシウムを順次添加すると、協同効果が引き起こされベシクルが形成することがわかった。また *limonene* や塩化カルシウムに限らず、油状物質と中性塩を用いても同様の転移が引き起こされるため、一般的な現象であると考えることができた。そこで、化学添加物による pH やゼータ電位の変化から、ラメラベシクル転移が起こるメカニズムを導いた。しかしながら、ベシクルを構成する二分子膜中に可溶化していた有機物が揮散し減少すると、再びラメラ液晶に転移することを確認することができた。すなわち、化学添加物の量によって液晶の状態が変化した。したがって、ギブス自由エネルギーを連続関数とした相転移であると考えることができた。

2) ラメラベシクル転移におけるエネルギー変化の熱力学的試算

Limonene と塩化カルシウムの協同効果によるラメラベシクル転移における熱力学的パラメータを求めたところ、DEAE のラメラ液晶に *limonene* を添加(第一工程)することによるギブス自由エネルギー変化 ΔG_{01} は、正の値となった。このとき起こる二分子膜中への *limonene* の可溶化によって、①炭化水素部位の混合現象と②水和状態を変化させることによって随伴的に起こる可溶化二分子膜の安定化現象の 2 つが併発して起きることを見出した。DEAE の二分子膜のみに注目すれば、 ΔG_{01} が正になったことから活性化状態ということができる。その結果、あたかも外部エネルギーが付与されたかのように、DEAE 二分子膜の振動は大きくなる。さらに塩化カルシウムを添加(第二工程)すると、ギブス自由エネルギー変化 ΔG_{12} は大きな負の値となり

静電エネルギーが減少するので、振動する DEAE 二分子膜同士が熱振動揺らぎで接触することによるベシクル形成を提案することができた。このようにして、全工程のギブス自由エネルギー変化を求めることができた。

また、エンタルピー変化およびエントロピー変化を試算したところ、ベシクル形成はミセル形成と同様にエントロピー変化が駆動力となり支配的になって起こることが初めて明らかになった。

本研究の結果から、三相乳化におけるベシクルの長期安定化機構は、ベシクルと油溶性物質が共存し、可溶化現象によってベシクルの長鎖炭化水素部位を常に液状に保持することによって可能になると説明できた。この知見から、ベシクルを利用するためには、可溶化油剤と共存する必要があることがわかった。

3) ベシクル系三相乳化エマルションの調製とその吸着特性

ベシクルと油剤が共存する例として、三相乳化法を考えた。ベシクルは、油滴や固体基板に対して吸着(付着)することができる。その結果、ベシクルの付着を利用した三相乳化エマルションも、その構造を維持したまま固体基板に吸着することが実験的に実証することができた。この吸着メカニズムは、三相乳化法の原理と同様の考え方で説明することができた。すなわち、三相乳化エマルションの吸着特性はラングミュア吸着等温線となり、その電荷と固体基板表面の性質によって決まることがわかった。そこで、固体表面に対する三相乳化エマルションの被覆率を算出したところ、最大約 80% 近くまで達することがわかった。また、三相エマルション化することでマイクロサイズの油滴を合目的に送達することができる。その結果、従来型の単分子吸着の場合と比較すると、その量は 200 から 400 倍近くの油剤量になることがわかった。

以上のことから本研究において、機械力を付与せず化学添加物のみによってラメラ液晶からベシクルを調製する手法を見出した。その結果、ベシクル形成における熱力学的解析を初めて行い、ベシクルの安定化要因を解明することができた。そして、ベシクルを有効利用するための方法として、三相乳化エマルションの吸着特性を明らかにした。

従来の機械力によって調製されたベシクルは熱力学的に準安定状態であるため、他の研究報告例では、ベシクルを有効的に利用しているとは言い難い。したがって、今まで何ら明らかになってこなかったベシクルの不安定化要因を解明し、ベシクルを利用した三相乳化エマルションの応用技術を提案することは、様々な工業分野において重要な知見であると考えられる。

謝辞

本論文は、筆者が神奈川大学大学院工学研究科応用化学専攻博士後期課程に在籍中の研究成果をまとめたものです。研究の方向付けから論文の取り纏めに至るまで、その遂行にあたって終始御指導、御鞭撻を賜りました神奈川大学三相乳化プロジェクト 田嶋 和夫 特別招聘教授並びに同大学研究支援部産官学連携推進課研究員 今井 洋子氏に深謝いたします。

また、本研究の遂行にあたって、同大学研究支援部産官学連携推進課の方々に、数々の御助力を賜りました。越沼 征勝氏、宮坂 佳那氏、豊田 香緒里氏に厚く御礼申し上げます。

特に、本研究論文の審査に関わっていただきました神奈川大学大学院応用化学専攻ナノ構造材料化学研究室 金 仁華 教授、同有機反応デザイン研究室 岡本 専太郎 教授、同バイオミメティック錯体機能化学研究室 引地 史郎 教授、同分子機能化学研究室 亀山 敦 教授に心より御礼申し上げます。

そして、神奈川大学にて 3 年間化学の勉強をする機会を与えてくださったみづほ工業株式会社並びに高木 和行氏(元みづほ工業株式会社常務取締役技術担当。2016 年 10 月逝去)に心より感謝いたします。

さらに、神奈川大学 25 号館三相乳化プロジェクトの研究室において研究を進めるにあたり、御討論・御支援いただきました東京都市大学工学部エネルギー化学科エネルギー機能物質化学研究室研究員 山下 和也氏、そして後輩の学生であった神奈川大学大学院応用化学専攻ナノ構造材料化学研究室 相馬 大貴氏、北里大学理学部化学科分子構造学講座 齋藤 有里恵氏、同 福島はるな氏、同 勝島 隆太氏に心より感謝いたします。

多くの方々に支えられ、このような論文が作成できたことを嬉しく思います。

平成 29 年 1 月 16 日

榎本 康孝