

各種界面活性物質によるマクロおよびマイクロエマルジョンの調製並びに物性に関する物理化学的研究

東京理科大学理工学部
阿部正彦

Properties of the o/w type microemulsion with dimyristoylphosphatidylcholine, properties of the microemulsion with anionic/cationic mixed surfactants, phase behavior of amphoteric surfactant multi-phase microemulsion, binding constants of inorganic electrolytes and aggregation numbers of the o/w type microemulsion with an amphoteric surfactant, and molecular interactions between lipid and some steroids in a monolayer and in a bilayer (w/o/w type macroemulsion) were investigated from the point of colloid and surface chemistry. The properties of microemulsion were dependent extensively on both salinity and pH values. The middle-phase microemulsion with mixtures of anionic/cationic surfactants was independent of both temperature and salinity. The formation of the DMLL microemulsion was strongly depend both on pH and on salinity. The DMLL microemulsion near the isoelectric point was found to have some attractive features compared with other surfactants such as sulfonates and/or nonionics. The adsorption density of DMLL molecules on the surfaces of o/w type microemulsions increased as the pH approached that of the isoelectric region; then the surfactant number on the surface of unit microemulsion was able to be obtained if we specified the diameter of the microemulsion. The interaction between hydrophobic groups of DPPC and steroids in both the monolayer and the bilayer membranes (w/o/w type macroemulsion) was found to increase with decreases in the number of side chains and double bonds in the steroid molecules involved.

1. 天然界面活性物質によるO/W型マイクロエマルジョンの物性¹⁾

1.1 緒言

一般に、水と油との界面張力は大きい(約50 mN/m)ため混じり合わないが、界面活性剤などの両親媒性物質を添加すると、その界面張力は大幅に低下して相互溶解し、“マクロ”エマルジョンとして分散させることが可能である²⁾。

しかし、マクロエマルジョンは熱力学的非平衡系であるため静置安定性が悪く、やがては相分離を起こす系である。一方、熱力学的平衡系である“マイクロ”エマルジョンは、“マクロ”エマルジョンのように水と油をかなり高い比率で含んだ系でありながら、粒子径が非常に小さく(10~100nm程度)、外観は透明で(勿論、透明でないものもある)、しかも安定な一液相であることから高付加価値を有する系としてかなり多くの研究がなされている³⁻⁶⁾。

Physicochemical Studies on Preparation and Properties of Microemulsions with Various Surface Active Agents



Masahiko Abe

Faculty of Science and Technology
Science University of Tokyo

エマルジョンが、食品、化粧品あるいは医薬品等の分野において利用される場合、その可溶性能、生体適合性、生体内分解性等を考慮し、使用する界面活性剤の選択に十分注意を払わなければならない。生体膜構成成分であるホスファチジルコリンは、ドラッグキャリアーを目的とした二分子膜(リポソーム)^{7, 8)}や脂肪乳剤(リピッドマイク

ロスフェア)^{9, 10)}などの研究に用いられており、また工業的には、化粧品あるいは食品用乳化製品等に広く利用されている安全性の高い天然の界面活性物質である。しかし、このホスファチジルコリンを用いた研究の多くは、“マクロ”エマルションに関するものであり、“マイクロ”エマルションに関するものは少ない^{11, 12)}。そこで本研究では、ジミリストイルホスファチジルコリン(DMPC)を用いたO/W型マイクロエマルションを調製し、その物性に及ぼす飽和炭化水素の炭化水素鎖長、塩濃度、pH等の影響を、粒子径ならびにゼータ電位の測定により検討した。

1.2 実験

1.2.1 マイクロエマルションの調製：所定濃度の塩水とDMPC(L- α -Dimyristoylphosphatidylcholine: DMPC)との混合液に、所定量のアルコールおよび飽和炭化水素を添加して十分に振とうした後、30°Cの恒温槽に静置することにより、O/W型マイクロエマルションを調製した。

1.2.2 相状態の判定および粘度の測定：相状態の観察は、1.2.1項で調製した試料をテフロンライナーキャップ付きネジ口試験管に封入し、試験管ミキサーにより充分振とうした後、30°C($\pm 0.1^\circ\text{C}$)の恒温水槽中で静置して行った。相状態の判定は、分離相の有無、溶解状態や流動性の確認、並びに偏光顕微鏡を用いて行った。また、粘度の測定にはウベローデ粘度計を用い、30°C恒温下で測定を行った。

1.2.3 粒子径の測定：マイクロエマルションの粒子径の測定は、光散乱測定装置(4700 Submicron particle analyzer、MALVERN社製)を用いて動的光散乱法により行った。光源としてアルゴンレーザ(COHERENT社製：最大出力5W、波長488nm)を用い、30 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 恒温水槽中において測定した。

1.2.4 ゼータ電位およびpHの測定：マイクロエマルションの ζ -電位測定は、 ζ -電位測

定装置(Zetasizer III、MALVERN社製)を用いて、フリンジモードのレーザドップラー電気泳動法により行った。

1.3 結果および考察

1.3.1 マイクロエマルションの生成：一般に、ジミリストイルホスファチジルコリンなどのレシチンは疎水性ならびに疎油性が強く、また水に対する溶解度が極めて小さく(cmcは25°Cで、 $10^{-7} \sim 10^{-10} \text{ mol/dm}^3$ 程度¹³⁾)水にも油にも溶けにくい物質であることから、マイクロエマルションを生成するためにはコーサーファクタントの添加が不可欠である。そこで、コーサーファクタントとして、両親媒性物質であるプロパノールを加えたところ、O/W(Oil-in-Water)型マイクロエマルションの生成が確認された。図1に、DMPCを用いたマイクロエマルション生成に及ぼすプロパノールおよびテトラデカン濃度の影響を示す。

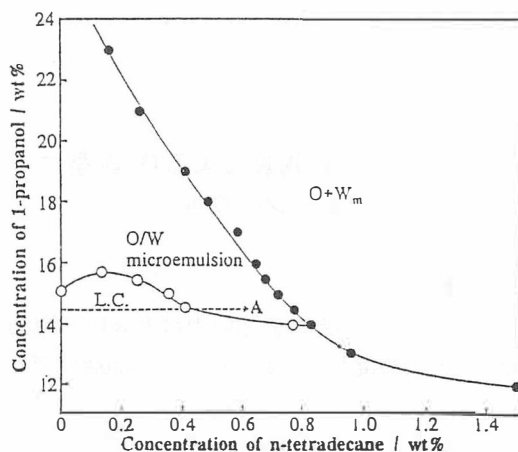


Fig.1 Phase diagram of DMPC/n-tetradecane/1-propanol/water microemulsion systems at 30°C and pH=5. The concentration of DMPC is 0.5 wt%

ここで、たて軸は水相に対するプロパノール濃度(wt%)を表わし、横軸は系全体に対する飽和炭化水素濃度(wt%)を表わす。また、図中の●印は飽和炭化水素の可溶化限界領域(二相分

離領域)、○印は液晶相から一液相 O/W 型マイクロエマルジョンに変化する領域を示す。この二つの曲線の交点における飽和炭化水素の添加量が、O/W 型マイクロエマルジョン中に可溶化できる油の最大可溶化量に相当し、テトラデカンの場合 0.82wt% であることが分かった。

1.3.2 マイクロエマルジョンに及ぼす飽和炭化水素の影響：飽和炭化水素の添加濃度を図1の破線 A (プロパノール濃度が 14.5 wt% 一定の場合) に沿って増加させると、溶液は半透明で粘稠な状態から、透明で流動性に富んだ状態へと変化した。この飽和炭化水素の添加量の低い領域で得られる粘稠な溶液を、偏光板を用いて直行ニコル下で観察したところ光学的に異方性を示し、また偏光顕微鏡によりラメラ (lamellar) 液晶特有の組織像が観察された。そこで、この溶液の粘性に及ぼす飽和炭化水素の添加濃度の影響について図2に示す。図2から明らかなように、溶液の粘性は飽和炭化水素濃度の増加に伴い徐々に減少し、油の濃度が 0.4wt% 以上でほぼ一定となった。一般に、分散溶液の粘性はその構成分子間の相互作用に依存すると考えられる。すなわち、飽和炭

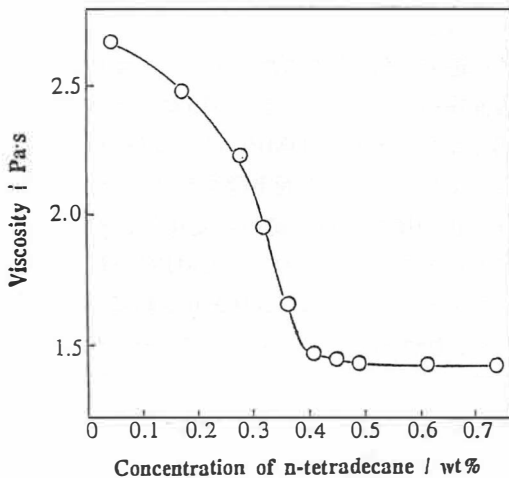


Fig.2 Effect of the concentration of n-tetradecane on viscosity for DMPC/1-propanol/water systems at 30°C and pH=5. The concentrations of DMPC and 1-propanol are 0.5 wt% and 14.5 wt%, respectively

化水素の添加量が低い領域では、DMPCの炭化水素鎖同士の疎水基間相互作用により運動が束縛された、いわゆる層状のラメラ構造を形成しているため粘性は大きくなる。しかし、飽和炭化水素の添加量の増加に伴い、このラメラ構造の疎水部分に油分子が入り込み層間隔が徐々に広がり、炭化水素鎖同士の相互作用が弱まる。その結果、ある濃度 (図2では 0.4 wt%) 以上の油を添加したときに油/水界面が曲率を持つようになり、球状のマイクロエマルジョンへ構造変化したものと考えられる。

1.3.3 マイクロエマルジョンに及ぼすコーサーファクタントの影響：マイクロエマルジョンの粒子径に及ぼすプロパノールの添加濃度の影響を図3に示す。図3から明らかなように、プロパノール濃度の増加に伴いマイクロエマルジョンの粒子径は減少した。一般に、プロパノールなどのアルコールは、界面活性剤分子と共に油/水界面に配向して界面張力を低下させる働きのあることが知られている。例えば、非イオン系界面活性剤

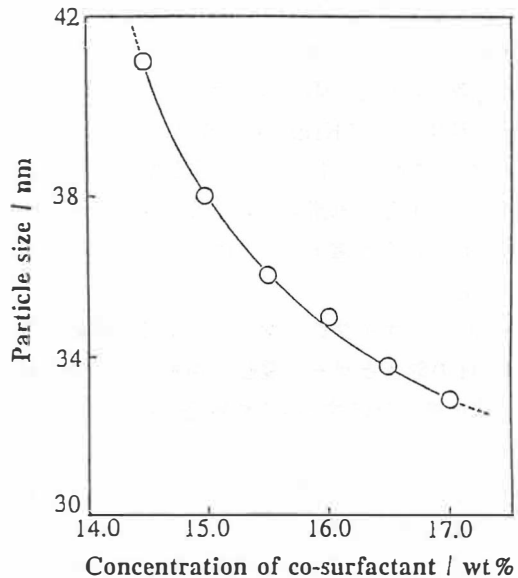


Fig.3 Effect of the concentration of cosurfactant on particle size for DMPC/n-tetradecane/water microemulsion systems at 30°C and pH=5. The concentrations of DMPC and n-tetradecane are both 0.5wt%

($C_{16}POE_{30}$; $1 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$) を添加した水-ベンゼン系に、 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ の1-プロパノールを加えると、界面張力は 6.67 mN/m から 1.80 mN/m に低下する^{14, 15)}。また、Harkins¹⁶⁾ は、油/水の界面張力の低下は分散液滴粒子の大きさの減少をもたらすと述べていることから、プロパノールの添加により油/水界面の界面張力が低下したため、マイクロエマルジョンの粒子径は減少したものと考えられる。

1.3.4 マイクロエマルジョンの相挙動に及ぼす添加塩の影響：油の最大可溶化量はNaCl濃度の増加に伴い減少した。さらに、塩濃度の影響を検討するため粒子径の測定を行ったところ、いずれのプロパノール濃度においても添加塩濃度の増加に伴い粒子径は減少することが分かった。これらの結果から、NaClの添加は、プロパノールの添加と同様にDMPCマイクロエマルジョン系の親水性を高める働きがあるものと考えられる。この様な傾向は、 N^{α} 、 N^{α} -ジメチル- N^{ϵ} -ラウロイルリジン（合成両性界面活性剤）マイクロエマルジョン系¹⁷⁾にも認められることから、両性界面活性剤の等電領域における特異的な現象であると考えられる。両性界面活性剤では、塩添加による現象としてKrafft点の低下が知られているが¹⁸⁾、このことも系の親水性が増加したことを意味しており、本研究における粒子径、あるいは最大可溶化量が減少する要因の一つであると考えられる。

1.3.5 マイクロエマルジョンの相挙動に及ぼすpHの影響とゼータ電位：飽和炭化水素の最大可溶化量に及ぼすpHの影響を図4に示す。図4から明らかなように、マイクロエマルジョン中に取り込まれる油の最大可溶化量は、pH7付近から急激に減少した。これは、pH7以上のアルカリ性側では、pHの増加に伴い系全体の親油性が減少する傾向にあることを示唆している。このような現象は、マイクロエマルジョンの表面に配向したDMPCの親水基のイオン性がpHに依存することに起因するものと考えられる。そこで、

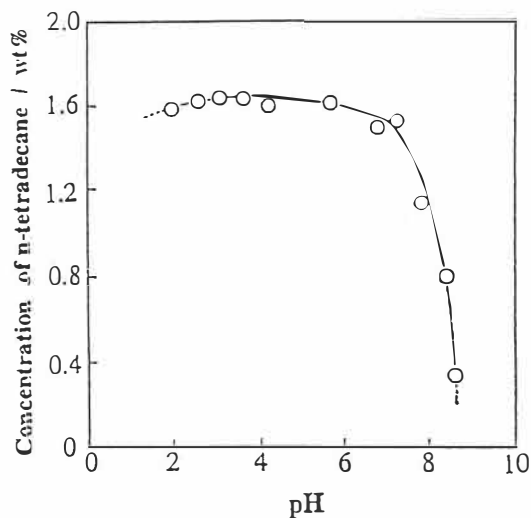


Fig.4 The maximum concentration of *n*-tetradecane for the microemulsion formation in DMPC/1-propanol/brine microemulsion systems at 30 °C. The concentrations of DMPC and 1-propanol are 1.0wt % and 14.0wt%, respectively

マイクロエマルジョン表面におけるDMPCの極性基の挙動を詳細に検討するため、pH変化によるO/W型マイクロエマルジョンの ζ -電位を測定した。この際、DMPCおよびプロパノールの濃度は一定とし、さらにイオン強度を一定とするため、NaClを $5 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ 添加した。この ζ -電位の値から求めたマイクロエマルジョンの表面電荷密度 (σ_z) を、図5に示す。図5から明らかなように、DMPCによるO/W型マイクロエマルジョンの表面電荷密度は、pHの増加に伴い正の値から負の値へと変化し、pH3.2付近でゼロとなった。これは、DMPCが親水基内にトリメチルアンモニウム基とリン酸基を持つことから、酸性側ではトリメチルアンモニウム基の正電荷が、また、アルカリ性側ではリン酸基の負電荷の寄与が強くなるためであると考えられる。

次に、O/W型マイクロエマルジョン粒子径に及ぼすpHの影響について検討した(図6)。図6から明らかなように、粒子径はpH3~7の等電点領域で極大を示した。この領域では、表面電荷密度の絶対値が特に低い(図5)ことから、他の

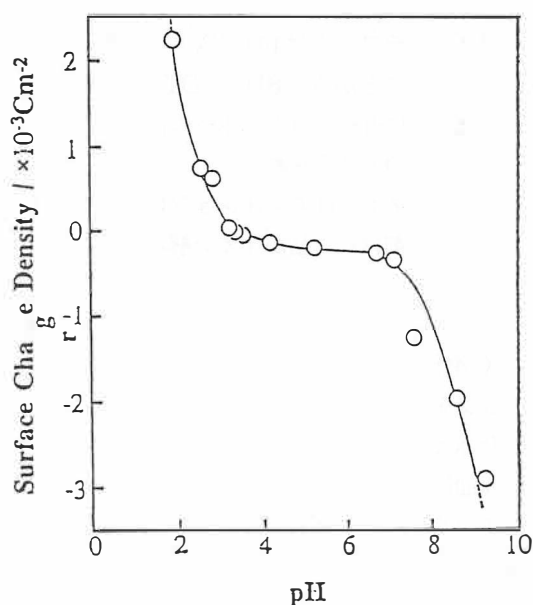


Fig.5 Surface charge density of DMPC/*n*-tetradecane/1-propanol/brine microemulsion systems at $5 \times 10^{-3} \text{M}$ of NaCl aqueous solution as a function of pH at 30°C. The concentrations of DMPC and 1-propanol are 1.0wt% and 14.0 wt%, respectively

pH領域に比べマイクロエマルジョン表面に配向した親水基同士の反発（イオン-イオン相互作用）が弱まり、相対的に疎水性が強まるため、粒子径が大きくなったものと考えられる。

2. アニオン/カチオン界面活性剤混合系マイクロエマルジョンの物性¹⁹⁾

2.1 緒言

一般に、二種類以上の界面活性剤を混合した場合、その組み合わせにより界面活性剤単独系では認められない優れた機能や複合効果の現れることが知られている²⁰⁾が、アニオン界面活性剤とカチオン界面活性剤を混合すると沈澱物が生成したり、界面活性が失われることが多い。しかし、混合方法によっては優れた特性を発揮することが可能となる²¹⁾。そこで本研究では、典型的なアニ

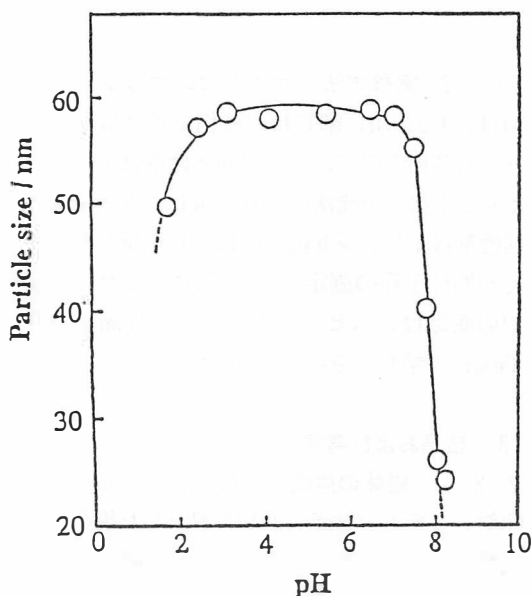


Fig.6 Effect of pH on particle size for DMPC/*n*-tetradecane/1-propanol/brine microemulsion systems at 30°C. The concentrations of DMPC and 1-propanol are 1.0wt% and 14.0wt%, respectively

オン界面活性剤であるアルキル硫酸ナトリウムとカチオン界面活性剤である塩化アルキルトリメチルアンモニウムを用いて、それらの混合界面活性剤/油/アルコール/水系の多相マイクロエマルジョンを調製し、油/水界面における親水性相互作用と親油性相互作用のバランス並びにそれらの強度からマイクロエマルジョンの生成を考察するとともに、ミドル相マイクロエマルジョンの可溶化パラメーター、流体力学的粒子径、界面張力について検討した。

2.2 実験

2.2.1 界面活性剤：アニオン界面活性剤は日本サーファクタント(株)から提供されたアルキル硫酸ナトリウム（炭化水素鎖長が10,12,14,16）をエタノール再結晶、エーテル抽出した後、試料に供した。また、カチオン界面活性剤は塩化アルキルトリメチルアンモニウム（炭化水素鎖長が10,12,14,16）を用いた。これは、東京化成(株)製

特級品を数回アセトンで再結晶した後、試料に供した。

2.2.2 実験方法：マイクロエマルジョンの調製は、1.2.1項に準じた。多相マイクロエマルジョンの各相中のアニオン界面活性剤はエチルバイオレット抽出分光法により定量し、カチオン界面活性剤はオレンジII抽出法により定量した。流体力学的粒子径の測定は1.2.3項に準じた。界面張力の測定は、スピニングドロップ界面張力計（Texas大学製）を用いて行った。

2.3 結果および考察

2.3.1 錯体の生成：一般に、アニオン界面活性剤とカチオン界面活性剤を混合した場合、反対の電荷を持つ親水部同士が結合して錯体を生成する。そこでまず、アルキル鎖長が12のSDSとDTACの混合モル比と混合の際生成する錯体の溶解温度（クラフト点）との関係を検討した（図7）。SDSのクラフト点は16℃、DTACのクラフト点は0℃以下である²²⁾が、図7から明らか

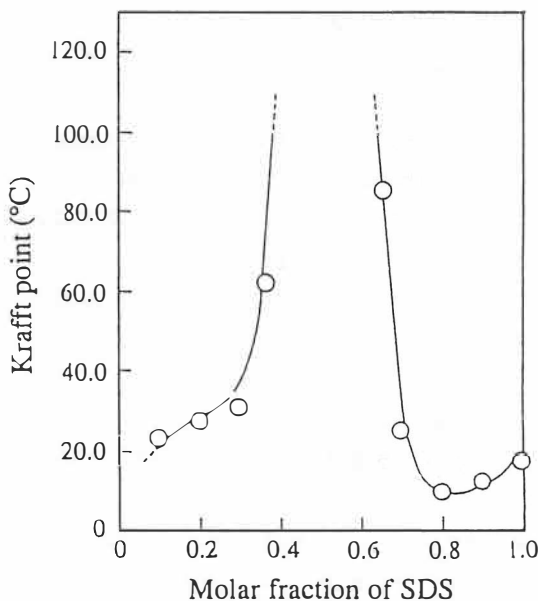


Fig.7 Relationship between Krafft Point and Molar Fraction of SDS for Mixed Aqueous Solution of SDS and DTAC

なように、両者の混合モル比が1 : 1付近で形成した錯体のクラフト点は100℃以上になることが分かる。このことから、SDSとDTACの混合モル比が等モルに近づくほど、水への溶解性は著しく低下するものと考えられる。

2.3.2 マイクロエマルジョンの生成：イオン性界面活性剤は親水基がイオン解離するため、親水性と親油性のバランスはかなり親水性側に偏っている。このため、SDS単独あるいはDTAC単独の界面活性剤を用いてマイクロエマルジョンを調製したところ、添加したアルコールの炭化水素鎖長（CCN）が4以上、すなわち比較的親油性の強いアルコールを用いたときにマイクロエマルジョンは相変化を示し、ミドル相マイクロエマルジョンを生成した。このマイクロエマルジョン相は、アルコール濃度の増加に伴い下相（O/W型）から過剰の油相と水相を伴うミドル相を経て、上相（W/O型）へと連続的に変化した。

一方、SDS水溶液にDTAC水溶液を混合した場合、不溶性の白色結晶（錯体）が析出したが、この系にアルコールを添加したところ錯体は溶解した。そこで、各種アルコールを添加してSDS/DTAC界面活性剤混合系マイクロエマルジョンの調製を試みたところ、CCNが3以下のアルコールを用いた場合のみ、ミドル相マイクロエマルジョンの生成が確認できた。また、プロパノール添加に伴う界面活性剤混合系の多相マイクロエマルジョンの相挙動は、SDS単独あるいはDTAC単独系の相挙動とは異なり、プロパノール濃度増加に伴い上相マイクロエマルジョン、ミドル相マイクロエマルジョン、下相マイクロエマルジョンへと変化した。すなわち、SDSあるいはDTAC単独系の場合、界面活性剤自身の親水性が強くそれぞれ水中でミセルを形成し易いため、系全体の親水性と親油性のバランスをつり合わせるには親油性の強いアルコール（ $CCN \geq 4$ ）の添加が必要となる。一方、SDSとDTACを混合した際に生成する錯体は疎水性が強いことから、

ミドル相マイクロエマルジョンを生成するためには親水性の強いアルコール ($CCN \leq 3$) の添加が必要となったものと考えられる。ただし、界面活性剤単独系の場合、添加されたアルコールはコーサーファクタントとしての機能を発揮するが、界面活性剤混合系の場合には添加されたアルコールはコーサーファクタントとしてではなくコーソルベントとして作用し、不溶性の界面活性剤錯体の溶解度を増加させるものと思われる。

2.3.3 塩濃度の影響：種々の混合モル比において生成するミドル相マイクロエマルジョンの流体力学的粒子径 (H_D) に及ぼす塩濃度の影響を図8に示す。SDSならびにDTAC単独系（ペンタノール濃度4wt%）の場合、高塩濃度領域に

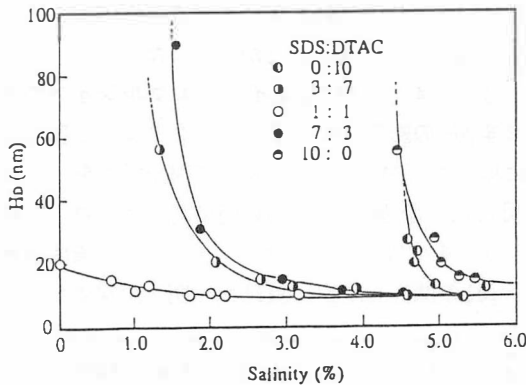


Fig.8 Relationship between Hydrodynamic Diameter (H_D) of Middle Phase Microemulsion and Salinity for Various Mixing Ratio of SDS and DTAC/*n*-Decane/1-Propanol/Brine Systems at 30°C

おいてのみ、ミドル相マイクロエマルジョンが生成し、その H_D は塩濃度に大きく依存した。一方、SDSとDTACを等モル混合した場合、ミドル相マイクロエマルジョンは低い塩濃度領域においても生成し、その H_D は塩濃度にほとんど依存しないことが分かった。これは、SDSとDTAC間の静電的相互作用により親水部に存在する電荷の中和が起こるため、塩の添加に伴うイオン強度の変化に影響を受けなかったものと考えられる。

2.3.4 温度の影響：SDSとDTACを混合すると電荷の中和が起こるため、一種の非イオン

性界面活性剤と考えることができるので、SDS/DTAC混合界面活性剤によるマイクロエマルジョンの相挙動（ミドル相マイクロエマルジョンの最適プロパノール濃度と可溶化パラメーター）に及ぼす温度の影響を検討した（図9）。図9から明らかなように、最適プロパノール濃度や可溶化パラメーターは温度に依存せず一定となった。また、メタノールやエタノールを用いて同様な実験

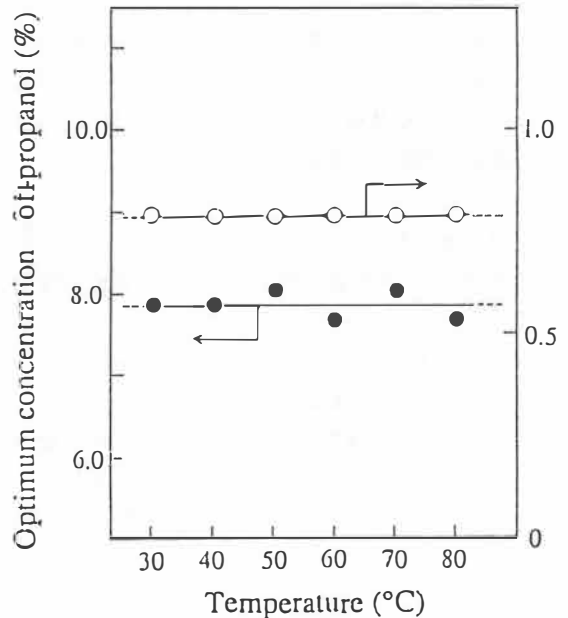


Fig.9 Effect of Temperature on Optimum Concentration of 1-Propanol and Solubilization Parameter (σ) of Middle Phase Microemulsion for SDS/DTAC/*n*-Decane/1-Propanol/Brine Systems

を行ったところ、同じ傾向を示した。

これらのことから、生成したマイクロエマルジョンの相挙動は、界面活性剤、飽和炭化水素、アルコールの炭化水素鎖長に依存することが分かり、特に界面活性剤混合系によるマイクロエマルジョンは塩濃度や温度に影響を受けにくい特異な系であることが分かった。

3. 両性界面活性剤を用いたマイクロエマルジョンの物性¹⁷⁾

3.1 緒言

多相マイクロエマルジョンに関する研究は、アニオン界面活性剤や非イオン界面活性剤について数多く行われているが、両性界面活性剤についてはほとんどない。そこで本研究では、アミノ酸から誘導され、生体や環境に対する安全性の高いアミノ酸系両性界面活性剤を用いて多相マイクロエマルジョンを調製し、その生成条件に及ぼすpH、塩濃度、温度の影響を検討した。

3.2 実験

3.2.1 界面活性剤：アミノ酸系界面活性剤であるN^α、N^α-ジメチル-N^ε-ラウロイルリジン（DMLL）は、味の素(株)中央研究所から提供されたものをそのまま用いた。

3.2.2 実験方法：DMLLの酸解離指数はそれぞれ電位差滴定により求めた¹⁷⁾。多相マイクロエマルジョンの調製および物性測定は1.2項に準じた。

3.3 結果

3.3.1 DMLLの酸解離定数および等電点：DMLLは水溶液のpHに依存して3種類の異なる構造（カチオン型、双イオン型、アニオン型）をとるので、それらの酸解離定数を求めたところ、pK_{a1}=2.2、pK_{a2}=9.8となり、また、等電点pH_i=6.0となった。そこで、各pHにおける双イオン型、カチオン型、アニオン型のDMLLのモル分率を求めたところ、図10に示す関係が得られた。DMLL単独水溶液の場合、pH5以下の領域においてカチオン型/双イオン型混合系、pH7以上の領域においてアニオン型/双イオン型混合系となることが分かった。また、両性型のモル分率がほぼ1となる等電領域はpH5~7の範囲に存在することが分かった。

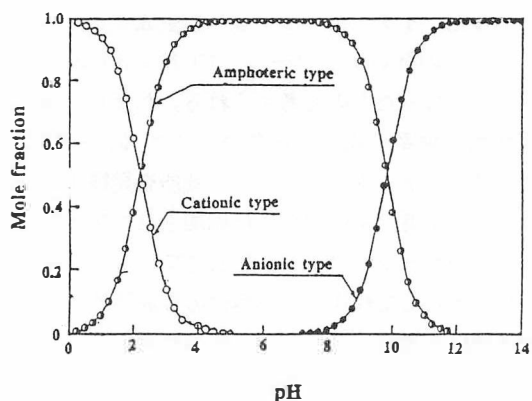


Fig.10 Effect of pH on mole fraction of each type of DMLL at 25°C.

3.3.2 DMLLの溶解温度：塩濃度が増加しても溶解温度は等電点領域に近づくほど増加した。また、中性領域において塩濃度の増加に伴い溶解温度は減少することが分かった。

3.3.4 DMLLマイクロエマルジョンに及ぼすpHの影響：コーサーファクタント濃度増加に伴う相挙動はWinsor型の相変化²³⁾を示した。図11に、塩濃度が0.3%の時の各マイクロエマルジョンを生成するコーサーファクタント濃度領域とpHの関係を示す。図11から明らかなように、

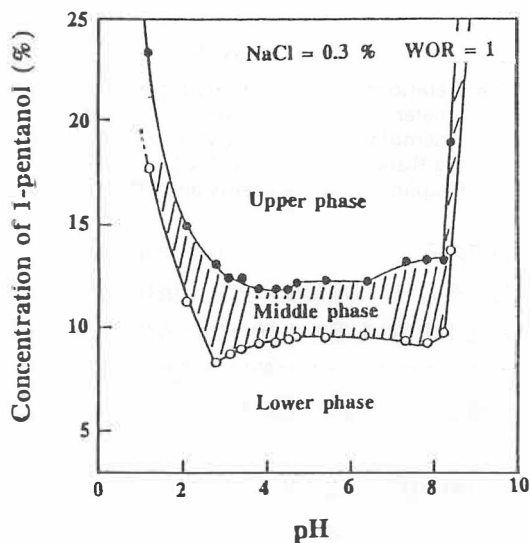


Fig.11 The range of cosurfactant concentrations which lead to multiphase microemulsion formation for solutions containing 0.3% NaCl, as a function of pH (at 25°C).

Winsor型の相変化は広いpH範囲で起こり、ミドル相マイクロエマルジョンを生成するためのペンタノールの必要量は酸性側あるいはアルカリ性側の方が等電点領域よりも大きかった。図12に、塩濃度が0.3%の時の最適コーサーファクタント濃度における可溶化パラメーターとpHの関係を示す。可溶化パラメーターは等電点領域に近づくに従い減少したが、pH3およびpH8において極小を示すことが分かった。それらのpHではまた

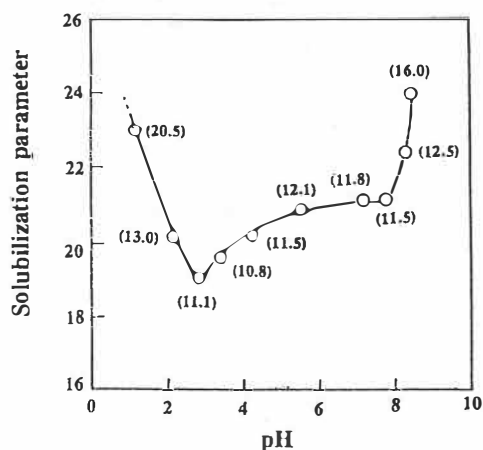


Fig.12 pH-dependence of optimum concentration of cosurfactant at 25°C (NaCl 0.3%).

界面張力は極大値を示したが、マイクロエマルジョンの粒子径は極小値を示した。また、いずれのpHにおいても、マイクロエマルジョンの生成領域に及ばず温度の影響は小さく、酸性側における最適コーサーファクタントは温度の上昇に伴い増加したが、アルカリ性側では減少し、等電点領域付近においては温度にほとんど影響しなかった。

3.4 考察

紙面の関係で詳細は省略するが、イオン強度一定におけるDMLLマイクロエマルジョンのpH依存性も、前述したWinsorのR理論²³⁾で解釈できる。最適コーサーファクタント濃度において親水性相互作用と親油性相互作用のバランスはつり合い、Rは1となる。したがって、最適コー

サーファクタント濃度が大きい系ほど親水性相互作用は大きくなる。さらに、可溶化パラメーターは、最適コーサーファクタント濃度におけるミドル相マイクロエマルジョンへの水と油の相互可溶化能力を示す指標として用いられるが、親水性相互作用と親油性相互作用が共に大きな値でつり合うときほど、この可溶化パラメーターは大きくなる^{24, 25)}。したがって、最適コーサーファクタント濃度および可溶化パラメーターが極小を示したpH3およびpH8において親水性相互作用が極小になるものと考えられる。また、pH変化により最適コーサーファクタント濃度が変化したのは、DMLLの3種類の型のモル分率の変化に起因するものと考えられる。特に、pH3およびpH8においてDMLLの双極子-イオン間の相互作用により膜に凝集力が働き、DMLL分子が油/水界面(マイクロエマルジョンの表面)に密に配向するため、系の親油性相互作用が増加(親水性相互作用が減少)したものと考えられる。

4. 両性界面活性剤を用いたO/W型マイクロエマルジョンの会合数と結合定数²⁶⁾

4.1 緒言

前節で、DMLLによる多相マイクロエマルジョンの相挙動を検討したところ、マイクロエマルジョンの生成条件は親水基からのプロトンの解離、または親水基へ対イオンの結合に影響されることが示唆された。すなわち、この親水基の解離によって油/水界面における親水性相互作用が変化すると考えられることから、マイクロエマルジョンの生成並びに相挙動を解釈するには、親水基の荷電状態の検討が不可欠である。そこで本研究では、下相マイクロエマルジョンの移動度の測定を行い、pHによるマイクロエマルジョン表面の荷電状態の変化についてDLVO理論を用いて検討した。

4.2 実験

4.2.1 実験方法：モビリティの測定は、ゼータサイザーⅢを用い、フリンジモードのレーザードップラー電気泳動法により行った。その他の測定については、前述した通りである。

4.3 結果

図13に、下相マイクロエマルジョンのゼータ電位とpHの関係を示す。なお、ゼータ電位はモビリティの値からHenryの式²⁷⁾により求めた。pHの増加に伴いゼータ電位は正の値から負の値

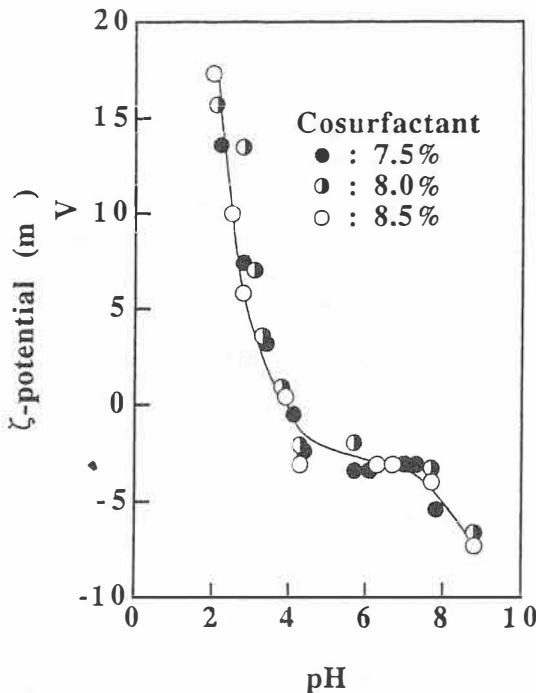


Fig.13 ζ -potential of the lower phase (O/W type) microemulsion as a function of pH at various concentrations of cosurfactant (25°C, NaCl 0.3%).

へと変化した。また、いずれのコーサーファクタント濃度においてもゼータ電位はpH3.9でゼロとなった。図14に、下相マイクロエマルジョンの粒子径とpHの関係を示す。ゼータ電位を表面電位に等しいと仮定すると、ゼータ電位および粒子径の値によりO/W型マイクロエマルジョンの

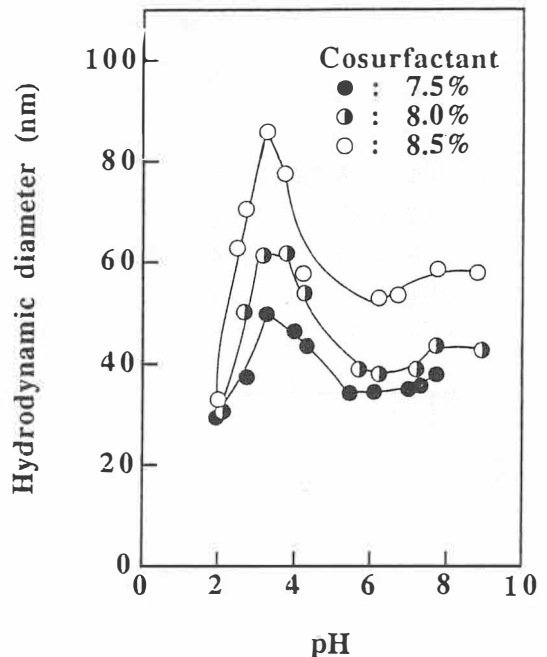


Fig.14 Hydrodynamic diameter of the lower phase (O/W type) microemulsion as a function of pH at various concentrations of cosurfactant (25°C, NaCl 0.3%).

表面電荷密度を算出できる²⁸⁾。得られた表面電荷密度とpHの関係を図15に示す。いずれのコーサーファクタント濃度においても表面電荷密度はpHの増加に伴い正の値から負の値へと変化し、pH3.9においてゼロとなることが分かった。DMLLの等電点はpH6であるので、pH6においてDMLLに由来する正味の電荷はゼロとなるものと考えられるが、表面電荷密度は負の値を示した。このことから、DMLL分子が電気的に中性となる等電点領域においても、マイクロエマルジョン表面には溶媒中のアニオンが吸着しているものと考えられる。等電点領域において、特に電解質として加えたNaCl濃度が高いことから、マイクロエマルジョンの表面には塩素イオンの方がナトリウムイオンよりも優先的に吸着しているものと考えられる。また、コーサーファクタント濃度の増加に伴い下相マイクロエマルジョンの粒子径は増加した。これは、コーサーファクタント濃

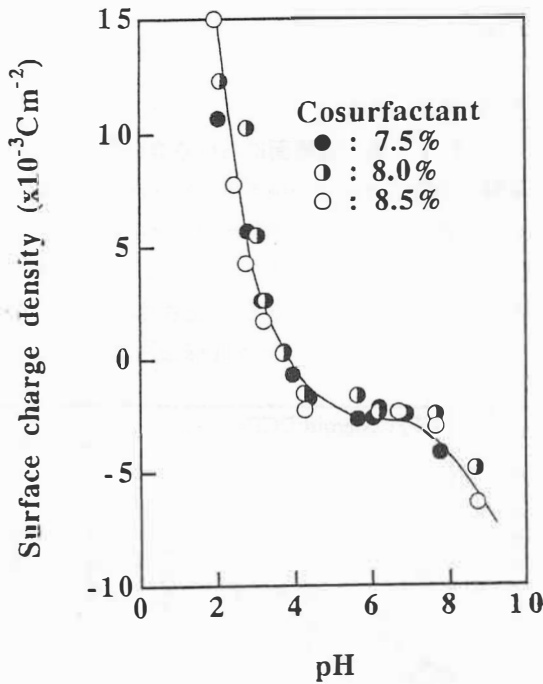


Fig. 15 Surface charge density of the lower phase (O/W type) microemulsion as a function of pH at various concentrations of cosurfactant (25°C, NaCl 0.3%).

度の増加に伴い疎水性が増加するため、1粒子当たり可溶化される油の量が増加するものと考えられる。さらに、粒子径はpH3およびpH8において極大を示したが、これは前節で述べたように、DMLL分子間の凝集力により親水性相互作用が減少し、親油性相互作用が増加するためと考えられる。

4.4 考察

O/W型DMLLマイクロエマルジョンの表面電荷密度は、DMLL分子の吸着密度やプロトン、ナトリウムイオン、塩素イオンのDMLLの親水基への結合に依存する。まず、対イオンがすべてとれた構造を有するアニオン型のDMLLが均一に吸着するようなマイクロエマルジョンを考える。さらに、そのDMLLの親水基にプロトン、ナトリウムイオン、塩素イオンが結合して表面電荷密

度に変化する。すなわち、 $[\text{COO}^-]$ の吸着点にはプロトンとナトリウムイオンが競争的に結合し、一方、 $[\text{N}(\text{CH}_3)_2]$ の吸着点には、まずプロトンが結合した後、正に帯電した親水基 $[\text{HN}^+(\text{CH}_3)_2]$ にのみ塩素イオンが結合するモデルを考える。

イオンの結合によるヘルムホルツ自由エネルギー変化は、静電的な正味の仕事、イオンの吸着(結合)による仕事および配置エントロピーの寄与を考える式を出発として、 $[\text{COO}^-]$ へのプロトンとナトリウムイオンの単位面積当たりの最大吸着数、 $[\text{HN}^+(\text{CH}_3)_2]$ へのプロトンと塩素イオンの単位面積当たりの最大吸着数、各イオンのマイクロエマルジョン表面における電気化学ポテンシャルエネルギー、DMLLの吸着密度、酸解離定数を考慮すると、最終的に次式が得られる(詳細は参考論文26)参照)。

$$K_{\text{Na}} - K_{\text{Cl}} = (1/C) \left[\frac{1}{(1+10^{-\text{pH}}/10^{-\text{pKa}^2})} - \frac{1}{(1+10^{-\text{pKa}^2}/10^{-\text{pH}})} \right] = -0.20 \text{ (M}^{-1}\text{)}$$

ここで、 $C = C_{\text{Na}} = C_{\text{Cl}} = 0.10\text{M}$ とした。また、pH6付近においてDMLLに由来する正味の電荷はゼロとなることから、次式が得られる。

$$K_{\text{Na}} \exp(-e\zeta/kT) - K_{\text{Cl}} \exp(e\zeta/kT) = (\sigma/eC) (1/N)$$

これらの式を用いてナトリウムイオン、塩素イオンの結合定数、DMLLの吸着密度(N)を求めたところ、次の関係が得られた。

$$\begin{aligned} 0 < K_{\text{Na}} < 0.91 \\ 0.20 < K_{\text{Cl}} < 1.11 \\ K_{\text{Cl}} - K_{\text{Na}} &= 0.20 \\ N > 0.79 \end{aligned}$$

吸着密度Nを0.8とし、図14の粒子径を基にしてマイクロエマルジョン単位当たりのDMLL分子の会合数は約4000であることが分かった。

5. W/O/W型マクロエマルジョン（リポソーム）中におけるリン脂質とステロイドの相互作用²⁹⁾

5.1 緒言

一般に、W/O/W型マクロエマルジョン（リポソーム）の安定性を向上させるために、リン脂質／コレステロール／荷電物質の3成分系で調製されているものが多い³⁰⁾。リポソームをドラッグキャリアーとして応用するためには、リポソームの膜としての安定性および安全性の向上、また、徐放などの処方融通性を高めることが不可欠であるため、界面化学および物理化学的観点からの各種ステロイドの影響を検討することは重要である。そこで本研究では、自然界に存在する代表的な種々のステロイドおよび半合成されたステロイドを用いて、単分子膜を生体膜の最小単位と考え、リン脂質／ステロイド混合単分子膜の物性並びにリポソームの安定性に及ぼすステロイドのセグメントおよび側鎖構造の影響を検討した。

5.2 実験

5.2.1 試料：リン脂質として日本油脂㈱から提供されたL- α -ジパルミトイルホスファチジルコリン（純度99.6%以上）を、荷電物質として市販品のリン酸水素ジヘキシルを、ステロイドとしてコレステロール、 β -コレスタノール、 β -シトステロール、スチグマステロール、4,22-スチグマスタジエン-3-オンを用いた。内水相マーカー物質としてグルコースを、緩衝塩溶液として調製したリン酸緩衝化生理食塩水を、蛍光プローブとしてピレンを用いた。

5.2.2 実験方法

気／液界面におけるリン脂質とステロイドの混合単分子膜の表面膜圧の測定は、協和界面科学㈱製の表面膜圧計を用いて、Wilhelmy法により行った。リポソームの調製はSzokaらの方法³¹⁾に従って逆相蒸発法（REV）により行った。膜透過性の測定は、リポソーム内水相に保持された

グルコースのリポソームからの放出の経時変化から検討した。

5.3 結果と考察

5.3.1 気／液界面における混合単分子膜の挙動：脂質二分子膜の横方向の分子間相互作用は、気／液界面に形成する単分子膜のそれと類似した傾向を持つので、まずリン脂質とステロイド類のモル比を7：3（動物細胞の細胞膜と同一の組成）³²⁾にした場合の π -A曲線を図16に、また

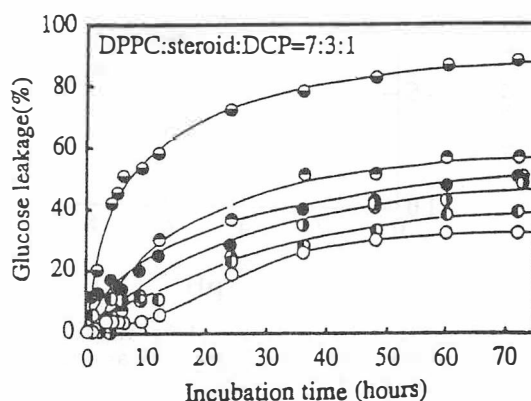


Fig.16 Time dependence of glucose leakage (DPPC:steroid:DCP = 7:3:1) : ○, without steroid ; ●, 4,22-stigmastadien-3-one ; ■, stigmasterol ; ▲, β -sitosterol ; ◆, β -cholesterol ; ○, cholesterol.

その組成比を5：5（動物の赤血球と同一の組成）³³⁾を図17に示す。図から明らかなように、リン脂質とステロイドとからなる混合単分子膜はステロイドの種類に依存せず凝縮膜を形成した。図には示していないが、混合単分子膜の圧縮弾性率は同一親水基（水酸基）をもつ4種類のステロイドの場合ほとんど同じであったが、親水基が異なるスタジエンを用いた場合はかなり異なった。本研究で得られた見かけの1分子当たりの分子占有面積および圧縮弾性率などから、気／液界面におけるステロイドの配向状態をモデル化すると図18となった。スタジエンを用いた混合単分子膜の場合（5：5）、明確な二段階の崩壊を示したことから、混合単分子膜中で相分離³⁴⁾しているも

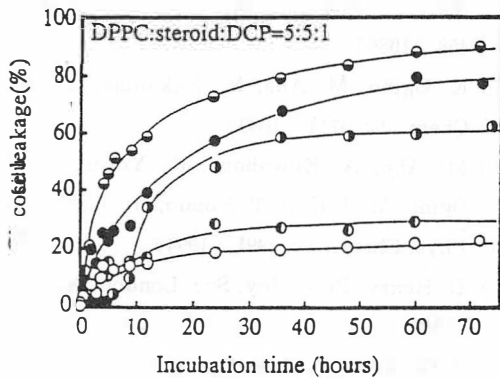


Fig.17 Time dependence of glucose leakage (DPPC : steroid : DCP = 5 : 5 : 1) : ●, without steroid ; ●, stigmasterol ; ○, β-sitosterol ; ●, β-cholestanol ; ○, cholesterol.

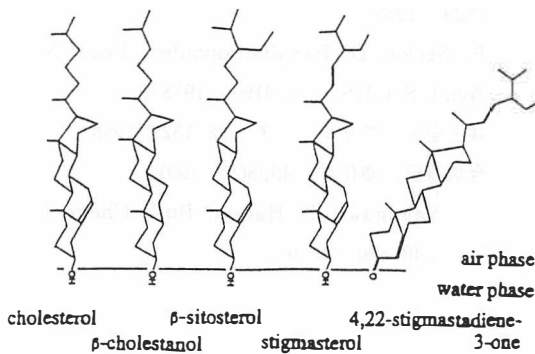


Fig.18 Model of orientation of steroids at air/water interface.

のと考えられる。これらのことから、混合単分子膜中におけるリン脂質とステロイドの疎水基間の相互作用（凝集力）は、ステロイドの二重結合がなく、かつ、側鎖の枝分かれが少ないほど大きくなり、スチグマスタジエン < β-シトステロール < コレステロール < β-コレステロールの順になることが分かった。

5.3.2 脂質二分子膜の膜透過性：グルコース放出率（膜透過性）は各種ステロイドの添加により低下し、膜が安定になることが分かった。また、膜透過性はステロイドの種類に依存し、コレステロール < β-コレスタノール < β-シトステロール < スチグマスタジエンの順となり、側鎖構

造の違いによるリン脂質とステロイドの疎水基間相互作用が大きいステロイドほど低下した。一方、ステロイド環部の構造が異なる場合は、前述した傾向とは異なることが分かった。また、リン脂質に対するコレステロールのモル比が5:5のとき、膜は最も安定になると言われているが、ステロイドの種類によりそのモル比は異なることが分かった。

5.3.3 脂質二分子膜中の微視的流動性および極性：リン脂質とステロイドの疎水基間相互作用が弱いものほど膜がルーズとなるために流動性が増加し、膜透過性も増加すること等が分かった。

謝 辞

当財団からの研究助成のお蔭で、参考文献に記載してある No.1、No.17、No.19、No.26、No.29 を研究成果とすることができました。ここに、感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 阿部正彦、矢島 勲、荻野圭三、椿 信之、中野善郎、色材協会誌、65、212 (1992).
- 2) 荻野圭三、太田基巳、油化学、23、28 (1974).
- 3) J. H. Schulman, D. P. Riley, J. Colloid Interface Sci., 3, 833 (1948).
- 4) 国枝博信、篠田耕三、日本化学会誌、11、2001 (1972).
- 5) M. Nakamae, M. Abe, K. Ogino, J. Colloid Interface Sci., 135, 449 (1990).
- 6) B. H. Robinson, Chem. Britain, 26, 342 (1990).
- 7) 菊池 寛、井上圭三、油化学、34、784 (1985).
- 8) 北野博己、表面、25、231 (1987).
- 9) A. Wretling, J. Parenteral Enteral Nutri., 5, 230 (1981).
- 10) F. Ishii, I. Sasaki, H. Ogata, J. Pharm. Pharmacol., 42, 513 (1990).
- 11) 金子晃久、篠田耕三、油化学、37、740 (1988).
- 12) D. Capitani, A. L. Segre, R. Sparapani,

- Langmuir, 7, 250 (1991).
- 13) 野島庄七, 砂本順三, 井上圭三, “リポソーム”, p.9, 南江堂 (1988).
 - 14) 荻野圭三, 阿部正彦, 西野 宏, 燃料協会誌, 67, 167 (1988).
 - 15) 阿部正彦, 西野 宏, 荻野圭三, 燃料協会誌, 67, 856 (1988).
 - 16) W. D. Harkins, F. E. Brown, J. Am. Chem. Soc., 41, 499 (1919).
 - 17) M. Abe, A. Kuwabara, K. Ogino, H. Ohshima, T. Kondo, M. J. Kim, J. Surface Sci. Technol., 8, 155 (1992).
 - 18) 辻井 薫, 油化学, 29, 662 (1980).
 - 19) 阿部正彦, 矢島 勲, 荻野圭三, 石油学会誌, 36, 326 (1993).
 - 20) K. Ogino, M. Abe, “Mixed Surfactant Systems”, Marcel Dekker, New York (1992).
 - 21) 鈴木 洋, “界面と界面活性物質”, 産業図書, p. 119 (1990).
 - 22) 関根正巳 他, “ハンドブッカー化粧品・製剤原料—改訂版”, 日光ケミカルズ, p.299 (1977).
 - 23) P. A. Winsor, Chem. Rev., 68, 1 (1968).
 - 24) 仲前昌人, 阿部正彦, 荻野圭三, 石油学会誌, 31, 458 (1988).
 - 25) K. Ogino, M. Abe, M. Nakamae, J. Phys. Chem., 93, 3714 (1989).
 - 26) M. Abe, A. Kuwabara, K. Yoshihara, K. Ogino, M. J. Kim, T. Kondo, H. Ohshima, J. Phys. Chem., 98, 2991 (1994).
 - 27) D. Henry, Proc. Roy. Soc. London, A133, 106 (1931)
 - 28) H. Ohshima, T. W. Healy, L. R. White, J. Colloid Interface Sci., 90, 17 (1982).
 - 29) H. Yamauchi, Y. Takao, M. Abe, K. Ogino, Langmuir, 9, 300 (1993).
 - 30) M. Nishijima, M. Nojima, Farumashia, 22, 1329 (1988).
 - 31) F. Szoka, D. Papahadjopoulos, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4194 (1978).
 - 32) 井上圭三, フェルマシア, 22, 1329 (1988).
 - 33) 今泉勝巳, 油化学, 40, 869 (1991).
 - 34) M. Nakagaki, T. Handa, Bull. Chem. Soc. Jpn., 49, 880 (1976).