

ナノ乳化におけるトップダウンプロセスとボトムアッププロセスの比較

国立研究開発法人 海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター

出口 茂、木下 圭剛

Dodecane-in-water nanoemulsions were prepared by a conventional top-down process and a bottom-up MAGIQ in the presence of four different types of nonionic surfactants. A good correlation was found between the final droplet size and dynamic surface tension, suggesting that adsorption dynamics of surfactants to oil/water interfaces is critical in determining droplet size in MAGIQ.

1. 緒言

本来、互いに混ざり合わない水と油を乳化物として混合し取り扱う技術は、化粧品開発・製造のみならず、食品、インク、医薬品、化学工学など広範な産業分野で利用されている大変重要な基盤技術である。最近では油滴サイズを20～200 nm程度にまで超微細したナノエマルジョンが注目を集めている。油滴サイズのナノ化に伴って、通常のエマルジョンには見られない様々な新特性が現れるためである。例えば通常のエマルジョンは牛乳のように白濁しているのに対し、ナノエマルジョンは透明あるいは半透明である。また油滴サイズの小ささを活かして、肌への浸透性を高めた機能性化粧品、ドラッグデリバリーシステムでの薬物キャリア、ナノ材料合成のためのリアクターなど、エマルジョンの新たな用途も生まれようとしている。

通常のエマルジョンは「トップダウン」プロセスであり、水/油/乳化剤の混合物に、攪拌や超音波照射などによって外部からエネルギーを加え、粗大油滴を繰り返し引きちぎって微小油滴を生成する(図1)。この際、外部から加えたエネルギーが油滴内部と外部の圧力差(ラプラス圧と呼ばれる)に勝ったときに油滴の微細化が進行する。ところが、ラプラス圧は油滴サイズに反比例するため、サイズの低下とともに油滴の更なる微細化は困難となっていく。一方、ナノサイズの固体粒子(ナノ粒子)の製造では、粒子を構成する原子あるいは分子の自己組織化を利用してボトムアップで合成するのが一般的である。ナノサイズの液滴の調製でも、当然ボトムアップの方が好ましいと考えられる。しかしながら、そのためには本来混ざり合わない水と油が分子レベルで混合した均一溶液が必要となるというジレンマがある(図1)。

例えば水と2,6-ルチジンの混合物は34.1℃に下限臨界溶解温度(LCST)を有し、LCST以下の温度では均一混合、LCST以上の温度では二相分離する。水/ルチジンの均一溶液をLCST以上に加熱すると、相分離によってルチジン(組成によっては水)の液滴が生成するが、その際に乳化剤を添加しておく、エマルジョンが生成されることが報告されている¹⁾。しかしながら同様の温度に依存した相挙動を示す系は極めて限られており、例えば水と炭化水素の混合物など、一般的に乳化の対象とされる実験系には適用できない。

筆者の所属する国立研究開発法人海洋研究開発機構は、有人調査潜水船「しんかい6500」(図2)に代表される深海調査ファシリティを運用して、主として海底資源、気候、地震、ならびに生物に関する研究を行っている。地球上の水の97%は、地球表面の約70%を占める海洋に存在

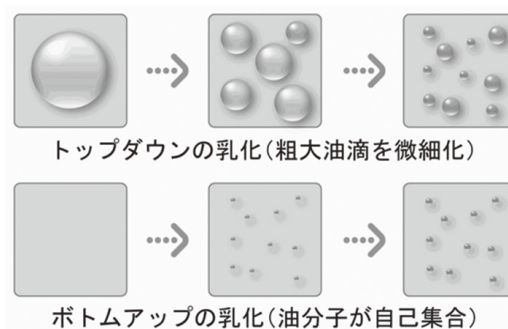


図1 トップダウン(上)とボトムアップ(下)による微細油滴の生成



Comparison of Top-down and Bottom-up Process for Preparing Nanoemulsions
Shigeru Deguchi*, Keigo Kinoshita
R&D Center for Marine Biosciences,
Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology



図2 有人調査潜水船「しんかい6500」

する。海洋の全球平均深度は3,800メートルであり、その内水深200メートル以深が深海と呼ばれる。水深10メートルごとに水圧は0.1 MPa（1気圧が0.1 MPaに相当）ずつ上昇するため、世界最深部（マリアナ海溝、チャレンジャー海淵、水深約11,000メートル）での水圧は約110 MPaに達する。また太陽光は水深200メートルまでしか届かないため、深海は常に暗黒の世界で、水温も2-4℃に保たれている。ところが深海には例外的に超高温環境も存在する。熱水噴出孔と呼ばれる、深海底から湧き出す温泉である（図3）。地上と比べて深海底は熱源である地下のマグマ溜りに近いため、熱水噴出孔から吹き出す水の温度は極めて高い。2008年に大西洋中央海嶺で発見された熱水噴出孔では、臨界点（臨界温度：374℃、臨界圧力：22.1 MPa）を超えた超臨界状態の水が噴出している²⁾。

我々は高温・高圧の極限である超臨界水の性質に着目し、従来法とは根本的に異なる原理に基づく「ボトムアップ」のナノ乳化手法を確立した³⁾。超臨界水は我々が良く知る常温・常圧の水とは著しく異なる特性を示す。例えば

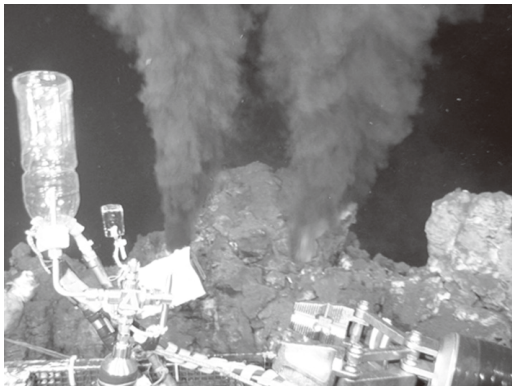


図3 南部マリアナトラフ・うらしま熱水域（水深2935メートル）で発見された熱水噴出孔。勢いよく噴き出す黒色の熱水の最高温度は270℃

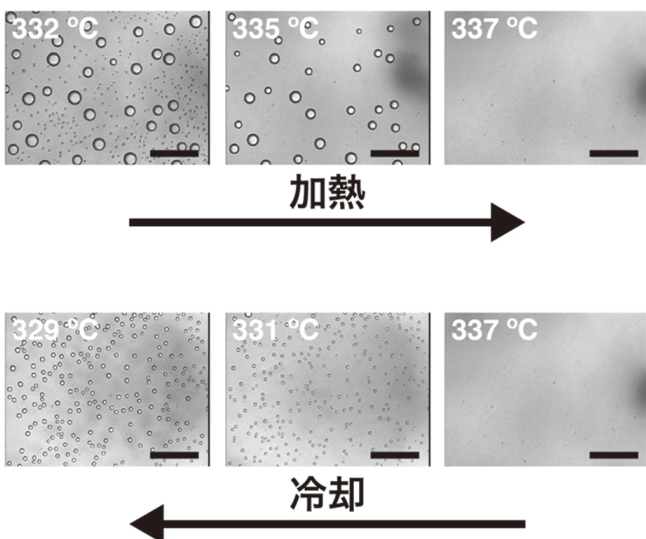


図4 MAGIQのコンセプトを示す高温・高圧顕微鏡像。250気圧でドデカン/水混合物を観察

物質の極性の指標となる比誘電率を例にとると、常温・常圧での水の比誘電率は80前後と液体としては極めて高い値を示すが、超臨界状態では2と炭化水素と同じ値にまで減少する⁴⁾。そのため超臨界状態の水は様々な油を分子レベルで溶解することができる⁵⁾。MAGIQ (Monodisperse nAnodroplet Generation In Quenched hydrothermal solution) と呼ばれる我々が確立した乳化手法は、油と超臨界水の均一溶液を調製した後、室温まで200℃/秒を超える速度で冷却して急激に相分離を誘起することによって、油分子を自己集合させて微細油滴を生成する（図4）。独自に開発した流通型の装置を用いて1体積パーセントのドデカンに水を乳化した実験では、10秒以内という極めて短い時間で平均直径61 nmのサイズの揃った油滴を分散したナノエマルジョンを生成できた³⁾。また超高温での加熱時間を数秒に抑えたことで、ドデカンの熱分解も1%以下に抑えられていた³⁾。

本申請課題では、同一組成の試料を用いて高圧乳化とMAGIQの2つの異なる手法で乳化を行い、得られたエマルジョンの油滴サイズや分布を比較検討することで、ナノエマルジョン調製におけるトップダウン手法とボトムアップ手法との違いの明確化、さらにはボトムアップでのナノ油滴生成メカニズムを解明することを目的として研究を行った。

2. 実験

ドデカン/水系をモデルとして、従来のトップダウン手法とボトムアップのMAGIQの2つの異なる方法でエマルジョンを調製し、得られた油滴のサイズと分布を比較・検討した。乳化剤にはBrij 97 (polyoxyethylene (10) oleyl ether)、Brij 98 (polyoxyethylene (20) oleyl ether)、Tween 20 (polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate)、Tween 80 (polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate) の4種の非イオン性界面活性剤を用いた。

トップダウンの乳化には、予め攪拌機(Heidolph社製RZR 2051、半月型攪拌翼を装着)を用い、500 rpmで3分間処理したプレエマルジョンを高圧ホモジナイザー(GEA Niro Soavi社製Panda PLUS 2000)を用い、25 MPaの圧力条件で20パスの処理を行った。MAGIQによる乳化は、図5に示す流通型の装置を用いて、25 MPaの一定圧力下で行った。予熱コイルによって加熱した水にドデカンを注入した後、404~440℃に保たれた混合管の内部で約4.5秒間加熱することによって均一溶液を得た。その後、乳化剤の冷水溶液と混合するとともに冷却コイルも併用して溶液を急冷し、相分離を誘起してナノ油滴を生成した。

油滴サイズの測定は動的光散乱法(大塚電子(株)製FPAR-1000)を用いて25℃で行った。また動的表面張力測定は、九州大学 瀧上研究室にて懸滴法を用いて行った。

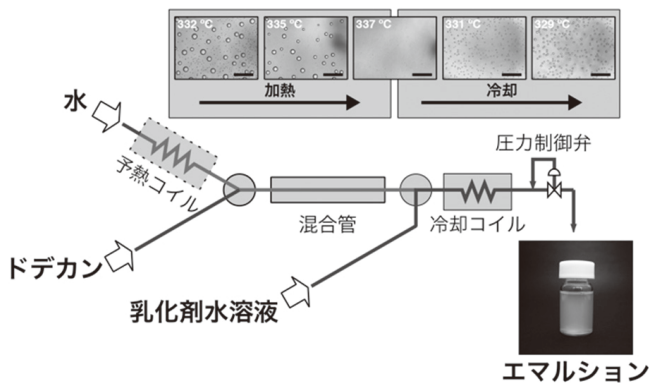


図5 MAGIQによるナノエマルジョン調製のための流通型装置

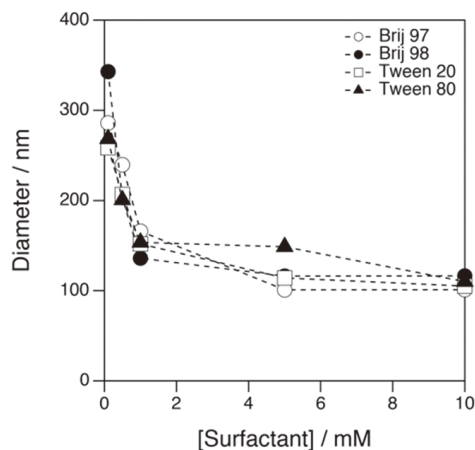


図6 高圧ホモジナイザーを用いて調製したナノエマルジョン中の油滴サイズ

得られた結果をFilippovらの理論⁵⁾を用いて解析し、吸着の緩和時間を求めた。

3. 結果

3.1. 高圧ホモジナイザーによるトップダウンのナノエマルジョン調製

高圧ホモジナイザーを用いて、界面活性剤の濃度を様々に変えながら1体積%のドデカンを乳化した結果を図6に示す。

1 mM以下の低濃度の界面活性剤濃度の添加時には、油滴サイズは活性剤濃度の増加とともに急激に低下した。界面活性剤濃度とともに水/ドデカン界面の界面張力が低下しラプラス圧が減少した結果、油滴の微細化が促進されたものと考えられる。ところが界面活性剤濃度が1 mM以上になると、得られた油滴のサイズは120 nm前後と一定の値となり、界面活性剤濃度にはあまり依存しなかった。また界面活性剤の種類は、いずれの界面活性剤濃度範囲においても生成する油滴のサイズに大きくは影響しなかった。

緒言にも述べたように、トップダウンの乳化で油滴の微細化を進めるためには、油滴内外の圧力差(ラプラス圧)に打ち勝つだけのエネルギーを外部から投入する必要がある。ラプラス圧は油滴サイズに反比例するため、油滴サイズが小さくなるにつれて困難となる。図6の結果は、油滴サイズが120 nm前後にまで低下すると、高圧ホモジナイザーで投入されるエネルギーに対してラプラス圧が大きくなりすぎ、それ以上の油滴の微細化が進行しないことを示している。換言すると、トップダウンでのナノエマルジョンの生成では、投入するエネルギーの大きさが最終的な油滴サイズを決定する一義的な要因となっていると解釈できる。

3.2. MAGIQによるボトムアップのナノエマルジョン調製

高圧ホモジナイザーを用いた場合とは全く異なり、MAGIQによって調製した油滴のサイズは用いた界面活性

剤の種類に強く依存した(図7)。乳化剤としてBrij 97とTween 80を用いた場合には、得られた油滴の最小サイズは、高圧ホモジナイザーを用いた場合よりも小さかった。例えば5 mMのBrij97を用いた場合、高圧ホモジナイザーで得られた最小の油滴直径は100 nmであったのに対し、MAGIQでは直径61 nmの油滴が得られた。乳化剤としてBrij 98を用いた場合には、得られた油滴の最小サイズは調製方法によらず同じであった。一方、乳化剤にTween 20を用いた場合には、MAGIQで得られた油滴のサイズは高圧ホモジナイザーを使った時よりも大きかった。

3.3. 動的表面張力と油滴のサイズ

ボトムアップのMAGIQで得られた結果(図7)を詳細に検討したところ、油滴サイズと界面活性剤のHydrophilic-Lipophilic Balance (HLB)との間に良好な相関を見出した(図8)。より具体的には乳化剤に用いた界面活性剤のHLBが小さいほど油滴サイズも小さくなることがわかった。HLBは、乳化の際に適切な界面活性剤を選定する指標として広く用いられている。疎水性の高い界面活性剤ほど小さなHLBを有することから、乳化剤として用いた界面活性剤の疎水性が高いほど、小さな油滴が得られることを定性的に示す結果である。

しかしながらHLBの科学的な意味は明確ではない。そこでMAGIQにおける油滴生成メカニズムに関する知見を得るために、動的表面張力に着目した。動的表面張力は、界面活性剤溶液中で新しく形成された油/水界面に、界面活性剤が吸着することによって起こる界面張力の低下を経時的に測定して得られるものであり、界面活性剤分子の濃度、拡散係数、疎水性/親水性のバランス、ミセル中での滞在時間など、様々な複合的要因を総合的に含めて界面への界面活性剤分子の吸着ダイナミクスを評価する指標として利用できる。

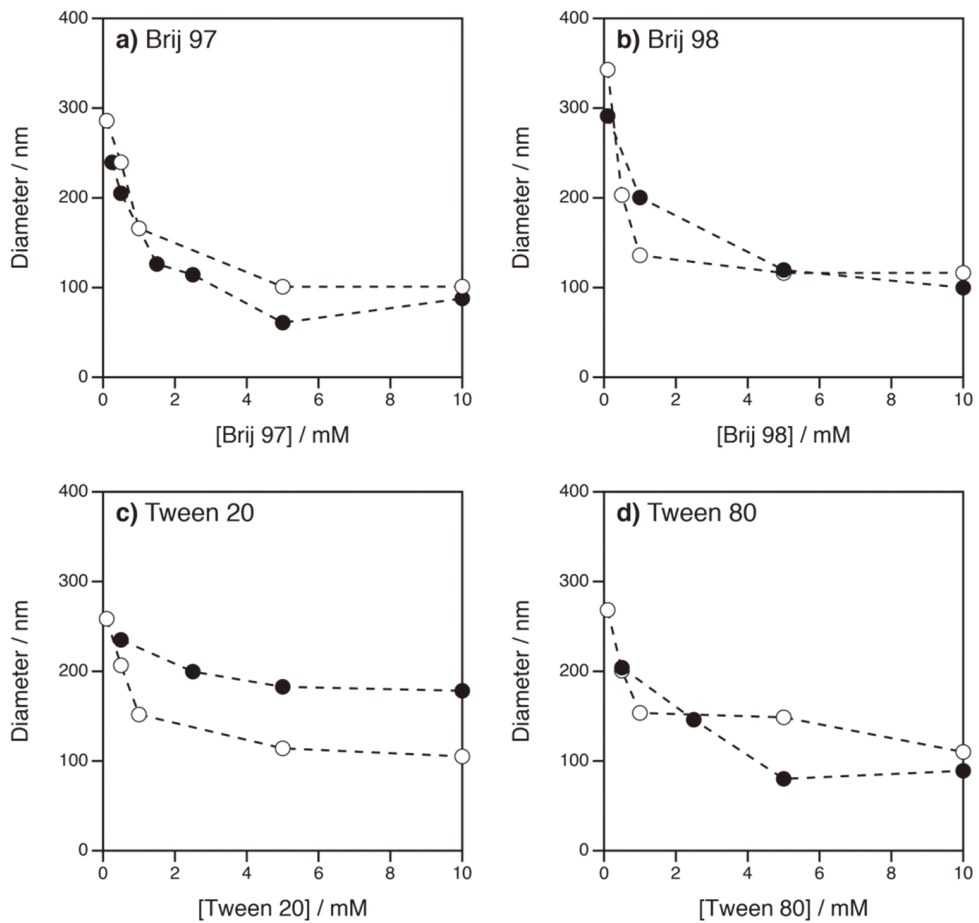


図7 異なる界面活性剤を使用してトップダウン(○)とボトムアップ(●)で調製したナノエマルジョン中のドデカン油滴のサイズ

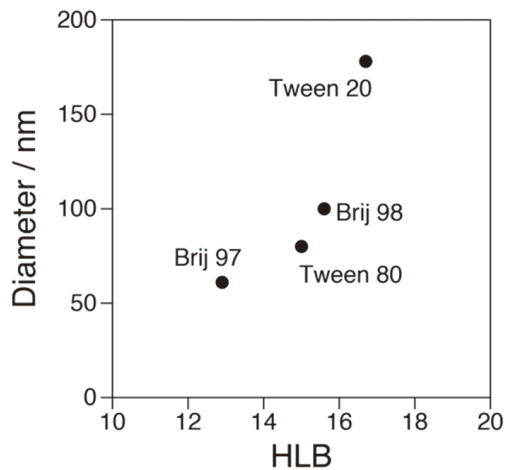


図8 界面活性剤のHLBとMAGIQで調製した油滴サイズとの相関

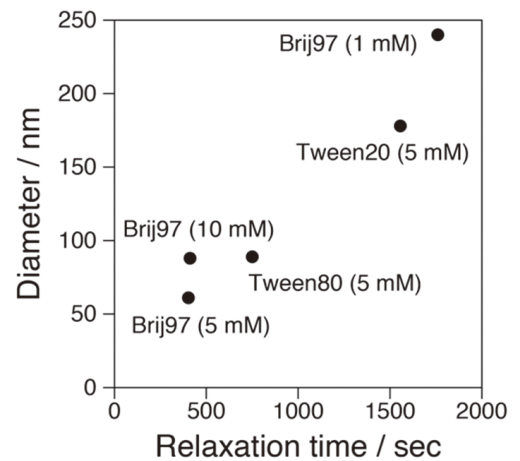


図9 動的界面張力とMAGIQで調製した油滴サイズとの相関

実験に用いた界面活性剤の水/ドデカン界面での動的表面張力測定を行い、吸着の緩和時間を求めた後、MAGIQで得られた油滴のサイズと比較したところ、吸着の緩和時間が短いほど、すなわち水/ドデカン界面への吸着が速い界面活性剤を用いたときほど、生成される油滴のサイズが小さくなることがわかった(図9)⁷⁾。

4. 考察

トップダウンの乳化では、最終的に得られる油滴のサイズは、外部から加えるエネルギーと水/油の界面張力で決定される。一方、油分子の自己組織化によってボトムアップで油滴を生成するMAGIQでは、得られる油滴のサイズ

を決定する因子は大きく異なると予想される。またトップダウンの乳化では、乳化剤には1) 水/油界面に吸着して界面張力を低下させる、2) 生成した油滴を安定化する、の2つの役割があるのに対し、MAGIQでの油滴生成は相分離によって進行するため、乳化剤の機能は油滴の安定化のみとなる。図6と図7の結果は、2つの異なる乳化手法での油滴生成メカニズムや乳化剤の役割の違いを反映したものと考えられる。

MAGIQによるボトムアップの油滴生成を説明する最も単純なメカニズムは、油/水均一溶液を急冷した際に「相分離によって微細油滴が生成され、その表面に界面活性剤が吸着することで安定化される」というものである。これに従えば、MAGIQで生成される油滴のサイズは添加する界面活性剤の濃度や種類には依存しないはずである。ところが図7に示した1体積%のドデカンを用いたMAGIQによって水に乳化した実験では、油滴サイズは活性剤の濃度や種類に大きく依存した。そこで我々は、現在、ドデカンと水の均一溶液を急冷して相分離を誘起した際に、スピノーダル分解によって1次油滴が生成した後、

- 1) 1次油滴の合一による油滴の成長
 - 2) 表面へ吸着した界面活性剤分子による油滴の安定化
- の2つのプロセスが同時進行し、最終的に安定なナノ油滴が生成されるという新たなメカニズムを考えている。このメカニズムに従えば、最終的な油滴のサイズは2つのプロセスのダイナミクスのバランスで決定される。

本研究によって、図9に示したように、油/水界面への界面活性剤の吸着速度がMAGIQによって生成される油滴のサイズを支配していることが明らかとなった。さらに合一による油滴の成長速度は乳化する油の量に依存すると考えられるが、エマルション中の油の量が一定であっても界面活性剤の濃度や種類によって生成されるナノ油滴のサイズが大きく変化した図7の結果をも考慮すると、水/油界面への界面活性剤分子の吸着ダイナミクスこそが、MAGIQによって生成される油滴のサイズを決定する支配的要因だと推察される⁷⁾。

5. 総括

油/界面活性剤/水の相挙動を利用した転相乳化などの乳化など、ナノエマルションの調製に向けた様々な手法が確立されてきた。しかしながら従来の手法は系の組成に強く依存するなど、汎用性には乏しい。一方、超臨界水はメタンからイコサンまでの直鎖炭化水素、スクアランに代表される分岐炭化水素など多様な油を溶解するため、MAGIQは高い汎用性を有すると期待される。さらには酸素、水素、窒素などの無極性ガスも超臨界水には自由に相溶することから、ナノバブル製造などへの応用も可能

である。MAGIQは、この他にも1) 乳化に要する時間が短い、2) 流通型の装置を使用するためスケールアップが容易、3) 乳化剤選択の幅が広いなどの特長も有する。その一方で、MAGIQによる乳化機構、中でも最も重要な油滴生成メカニズムに関する基礎的知見はほとんど得られていなかった。

今回の研究によって、油と水の均一溶液の相分離時によって1次油滴が生成した後、合一による油滴の成長と界面活性剤分子による油滴の安定化という2つのプロセスが同時進行して、最終的に安定なナノ油滴が生成されるというメカニズムを強く支持する結果を得ることができた。さらに2つのプロセスの内、後者が油滴サイズを決定する支配的要因であることもわかった。そのためMAGIQでは、従来のトップダウンの乳化では考慮されてこなかった動的表面張力、すなわち界面活性剤の水/油界面への吸着速度が、生成される油滴のサイズを決定する上で大きな役割を果たしていることが明らかとなった。今後、MAGIQを用いた様々な研究開発を行う際に、乳化剤選定の指針となりうる重要な知見である。

MAGIQでの乳化に用いる乳化剤の選定では、調製したエマルションの保存安定性への取り組みも必要である。例えば、5 mMのBrij 97を、直径61 nmのドデカン滴を含むナノエマルションを調製できるが、得られたエマルションの保存安定性は十分に高いというわけではなく、室温で1週間程度放置すると、オストワルド熟成によって油滴サイズが200 nm前後にまで増加する。今後は、油滴の微細化と保存安定性の向上を両立できる乳化剤の検討も進めていく予定である。

エマルションは熱力学的に不安定な系であるため、生成経路によって生成物が大きく異なる。極端な場合には、油に水を加えた場合と、水に油を加えた場合でも、生成するエマルションが異なる。これが「乳化はサイエンスではなくアートである」と言われる所以である。従来プロセスとは根本的に異なる原理で乳化を行うMAGIQは、化粧品製造はもちろんのこと、ナノ乳化を必要とする様々な産業分野で利用されることが期待されるが、高温・高圧の超臨界水を取り扱うための特殊な機器を必要とすることが技術の普及に向けた大きなボトルネックであった。そこで我々は、高温・高圧機器の専業メーカーである株式会社AKICOと共同で、高温・高圧機器の取り扱いに関する特別な専門知識がなくてもMAGIQを安全に利用できるナノエマルション製造装置の開発を進めている。2016年3月に販売開始を予定している装置は、サイズも1300W × 750D × 1600H (mm)と、家庭用冷蔵庫1台半ほどの大きさに収まっている。これを契機としてMAGIQの普及が進むと期待している。

(引用文献)

- 1) Herzig E M, White K A, Schofield A B, Poon W C K, Clegg P S, : Bicontinuous emulsions stabilized solely by colloidal particles, *Nature Mater.*, 6, 966-971, 2007.
- 2) Koschinsky A, Garbe-Schönberg D, Sander S, Schmidt K, Gennerich H-H, Strauss H, : Hydrothermal venting at pressure-temperature conditions above the critical point of seawater, 5° S on the Mid-Atlantic Ridge, *Geology*, 36, 615-618, 2008.
- 3) Deguchi S, Ifuku N, : Bottom-up formation of dodecane-in-water nanoemulsions from hydrothermal homogeneous solutions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 6409-6412, 2013.
- 4) Deguchi S, Tsujii K, : Supercritical water: A fascinating medium for soft matter, *Soft Matter*, 3, 797-803, 2007.
- 5) Brunner E, : Fluid mixtures at high pressures IX. Phase separation and critical phenomena in 23 (n-alkane + water) mixtures, *J. Chem. Thermodyn.*, 22, 335-353, 1990.
- 6) Filippov L K, Filippova N L, : Dynamic surface tension and adsorption kinetics from micellar solutions on planar surfaces, *J. Colloid Interface Sci.*, 187, 304-312, 1997.
- 7) Kinoshita K, Ishiwata D, Kondo Y, Takiue T, Deguchi S, : Importance of Adsorption Dynamics of Surfactants in Bottom-up Formation of Dodecane-in-Water Nanoemulsions by MAGIQ, in preparation.