

アミノ酸系機能性界面制御剤による革新的な乳化技術の開発

東京理科大学理工学部先端化学科

酒井 健一

This report focuses on the preparation and stabilization mechanism of oil-in-water (O/W) type emulsions in the presence of amphiphilic 1:1 stoichiometric complexes of acylglutamic acids ($C_n\text{Glu}$) with tertiary alkylamines ($C_n\text{DMA}$). Relatively stable emulsions were obtained when C16Glu-C16DMA (or C18Glu-C18DMA), hexadecane, and water were homogenized at 80 °C and then stored at room temperature. The gel-liquid crystal phase transition temperature (T_c) of C16Glu-C16DMA and C18Glu-C18DMA dispersed in water was determined to be ca. 39 and 53 °C, respectively. This indicates that the complexes form an adsorbed layer at the oil/water interface during the homogenization process above the T_c , and then change into a gel during storage at room temperature. The gel phase formed at the oil/water interface prevents the oil droplets from coalescing. In contrast, shorter chain analogues (C10Glu-C10DMA and C12Glu-C12DMA) did not yield stable emulsions since their adsorption layers were not able to prevent coalescence of the oil droplets (i.e., the T_c of these analogues was below the room temperature). The dispersion stability of these emulsion systems can also be controlled by changing the aqueous pH.

1. 緒言

互いに混ざり合わない二つの相が接すると、そこには界面が生じる。液体が関与する界面の性質は両親媒性物質(界面活性剤)の存在により変化させることができる。通常、界面活性剤は分子溶解する溶液(連続)相と界面吸着相とに分配されるため、界面状態の制御に直接関与できる分子数はその添加量に比べて減少する。低炭素化社会あるいは持続成長可能な社会の実現という観点からすると、添加量に対する有効量の低減は大いなる課題である。すなわち、界面の性質を最大限有効に制御するためには、添加された両親媒性物質は二相の界面に独立した第三相として局在することが望まれる。このような観点から筆者は、機能性界面制御剤(Active Interfacial Modifier; AIM)と称する物質概念を提唱している。AIMは共存する二相に親和性を有するが、いずれの相にも実質的に分子溶解することはないという点で、通常の“界面活性剤”とはその概念を区別している¹⁾。

筆者の所属する研究室では近年、二鎖二親水基(ジェミニ)型のアミノ酸系両親媒性物質に関する研究も展開している。その中で、相挙動²⁾、ひも状ミセルの形成^{2, 3)}、 α ゲルの形成⁴⁾などに関する成果を報告してきた。また、アシルグルタミン酸にアルキルアミンを複合化させた擬似二鎖型の両親媒性物質はpH感受的にひも状ミセルやハイ

ドロゲルを形成することも見出している^{5, 6)}。本課題では、この擬似二鎖型両親媒性物質がAIMとして機能するための乳化条件を検討し、分散安定化機構の理解をめざした。なお、以下で紹介する研究成果は、文献7で報告した⁷⁾。

2. 実験

2.1. 試薬

アシルグルタミン酸にアルキルアミンを複合化させた擬似二鎖型の両親媒性物質(以下、 $C_n\text{Glu-C}_n\text{DMA}$ と略して表記する)は既報^{5, 6)}のスキームに従い合成した。代表的な化学構造を図1に示す。ここで、 n はアルキル鎖長を表し、本研究では10、12、14、16、ならびに18のものを調製した。水相には、Barnstead NANO Pure DIamond UVシステムにより精製した超純水を用いた。油相には、ヘキサデカン(和光純薬工業)を用いた。pH調整には、1 mol/Lの塩酸(和光純薬工業)と水酸化ナトリウム水溶液(和光純薬工業)を用いた。

2.2. 分析装置

示差走査熱量(DSC)測定には、Rigaku DSC8230 熱流束

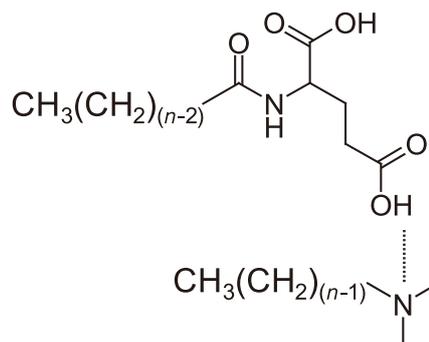


図1 $C_n\text{Glu-C}_n\text{DMA}$ の代表的な化学構造(文献7から許諾を得て転載)



Emulsification by Amino Acid-Type Active Interfacial Modifier

Kenichi Sakai

Department of Pure and Applied Chemistry,
Faculty of Science and Technology,
Tokyo University of Science

型示差走査熱量計を用いた。アルミニウム製サンプルパンを試料容器として、 α アルミナ粒子を標準物質としてそれぞれ用いた。昇温速度は1.0℃/min、走査温度範囲は10-60℃にそれぞれ設定した。

動的光散乱(DLS)測定には、Anton-Paar Litesizer™ 500粒子解析装置を用いた。エマルジョンサンプルの透明度が十分ではなく、測定に支障をきたした場合には、適宜、超純水で希釈後に測定した。

凍結割断レプリカ法による透過型電子顕微鏡(FF-TEM)観察には、Hitachi H-7650 透過型電子顕微鏡を用いた。凍結試料の作成にはLeica EM CPC急速凍結試料作製装置、凍結試料の割断とレプリカ膜作成のための蒸着操作にはHitachi FR-7000A フリーズレプリカ作成装置をそれぞれ使用した。電子顕微鏡観察は、印加電圧120kVにて行った。

3. 結果と考察

エマルジョンの調製方法を検討するにあたり、複合体水分散液の熱挙動を評価した。これらのサンプルはまず、複合体と水をガラスバイアル中で混合し、80℃に加温、その後、プローブ型超音波ホモジナイザー(Nissei US-300T, 20kHz)で3分間超音波撹拌することで得た。複合体水分散液(5wt%)のDSC測定結果を図2に示す。C10Glu-C10DMAは10-60℃の範囲でピークが検出されなかった一方、C12Glu-C12DMAは約13℃、C14Glu-C14DMAは約24℃、C16Glu-C16DMAは約39℃、そしてC18Glu-C18DMAは約53℃にそれぞれ吸熱ピークを観測した。小角広角X線散乱(SWAXS)測定の結果、これらの吸熱ピークはゲル-液晶相転移に対応していることが示された。

これらの結果をふまえ、以下の乳化プロセスを検討した。乳化法①:複合体0.5wt%を超純水中に加え、常温(約25℃)を維持しながら、プローブ型超音波ホモジナイザーにより撹拌した(3分間)。ここで得られた複合体の水分散液にヘキサデカンを20wt%加え、常温(約25℃)を維持しながら、プローブ型超音波ホモジナイザーにより再び撹拌した(3分間)。調製後の静置は常温(約25℃)で行った。

乳化法②:複合体0.5wt%を超純水中に加え、80℃に加温しながら、プローブ型超音波ホモジナイザーにより撹拌した(3分間)。ここで得られた複合体の水分散液にヘキサデカンを20wt%加え、80℃を維持しながら、プローブ型超音波ホモジナイザーにより再び撹拌した(3分間)。調製後の静置は常温(約25℃)で行った。

乳化法①と②で調製したエマルジョンサンプルの目視観察結果を図3に示す。乳化法①では、C10Glu-C10DMAとC12Glu-C12DMAの系で急速なクリーミングが進行した。また、C16Glu-C16DMAとC18Glu-C18DMAの系ではバイアル上部に油相が分離し、バイアル底部に複合体と思われる沈殿物を確認した。つまり、乳化法①では分散安定性に優れたエマルジョンを得ることはできなかった。一方、乳化法②では、C10Glu-C10DMAとC12Glu-C12DMAの系でクリーミングが進行した一方、C16Glu-C16DMAとC18Glu-C18DMAの系では分散安定性が著しく向上した。すなわち、C16Glu-C16DMAとC18Glu-C18DMAの系については、乳化時の撹拌温度がエマルジョンの分散安定性を決める主要な因子であることがわかった。これ以降の結果はすべて、乳化法②で調製したサンプルに関するものであ

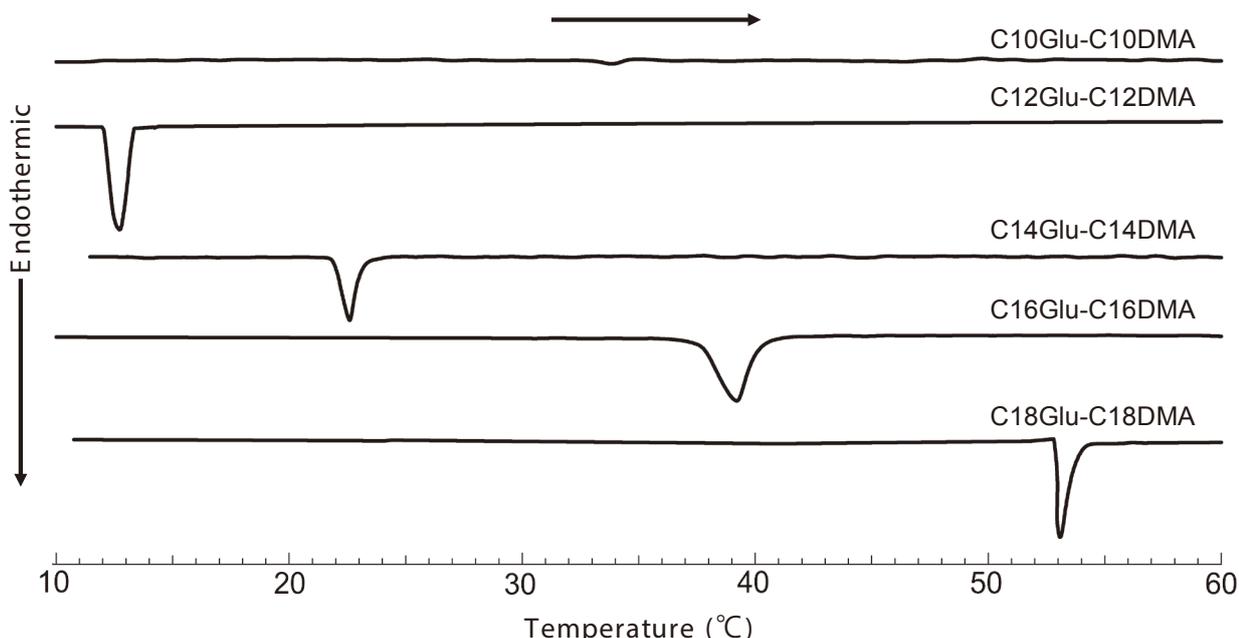


図2 CnGlu-CnDMA水分散液のDSC測定結果(文献7から許諾を得て転載)

る。

油滴径の経時変化を評価するために、DLS測定を行った。結果を図4に示す。調製直後の時点で、すでにC12Glu-C12DMAを用いたエマルションの方がC16Glu-C16DMAを用いたエマルションよりも粒子径が有意に大きくなった。この粒子径の差がクリーミング速度の違いを引き起こしていると考えられる。また、経時変化に注目すると、

C12Glu-C12DMAで安定化を図られたエマルションは1週間後に粒子径が増大したのに対し、C16Glu-C16DMAにより安定化されたエマルションはほぼ粒子径に変化は見られなかった。すなわち、C16Glu-C16DMAを用いたエマルションは油滴間の耐合一性に優れていることがわかった。

油滴の表面状態をFF-TEM観察により評価した。結果を図5に示す。C16Glu-C16DMAで安定化された油滴の表

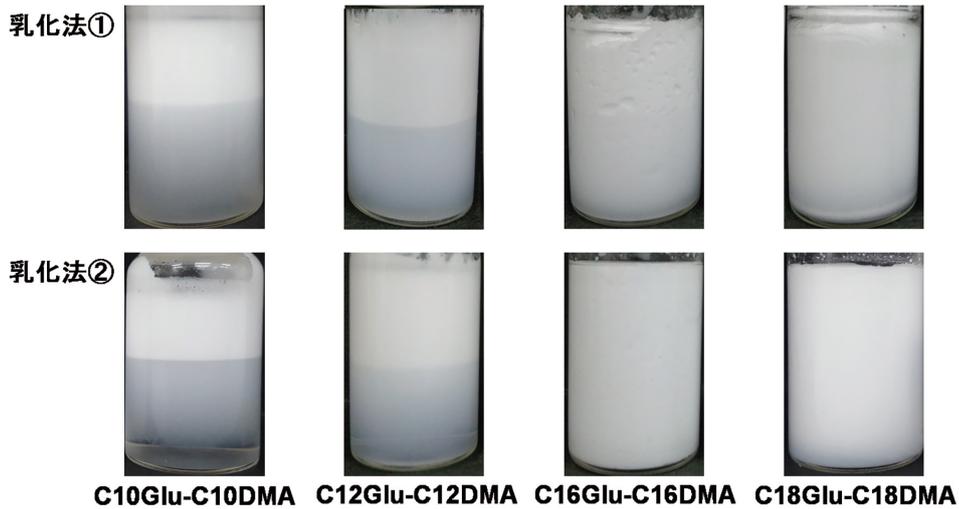


図3 調製されたエマルションの目視観察結果(文献7から許諾を得て転載)

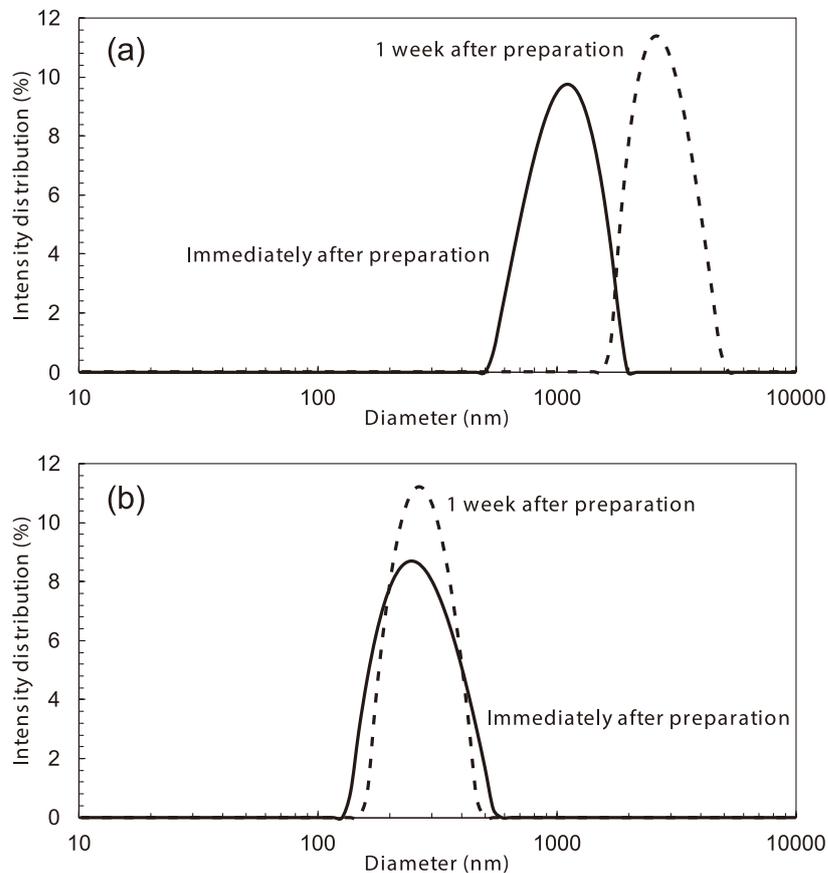


図4 乳化法②で調製したエマルションのDLS測定結果：(a) C12Glu-C12DMA, (b) C16Glu-C16DMA (文献7から許諾を得て転載)

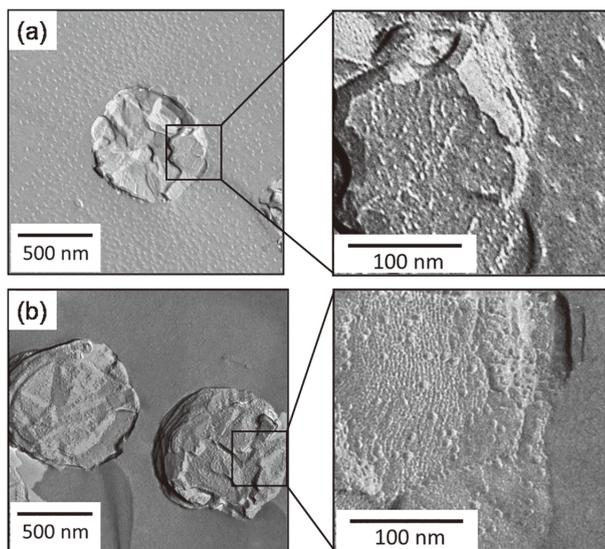


図5 油滴のFF-TEM画像：(a) C12Glu-C12DMA, (b) C16Glu-C16DMA (文献7から許諾を得て転載)

面には、大きなステップ状の構造を観察できた。また、それを高倍率で観察すると、油滴の表面にストライプ状の構造が観察された。以上の観察結果から、C16Glu-C16DMAは油滴の表面でラメラ状の構造体を形成し、耐合一性に寄与していると考えられる。一方、C12Glu-C12DMAで安定化された油滴の表面にも大きなステップ状の構造が観察されたが、ストライプ状の構造は確認できなかった。ゆえに、C12Glu-C12DMAは油/水界面に吸着膜を形成しているが、その秩序性はC16Glu-C16DMA系よりも劣っていることが示唆された。

以上の結果から、C16Glu-C16DMAによるエマルジョンの安定化機構を考察する。DSCの測定結果に基づくと、C16Glu-C16DMAのゲル液晶相転移温度は約39℃である。80℃での乳化攪拌時、C16Glu-C16DMAは水中でアルキル鎖が融解し、運動性を有する状態となっており、ここにヘキサデカンが加わることで油/水界面に吸着膜が形成される。その後、室温(約25℃)まで放冷されることで、複合体のアルキル鎖が凍結し、ゲル化する。その結果、強固な界面膜を形成し、この界面ゲル膜が油滴間の合一を

妨げる役割を担っていると考えられる。一方、C12Glu-C12DMA(ゲル液晶相転移温度は約13℃)によるエマルジョン系では、室温静置時でもアルキル鎖に運動性があり、界面膜が流動的であったため、優れた耐合一性を得られなかったと考えられる。同様な乳化安定化機構は、ホスホリルコリン類似基を有する両性のジェミニ型両親媒性物質についても報告されている⁸⁾。

液/液界面の性質を制御することで分散安定性に優れたエマルジョンを調製するという界面科学の一分野に絞って現状の研究例を俯瞰すると、

- ① コアとなる液滴の周囲をコロイド次元の固体微粒子で覆うことで、系の分散安定性を向上させるピッカリング乳化法⁹⁾
- ② リン脂質の二分子吸着膜で液滴を覆い、その分散安定化を図る三相乳化法¹⁰⁾
- ③ 液滴の周囲に液晶相を形成させることで分散安定性を向上させる液晶乳化法¹¹⁾

などが知られている。また、緒言で述べたように、筆者はAIMと称する物質概念を提唱している。AIMにより安定化を図られた場合も含めて、これら乳化系にはクリーミングや凝集による見かけ上の不安定化は起こっても、液滴間の合一は阻害されるという共通現象が存在する。本系においても油/水界面に第三相としてゲル膜が存在し、これが油滴間の耐合一性を高めているという点で、ここに列挙した乳化系との共通性が認められる。

最後に、C16Glu-C16DMAを用いたエマルジョンについて、pH感受性を検討した。乳化法②で得たエマルジョンサンプルにpH調整剤(塩酸もしくは水酸化ナトリウム水溶液)を加え、1分間手振り攪拌後に分散安定性を評価した。1時間経過後の目視観察結果を図6に示す。pH6.2とpH6.9の系は比較的良好な分散性を維持していた。一方、pH5.2の系では、バイアル上部に凝集体と油相の分離を確認した。また、pH11.3の系では、バイアル上部に油相が分離した。すなわち、pH5.2とpH11.3の系は短時間のうちに解乳化した。この解乳化がおきた理由について、それぞれ以下のように考察した。pH5.2のエマルジョンでは、

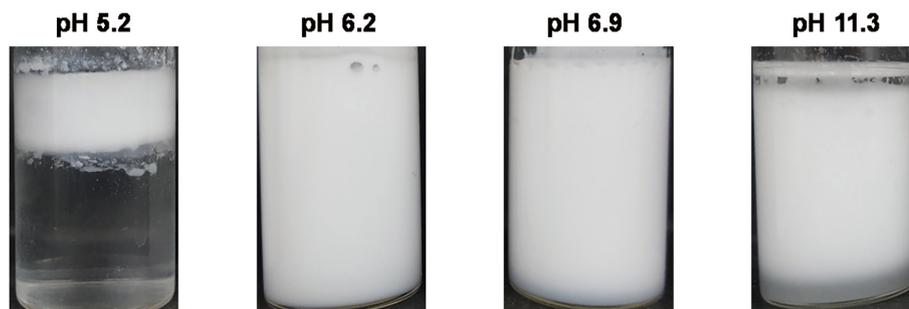


図6 pHを変化させたエマルジョンサンプルの目視観察結果(文献7から許諾を得て転載)

複合体を構成するC16Gluのカルボキシル基がプロトン化されたことで、油滴間の静電反発が減少し、凝集したと考えられる。更に、油/水界面に吸着していた複合体自身も凝集することで脱着し、油滴間の合一が進行したと考えられる。一方、pH 11.3のエマルションでは、C16Gluの二ナトリウム塩とC16DMAに複合体が解離する。C16Glu二ナトリウム塩は複合体に比べて親水性(水に対する溶解性)が高く、油/水界面から連続相(水相)へと移り、C16DMAは非連続相であるヘキサデカンに溶解する。その結果、界面膜の強度が低下し、合一が進行したと考えられる。以上のように、 $C_n\text{Glu}$ - $C_n\text{DMA}$ のpH感受性を利用することで、これにより安定化を図られたエマルションの分散性も制御できることを見出した。

4. 展 望

系に存在する物質が、その求められる機能を過不足なく最大限の効率で発揮している最も典型的かつスマートな複合体は我々生命体である。一例をあげると、生体膜はリン脂質をはじめとする両親媒性物質が自己集合したラメラ状二分子膜であり、外界と生命組織体とを区別する重要な界面科学的機能を担っている。この例に限った話ではなく、省資源、省エネルギーといった現代社会で強く求められている要求を、生命体は適切な機能性物質を効率的に利用することで解決している。AIMという物質概念に基づく研究は、生命体あるいは自然界がすでに確立しているこのような優れたシステムを一般生活環境の中に幅広く反映させることを目標としている。本研究では、 $C_n\text{Glu}$ - $C_n\text{DMA}$ を乳化剤の一例として取り上げてきたが、このコンセプトが新たな商品開発につながることを期待する。

謝 辞

本研究をご支援いただきました公益財団法人コスメトロジー研究振興財団に厚く御礼申し上げます。また、酒井秀

樹教授(東京理科大学工学部先端化学科)をはじめとする共同研究者の皆様には御礼申し上げます。

(引用文献)

- 1) Sakai, K., Ikeda, R., Sharma, S. C., Shrestha, R. G., Ohtani, N., Yoshioka, M., Sakai, H., Abe, M., Sakamoto, K., *Langmuir* **26**, 5349-5354, 2010.
- 2) Shrestha, R. G., Nomura, K., Yamamoto, M., Yamawaki, Y., Tamura, Y., Sakai, K., Sakamoto, K., Sakai, H., Abe, M., *Langmuir* **28**, 15472-15481, 2012.
- 3) Sakai, K., Nomura, K., Shrestha, R. G., Endo, T., Sakamoto, K., Sakai, H., Abe, M., *J. Oleo Sci.* **63**, 249-255, 2014.
- 4) Sakai, K., Ohno, K., Nomura, K., Endo, T., Sakamoto, K., Sakai, H., Abe, M., *Langmuir* **30**, 7654-7659, 2014.
- 5) Sakai, K., Nomura, K., Shrestha, R. G., Endo, T., Sakamoto, K., Sakai, H., Abe, M., *Langmuir* **28**, 17617-17622, 2012.
- 6) Sakai, K., Sawa, M., Nomura, K., Endo, T., Tsuchiya, K., Sakamoto, K., Abe, M., Sakai, H., *Chem. Lett.* **45**, 655-657, 2016.
- 7) Tojinbara, T., Akamatsu, M., Sakai, K., Sakai, H., *Langmuir* **34**, 268-272, 2018.
- 8) Sakai, K., Fukushima, A., Misono, T., Endo, T., Sakamoto, K., Sakai, H., Abe, M., *Chem. Lett.* **44**, 247-249, 2015.
- 9) Pickering, S. U., *J. Chem. Soc. Trans.* **91**, 2001-2021, 1907.
- 10) Tajima, K., Imai, Y., Tsutsui, T., *J. Oleo. Sci.* **51**, 285-296, 2002.
- 11) Suzuki, T., Takei, H., Yamazaki, S., *J. Colloid Interface Sci.* **129**, 491-500, 1989.