

信州大学審査学位論文

乳化剤フリー水中油滴型（O/W）エマルションの 実用化検討

2022 年3月

信州大学大学院総合医理工学研究科

総合理工学専攻

物質創成科学分野

分子機能材料工学ユニット

19HS304C

武井 和音

目次

第 1 章 緒論

| | | |
|-------|--------------|----|
| 1.1 | エマルション | 5 |
| 1.2 | エマルションの解乳化過程 | 7 |
| 1.2.1 | クリーミング | |
| 1.2.2 | 凝集 | |
| 1.2.3 | 合一 | |
| 1.2.4 | オストワルドライプニング | |
| 1.3 | 超音波 | 20 |
| 1.4 | 乳化剤フリーエマルション | 22 |
| 1.5 | 本研究の目的 | 24 |

第 2 章 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす乳化機器の影響

| | | |
|-------|---|----|
| 2.1 | はじめに | 33 |
| 2.2 | 実験 | 34 |
| 2.2.1 | 乳化装置 | |
| 2.2.2 | EF-O/W エマルションの調製 | |
| 2.2.3 | EF-O/W エマルションの乳化過程の評価 | |
| 2.2.4 | EF-O/W エマルションの分散安定性の評価 | |
| 2.2.5 | HPBath-US を用いた連続乳化法 | |
| 2.3 | 結果および考察 | 40 |
| 2.3.1 | EF-O/W エマルションの乳化過程に及ぼす乳化機器の影響 | |
| 2.3.2 | EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす乳化機器の影響 | |
| 2.3.3 | HPBath-US を用いた EF-O/W エマルションのバッチ乳化法と 連続乳化法との比較 | |

| | | |
|---------|--------------------------------------|----|
| 2.4 | まとめ | 53 |
| | | |
| 第3章 | 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の影響 | |
| 3.1 | はじめに | 57 |
| 3.2 | 実験 | 58 |
| 3.2.1 | EF-O/W エマルションの調製 | |
| 3.2.2 | EF-O/W エマルションの分散安定性の評価 | |
| 3.2.3 | 油剤の物性評価 | |
| 3.2.4 | エマルション物性の評価 | |
| 3.3 | 結果および考察 | 63 |
| 3.3.1 | EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の種類の 影響 | |
| 3.3.2 | EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の物性値の 影響 | |
| 3.3.2.1 | 油剤の物性値と分散安定性の関係 | |
| 3.3.2.2 | 油滴の粒子径と分散安定性の関係 | |
| 3.3.2.3 | 油剤の密度と分散安定性の関係 | |
| 3.3.2.4 | 油剤と水界面の界面張力と分散安定性の関係 | |
| 3.3.2.5 | オストワルドライプニングと分散安定性の関係 | |
| 3.3.2.6 | 油滴界面の静電的反発と分散安定性の関係 | |
| 3.4 | まとめ | 80 |
| | | |
| 第4章 | 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす温度の影響 | |
| 4.1 | はじめに | 84 |
| 4.2 | 実験 | 85 |
| 4.2.1 | EF-TO/W エマルションの調製 | |

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.2.2 | EF-TO/W エマルションの分散安定性の評価 | |
| 4.2.3 | トリオレインの物性評価 | |
| 4.2.4 | エマルション物性の評価 | |
| 4.3 | 結果および考察 | 86 |
| 4.3.1 | EF-TO/W エマルションの分散安定性に及ぼす温度の影響 | |
| 4.3.2 | EF-TO/W エマルションの分散安定性と EF-TO/W エマルション およびトリオレインの物性値と温度との関係 | |
| 4.3.2.1 | 油滴の粒子径と温度の関係 | |
| 4.3.2.2 | トリオレインと水の密度差と温度の関係 | |
| 4.3.2.3 | トリオレイン油滴界面の静電的反発と温度の関係 | |
| 4.3.2.4 | トリオレインと水界面の界面張力と温度の関係 | |
| 4.3.2.5 | オストワルドライプニングと温度の関係 | |
| 4.3.3 | 温度が変化することによるトリオレインと水の界面張力の 低下要因 | |
| 4.4 | まとめ | 106 |
| 第 5 章 | 結論 | 110 |
| | 謝辞 | 115 |

第1章 緒論

1.1 エマルション

エマルション (emulsion) は、「互いに交じり合わない液体の一方を、他方に分散した系」と定義される[1]. エマルションを調製することを乳化 (emulsification) と呼ぶ. 分散している粒子 (分散質) と分散させている媒体 (分散媒, 連続相) の種類によりエマルションは大きく二つに分類され, 油が水に分散したエマルションは水中油型 (oil-in-water, O/W) エマルション, 水が油に分散したエマルションは油中水型 (water-in-oil) エマルションと呼ばれる. 牛乳やマヨネーズ, ドレッシングなどは代表的な O/W エマルション, マーガリンやバタークリームなどは W/O エマルションである. そのほか O/W エマルションが液滴となり油相に分散した油中・水滴中・油滴型 (oil-in-water-in-oil, O/W/O) エマルションやその逆相の水中・油滴中・水滴型 (water-in-oil-in-water, W/O/W) エマルションはダブルエマルションと呼ばれ, 医薬品や食品でも利用されている[2].

エマルションは生理学的や工業的にも非常に重要な現象, 技術である. エネルギー産生栄養素の一つである脂質はそのままでは消化吸収ができず, 十二指腸から分泌される胆汁によって乳化されたのちに分解, 吸収される. 脂質はまた, エネルギーを体内に蓄積することができる重要な栄養素であり, 摂食時に美味しさを感じることで能動的に摂取できるようにプログラムされている. 美味しさは食品の付加価値の一つであり, 食品にエマルション技術を用いることで, 美味しさを増強し, 付加価値を高めることにつながる.

エマルションは水と油のような互いに交じり合わない 2 つの液体が混在しているため, エマルション中には水と油によって構成された界面が多く存在する. バルク状態の分子は周囲の分子から全方位的に分子間力がはたらくためにつり合いが取れている. 一方で, 界面の分子は側面と内側にしか分子の相互作用がはたらかずに不飽和状態となり, 系の自由エネルギーが増加する. このエネルギーは界面自由エネルギー (interfacial free energy) と呼ばれ[3-5], 界面張力 (surface tension) γ と界面積 S の積として下記のように表される.

$$G = \gamma S \quad (\text{Eq. 1-1})$$

液滴の粒子半径が小さくなるほど界面積は増大するため、界面自由エネルギーも増大する。エマルション状態の界面自由エネルギーを G_{eml} 、水と油の 2 相に分離した状態の界面自由エネルギーを G_{spr} とすると、エマルション状態の方が、界面積が大きく界面自由エネルギーが高くなるため、 $G_{\text{eml}} > G_{\text{spr}}$ となる。水と油の 2 相分離状態からエマルション状態へ乳化させる過程のギブスの自由エネルギー変化 ΔG をみると

$$\Delta G = G_{\text{eml}} - G_{\text{spr}} > 0 \quad (\text{Eq. 1-2})$$

となり、正の値を示す。これは、水と油の 2 相状態からエマルション状態へ乳化させるとエネルギーが増大することを表しており、粒子半径が小さくなり界面積が増加するエマルション状態が熱力学的に不安定であることを示している。

エマルションの熱力学的な不安定性を克服するために、水と油を混合させてエマルションを得る方法、その分散安定性を維持する方法は古くから検討されてきた。1900 年に開催された第 5 回パリ万博では、初めてホモジナイズされた牛乳が振舞われたと言われている[2]。生乳は静置すると乳脂肪が上昇して分離するが、生乳に機械攪拌を加え、乳脂肪を微細な油滴にすることで分離を抑制し、分散安定化を実現した。このように、物理的な力（せん断力, shear）を加えて液滴を微細化する乳化方法を物理的乳化と呼ぶ。一方で、1700 年代にマヨルカ島マオン地域で生まれたとされるマヨネーズは、卵を使用することで植物油を食酢中に油滴として分散させた O/W エマルションである[6]。卵に含まれる乳化剤（emulsifier）の性能を持つリポタンパク質が植物油と食酢との界面に作用し、界面張力 γ を低下させることでエマルションの分散安定性が向上する。このように、界面活性剤などの乳化剤を使用して液滴を微細化する乳化法を化学的乳化法と呼ぶ。物理的乳化によって調製されたエマルションは、界面積 S が増加することで熱力学的に不安定であるため、時

間の経過と共にエネルギーを加える前の状態に戻る。他方、化学的乳化は界面活性剤によって界面張力 γ を低く保つことが可能であり、界面積 S が増加しても界面自由エネルギー G が低く維持され、結果的に物理的乳化単独で調製したエマルションよりも長期的に微細液滴を分散させ、エマルション状態を維持することができる。調製時における消費エネルギー量や調製したエマルションの分散安定性の高さからも、今日は化学的乳化法、あるいは化学的乳化法と物理的乳化法の組み合わせが主流となっており、エマルションの分散安定化は界面と乳化剤の理解の歴史と共に発展してきたと言っても過言ではない[7]。現在までに様々な化学的乳化法[8-13]が開発されてきた一方で、近年では、乳化剤ではない親水性ナノ粒子を使用してエマルションを安定化させる3相乳化法[14]という新たな乳化法が開発されるなど、応用面も含めて界面に関する基礎研究の重要さはますます強まっている。

1.2 エマルションの解乳化過程

先述の通り、エマルションは分散媒中に液滴として分散することで多くの界面が生じることにより熱力学的に不安定となるため、長期間静置しておくと、熱力学的に安定な界面積を最も小さい油と水の二層に分離した状態となる。このようにエマルションが崩壊する現象を解乳化と言う。食品や化粧品などのエマルション製品は解乳化すると本来の機能が得られないため、製品が解乳化するまでの時間を考慮して使用期限や賞味期限が設定されることもある[15]。

エマルションの解乳化は単一の要因ではなく、クリーミング (creaming)、凝集・合一 (flocculation・coalescence)、オストワルドワイプニング (Ostwald ripening) が組み合わさって生じる (Figure. 1-1)[7]。以下、各々の解乳化過程について解説する。

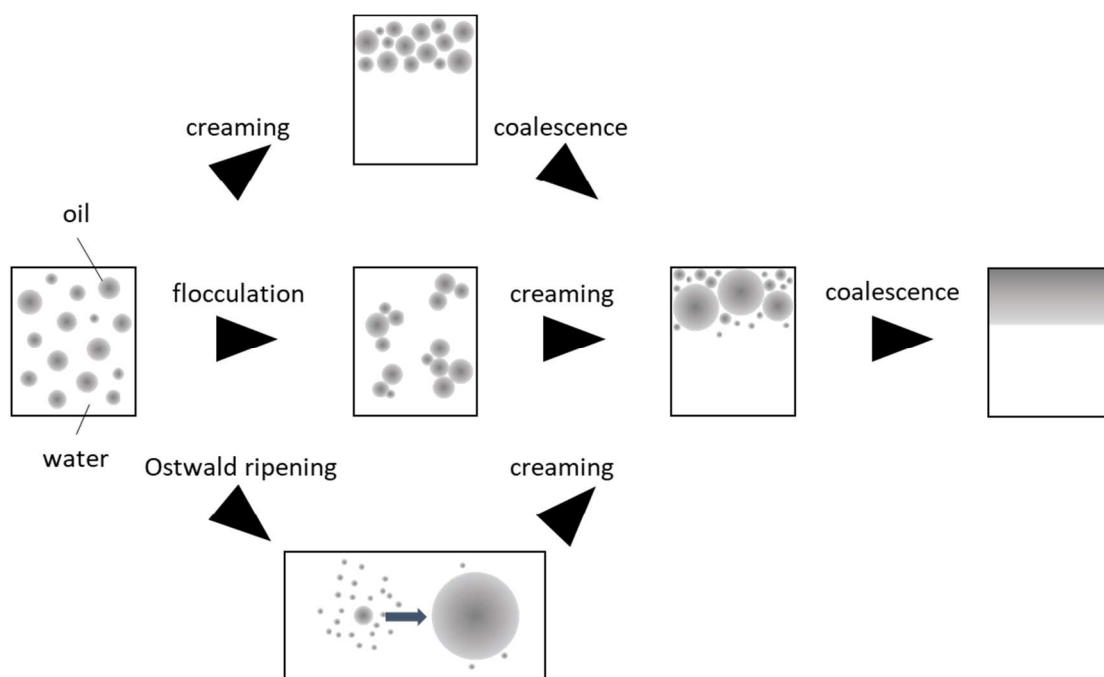


Figure 1-1. Schematic illustration on demulsification processes of O/W emulsion.

1.2.1 クリーミング

エマルションの粒子（液滴）は，時間の経過とともに分散媒との密度差によって浮上，または沈降して解乳化（崩壊）する（Figure 1-2）．この解乳化過程をクリーミングと呼び，エマルション中の液滴の浮上・沈降速度はストークスの式（Stokes' law）（Eq. 1-3）から見積もることができる[16]．

$$u = \frac{2r^2(\rho_0 - \rho)g}{9\eta} \quad (\text{Eq. 1-3})$$

ここで， u (m s^{-1}) はエマルション中の浮上・沈降速度， r (m) は液滴の半径， g (m s^{-2}) は重力加速度， ρ_0 (kg m^{-3}) は分散媒（例えば，水）の密度， ρ (kg m^{-3}) は分散質（例えば，油）の密度， η ($\text{Pa s} = \text{m}^{-1} \text{kg s}^{-1}$) は分散媒（水）の粘度を示す．一般に，エマルションに使用される分散質（例えば，油）と分散媒（例えば，水）との密度差 ($\rho_0 - \rho$) が小さくなり，液滴の半径 r が小さくなり，分散媒の粘度 η が大きくなれば，液滴の浮上・沈降速度 u が遅くなり，クリーミング速度は遅くなる．クリーミング速度が遅いことは，エマルションの解乳化が抑制され，エマルション状態が維持される（エマルションの分散安定性が高い）ことを意味している．

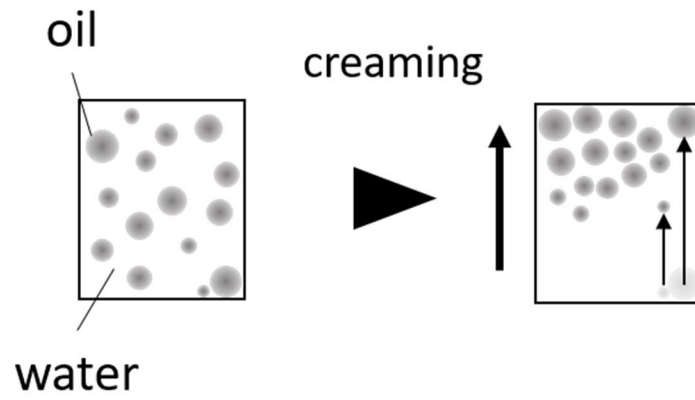


Figure 1-2. Schematic illustration on creaming of O/W emulsion.

1.2.2 凝集

凝集とは、粒子同士がお互いに作用する引力によって多数集まり、密な集合状態を形成する現象である。コロイド中の粒子の凝集は粒子間に生じる van der Waals 力による引力と、粒子近傍に存在する電気二重層 (Figure 1-3a) に起因する静電的反発による斥力のバランスによって決まる (Figure 1-3b, c)。このようなコロイド中の粒子間に作用する引力と斥力のバランスについては、DLVO 理論 (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek theory) [17-21] により理解されている。半径 r 、表面間距離 H である等価な 2 つの粒子間に作用する van der Waals 力による引力ポテンシャルエネルギー V_A と電気二重層による静電的反発による斥力ポテンシャルエネルギー V_R の和が全相互作用ポテンシャルエネルギー $V_{(H)}$ として表される。

$$V_{(H)} = V_A + V_R \quad (\text{Eq. 1-4})$$

van der Waals 力によるポテンシャルエネルギー V_A は、 $H \ll r$ である場合、近似的に

$$V_A = \frac{rA}{12H} \quad (\text{Eq. 1-5})$$

と表される[22]。 A はハマカー定数 (Hamaker constant) と呼ばれ、粒子間に作用する相互作用を特徴づける値で粒子の物質種によって異なる。一方、静電的反発によるポテンシャルエネルギー V_R は

$$V_R = \frac{\varepsilon r \zeta^2}{2} e^{-\kappa H} \quad (\text{Eq. 1-6})$$

$$\kappa = \sqrt{\frac{8\pi J F^2}{1000 \varepsilon R T}} \quad (\text{Eq. 1-7})$$

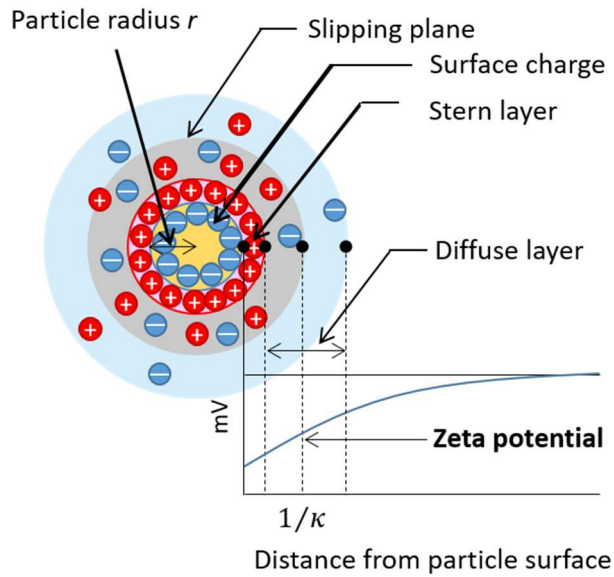
となる。 $\varepsilon (\text{F m}^{-1})$ は分散媒 (例えば、水) の誘電率、 $\zeta (\text{V})$ は粒子のゼータ電位、 $F (\text{C mol}^{-1})$ は Faraday 定数、 $J (\text{mol m}^{-3})$ はイオン強度、 $R (\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1})$ は気体定数、 $T (\text{K})$ は絶対温度

である． $\kappa(\text{m}^{-1})$ は Debye-Huckel パラメータ (Eq. 1-7)，その逆数 κ^{-1} は Debye の遮蔽長と呼ばれ，拡散電気二重層の厚さを表す (Figure 1-3a) [23, 24]．Eq. 1-4 は Eq. 1-5, Eq. 1-6 より次のようにまとめられる．

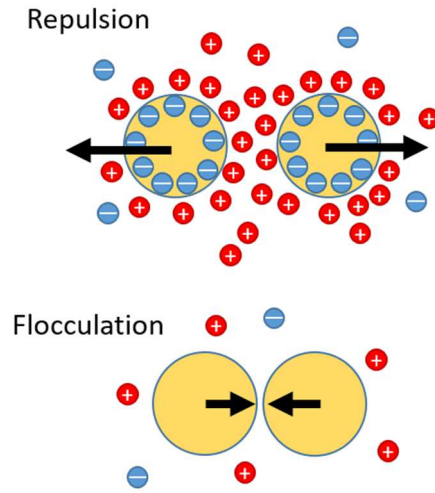
$$V_{(H)} = \frac{\varepsilon r \zeta^2}{2} e^{-\kappa H} - \frac{rA}{12H} \quad (\text{Eq. 1-8})$$

$V_{(H)}$ の最大値 $V_{(H)\text{max}}$ がポテンシャルエネルギーの障壁であるので， $V_{(H)\text{max}}$ が大きいほどエマルション中の液滴の凝集が起こりにくくなる (Figure 1-3c)．一方で，粒子のゼータ電位および Debye の遮蔽長（拡散電気二重層の厚さ）が小さいと Van der Waals 力によるポテンシャルエネルギー V_A が優位となり，粒子は凝集する (Figure 1-3b)．粒子の凝集を抑制するためには，粒子に電荷を与えてゼータ電位および Debye の遮蔽長を増大させることが重要になる．例えば，エマルションを調製する際にイオン性界面活性剤を添加すると，エマルション粒子表面の電荷が高まるため，粒子同士の凝集が抑えられ，解乳化を抑制することができる．

(a)



(b)



(c)

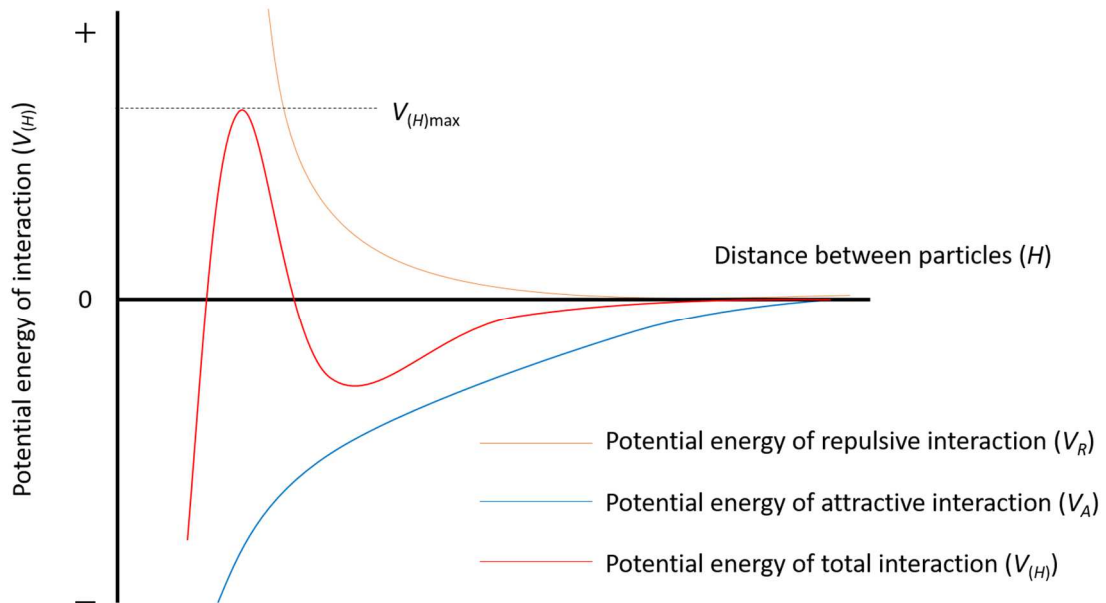


Figure 1-3. (a) Schematic illustration on electrical double layer around a colloid particle and (b) repulsion of charged colloidal particles and flocculation of non-charged colloidal particles. (c) Schematic representation of (orange line) potential energy of repulsive interaction, (blue line) attractive interaction and (red line) total interaction between charged colloidal particles.

1.2.3 合一

合一とは、乳化したエマルション粒子同士が凝集した際に、界面膜が崩壊して液滴が一つに融合し、新たに大きな一つの粒子となる現象である。凝集の場合は、エマルション粒子自体は破壊されていないため、振とう等の衝撃を与えて再び攪拌することで再分散することができる一方、一度合一がおこると元のエマルション状態に戻ることはない[25]。合一が進行するとエマルションは最終的に水と油に分離する。界面活性剤で覆われた液滴同士（例えば、油滴）が接近し凝集すると、凝集面は曲面から平面へ変形し、液滴と分散媒（例えば、水）との間に薄い界面膜が生じる（Figure 1-4a）。薄膜には界面活性剤が配向しているが、界面膜のゆらぎや界面活性剤自身の熱運動、重力などの外力が加わると、界面膜は膜構造を維持できないほど薄くなり、界面膜に穴が開くことで液滴同士が合一し融合する（Figure 1-4b）[26]。融合した液滴は半径が大きくなり、クリーミングが促進されることで解乳化が進行する。液滴の合一を防ぐためには、液滴同士が接触する頻度を低減させ、界面膜の強度を高める必要がある。例えば、分散媒の粘度を高くすることによるエマルション粒子同士の衝突頻度の低減、1.2.2 で述べた凝集の抑制、界面活性剤などの使用により界面膜の粘弾性、膜厚を大きくすることが有効である。

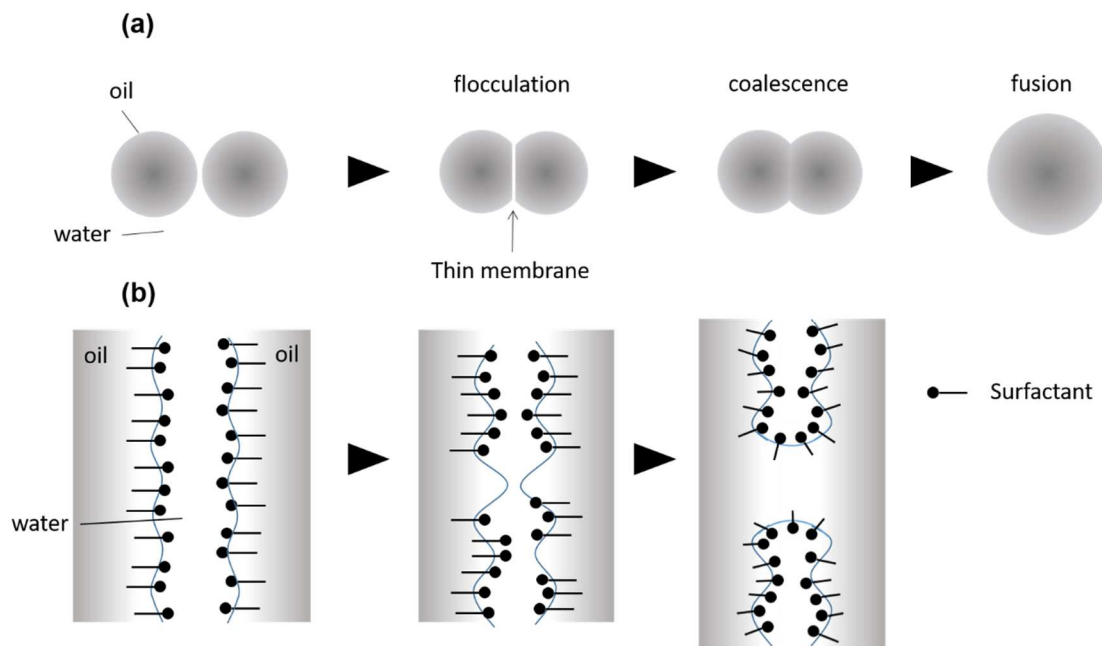


Figure 1-4. (a) Schematic illustration on coalescence of oil droplets in O/W emulsion and (b) change of interface between closing and contacting oil droplets.

1.2.4 オストワルドライプニング

オストワルドライプニング (Ostwald ripening) は時間が経過するとともに小さな粒子は消失し、大きな粒子がより大きく成長する現象である (Figure 1-5). 半径 r_A , r_B の液滴 A, B を考えたとき, $r_A < r_B$ とすると液滴 A, B の化学ポテンシャルの差 $\Delta\mu = \mu_A - \mu_B$ は,

$$\Delta\mu = \mu_A - \mu_B = RT \ln \left(\frac{p_A}{p_B} \right) \quad (\text{Eq. 1-9})$$

となる. p_A , p_B はそれぞれ液滴 A, B の蒸気圧を示す. 液滴 A と B は大きさが異なるため, $\mu_A \neq \mu_B$, すなわち $\Delta\mu \neq 0$, $p_A \neq p_B$ となる. 一方, 液滴の半径と蒸気圧の関係はケルビン式 (Kelvin's equation) (Eq. 1-10) によって与えられる.

$$p_r = p_\infty \exp \left(\frac{2\mathcal{W}_m}{rRT} \right) \quad (\text{Eq. 1-10})$$

p_r は半径 r の油滴の蒸気圧, p_∞ は平滑平面における平衡時の蒸気圧, \mathcal{W}_m は分散媒のモル体積である. Eq. 1-9, Eq. 1-10 から, 液滴半径が小さいほど液滴のポテンシャルエネルギーが高く, 蒸気圧は高い. また, Eq. 1-10 の蒸気圧を溶解度に置き換えるとオストワルド-フレインドリッヒ式 (Ostwald-Freundlich equation) (Eq-1-11) が得られる.

$$C_r = C_\infty \exp \left(\frac{2\mathcal{W}_m}{rRT} \right) \quad (\text{Eq. 1-11})$$

C_r は半径 r の油滴の分散媒への溶解度, C_∞ は平衡時の溶解度を示す. 液滴の半径 r が小さいほど液滴の溶解度が高くなることがわかる. このようにオストワルドライプニングは, 小さな液滴の方が大きな液滴よりもポテンシャルエネルギーが高いために, 小さな液滴から分散媒が溶解, 拡散し, 大きな液滴へ吸収される. また, オストワルドライプニングの進

行速度は LSW 理論（Lifshitz-Slyozov-Wagner theory）（Eq. 1-12）から説明することができる [27, 28].

$$\omega_{\text{ostwald}} = \frac{dr^3}{dt} = \frac{8DC_{\infty}\mathcal{N}_m^2}{9RT} \quad (\text{Eq. 1-12})$$

ω_{ostwald} ($= dr^3/dt$) ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) は油滴の体積の増大速度, t (s) は時間, D ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) は水中における油分子の拡散定数を示す. Eq. 1-12からわかるように, 油の水に対する溶解度が大きくなるとオストワルドライプニングの進行速度が速くなる. また, 油の D , C_{∞} , γ , V_m , R , T を Eq. 1-12 に代入することにより, O/W エマルション中の油滴のオストワルドライプニングの進行速度を理論的に見積もることができる[29].

物質の溶解度を決定することが難しい場合, 物質の物性値を用いて溶解性を簡易的に判断するヒルデブランド溶解度パラメータ（Hildebrand Solubility Parameter, SP value, δ ）が使用されることがある. ヒルデブランド溶解度パラメータは Hildebrand の正則溶液理論[30] から定義された値で, 溶液中の分子間相互作用の指標として広く知られており, 下記のよう

$$\delta = \left(\frac{\Delta H - RT}{V_m} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 1-13})$$

ここで ΔH は蒸発エンタルピーを示す. ヒルデブランド溶解度パラメータ δ はこのほかにも様々な求め方が導かれており, 界面張力 γ によって見積もられる方法も報告されている[31, 32].

$$\delta = 7.653 \left(\frac{\gamma}{V_m^{\frac{1}{3}}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 1-14})$$

$$\delta_{\text{OH}} = 12.13 \left(\frac{\gamma}{V_m^{0.045}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 1-15})$$

Eq. 1-14は官能基にヒドロキシ基とカルボキシ基を含まない溶質に、Eq. 1-15はヒドロキシ基とカルボキシ基を含む溶質に適応される。界面張力を用いて算出した δ 値を溶解度の指標として用いることで、溶解度の決定が難しい物質のオストワルドライプニング進行速度を簡易的に見積もることが期待される。オストワルドライプニングによる解乳化は分散質の溶解度が高いほど促進され、界面活性剤の存在は物質の溶解度に影響しないことから、溶解度の低い、すなわち、分散質と分散媒の δ 値の差が小さい分散質を使用したエマルションは、解乳化が抑制され分散安定性が高くなると考えられる。

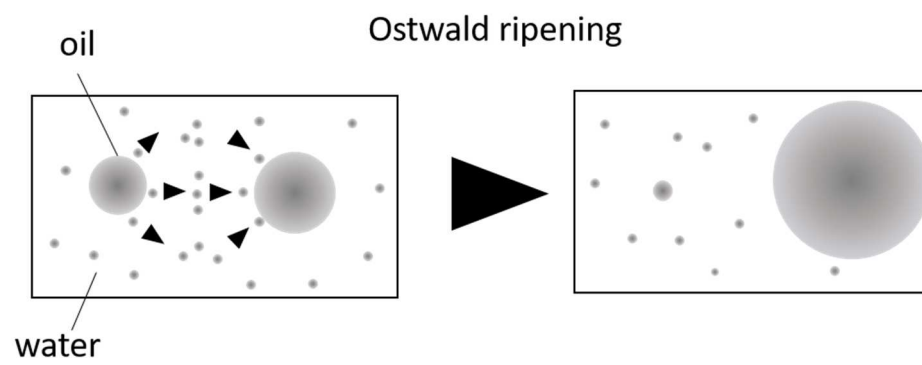


Figure 1-5. Schematic illustration on Ostwald ripening of oil droplets in O/W emulsion.

1.3 超音波

超音波 (ultrasonic) とは周波数が 20 kHz 以上の音波を指し、様々な用途で利用されている[33]. 超音波による振動は物体に伝播するため、その伝播を読み取ることにより物体の空間位置情報を得ることができる. 自然界ではイルカや蝙蝠が獲物の探知や仲間間のコミュニケーションに利用するエコーロケーションが有名であり、産業界でもその効果を利用したソナーや魚群探知機, 医療用の検査用ソナーなどが活用されている[34]. 超音波の出力を上げると、その振動は物体を動かす動力源として利用することが可能となり、超音波洗浄機や超音波カッター、超音波噴霧器などに応用されている[34]. 液体中で超音波を照射すると、その振動による圧力変化によって気泡が生じるキャビテーション (cavitation) が発生する[35-45]. キャビテーションによって生じた気泡が液体の圧力により潰れると強い圧力波が生じ、その影響でジェット (jet) が発生し付近の物体に強い衝撃を与える. キャビテーションによるジェットは水道などの配管や船のスクリューを破損してしまうエロージョン (erosion) を引き起こす一方で、圧力波によって生じるラジカルを化学反応に応用するソノケミストリー (sonochemistry) と呼ばれる分野としても発展してきた[46-49].

超音波によるキャビテーションの効果を利用する例として、超音波による乳化が挙げられる[50]. いわゆる物理的乳化法の一つである. O/W エマルションの場合、まず超音波の振動 (レイリーテイラー不安定性) により油が水相に引き込まれ油滴になる第一段階、次にキャビテーションのジェットにより油滴が微細化される第二段階に分けられる (Figure 1-6) [35-43]. 近年、Stepišnik らはハイスピードカメラを用いて超音波による乳化を詳細に報告している[44]. 超音波により調製されたエマルションは非常に微細で分散安定性が高く、生理活性物質を封入したリポソーム (liposome) の調製やドラッグデリバリーシステム (drug delivery system, DDS) への応用など、様々な分野からその可能性が注目されている[7, 51-53].

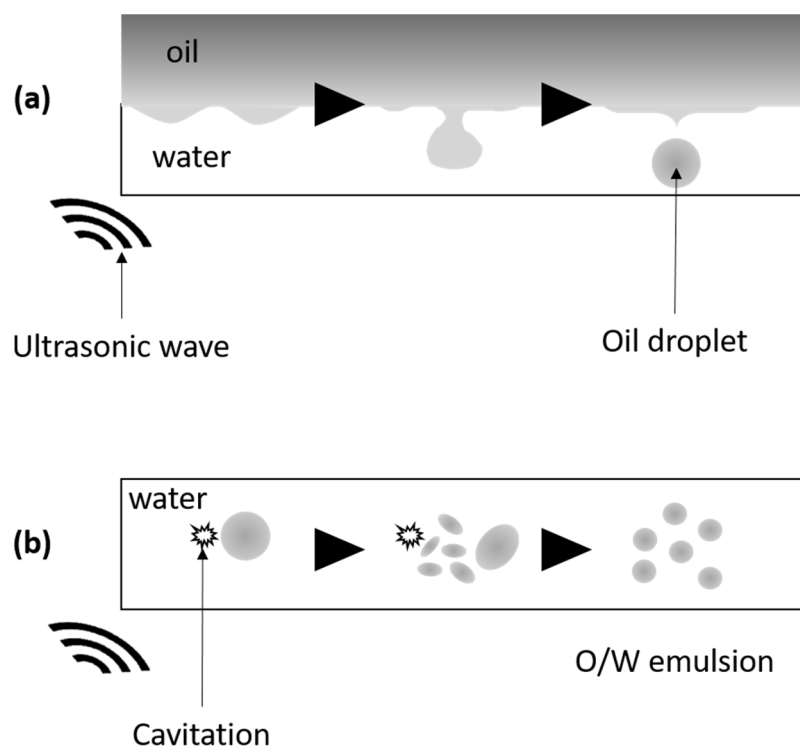


Figure 1-6. Schematic illustration on (a) generation of oil droplets at the interface between oil and water by capillary wave and (b) miniaturization of oil droplets by shock wave generated from collapse of cavity.

1.4 乳化剤フリーエマルジョン

エマルジョンは乳化剤を使用することで長期間の分散安定性を維持できる。一方で、エマルジョン製品は基本的に界面活性剤などの乳化剤を使用して分散安定化を実現することから、技術的なブレイクスルーが少なく革新的な製品が生まれにくい。そこで、水と油を混合することで生まれるエマルジョンの付加価値を更に高めるために、乳化剤を使用しない（乳化剤フリー、Emulsifier Free-, EF-）エマルジョンの開発に注目が集まっている。乳化剤フリーエマルジョンは界面活性剤や安定剤などの乳化剤、添加剤などを一切使用しないエマルジョンで、生体や環境負荷の低減、原材料の削減、製造時のコスト削減などが期待される。また、近年、SDGs やグリーンプロダクト（green product）やグリーンマニュファクチャリング（green manufacturing）、エシカル（ethical）消費のような観点が世界的に重要視されており、消費者は製造者に対して、環境負荷の軽減や持続可能な資源調達、安全性に配慮した製品を開発するよう要望を強めてきている[29, 54-75]。例えば、シャンプーや化粧品などの化成品は、海洋汚染の軽減の観点から界面活性剤などの生分解性分解の低い合成化合物が問題視されており、それらの使用量を減らした、あるいは含まない製品の必要性が謳われている[76]。さらに、ここ数年、食品製造業界では世界的に‘クリーンラベル（clean labels）’という考え方が急速に広まった[77-79]。これは、製品の原材料表示をよりシンプルできれいに（クリーンに）することで、余分な原材料を使用しない、人や動物へ配慮された原材料を使用して生体や環境に対する安全性に配慮する、という考え方である。ここでいう「動物へ配慮された」とは、食品添加物などの安全性試験の中で使用される動物実験において、使用される動物種に対して与える痛みやストレスとのような苦痛を最小限に抑える、いわゆる動物福祉のことを指す。消費者がよりナチュラルで、安全で、持続可能な素材を使用した製品を要求している傾向を反映している。乳化剤フリーエマルジョンの開発はこれらの考え方にも合致しており、乳化剤フリーエマルジョン製品の実現が望まれている。

しかしながら、乳化剤フリーエマルジョンは界面活性剤などの乳化剤を使用しないため、熱力学的に不安定（Eq. 1-1, Eq. 1-2 参照）であり、短時間で解乳化する。そのため、乳化

剤フリーエマルション製品は、製品の機能・特徴の維持が期待される使用期限や賞味期限を十分確保することができず、技術応用や商品化が非常に難しいことが課題となっている。

他方、超音波を用いて調製した乳化剤フリーエマルションは分散安定化が高いことが確認された[29, 50, 56-61, 63-67]。Sakai らは、炭化水素を分散質として用いた EF-O/W エマルションが、炭化水素の鎖長が長いほど分散安定性が高くなることを報告している[29, 64, 80]。また、炭化水素を分散質とした EF-O/W エマルションの油剤に別の異なる炭化水素を混合することにより EF-O/W エマルションが長期間分散できることや、異種油剤の混合比を最適化することの入り 10 ヶ月以上の長期分散安定性が可能である事例が報告されている[57, 64, 81]。加えて、オレイン酸 (Oleic acid, OA) にトリアシルグリセリド (Triacylglyceride, TG) の一種でオレイン酸のトリエステルであるトリオレイン (Trioleine, TO) を少量添加すると、EF-OA/W エマルションの分散安定性が向上することが報告されている[82]。これらの報告は、界面活性剤などの乳化剤を使用しない EF-O/W エマルションの長期分散安定化が可能であることを示唆している。

1.5 本研究の目的

本研究では、EF-O/W エマルションを実用化するために必要な基礎的知見を得ることを目的として、第2章から第4章において下記3点について検討した。

(1) 過去の研究において、EF-O/W エマルションの調製には超音波照射機が用いられてきた。第2章では、EF-O/W エマルションの製造において有用かつ実用的な乳化方法を見出すため、機構の異なる乳化装置を用いて、その乳化過程や調製した EF-O/W エマルションの分散安定性を比較検討した。また、EF-O/W エマルション製品の実用化に必要な EF-O/W エマルションの量産化方法を検討するため、EF-O/W エマルションの調製に有用な乳化機をもとに連続式乳化機を試作し、EF-O/W エマルションの調製能力、分散安定性の確認、パラメータの取得を行うことで、バッチ式と連続式乳化機を用いた EF-O/W エマルションの乳化調製能力、分散安定性について比較検証した[83]。

(2) 産業界では、炭化水素やトリグリセリドなど、様々な油剤を分散質として用いた O/W エマルション製品が製造・利用されている。例えば食品業界では、O/W エマルションの分散質として植物の種子などから抽出された植物油がエマルション製品に広く使用されている。そこで、第3章では EF-O/W エマルション製品の実用化モデルとして植物油を分散質として調製した EF-O/W エマルションの分散安定性を評価した。炭化水素、高級脂肪酸を分散質とした EF-O/W エマルションの分散安定性および油剤の物性値と比較することにより、EF-O/W エマルションの分散安定化機構について検討した[84]。

(3) EF-O/W エマルションの実用化を行う際に、製造や保管時に品質管理へ大きく影響する温度パラメータの検討が必要である。第4章では、第3章で得られた EF-O/W エマルションの分散安定性と油剤の種類に関する知見を踏まえ、EF-O/W エマルションの調製、分散安定性に与える温度の影響について検討した。食品に含まれる油脂の1種であるトリオレインをモデル油剤として使用し、EF-O/W エマルションの分散安定性に対する調製、保存温度の影響を検討した[85]。

References

1. 田村博明, 安達美香, 梅澤香奈, 枝雄二, 蔵多淑子, 佐藤智陽, 茂木直登, パーソナルケアハンドブック. 2016. 日光ケミカルズ. p. 603.
2. 藤田哲, 食品の乳化: 基礎と応用. 2006: 幸書房.
3. *Food emulsions (4th ed.)*, Friberg, S. E., Larsson, K., Sjöblom, J., 2004. Marcel Dekker: New York
4. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques (2nd ed.)*, McClements, D. J., 2005. CRC Press: Boca Raton
5. *Pharmaceutical Emulsions*, Sarker, D. K., 2013. WILEY Blackwell: Oxford.
6. 今井忠平, マヨネーズ・ドレッシングの知識. 1993: 幸書房.
7. 日本油化学会, 「界面と界面活性剤」編集委員会, 界面と界面活性剤: 基礎から応用まで. 改訂第2版 ed. 2009: 日本油化学会. xi, 345p.
8. Sagitani, H., *FORMATION OF O/W EMULSIONS BY SURFACTANT PHASE EMULSIFICATION AND THE SOLUTION BEHAVIOR OF NONIONIC SURFACTANT SYSTEM IN THE EMULSIFICATION PROCESS*. J. Dispersion Sci. Technol., 1988. **9**(2): p. 115-129.
9. 鷺谷広道, 鍋田一男, 永井昌義, *D 相乳化法による微細 O/W エマルションの調製法開発と工業化*. 油化学, 1991. **40**(11): p. 988-994.
10. Shinoda, K., Saito, H., *The Stability of O/W type emulsions as functions of temperature and the HLB of emulsifiers: The emulsification by PIT-method*. J. Colloid Interface Sci., 1969. **30**(2): p. 258-263.
11. Saito, H., Shinoda, K., *The stability of W/O type emulsions as a function of temperature and of the hydrophilic chain length of the emulsifier*. J. Colloid Interface Sci., 1970. **32**(4): p. 647-651.
12. Shinoda, K., Saito, H., *The effect of temperature on the phase equilibria and the types of dispersions of the ternary system composed of water, cyclohexane, and nonionic surfactant*.

- J. Colloid Interface Sci., 1968. **26**(1): p. 70-74.
13. Suzuki, T., Takei, H., Yamazaki, S., *Formation of fine three-phase emulsions by the liquid crystal emulsification method with arginine β -branched monoalkyl phosphate*. J. Colloid Interface Sci., 1989. **129**(2): p. 491-500.
 14. Imai, Y., Ujiie, N., Nakamura, A., Koshinuma, M., Tajima, K., *Three-phase structure of hexadecane nanoemulsion formed with phospholipid–surfactant mixtures and its novel phase transition temperature TE*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2006. **276**(1): p. 134-142.
 15. 山崎勝利, 朝田仁, 賞味期限設定・延長のための各試験・評価法ノウハウ: 保存試験・加速(虐待)試験・官能評価試験と開発成功事例. 2018: エヌ・ティー・エス.
 16. Evans, D. F., Wennerström, H., *The colloidal domain : Where physics, chemistry, biology, and technology meet*. 2nd ed. Advances in interfacial engineering series. 1999: Wiley-VCH. xl, 632 p.
 17. Derjaguin, B. V., Landau, L. D., *Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes*. Acta Physicochim. URSS, 1941. **14**: p. 633-662.
 18. Verwey, E. J. W., *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*. J. Phys. Chem. , 1947. **51**(3): p. 631-636.
 19. Verwey, E. J. W., Overbeek, J. T. G., *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*. 1948. Elsevier: Amsterdam.
 20. Reerink, H., Overbeek, J. T. G., *The rate of coagulation as a measure of the stability of silver iodide sols*. Discuss. Faraday Soc., 1954. **18**: p. 74-84.
 21. Derjaguin, B. V., Churaev, N. V., Muller, V. M., *Surface Forces*. 1987. New York SPRINGER SCIENCE+BUSINESS MEDIA, LLC.
 22. Israelachvili, J. N., 大島, 広., *分子間力と表面力*. 第3版 ed. 2013: 朝倉書店. xxvii, 568p.
 23. Goodwin, J. W., Rhider, A. M., *Colloid and Interface Science*, Kerker, M., 1976. Academic

- Press: New York. p. 529.
24. Buscall, R., Goodwin, J. W., Hawkins, M. W., Ottewill, R. H., J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1982. **78**: p. 2889.
 25. 田村博明, 安達美香, 梅澤香奈, 枝雄二, 蔵多淑子, 佐藤智陽, 茂木直登, パーソナルケアハンドブック. 2016. 日光ケミカルズ. p. 621.
 26. 藤田哲, 食品の乳化: 基礎と応用. 2006. 幸書房. p. 190-191.
 27. Lifshitz, I. M., Slezov, V. V., *Kinetics of diffusive decomposition of supersaturated solid solutions*. Sov. Phys. JETP, 1959. **8**: p. 331.
 28. Wagner, C., *Theory of Precipitate Change by Redissolution*. Z. Elektrochem., 1961. **35**: p. 581-591.
 29. Sakai, T., Kamogawa, K., Nishiyama, K., Sakai, H., Abe, M., *Molecular diffusion of oil/water emulsions in surfactant-free conditions*. Langmuir, 2002. **18**(6): p. 1985-1990.
 30. Hildebrand, J. H., Scott, R. L., *The solubility of nonelectrolytes*. 1950. New York: Reinhold Pub. Corp.
 31. Becher, P., *The calculation of cohesive energy density from the surface tension of liquids*. J. Colloid Interface Sci., 1972. **38**(2): p. 291-293.
 32. Sheldon, T. J., Adjiman, C. S., Cordiner, J. L., *Pure component properties from group contribution: Hydrogen-bond basicity, hydrogen-bond acidity, Hildebrand solubility parameter, macroscopic surface tension, dipole moment, refractive index and dielectric constant*. Fluid Phase Equilib., 2005. **231**(1): p. 27-37.
 33. 鶴ヶ谷武雄, 超音波の利用と応用. 日本船用機関学会誌, 1982. **17**(4): p. 276-285.
 34. 崔博坤, 野村浩康, 榎本尚也, 原田久志, 興津健二, 香田忍, 齋藤繁實, 安井久一, 朝倉義幸, 安田啓司, 木村隆英, 近藤隆, 音響バブルとソノケミストリー. 音響サイエンスシリーズ / 日本音響学会編. Vol. 7. 2012: コロナ社.
 35. Patil, L., Gogate, P. R., *Ultrasound assisted synthesis of stable oil in milk emulsion: Study of operating parameters and scale-up aspects*. Ultrason. Sonochem., 2018. **40**: p. 135-146.

36. Kaci, M., Meziani, S., Arab-Tehrany, E., Gillet, G., Desjardins-Lavis, I., Desobry, S., *Emulsification by high frequency ultrasound using piezoelectric transducer: Formation and stability of emulsifier free emulsion*. Ultrason. Sonochem., 2014. **21**(3): p. 1010-1017.
37. Cucheval, A., Chow, R. C. Y., *A study on the emulsification of oil by power ultrasound*. Ultrason. Sonochem., 2008. **15**(5): p. 916-920.
38. Canselier, J. P., Delmas, H., Wilhelm, A. M., Abismail, B., *Ultrasound Emulsification—An Overview*. J. Dispersion Sci. Technol., 2002. **23**(1-3): p. 333-349.
39. Li, M. K., Fogler, H. S., *Acoustic emulsification. Part 2. Breakup of the large primary oil droplets in a water medium*. J. Fluid Mech., 1978. **88**(3): p. 513-528.
40. Li, M. K., Fogler, H. S., *Acoustic emulsification. Part 1. The instability of the oil-water interface to form the initial droplets*. J. Fluid Mech., 1978. **88**(3): p. 499-511.
41. Tang, S. Y., Shridharan, P., Sivakumar, M., *Impact of process parameters in the generation of novel aspirin nanoemulsions – Comparative studies between ultrasound cavitation and microfluidizer*. Ultrason. Sonochem., 2013. **20**(1): p. 485-497.
42. Kentish, S., Wooster, T. J., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R., Simons, L., *The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation*. Innov. Food Sci. Emerg. Technol., 2008. **9**(2): p. 170-175.
43. Suslick, K. S., *The chemical effects of ultrasound*. Sci. Am., 1989. **260**(2): p. 80-87.
44. Stepisnik Perdih, T., Zupanc, M., Dular, M., *Revision of the mechanisms behind oil-water (O/W) emulsion preparation by ultrasound and cavitation*. Ultrason. Sonochem., 2019. **51**: p. 298-304.
45. Orthaber, U., Zevnik, J., Petkovsek, R., Dular, M., *Cavitation bubble collapse in a vicinity of a liquid-liquid interface - Basic research into emulsification process*. Ultrason. Sonochem., 2020. **68**: p. 105224.
46. Nowotny, H., *Destruction of materials by cavitation*. VDI-Verlag, Berlin, 1942.
47. Wilson, R. W., *Cavitation of Metal Surfaces in Contact with Lubricants*. Proc. Conf. on

- Lubrication and Wear, IME, 1957. **707**.
48. Iwai, Y., Li, S., *Cavitation erosion in waters having different surface tensions*. Wear, 2003. **254**(1): p. 1-9.
 49. Gedanken, A., *Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials*. Ultrason. Sonochem., 2004. **11**(2): p. 47-55.
 50. Wood, R. W., Loomis, A. L., XXXVIII. *The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity*. The London, Edinburgh, and Dublin philosophical magazine and journal of science, 1927. **4**(22): p. 417-436.
 51. Gulzar, S., Benjakul, S., *Characteristics and storage stability of nanoliposomes loaded with shrimp oil as affected by ultrasonication and microfluidization*. Food Chem., 2020. **310**: p. 125916.
 52. Papahadjopoulos, D., Miller, N., *Phospholipid model membranes. I. Structural characteristics of hydrated liquid crystals*. Biochim. Biophys. Acta, Biomembr., 1967. **135**(4): p. 624-638.
 53. Tenchov, R., Bird, R., Curtze, A. E., Zhou, Q., *Lipid Nanoparticles—From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement*. ACS Nano, 2021.
 54. Shaban, M., Poostforooshan, J., Weber, A. P., *Surface-initiated polymerization on unmodified inorganic semiconductor nanoparticles via surfactant-free aerosol-based synthesis toward core-shell nanohybrids with a tunable shell thickness*. J. Mater. Chem. A, 2017. **5**(35): p. 18651-18663.
 55. Sdrolia, E., Zarotiadis, G., *A COMPREHENSIVE REVIEW FOR GREEN PRODUCT TERM: FROM DEFINITION TO EVALUATION*. J. Econ. Surv., 2019. **33**(1): p. 150-178.
 56. Kamogawa, K., Sakai, T., Momozawa, N., Shimazaki, M., Enomura, M., Sakai, H., Abe, M., *Evolution and Growth of Oil Droplets in Emulsifier-free, Metastable Aqueous Solutions: A Light Scattering and Conductive Probe Study*. J. Jpn. Oil Chem. Soc., 1998. **47**(2): p. 159-

- 170.
57. Kamogawa, K., Matsumoto, M., Kobayashi, T., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilizing Effects of n-Hexadecane on Tetralin and Benzene Metastable Droplets in Surfactant-Free Conditions*. Langmuir, 1999. **15**(6): p. 1913-1917.
 58. Kamogawa, K., Akatsuka, H., Matsumoto, M., Yokoyama, S., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Surfactant-free O/W emulsion formation of oleic acid and its esters with ultrasonic dispersion*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2001. **180**(1-2): p. 41-53.
 59. Sakai, T., Kamogawa, K., Harusawa, F., Momozawa, N., Sakai, H., Abe, M., *Direct observation of flocculation/coalescence of metastable oil droplets in surfactant-free oil/water emulsion by freeze-fracture electron microscopy*. Langmuir, 2001. **17**(2): p. 255-259.
 60. Kamogawa, K., Kuwayama, N., Katagiri, T., Akatsuka, H., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilization in Water of Droplets of Hydrophobic Organic Liquids with the Addition of Hydrophobic Polymers*. Langmuir, 2003. **19**(10): p. 4063-4069.
 61. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Abe, M., Kondow, T., *Monitoring Growth of Surfactant-Free Nanodroplets Dispersed in Water by Single-Droplet Detection*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(13): p. 2921-2926.
 62. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Kondow, T., *Surface Properties of Surfactant-Free Oil Droplets Dispersed in Water Studied by Confocal Fluorescence Microscopy*. J. Phys. Chem. B, 2004. **108**(20): p. 6359-6364.
 63. Kamogawa, K., Okudaira, G., Matsumoto, M., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Preparation of oleic acid/water emulsions in surfactant-free condition by sequential processing using midsonic-megasonic waves*. Langmuir, 2004. **20**(6): p. 2043-2047.
 64. Sakai, T., *Surfactant-free emulsions*. Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2008. **13**(4): p. 228-235.
 65. Sakai, T., Seo, K., *Colloidal Stability of Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Effect of Oil Property*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2014. **87**(11): p. 387-392.

66. Sakai, T., Urabe, S., Seo, K., *Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Colloidal Stabilization by Vegetable Oil*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2016. **89**(10): p. 333-339.
67. Sakai, T., Oishi, T., *Colloidal stabilization of surfactant-free emulsion by control of molecular diffusion among droplets*. J. Taiwan Inst. Chem. Emgrs., 2018. **92**: p. 123-128.
68. Pashley, R. M., *Effect of degassing on the formation and stability of surfactant-free emulsions and fine teflon dispersions*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(7): p. 1714-1720.
69. Maeda, N., Rosenberg, K. J., Israelachvili, J. N., Pashley, R. M., *Further Studies on the Effect of Degassing on the Dispersion and Stability of Surfactant-Free Emulsions*. Langmuir, 2004. **20**(8): p. 3129-3137.
70. Francis, M. J., Pashley, R. M., *A study of de-gassed oil in water dispersions as potential drug delivery systems*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2005. **260**(1-3): p. 7-16.
71. Nakabayashi, K., Amemiya, F., Fuchigami, T., Machida, K., Takeda, S., Tamamitsu, K., Atobe, M., *Highly clear and transparent nanoemulsion preparation under surfactant-free conditions using tandem acoustic emulsification*. Chem. Commun., 2011. **47**(20): p. 5765-5767.
72. Nakabayashi, K., Fuchigami, T., Atobe, M., *Tandem acoustic emulsion, an effective tool for the electrosynthesis of highly transparent and conductive polymer films*. Electrochimica Acta, 2013. **110**: p. 593-598.
73. Nakabayashi, K., Kojima, M., Inagi, S., Hirai, Y., Atobe, M., *Size-Controlled Synthesis of Polymer Nanoparticles with Tandem Acoustic Emulsification Followed by Soap-Free Emulsion Polymerization*. ACS Macro Lett., 2013. **2**(6): p. 482-484.
74. Nakabayashi, K., Fuchigami, T., Atobe, M., *Templated electrochemical synthesis of conducting polymer nanowires from corresponding monomer nanoemulsions prepared by tandem acoustic emulsification*. RSC Adv., 2014. **4**(44): p. 22938-22940.
75. Nakabayashi, K., Yanagi, H., Atobe, M., *Preparation of W/O nanoemulsion using tandem acoustic emulsification and its novel utilization as a medium for phase-transfer catalytic reaction*. RSC Adv., 2014. **4**(101): p. 57608-57610.

76. Isobe, A., *Percentage of microbeads in pelagic microplastics within Japanese coastal waters*. Mar. Pollut. Bull., 2016. **110**(1): p. 432-437.
77. McClements, D. J., Gumus, C. E., *Natural emulsifiers - Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance*. Adv Colloid Interface Sci, 2016. **234**: p. 3-26.
78. McClements, D. J., Jafari, S. M., *Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review*. Adv Colloid Interface Sci, 2018. **251**: p. 55-79.
79. Kim, W., Wang, Y., Selomulya, C., *Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers*. Trends Food Sci. Technol., 2020. **105**: p. 261-272.
80. 酒井俊郎, 乳化剤を使用しない乳化技術の実現. FRAGRANCE J., 2016. **44**(10): p. 14-22.
81. 阿部正彦, 酒井俊郎, 疎水性物質の添加によるサーファクタントフリーエマルションの分散安定化. FRAGRANCE J., 2001. **29**(12): p. 21-29.
82. 酒井俊郎, 高純度オレイン酸を油剤としたサーファクタントフリーエマルション. FRAGRANCE J., 2009. **37**(11): p. 46-53.
83. Takei, K., Takahashi, N., Sakai, T., *Potential of High-Powered Bath-Type Ultrasonicator for Manufacturing of Emulsifier-Free Emulsion*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2021. **94**(9): p. 245-251.
84. Takei, K., Takahashi, N., Sakai, T., *Emulsifier-free Oil-in-Water Emulsions Prepared by Ultrasonic Emulsification: Effect of Oil Properties*. under preparation for submission, 2022.
85. Takei, K., Watanabe, M., Kawasaki, K., Sakai, T., *Colloidal Stability of Emulsifier-free Triolein-in-Water Emulsions: Effects of Temperature*. J. Oleo Sci., 2022. **71**(1): p. 75-81.

第2章 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす乳化機器の影響

2.1 はじめに

油と水を用いたエマルションは一般的に、界面活性剤等の乳化剤を加え、攪拌機など外力を加えることによって調製される[1-3]。エマルションは油と水の界面積 S が非常に大きいために界面自由エネルギー G が高く (Eq. 1-1)，調製後から時間が経過すると解乳化する[1-3]。エマルションの長期間分散安定化を実現させるためには、界面活性剤など乳化剤を使用するなどして前章1.2にて記述したエマルションの解乳化過程を抑制する必要がある。近年，前章 1.4 で述べたように，高付加価値化の手段のひとつである乳化剤を使用しない乳化剤フリーエマルションへ注目が集まっている。一方，乳化剤を使用していないために分散安定性が低く，短時間でクリーミング，合一が進行し最終的に分離する[4-11]。そのため，乳化剤フリーエマルション製品は長期間安定的な使用期限，賞味期限が確保できず，商品化が非常に難しい。なお，先行研究では超音波照射によって EF-O/W エマルションの調製[12-23]が行われているため，乳化剤フリーエマルションの調製には超音波照射機が有効である可能性があり，分散安定性の高い乳化剤フリーエマルション製品を調製するための乳化機の候補となりうる。

そこで，本章では，EF-O/W エマルションの乳化に適した乳化機の種類および乳化機を実用ラインへ応用するための知見を得ることを目的として，低出力バス型超音波装置)，ホーン型超音波装置，高出力バス型超音波装置，ローターステーターホモジナイザーを用いた EF-O/W エマルションの乳化調製能力の特徴について検討した。具体的には，得られたエマルションの目視観察，および濁度測定，油滴の粒度分布を測定することによって各々の乳化機の分散能の特徴，評価を実施し，EF-O/W エマルションの調製に適した乳化装置を見出した。また，調製したエマルションの濁度を時間経過に伴い測定することで，乳化機器ごとの分散安定性の差を評価した。さらに，連続式の乳化装置を試作しその能力

を評価することで EF-O/W エマルジョンの実用化に必要な量産化の検討を行った。

2.2 実験

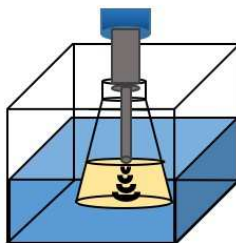
2.2.1 乳化装置

EF-O/W エマルジョンの調製に使用した乳化装置は (a) 低出力バス型超音波装置 (Bath-US, 42 kHz, 26 W), (b) ホーン型超音波装置 (Horn-US, 19.5 kHz, 600 W), (c) 高出力バス型超音波装置 (HPBath-US, 28 kHz, 300 W), (d) ローターステーターホモジナイザー (RS-HG, 15,000 rpm, 800 W) を用いた (Figure 2-1). Bath-US, HPBath-US はバス型 (間接照射型) 超音波照射機であり, バス (水浴) を介して装置底面部から照射される超音波をサンプルへ広範囲に伝達する特徴を有する (Figure 2-2a). Horn-US はホーン型 (直接照射型) の超音波照射機であり, ホーン部分をサンプルに接触させることで直接超音波を伝達する (Figure 2-2b). ホーン先端部分の振動によりサンプル中にキャビテーション泡が発生し, その泡の崩壊による衝撃によって油滴が微細化される. ローターステーター (回転式) ホモジナイザーは超音波式とは異なり, 高速回転するローターにより生じるジェットによって油と水がスリットを通過し, 油滴が微細化される (Figure 2-2c). Bath-US は出力 (W) が 26 W と低く, Horn-US は 600 W, HPBath-US は 300 W, RS-HG は 800 W と出力が高い。

(a) Bath-US



(b) Horn-US



(c) HPBath-US



(d) RS-HG

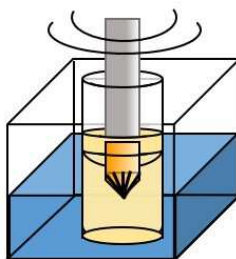
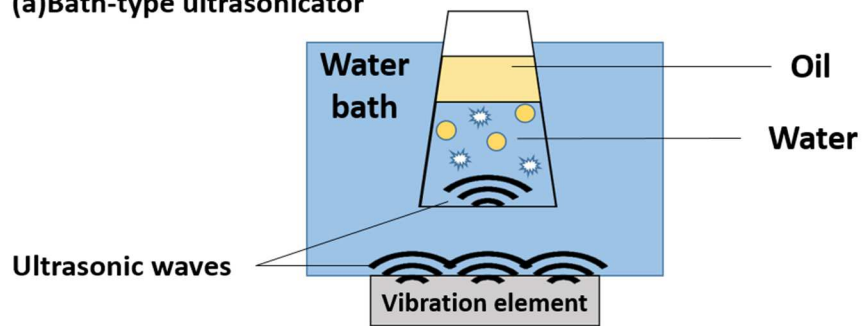
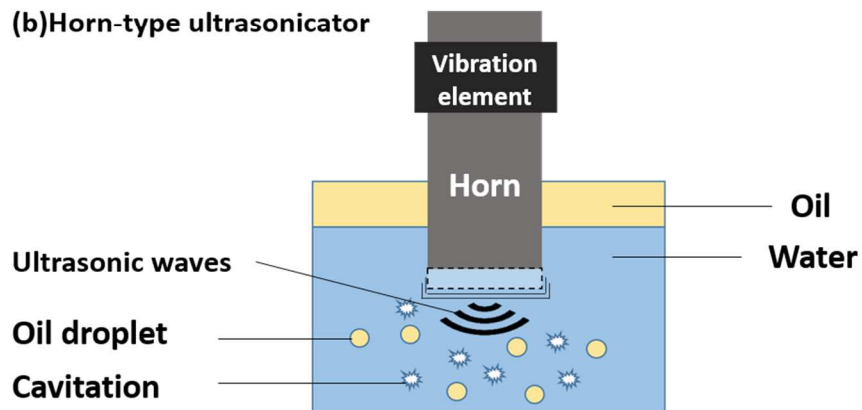


Figure 2-1. Schematic illustration on emulsifying devices; (a) Bath-US, (b) Horn-US, (c) HPBath-US, and (d) RS-HG, for preparation of EF-O/W emulsions.

(a) Bath-type ultrasonicator



(b) Horn-type ultrasonicator



(c) Rotor-stator homogenizer

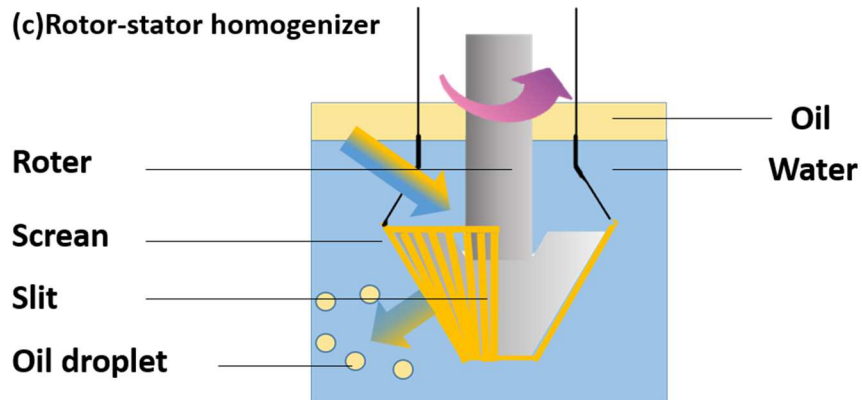


Figure 2-2. Schematic illustrations on emulsification mechanism of (a) bath-type ultrasonicator, (b) horn-type ultrasonicator, and (c) rotor-stator homogenizer, respectively.

2.2.2 EF-O/W エマルションの調製

フラスコに超純水 (18.2 MΩ cm at 25 °C) 250 mL, ドデカン (DD; C₁₂H₂₆, 99.5%, 東京化成工業株式会社) 1.0 mL を加え, 25 °C において Bath-US, Horn-US, および HPBath-US を用いて超音波を照射, 又は RS-HG を用いて攪拌を行い, 乳化剤フリードデカン/水 (EF-DD/W) エマルションを調製した (Figure 2-1). 乳化に使用された超音波の周波数は, Bath-US は 42 kHz, Horn-US は 19.5 kHz, HPBath-US は 28 kHz であった. RS-HG による乳化は回転数 15,000 rpm にて実施された.

2.2.3 EF-O/W エマルションの乳化過程の評価

乳化機の違いによる EF-O/W エマルションの乳化過程は, 調製した EF-DD/W エマルションの濁度, および分散した油滴の粒度分布を用いて評価された. 濁度測定は紫外可視分光光度計 (V-630, 日本分光株式会社) にて実施された. 調製した EF-DD/W エマルションをサンプル, 超純水をブランクとしてそれぞれガラスセルに入れ, 波長 700 nm, 25 °C の条件下における透過率 (%) の差を濁度として測定した.

EF-DD/W エマルション中のドデカン滴の粒度分布はレーザー回折法を用いて測定した. 調製した EF-DD/W エマルションを超純水で希釈して透過率を調整し, 室温条件下でレーザー回折粒度分布測定装置 (LA-950, 株式会社堀場アドバンステクノ) を用いて粒度分布測定を行った.

2.2.4 EF-O/W エマルションの分散安定性の評価

EF-DD/W エマルションの分散安定性の評価は, 調製した EF-DD/W エマルションの時間経過によるクリーミングを目視確認, および濁度変化を測定することによって行われた. Bath-US, Horn-US, HPBath-US, RS-HG によって 5 分間の乳化処理が行われた EF-DD/W エマルションを試験管, およびガラスセルに入れ, 25°C で保存した. 試験管に入れた EF-DD/W エマルションは目視観察に, ガラスセルに入れた EF-DD/W エマルションは濁度測定に用いられた. 濁度測定は紫外可視分光光度計 V-630 を用い, 波長 700 nm, 室温条件下で

行われた。光路は高さ 20 mm のセル底部から 5.0 mm の位置を通過し、濁度の低下から EF-DD/W エマルションのクリーミングの程度を判断した。

2.2.5 HPBath-US を用いた連続乳化法

乳化方法をバッチ式から連続式にするために、HPBath-US にシリコンチューブを用いてポンプとフラスコを接続し、HPBath-US をベースとしたフローチャンバーシステムを作成した (Figure 2-3)。ドデカン 2.0 mL と超純水 500 mL をフラスコに入れ、RS-HG で 7 分処理して予備乳化を行った。予備乳化サンプルをフローチャンバーシステムに入れ、超音波を照射することで乳化処理が行われた。フローチャンバーを流れるエマルションの流速やフローチャンバーをパスする回数を変更し、調製された EF-DD/W エマルションの粒子径におよぼす影響を評価した。乳化処理した EF-DD/W エマルションの乳化状態、分散安定性の評価は、粒度分布による乳化状態、経時変化によるクリーミングの確認や濁度変化を確認することにより行われた。

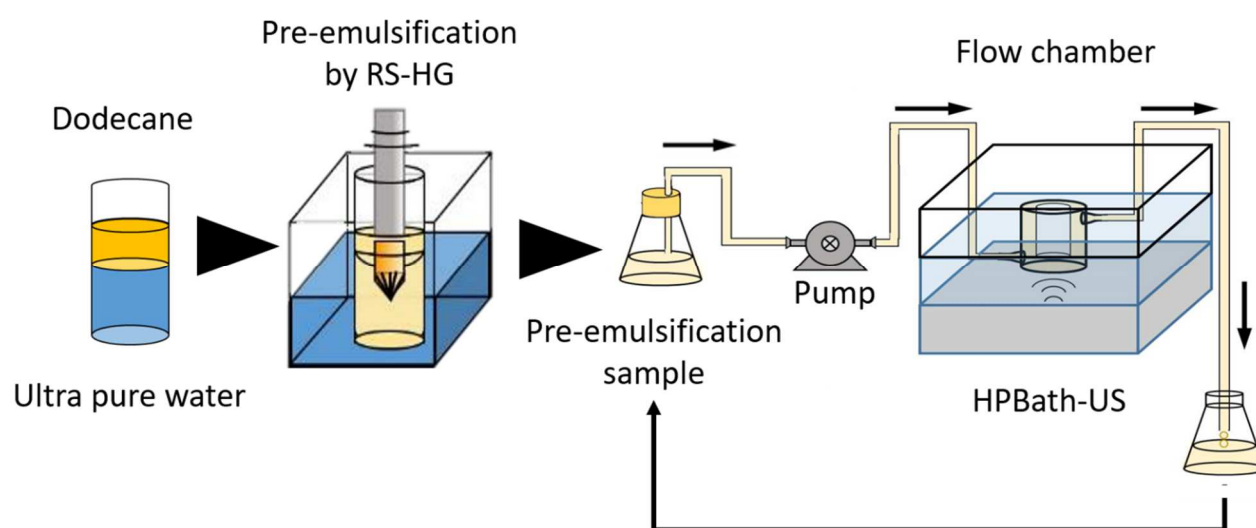


Figure 2-3. Schematic illustration on continuous emulsification system using HPBath-US attached with flow chamber.

2.3 結果および考察

2.3.1 EF-O/W エマルションの乳化過程に及ぼす乳化機器の影響

Bath-US, Horn-US, HPBath-US, RS-HG の EF-DD/W エマルションの乳化過程を評価するため、乳化処理時間と EF-DD/W エマルションの濁度変化の関係性を検討した。ドデカンと水は共に透明な液体であるが、Bath-US において 3 分乳化処理すると白濁し、ドデカンが微細液滴となった EF-DD/W エマルションの生成が確認された (Figure 2-4a 中の Bath-US)。一方で、紫外可視分光光度計によって測定された Bath-US 処理 EF-DD/W エマルションの濁度は、15 分間の乳化処理後で約 50 %であった (Figure 2-4b 中のプロット○)。Horn-US を用いて乳化調製を行った場合、0.5 分の乳化処理で白濁が生じ、EF-DD/W エマルションの生成が確認された (Figure 2-4a 中の Horn-US)。Horn-US によって調製された EF-DD/W エマルションの濁度は、乳化処理 1 分経過時点で約 80 %を示した (Figure 2-4b 中のプロット□)。HPBath-US で乳化処理した EF-DD/W エマルションも Horn-US の場合と同様に、乳化処理 0.5 分で白濁を生じ、乳化処理 2 分で 80 %を超える濁度を示した (Figure 2-4a 中の HPBath-US, Figure 2-4b 中のプロット●)。超音波ではなく RS-HG を用いて乳化処理した EF-DD/W も処理時間 0.5 分で白濁が確認され、その濁度は約 80 %であった (Figure 2-4a 中の RS-HG, Figure 2-4b 中のプロット■)。これらの結果から、装置の機構に依存せず、高出力の乳化機 (Horn-US, HPBath-US, RS-HG) は EF-O/W エマルションの調製に有効であることが示された (Figure 2-4c)。

また、乳化機の違いによって調製された EF-DD/W エマルション中のドデカン液滴の粒子径の違いを比較した (Figure 2-5)。Bath-US を用いて調製した EF-DD/W エマルションは、超音波を 5 分間照射した際のドデカン液滴の平均粒子径は約 4 μm であり、それ以上乳化処理を行っても粒子径の減少は確認されなかった (Figure 2-5a, Figure 2-5e 中のプロット○)。Horn-US を用いて調製した EF-DD/W エマルションの場合は、1 分の乳化処理でドデカン液滴の平均粒子径が 1 μm 以下になり、Bath-US の場合と同様にそれ以上乳化処理を行っても平均粒子径が減少することはなかった (Figure 2-5b, Figure 2-5e 中のプロット□)。一方、HPBath-US を用いて調製した EF-DD/W エマルション中のドデカン液滴の平均粒子径は乳化

処理時間の増加と共に段階的に減少し、乳化処理 10 分において平均粒子径は約 0.4 μm まで小さくなった (Figure 2-5c, Figure 2-5e 中のプロット●). RS-HG で処理した EF-DD/W エマルションも HPBath-US と同様に乳化処理時間経過と共に段階的にドデカン液滴の平均粒子径が減少したが、乳化処理 7 分経過時に約 5 μm となって以降、乳化処理時間を増やしても平均粒子径が大きく変化することはなかった (Figure 2-5d, Figure 2-5e 中のプロット■). これらの結果より、より小さい油滴の EF-O/W エマルションを調製するためには高出力の超音波乳化機 (Horn-US, HPBath-US) の利用が有益であるということがわかった (Figure 2-5f).

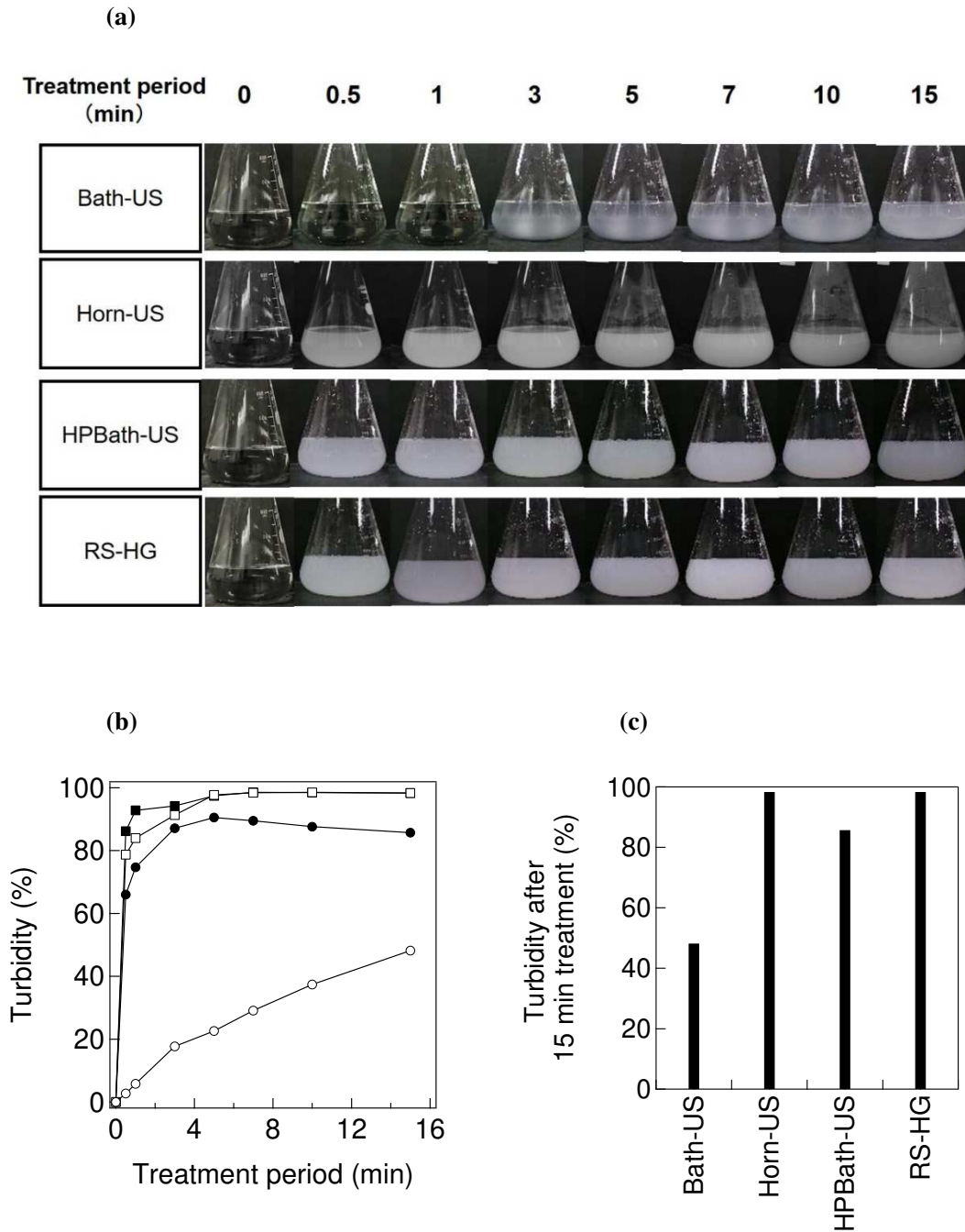


Figure 2-4. (a) Change in EF-DD/W emulsion during treatment using Bath-US, Horn-US, HPBath-US, and RS-HG. (b) Turbidity of EF-DD/W emulsions prepared using (○) Bath-US, (□) Horn-US, (●) HPBath-US, and (■) RS-HG plotted as a function of treatment period. (c) Turbidity of EF-DD/W emulsions prepared using Bath-US, Horn-US, HPBath-US, and RS-HG for 15 min of emulsification.

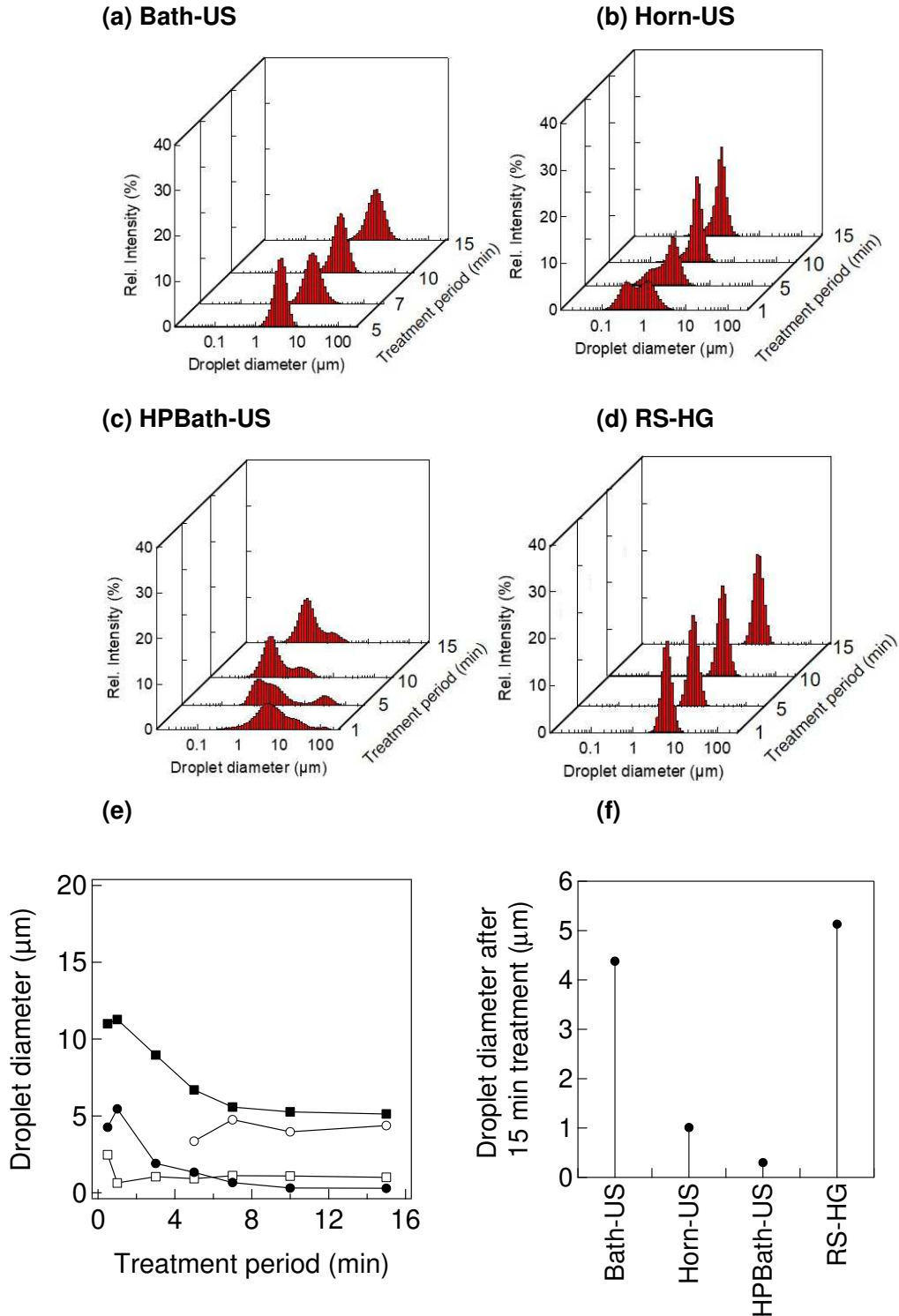


Figure 2-5. Change in droplet size distribution of DD droplets in EF-DD/W emulsions prepared using (a) Bath-US, (b) Horn-US, (c) HPBath-US, and (d) RS-HG with the treatment period. (e) Average diameter of DD droplets in EF-DD/W emulsions prepared with (\circ) Bath-US, (\square) Horn-US, (\bullet) HPBath-US, and (\blacksquare) RS-HG plotted as a function of treatment period. (f) Average diameter of DD droplets in EF-DD/W emulsions prepared with Bath-US, Horn-US, HPBath-US, and RS-HG for 15 min of emulsification.

2.3.2 EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす乳化機器の影響

エマルションは熱力学的に不安定であるため、静置しておくとも最終的に水と油に分離する。しかし、2.3.1 で明らかになったように乳化機器により調製された EF-DD/W エマルション中の油滴の粒子径は異なり、分散安定性にも影響すると考えられる。そこで、EF-O/W エマルションのクリーミングに及ぼす乳化機器の影響を検討するために、乳化処理後に静置した EF-DD/W エマルションの濁度を比較し検討を行った。Bath-US と RS-HG を用いて調製した EF-DD/W エマルションは調製後 1 日静置すると白濁していたエマルションがほとんど透明になり (Figure 2-6a 中の Bath-US, RS-HG), その濁度は調製後 1 日で 10 %未満であった (Figure 2-6b 中のプロット□, ■)。一方 Horn-US と HPBath-US で調製した EF-DD/W エマルションは白濁した部分が時間経過とともに徐々に上部へ移動し、クリーミングが確認された (Figure 2-6a 中の Horn-US, HPBath-US)。濁度は調製後 6 日で 20 %付近まで減少したが、Bath-US や RS-HG とは異なり、段階的に減少した (Figure 2-6b 中のプロット○, ●)。この結果は、EF-DD/W エマルション調製時のドデカン液滴の粒子径に起因していると考えられる。Eq. 1-3 で定義されるストークスの式に着目すると、O/W エマルション中の油滴のクリーミング速度 (u) は液滴の半径 (r) の 2 乗に比例する。Bath-US で 5 分間乳化処理した EF-DD/W エマルションの油滴半径は約 $2\text{ }\mu\text{m}$, RS-HG で調製した EF-DD/W エマルションの油滴半径は約 $3\text{ }\mu\text{m}$ であるのに対し、Horn-US および HPBath-US を用いて調製した EF-DD/W エマルションの油滴半径は約 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ であるため (Figure 2-5e), クリーミング速度差は計算上 20 倍以上になる。このため、調製後の油滴の粒子径が大きい Bath-US, RS-HG 処理の EF-DD/W エマルションは静置後早期にクリーミングして分離した一方で、油滴の粒子径が小さい Horn-US, HPBath-US 処理 EF-DD/W エマルションはクリーミングが抑制され、分散安定性が高かったと考えられる。すなわち、高出力の超音波式乳化機により調製された EF-O/W エマルションは分散安定性が高いことが明らかになった。

これまでの結果や考察から、超音波による乳化技術は EF-O/W エマルションに有利だと考えられる。超音波処理による乳化はキャビテーションによるものであるが、この超音波によるキャビテーション効果は EF-O/W エマルションの油滴の微細化に有効であり、クリ

ーミングが抑制されたことで EF-O/W エマルションの長期的な分散安定化につながったと予想される (Figure 2-5, Figure 2-6). また, Bath-US, Horn-US, HPBath-US の比較から, 高出力型の超音波装置 (Horn-US, HPBath-US) の方が EF-O/W エマルションの油滴の粒子径を小さくすることに効果的であった. 更に, Horn-US と HPBath-US との比較では, HPBath-US の方が油滴粒子径を微細化することができた (Figure 2-5). この差は, Horn-US と HPBath-US の超音波がエマルションに照射されている領域と照射されていない領域の比率の違いによるものと考えられる (Figure 2-7). Horn-US の場合, 超音波は Horn-US のホーンの頂点から発生するためにホーン周辺の油滴は微細化されるが, ホーンから離れた領域では十分に超音波照射, すなわちキャビテーションによる油滴の微細化が行われなため, 油滴が小さくならず大きく成長してしまうと予想される. 対照的に HPBath-US の場合は超音波が装置底面からエマルションへ全体的に照射されるために, Horn-US と比較して超音波が照射されている領域が多く, 結果としてキャビテーションによる油滴の微細化が行われる領域が多かったことで微細な油滴の EF-O/W エマルションが得られたと考えられる. 以上の検討から, HP-Bath-US は分散安定性の高い EF-O/W エマルションの調製に有効であることが明らかとなった.

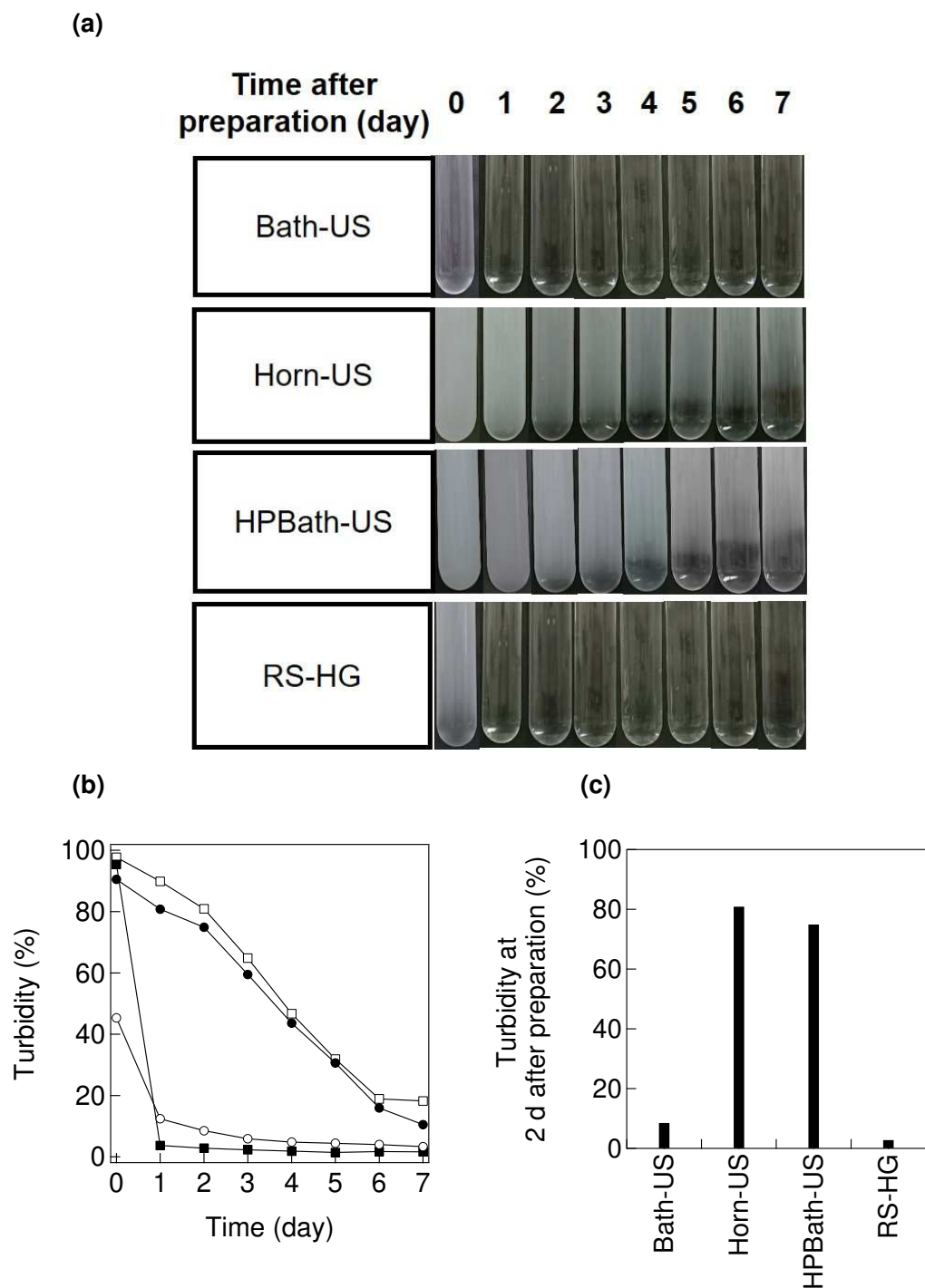


Figure 2-6. (a) Time course changes in EF-DD/W emulsion after preparation with Bath-US, Horn-US, HPBath-US, and RS-HG. (b) Turbidity of EF-DD/W emulsions after preparation using (\square) Bath-US, (\circ) Horn-US, (\bullet) HPBath-US, and (\blacksquare) RS-HG plotted as a function of the elapsed time. (c) Turbidity of EF-DD/W emulsions at 2 days after preparation using Bath-US, Horn-US, HPBath-US, and RS-HG.

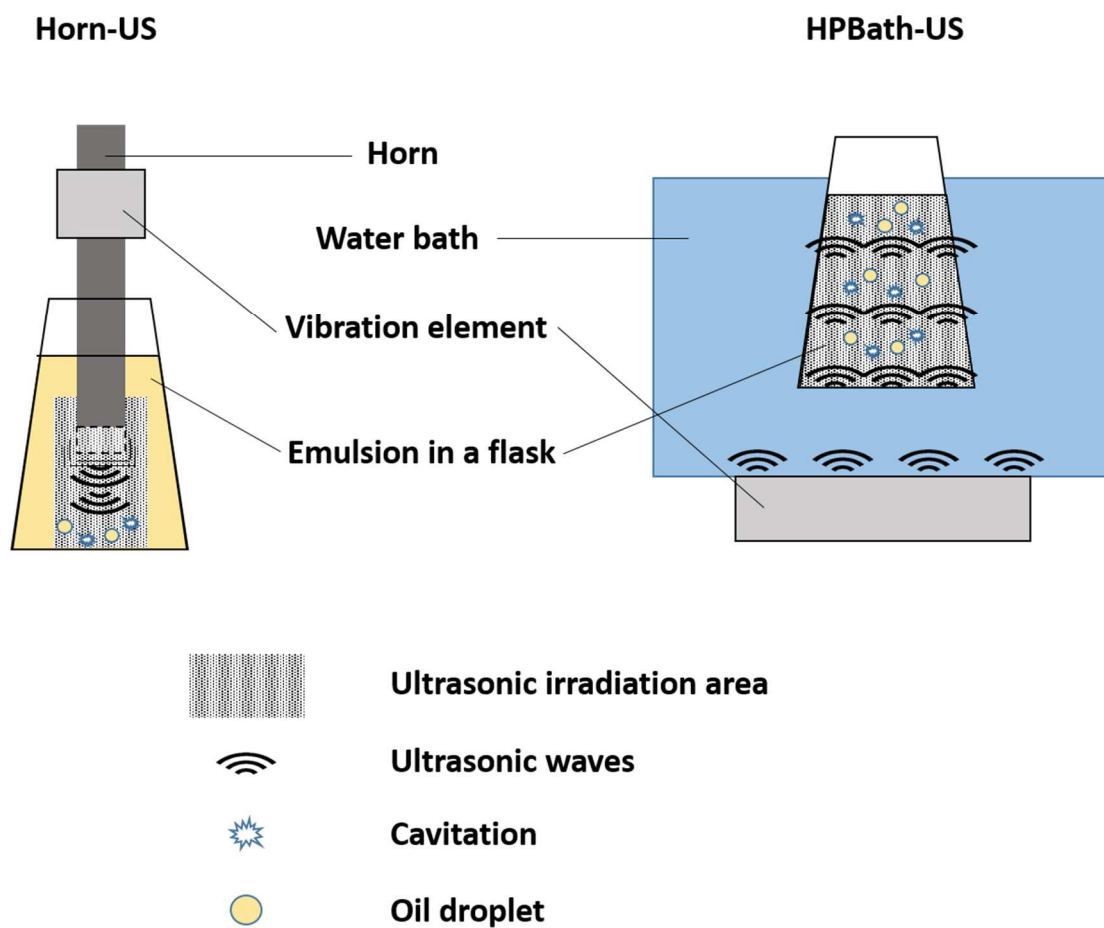


Figure 2-7. Schematic illustration on irradiation area of ultrasound generated from Horn-US and HPBath-US.

2.3.3 HPBath-US を用いた EF-O/W エマルションのバッチ乳化法と連続乳化法との比較

先の検討により、EF-O/W エマルションの乳化や高い分散安定性の実現には HPBath-US が有効であることがわかった。しかし、今回検討した乳化法はバッチ式であり、EF-O/W エマルションの量産化には向いていない。その理由は、バッチ式の処理容量には最適容量が存在し、単純に容量を増やしても処理能力が追い付かず、容量を増やす前と同等の乳化効率を実現できないことが主な原因である。そこで、EF-O/W エマルションの実用化のために量産化が可能な技術、装置の検討を行った。HPBath-US を用いて EF-O/W エマルションの量産化を行うためには、その最適容量の都合上、バッチ処理を反復する必要がある。一方で、最適容量の乳化処理を連続的に行えば EF-O/W エマルションの量産化を実現することが可能になると予想される。そのため、HPBath-US を用いた連続式乳化機器の試作を行った。EF-DD/W エマルションは RS-HG によって予備乳化を行い、シリコンチューブによって HPBath-US とポンプに接続されたフローチャンバーに流し入れた (Figure 2-3)。一度フローチャンバーを通過させて超音波乳化処理を行ったエマルションを再度フローチャンバーに通過させることで、バッチ式を反復処理する連続乳化処理とした。

予備乳化処理後の平均粒子径が $10\ \mu\text{m}$ 程度であった EF-DD/W エマルションのドデカン滴は、HPBath-US チャンバーを通過するパス回数に応じて粒子径が減少した (Figure 2-8a)。フローチャンバーの流速を $1.21\ \text{mL s}^{-1}$ にした場合、フローチャンバーを 5 回パスさせた EF-DD/W エマルション中の油滴の粒子径は $0.4\ \mu\text{m}$ まで小さくなり、流速を $3.18\ \text{mL s}^{-1}$ にした場合でもその粒子径は $0.5\ \mu\text{m}$ 以下であった (Figure 2-8a 中のプロット▲, Figure 2-8b)。連続式で得られた EF-DD/W エマルションの油滴の粒子径は、バッチ式で得られたものとほぼ同等の大きさだった (Figure 2-5e, Figure 2-5f)。一方でフローチャンバーの流速を $4.71\ \text{mL s}^{-1}$ まで上げると得られたエマルション中の油滴の粒子径は約 $1.5\ \mu\text{m}$ と大きくなった (Figure 2-8b)。これはフローチャンバー内の流速や乳化処理の回数により EF-O/W エマルションの油滴サイズをコントロールできることを示唆している。また、連続式で流速 $1.21\ \text{mL s}^{-1}$ 、5 回乳化処理した EF-DD/W エマルションとバッチ式で処理した EF-DD/W エマルシ

ヨンの分散安定性を比較したところ、連続式とバッチ式に大きな差は見られず、両者とも高い分散安定性を示していた (Figure 2-9)。

今回の検討で得られた結果をもとに、EF-O/W エマルションを実用化する際に有効な連続式乳化機のイメージを考案した (Figure 2-10)。今回検討した実験条件 (フローチャンバーの流速 3.18 mL s^{-1} 、パス回数 5 回) を仮定した場合の連続式乳化法における EF-O/W エマルションの処理効率を試算したところ、その効率は $954 \text{ mL} / 5 \text{ min}$ であり、バッチ式の処理効率 $25 \text{ mL} / 5 \text{ min}$ と比較して約 40 倍であった。これらの結果から、EF-O/W エマルションの量産化には HPBath-US とフローチャンバーの組み合わせが有効であると考えられる。

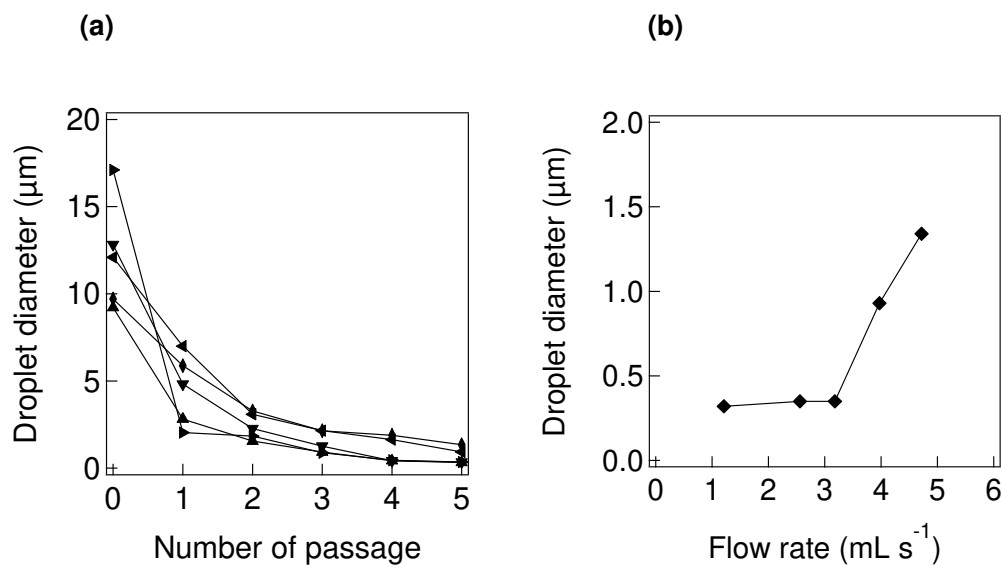


Figure 2-8. (a) Average diameter of DD droplets in EF-DD/W emulsions prepared by continuous emulsification system plotted as a function of pass number. Flow rate; (▲) 1.21, (►) 2.56, (▼) 3.18, (◄) 3.97 and (◆) 4.71 mL s^{-1} . (b) Average diameter of DD droplets in the EF-DD/W emulsion after 5 times passage through the flow chamber plotted as a function of flow rate of EF-DD/W emulsion.

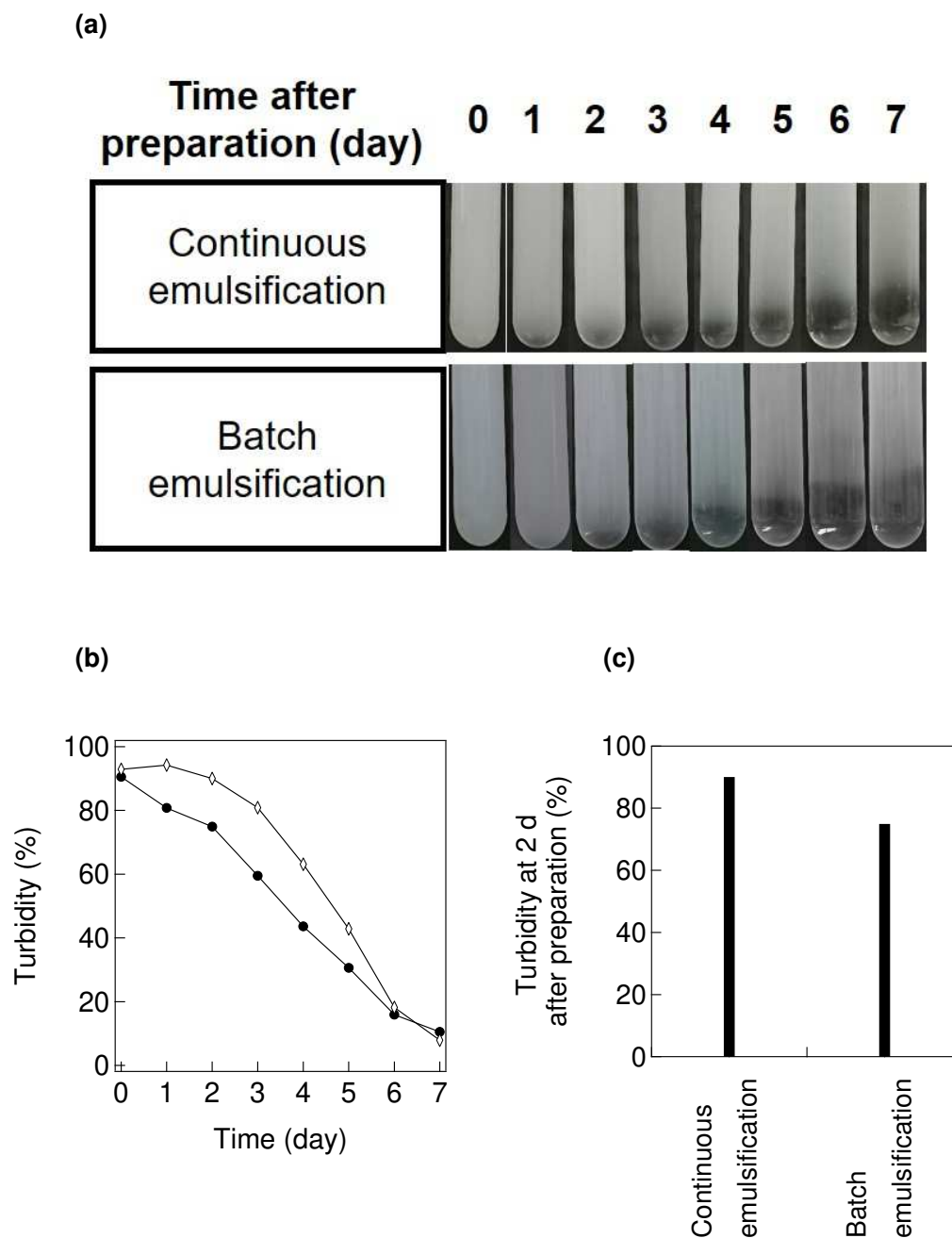


Figure 2-9. (a) Time course changes in EF-DD/W emulsions prepared by the continuous emulsification with 5 passes through the flow chamber attached to the HPBath-US at a flow rate of 1.21 mL s^{-1} and the batch emulsification with HPBath-US. (b) Turbidity of EF-DD/W emulsion prepared by (◇) continuous emulsification and (●) batch emulsification with elapsed time. (c) Turbidity of EF-DD/W emulsions at 2 days after preparation by continuous and batch emulsification systems.

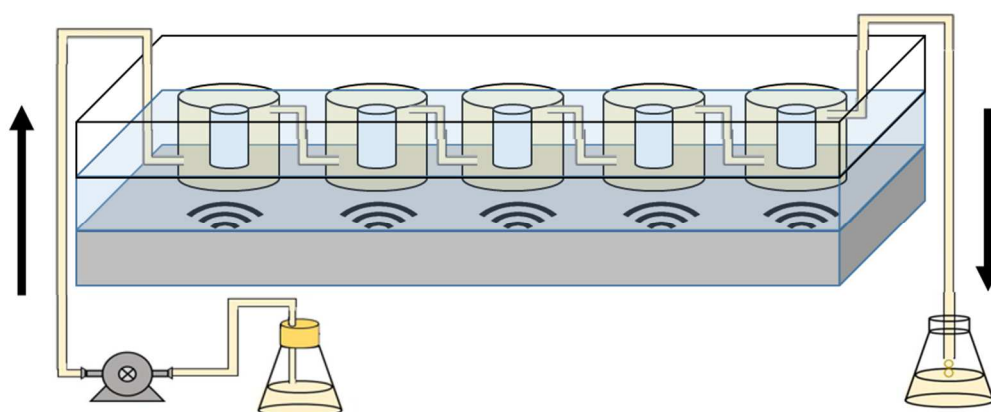


Figure 2-10. Schematic illustration on continuous emulsifying device using HPBath-US attached with five flow chambers.

2.4 まとめ

本章では、低出力バス型超音波装置 (Bath-US)、ホーン型超音波装置 (Horn-US)、高出力バス型超音波装置 (HPBath-US)、ローターステーターホモジナイザー (RS-HG) を使用し、乳化剤を使用せずに調製した水中油型ドデカン/水エマルション (EF-DD/W エマルション) の調製を行い、各機器の EF-O/W エマルション調製能力や特性を比較した。その結果、HPBath-US を用いて調製した EF-O/W エマルションは油滴の粒子径が細かく分散安定性にも優れており、HPBath-US は EF-O/W エマルションの調製に有効であることがわかった。また、HPBath-US とフローチャンバーを接続させた連続式 HPBath-US はバッチ式 HPBath-US と同等の EF-O/W エマルション調製能力を持ち、その分散安定性もまたバッチ式と同程度だった。フローチャンバーの流速とパス数を変更することで EF-O/W エマルションの油滴の粒子径を変更することが可能であることも明らかになった。

乳化剤を使用しない EF-O/W エマルションは分離しやすいために、分散させる油滴を細かくする必要がある。今実験の結果から、高出力超音波乳化機である HPBath-US を用いることで、微細な油滴かつ分散安定性の高い EF-O/W エマルションが調製可能であることが明らかになった。また、超音波による乳化は効率の点から量産化が難しいとされているが、HPBath-US をフローチャンバーが接続した連続式に応用することで、容量を増やしてもバッチ式と同等の粒子径、分散安定性を有する EF-O/W エマルションが調製できることが判明した。これらの結果より、HPBath-US および連続式 HPBath-US は EF-O/W エマルションの調製・製造能力を持ち得ており、商用化への重要な知見になると考えられる。

References

1. *Food emulsions (4th ed.)*, Friberg, S. E., Larsson, K., Sjöblom, J., 2004. Marcel Dekker: New York
2. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques (2nd ed.)*, McClements, D. J., 2005. CRC Press: Boca Raton
3. *Pharmaceutical Emulsions*, Sarker, D. K., 2013. WILEY Blackwell: Oxford.
4. Pashley, R. M., *Effect of degassing on the formation and stability of surfactant-free emulsions and fine teflon dispersions*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(7): p. 1714-1720.
5. Maeda, N., Rosenberg, K. J., Israelachvili, J. N., Pashley, R. M., *Further Studies on the Effect of Degassing on the Dispersion and Stability of Surfactant-Free Emulsions*. Langmuir, 2004. **20**(8): p. 3129-3137.
6. Francis, M. J., Pashley, R. M., *A study of de-gassed oil in water dispersions as potential drug delivery systems*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2005. **260**(1-3): p. 7-16.
7. Nakabayashi, K., Amemiya, F., Fuchigami, T., Machida, K., Takeda, S., Tamamitsu, K., Atobe, M., *Highly clear and transparent nanoemulsion preparation under surfactant-free conditions using tandem acoustic emulsification*. Chem. Commun., 2011. **47**(20): p. 5765-5767.
8. Nakabayashi, K., Fuchigami, T., Atobe, M., *Tandem acoustic emulsion, an effective tool for the electrosynthesis of highly transparent and conductive polymer films*. Electrochimica Acta, 2013. **110**: p. 593-598.
9. Nakabayashi, K., Kojima, M., Inagi, S., Hirai, Y., Atobe, M., *Size-Controlled Synthesis of Polymer Nanoparticles with Tandem Acoustic Emulsification Followed by Soap-Free Emulsion Polymerization*. ACS Macro Lett., 2013. **2**(6): p. 482-484.
10. Nakabayashi, K., Fuchigami, T., Atobe, M., *Templated electrochemical synthesis of conducting polymer nanowires from corresponding monomer nanoemulsions prepared by tandem acoustic emulsification*. RSC Adv., 2014. **4**(44): p. 22938-22940.
11. Nakabayashi, K., Yanagi, H., Atobe, M., *Preparation of W/O nanoemulsion using tandem*

- acoustic emulsification and its novel utilization as a medium for phase-transfer catalytic reaction*. RSC Adv., 2014. **4**(101): p. 57608-57610.
12. Kamogawa, K., Sakai, T., Momozawa, N., Shimazaki, M., Enomura, M., Sakai, H., Abe, M., *Evolution and Growth of Oil Droplets in Emulsifier-free, Metastable Aqueous Solutions: A Light Scattering and Conductive Probe Study*. J. Jpn. Oil Chem. Soc., 1998. **47**(2): p. 159-170.
 13. Sakai, T., Kamogawa, K., Harusawa, F., Momozawa, N., Sakai, H., Abe, M., *Direct observation of flocculation/coalescence of metastable oil droplets in surfactant-free oil/water emulsion by freeze-fracture electron microscopy*. Langmuir, 2001. **17**(2): p. 255-259.
 14. Sakai, T., Kamogawa, K., Nishiyama, K., Sakai, H., Abe, M., *Molecular diffusion of oil/water emulsions in surfactant-free conditions*. Langmuir, 2002. **18**(6): p. 1985-1990.
 15. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Abe, M., Kondow, T., *Monitoring Growth of Surfactant-Free Nanodroplets Dispersed in Water by Single-Droplet Detection*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(13): p. 2921-2926.
 16. Sakai, T., *Surfactant-free emulsions*. Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2008. **13**(4): p. 228-235.
 17. Kamogawa, K., Matsumoto, M., Kobayashi, T., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilizing Effects of n-Hexadecane on Tetralin and Benzene Metastable Droplets in Surfactant-Free Conditions*. Langmuir, 1999. **15**(6): p. 1913-1917.
 18. Kamogawa, K., Akatsuka, H., Matsumoto, M., Yokoyama, S., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Surfactant-free O/W emulsion formation of oleic acid and its esters with ultrasonic dispersion*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2001. **180**(1-2): p. 41-53.
 19. Kamogawa, K., Kuwayama, N., Katagiri, T., Akatsuka, H., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilization in Water of Droplets of Hydrophobic Organic Liquids with the Addition of Hydrophobic Polymers*. Langmuir, 2003. **19**(10): p. 4063-4069.
 20. Kamogawa, K., Okudaira, G., Matsumoto, M., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Preparation of*

- oleic acid/water emulsions in surfactant-free condition by sequential processing using midsonic-megasonic waves*. Langmuir, 2004. **20**(6): p. 2043-2047.
21. Sakai, T., Seo, K., *Colloidal Stability of Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Effect of Oil Property*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2014. **87**(11): p. 387-392.
 22. Sakai, T., Urabe, S., Seo, K., *Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Colloidal Stabilization by Vegetable Oil*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2016. **89**(10): p. 333-339.
 23. Sakai, T., Oishi, T., *Colloidal stabilization of surfactant-free emulsion by control of molecular diffusion among droplets*. J. Taiwan Inst. Chem. Emgrs., 2018. **92**: p. 123-128.

第3章 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の影響

3.1 はじめに

一般的に油とは、動物や植物、鉱物等から採れる、水に対して相分離し疎水性を示す物質の総称である。動植物から採取される油のことを油脂 (fat and oil) といい、脂肪酸のグリセロールエステルの総称を指す[1, 2]。常温で液体のものは油 (oil)、固体のものは脂 (fat) と呼ばれる。由来原料により植物油脂と動物油脂に分類されるが、ジエチルエーテルなどの有機溶剤に可溶であり、加水分解により脂肪酸が遊離する点で共通している[1, 2]。一方、石油や鉱物由来の疎水性物質は鉱物油 (mineral oil, mineral fat) と呼ばれ、主に炭化水素で構成されている[1]。このように、一言で油と表記しても構成する分子構造は異なり、その物性にも差がある。近年、分散質として使用した炭化水素の種類によって、調製した EF-O/W エマルションの解乳化過程が異なるという報告や[3]、EF-O/W エマルション内の油滴組成、あるいは EF-W/O エマルション内の水滴組成を変化させることでその分散安定性が変化するという報告もされており[3-14]、EF-O/W エマルションにおける分散質としての油剤の性質は乳化や分散安定性に大きな影響を与えていると考えられる。

そこでこの章では、前章の検討により EF-O/W エマルションの調製能力、実用化に向けた有用性が明らかになった高出力バス型超音波照射機 (HPBath-US) を用い、エマルション製品に多用されている植物油を分散質とした EF-O/W エマルションの分散安定性を評価することを目的とし、他の油剤 (炭化水素油、高級脂肪酸) を使用した EF-O/W エマルションと分散安定性を比較することで検討した。

3.2 実験

3.2.1 EF-O/W エマルションの調製

油剤 0.1 mL と超純水 200 mL をフラスコに入れ，高出力バス型超音波照射機 HPBath-US にて 5 分間 28 kHz (300W)，室温条件下で超音波を照射し乳化を行った．調製後のエマルションを試験管，およびガラスセルに入れ，25 °C にて 30 日間静置し，測定に供した．油剤には炭化水素，脂肪酸，植物油を用いた (Table 3-1)．本実験で使用された油剤の物性値は Table 3-2 にまとめた．また，植物油の脂肪酸組成は文部科学省の食品成分データベースより引用したものをを用いた (Table 3-3)．

Table 3-1. Oils which used as a dispersed phase.

| Oil as a dispersed phase | | Grade | Company |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|---|
| Hydrocarbon (HDC) | Hexane (HEX) | Extra pure reagent | Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. |
| | Octane (OCT) | | |
| | Decane (DEC) | Guaranteed reagent | |
| | Dodecane (DD) | | |
| | Tetradecane (TD) | | |
| | Hexadecane (HD) | | |
| Fatty acid (FA) | Oleic acid (OA) | EXTRAOLEIN-90, purity 90.0%, | NOF CORPORATION |
| | Linoleic acid (LA) | LINOLEIC ACID 90, purity 90.0% | |
| Vegetable oil (VEG) | Soybean oil (SOY) | Guaranteed reagent | FUJIFILM Wako pure Chemical corporation |
| | Olive oil (OLIV) | | |

Table 3-2. Properties of water and oils which used and calculated.

| | Molecular weight | Molar volume | Density | Viscosity | Interfacial tension | Hildebrand solubility parameter δ^{\dagger} |
|---------------|---------------------|--|--------------------|----------------|---------------------|--|
| | g mol^{-1} | $\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \times 10^6$ | g cm^{-3} | mPa s | mN m^{-1} | $(\text{J m}^{-3})^{1/2} \times 10^{-3}$ |
| Water | 18.02 | 18.07 | 0.99705 | 0.7973 | - | - |
| Hexane | 86.18 | 130.52 | 0.6633 | 0.290 | 50.8 | 24.24 |
| Octane | 114.29 | 162.67 | 0.7056 | 0.480 | 51.68 | 23.56 |
| Decane | 142.29 | 194.92 | 0.733 | 0.835 | 52.30 | 23 |
| Dodecane | 170.34 | 226.79 | 0.7541 | 1.257 | 52.78 | 22.53 |
| Tetradecane | 198.39 | 260.22 | 0.7654 | 1.783 | 53.32 | 22.13 |
| Hexadecane | 226.45 | 292.8 | 0.7764 | 2.571 | 53.77 | 21.79 |
| Oleic acid | 282.47 | 316.32 | 0.893 | 27.7 | 14.4 | 12.56 |
| Linoleic acid | 280.45 | 310.23 | 0.916 | 18.7 | 13.8 | 12.43 |
| Soybean oil | 871.58 [‡] | 947.37 | 0.922 | 50.4 | 22.3 | 1.15 |
| Olive oil | 866.54 [‡] | 950.15 | 0.912 | 64.2 | 21.8 | 1.14 |

Referred from reference [12].

[†]Calculated data from Table 3-2 and Eq. 1-14 and Eq. 1-15.

[‡] Average molecular weights estimated from the data of the Food composition database, <https://fooddb.mext.go.jp/> (accessed July 29, 2021).

※Measurements at 25 °C.

Table 3-3. Fatty acid composition of vegetable oils.

| | Soybean oil | Olive oil |
|-------|-------------|-----------|
| C6 | - | - |
| C8 | - | - |
| C10 | - | - |
| C12 | - | - |
| C14 | - | - |
| C16 | 0.11 | 0.1 |
| C16-1 | - | 0.01 |
| C18 | 0.04 | 0.03 |
| C18-1 | 0.24 | 0.77 |
| C18-2 | 0.54 | 0.07 |
| C18-3 | 0.07 | 0.01 |

Food ingredients database, <https://fooddb.mext.go.jp/> (accessed July 29, 2021).

3.2.2 EF-O/W エマルションの分散安定性の評価

EF-O/W エマルションの分散安定性は、静置した EF-O/W エマルションの濁度を目視および紫外可視分光光度計（V-630, 日本分光株式会社）を用いて測定することで評価された。試験管に入れた EF-O/W エマルションは目視観察に、ガラスセルに入れた EF-TO/W エマルションは濁度測定に用いられた。濁度測定は波長 700 nm, 測定温度 25 °C にて行われた。紫外可視分光光度計の光路はガラスセルの底部から 5 mm の高さを通過し、EF-O/W エマルションがクリーミングすることによる濁度の低下を分散安定性の指標とした。

3.2.3 油剤の物性評価

今実験に使用した油剤の密度、粘度、水との界面張力を測定した。密度測定は標準比重計（19-4, アズワン株式会社）を、粘度測定は音叉型振動式粘度計（30 Hz, SV-10A, 株式会社エー・アンド・デイ）を用いて行われた。油剤と水の界面張力はウィルヘルミー法（Wilhelmy method）（CBVP-A3, 協和界面科学株式会社）にて測定された。すべての測定は室温条件下で行われた。

3.2.4 エマルション物性の評価

調製した EF-O/W エマルション物性の評価は、EF-O/W エマルション中の油滴の粒度分布測定により得られた油滴の平均粒子径（メディアン径）、および油滴のゼータ電位を用いて行われた。EF-O/W エマルションの油滴の粒子径（メディアン径）測定は LA-950（株式会社堀場アドバンステクノ）によるレーザー回折法にて行われた。ゼータ電位測定は電気泳動散乱法（electrophoretic light scattering method）（Zetasizer Nano, スペクトリス株式会社）を使用して実施された。ゼータ電位測定、粒度分布測定は共に室温条件にて行われた。

3.3 結果および考察

3.3.1 EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の種類の影響

EF-O/W エマルションの分散安定性と油剤の種類との関係性について検討した。分散質に植物油を使用した EF-VEG/W エマルションについて、大豆油を使用した EF-SOY/W エマルションとオリーブ油を使用した EF-OLIV/W エマルションは調製後 30 日経過しても目視ではほとんど変化が見られず、クリーミングは確認されなかった (Figure 3-1a)。調製後 30 日経過した EF-OLIV/W エマルションと EF-SOY/W エマルションの濁度はそれぞれ約 80 % 以上であり、分散安定性は高かった (Figure 3-1b 中のプロット●, ▲)。

一方で、油剤に炭化水素を用いた EF-HDC/W エマルションの分散安定性を評価したところ、ヘキサンを使用した EF-HEX/W エマルションの場合、調製後 6 時間経過するとクリーミングが生じ (Figure 3-2a)、調製後 0.5 日経過するとその濁度はほぼ 0 % に減少した (Figure 3-2b 中のプロット ●)。油剤にオクタンを使用した EF-OCT/W エマルションの場合も調製から 6 時間経過するとクリーミングが生じていたが、ヘキサンよりもクリーミングの速度が低かった (Figure 3-2a)。調製後 2 日経過するとその濁度は 0 % になった (Figure 3-2b 中のプロット ■)。油剤にデカン、ドデカンを使用した EF-DEC/W エマルション、EF-DD/W エマルションの場合はそれぞれ調製後 1 日目、5 日目でクリーミングが生じ (Figure 3-2a)、それらの濁度は、EF-DEC/W エマルションでは調製 4 日後で 0 % (Figure 3-2b 中のプロット ▲)、EF-DD/W エマルションでは調製後 7 日後で約 20 % になった (Figure 3-2 b 中のプロット ○)。テトラデカン、ヘキサデカンを用いて調製した EF-TD/W エマルション、EF-HD/W エマルションは調製後 5 日目位までほとんどクリーミングが観測されなかった (Figure 3-2a)。調製後 7 日経過しても、EF-TD/W エマルションの濁度は約 60 % (Figure 3-2b 中のプロット □)、EF-HD/W エマルションの濁度は 80 % であった (Figure 3-2b 中のプロット △)。これらの結果から、炭化水素を油剤とした EF-HDC/W エマルションの分散安定性は、油剤のアルキル鎖が長くなるほど、その EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなることが確認された。

分散質に脂肪酸を使用した EF-FA/W エマルションについて、オレイン酸を用いた EF-OA/W エマルションとリノール酸を用いた EF-LA/W エマルションは超音波照射後 5 日目にクリーミングが確認され (Figure 3-3a), 調製後 30 日経過した EF-OA/W エマルションの濁度は約 40 %, EF-LA/W エマルションの濁度は約 70 %まで低下した (Figure 3-3b).

これらの結果から, HPBath-US で調製された EF-O/W エマルションは, 油剤の種類によってその分散安定性が異なり, EF-HDC/W エマルション<EF-FA/W エマルション<EF-VEG/W エマルションの順に分散安定性が高くなることがわかった.

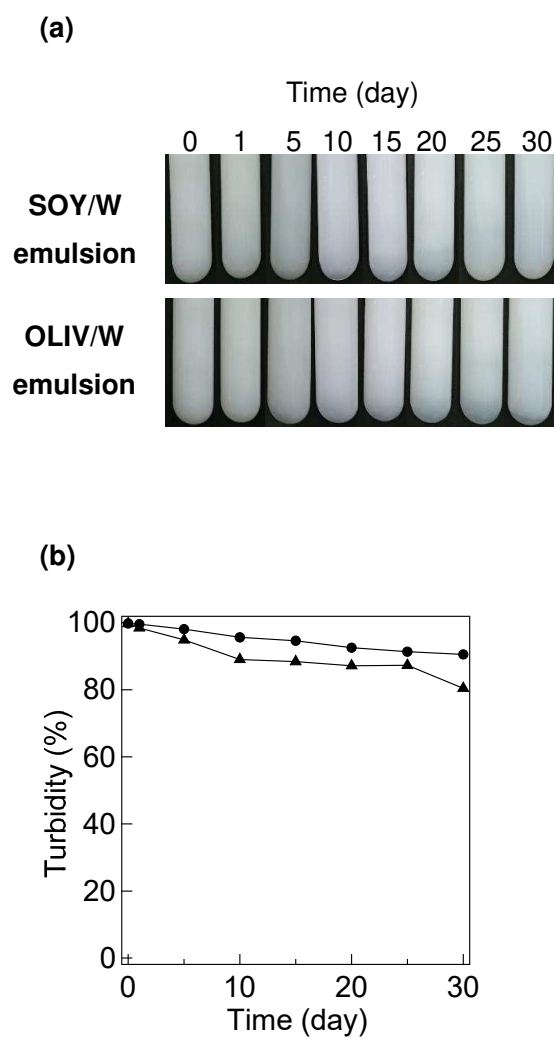


Figure 3-1. (a) Change over time of EF-VEG/W emulsions after 30 days of preparation. Upper line shows soybean oil and lower line olive oil. (b) Turbidity changes of (●) EF-SOY/W emulsion and (▲) EF-OLIV/W emulsion with elapsed time after preparation for 30 days.

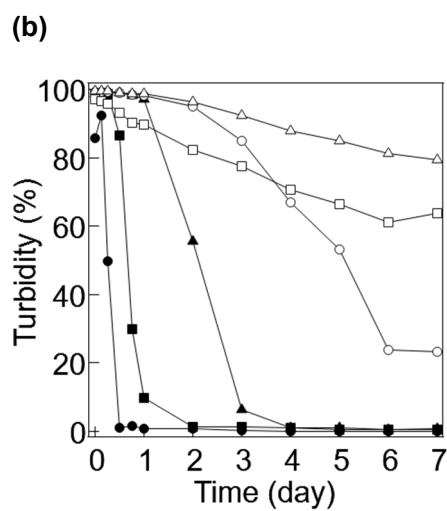
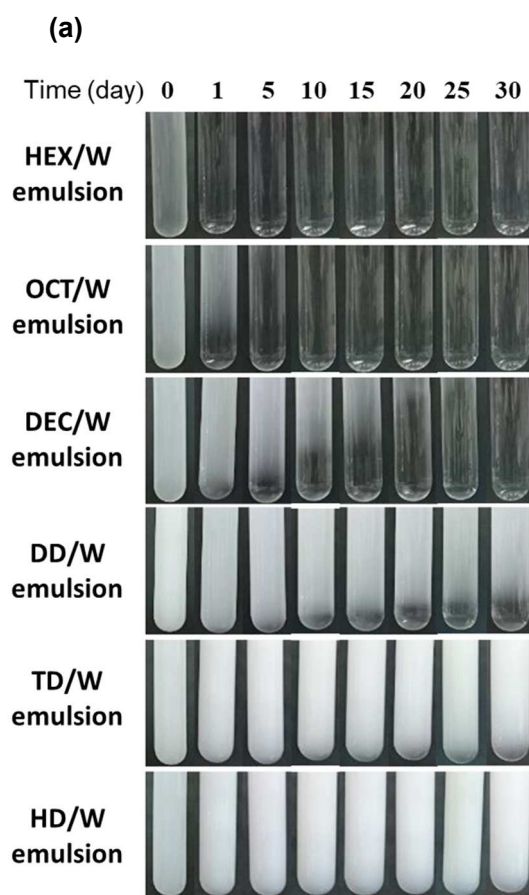
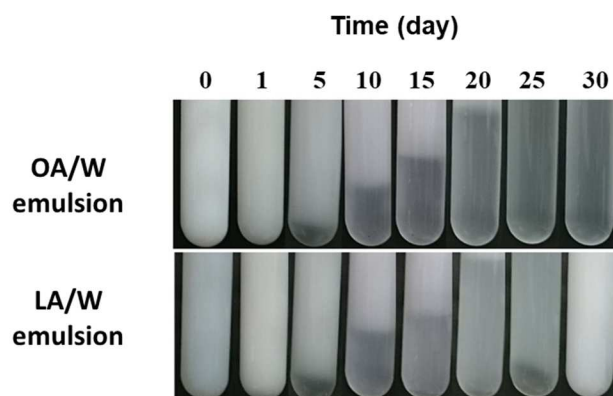


Figure 3-2. (a) Time course changes in EF-HDC/W emulsions after preparation. (b) Turbidity changes for 7 days after preparation of EF-HDC/W emulsion: (●) HEX, (■) OCT, (▲) DEC, (○) DD, (□) TD, and (△) HD/W emulsions.

(a)



(b)

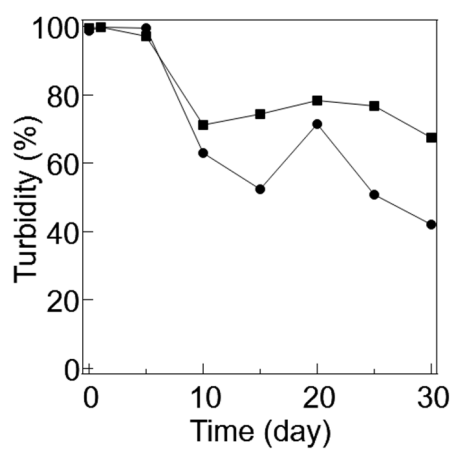


Figure 3-3. (a) Time course changes in EF-FA/W emulsions after preparation. (b) Turbidity changes of (●) EF-OA/W emulsion and (■) EF-LA/W emulsion with elapsed time after preparation.

3.3.2 EF-O/W エマルションの分散安定性に及ぼす油剤の物性値の影響

3.3.2.1 油剤の物性値と分散安定性の関係

分散質の油剤の種類によって EF-O/W エマルションの分散安定性が異なることが明らかになった。その理由を検討するために、油剤の物性値である密度、粘度、水との界面張力と EF-O/W エマルションの分散安定性の関係性を検討した。調製後 5 日目に測定した EF-O/W エマルションの濁度 (Turbidity@5d) と、油剤の密度、粘度、および油剤と水の界面張力との関係性を確認したところ、油剤の密度が約 0.8 g cm^{-3} より高く、油剤の粘度が約 20 mPa s より高く、水と油剤の界面張力が約 50 mN m^{-1} より低い場合に EF-O/W エマルションの分散安定性が高いことが明らかとなった (Figure 3-4)。

3.3.2.2 油滴の粒子径と分散安定性の関係

EF-O/W エマルション中の油滴の初期粒子径と油剤の物性値との関係性を検討したところ、分散安定性と同様に、使用する油剤の密度が高いほど、また粘度が高いほど、水との界面張力が低いほど、EF-O/W エマルションの初期粒子径が小さいことが明らかになった (Figure 3-5, Figure 3-6, Figure 3-7, Figure 3-8)。

エマルションの分散安定性と粒子径の関係はストークスの式 (Eq. 1-3) によって説明することができる。EF-O/W エマルションの場合、分散安定性の低下にかかわる因子の一つであるクリーミング速度は分散質である油滴の半径 r の 2 乗に比例するため、油滴の粒子径が小さい EF-O/W エマルションのクリーミング速度が低くなり分散安定性が高くなったと考えられる (Figure 3-9)。

密度、粘度が高く界面張力が低い油剤を用いた EF-O/W エマルションの油滴の初期粒子径が小さくなった理由について検討した。これはラプラス圧 (Laplace pressure) の観点から説明することができる。ラプラス圧とは、液体中の気泡など、液相や気相の界面が曲率を有するときに、界面の外圧と内圧に生じる圧力差のことを表し、次式 (Young-Laplace equation) (Eq. 3-1) で表現される[15, 16]。

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r} \quad (\text{Eq. 3-1})$$

ここで ΔP はラプラス圧、 γ は界面張力、 r は油滴の半径である。Eq. 3-1 より、液滴の半径を小さくするためには、その半径におけるラプラス圧を上回る外力を加える必要がある。一方で、界面張力が小さいほど油滴のラプラス圧が低下する。このことから、界面張力の低い油剤を使用した EF-O/W エマルションの油滴の粒子径が小さくなった理由は、界面張力が低いためにラプラス圧が小さくなり、形成される油滴の粒子径が小さくなったためと考えられる。

3.3.2.3 油剤の密度と分散安定性の関係

油剤の密度と EF-O/W エマルションの分散安定性の関係について検討を行った。密度とエマルションの分散安定性の関係についてもストークスの式 (Eq. 1-3) から議論することができる。クリーミング速度は分散質と分散媒の密度差と比例関係にある。分散質である油剤の密度が増加すると分散媒である水との密度差が小さくなり、結果として油滴の浮上速度は低くなる (Figure 3-8a)。すなわち、油剤の密度が高いほど EF-O/W エマルションのクリーミングが抑制され、EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなったと考えられる。

3.3.2.4 油剤と水界面の界面張力と分散安定性の関係

油剤と水の界面張力が低い油剤を分散質とした EF-O/W エマルションは、油滴の初期粒子径が小さいために分散安定性が高かった。そこで、油剤と水界面の界面張力と油滴の初期粒子径の関係について検討した。まず、3.3.2.2 に述べたように、水と油の界面張力が低い場合、ラプラス圧 (Eq. 3-1) が小さくなるので、小さな液滴を形成することができる。エマルションの分散安定性が高くなるためには、形成された小さな油滴が安定化される必要があるが、これは油剤と水の界面張力 γ と界面自由エネルギー G の関係から説明することができる (Eq. 1-1)。油剤と水の間の界面張力 γ が低い場合、油滴が小さく界面積 S が大き

くても界面自由エネルギー G を低く保つことができるため、油滴の粒子径が小さく維持される。これらのことから、水との間の界面張力が低い油剤の方が EF-O/W エマルションの分散安定性が高かったと考えられる。

3.3.2.5 オストワルドライプニングと分散安定性の関係

エマルションの不安定化の要因の一つであるオストワルドライプニングについても検討を行った。オストワルドライプニングは小さな油滴と大きな油滴のポテンシャルエネルギーの差（水に対する油剤の溶解度）を駆動力として生じる現象で、Eq. 1-10, Eq. 1-11, Eq. 1-12 のケルビン式、オストワルドーフロイントリッヒ式、LSW 理論から説明することができる。ここで、EF-O/W エマルションの分散安定性と油剤の水に対する溶解度との関係性を、ヒルデブランド溶解度パラメータ (Eq. 1-14, Eq. 1-15) δ を用いて検討した。Eq. 1-14, Eq. 1-15 によって見積もられた δ 値を Table 3-2 に記載した。 δ 値に対して EF-O/W エマルションの Turbidity@5d をプロットしたところ、 δ 値が約 15 より低いと EF-O/W エマルションは分散安定化することがわかった (Figure 3-10)。溶媒の δ 値と溶質の δ 値の差が小さいと溶解度が高いことが経験的に知られており、水となじみにくい疎水性の油にも溶解度の序列があることが伺える。すなわち、EF-O/W エマルションの分散質に使用される油剤の δ 値が小さいほど水に対する溶解度が低く、オストワルドライプニングの進行が抑制され、その結果 EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなったことがわかった。

3.3.2.6 油滴界面の静電的反発と分散安定性の関係

EF-O/W エマルションの分散安定性に対する油滴間の静電的反発力（油滴間のゼータ電位）の影響について検討した。EF-O/W エマルションの分散安定性は油滴間の静電的反発力 (V_R) (Eq. 1-6) の増加と共に上昇する。界面活性剤のような乳化剤を使用していなくても O/W エマルション中の油滴は負に帯電していることや、EF-O/W エマルションは-30 mV から-60 mV 程度の負の表面電位（ゼータ電位）を持つことが報告されている。この EF-O/W エマルション中の油滴のゼータ電位は、水由来のヒドロキシイオン (OH^-) の油滴表

面への吸着に起因しているものと考えられている[5, 6, 10, 17-22]. EF-O/W エマルションのゼータ電位を測定すると、どの油剤も約-30 mV から-50 mV 程度のゼータ電位を示した (Figure 3-11). EF-O/W エマルションの油滴表面のゼータ電位は、油滴同士の反発に寄与し、エマルションは分散安定化すると考えられる。しかし、測定されたゼータ電位と EF-O/W エマルションの分散安定性との関係性を確認したところ、両者に相関はみられなかった (Figure 3-11)。ゼータ電位は EF-O/W エマルションの分散安定性にかかわっているものの、油滴によるクリーミング抑制や界面自由エネルギー、低い溶解度によるオストワルドライプニングの抑制が優先的に分散安定化に寄与していたと考えられる。以上のことから、EF-O/W エマルションの油滴のゼータ電位は油種に依存しておらず、油滴間の静電的反発作用は EF-O/W エマルションの分散安定性の違いに寄与していないことが明らかになった。

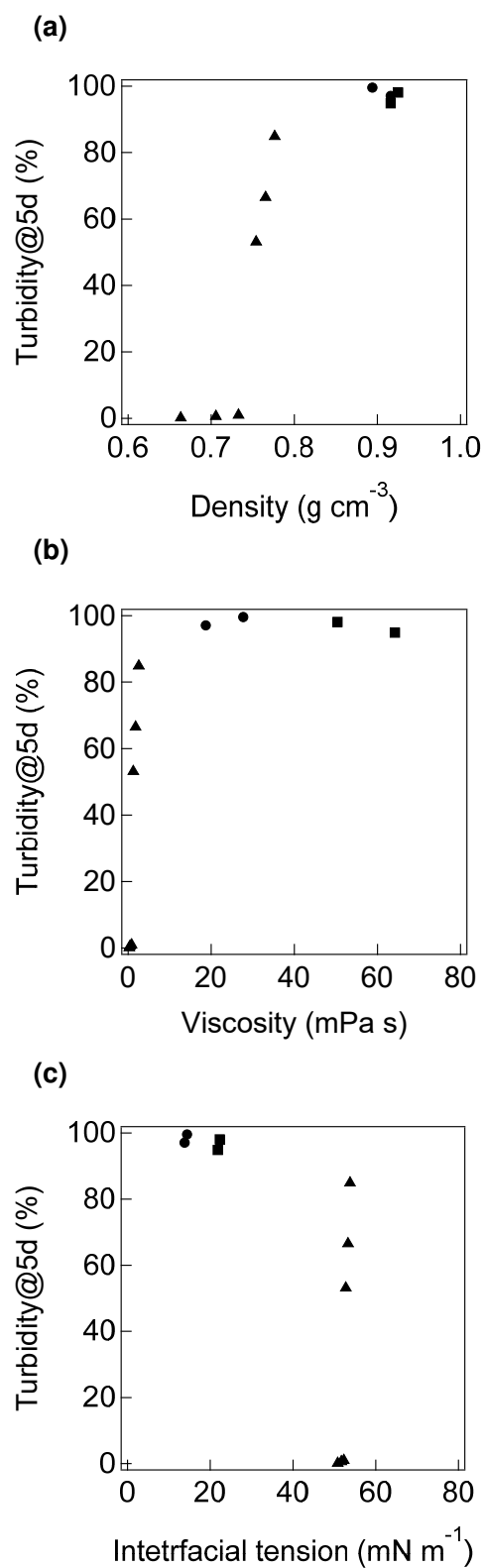


Figure 3-4. Turbidity of the EF-O/W emulsion at 5 days after preparation plotted as a function of (a) oil density, (b) oil viscosity, and (c) interfacial tension between oil and water: (●) fatty acids, (■) vegetable oils, and (▲) hydrocarbons.

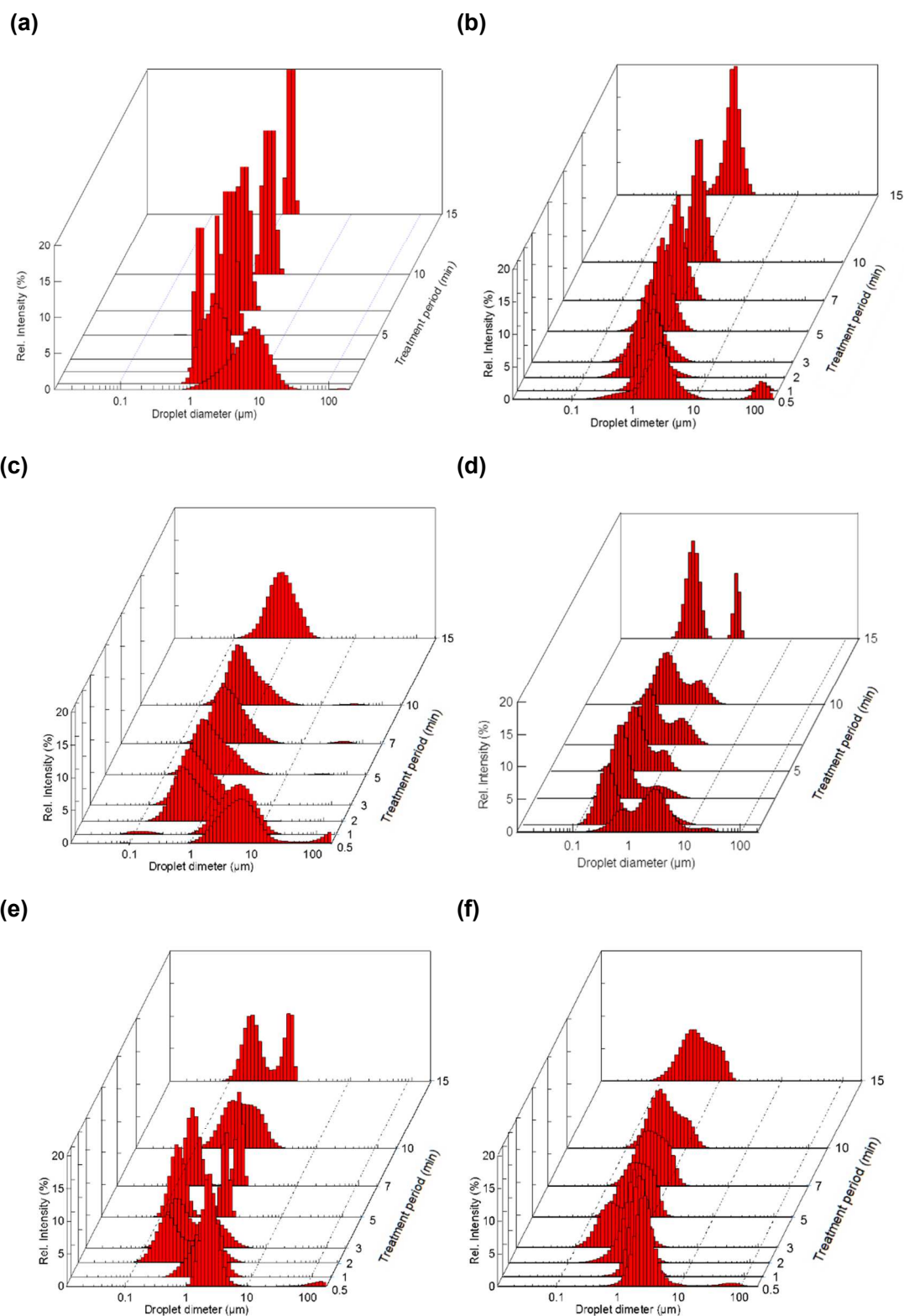


Figure 3-5. Droplet size distributions of (a) hexane, (b) octane, (c) decane, (d) dodecane, (e) tetradecane, and (f) hexadecane droplets in EF-O/W emulsions recorded with treatment period.

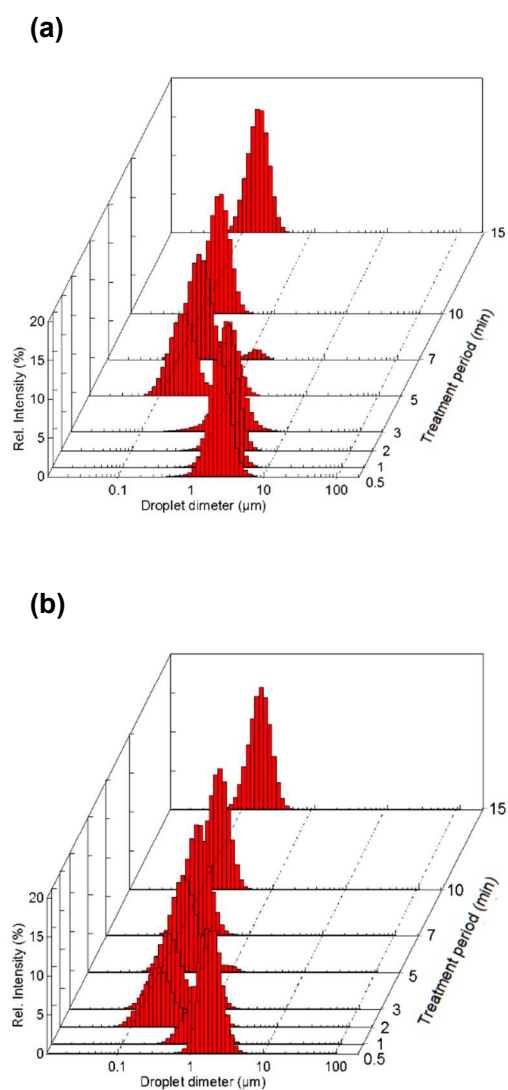


Figure 3-6. Droplet size distributions of (a) oleic acid and (b) linoleic acid droplets in EF-O/W emulsions recorded with treatment period.

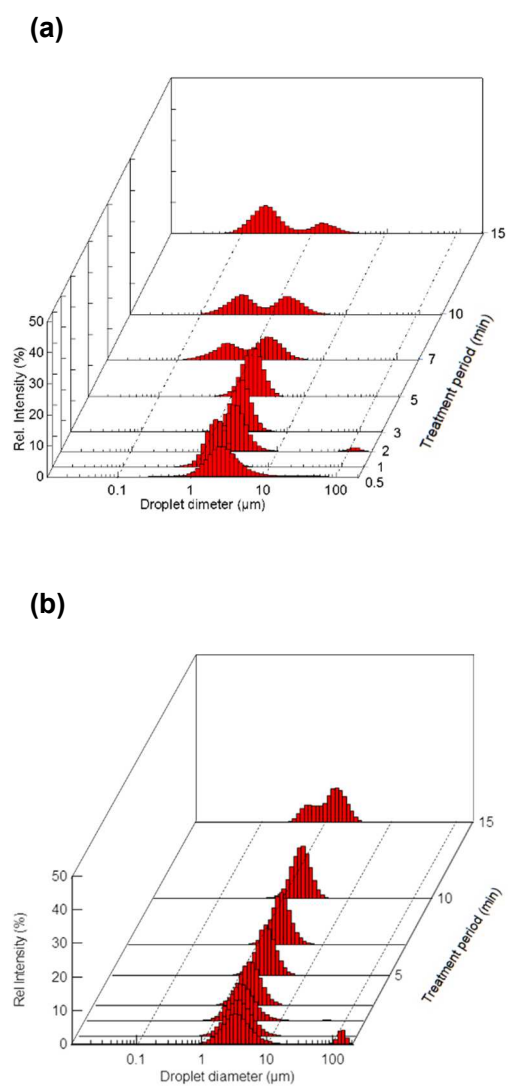


Figure 3-7. Droplet size distributions of (a) soybean oil, (b) olive oil droplets in EF-O/W emulsions recorded with treatment period.

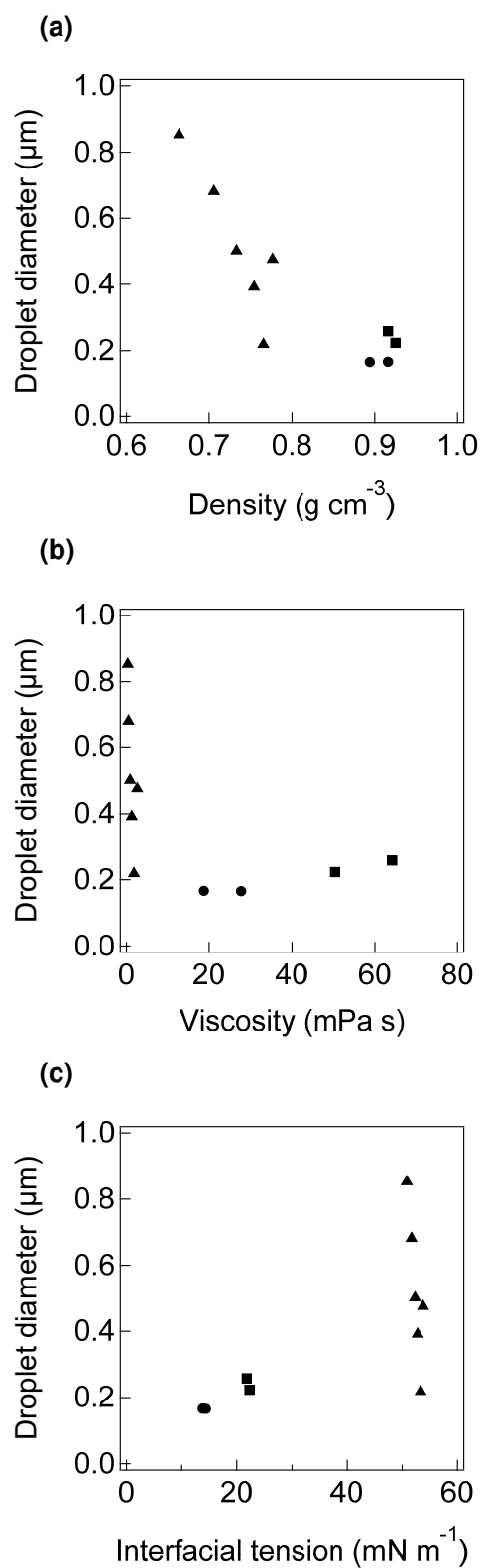


Figure 3-8. Average diameter of oil droplets in EF-O/W emulsions plotted as a function of (a) oil density, (b) oil viscosity, and (c) interfacial tension between oil and water: (●) fatty acids, (■) vegetable oils, and (▲) hydrocarbons.

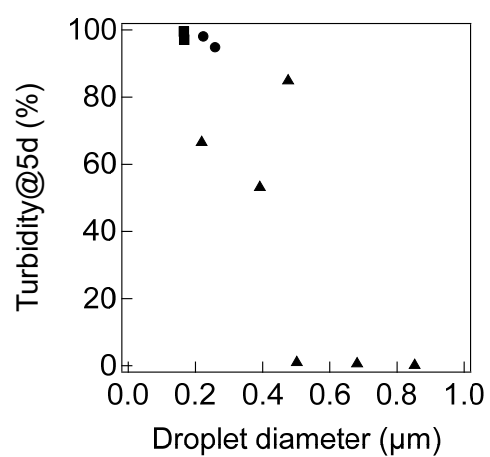


Figure 3-9. Turbidity of EF-O/W emulsion at 5 days after preparation plotted as a function of average diameter of oil droplets in (●) EF-FA/W emulsion, (■) EF-VEG/W emulsion, and (▲) EF-HDC/W emulsion.

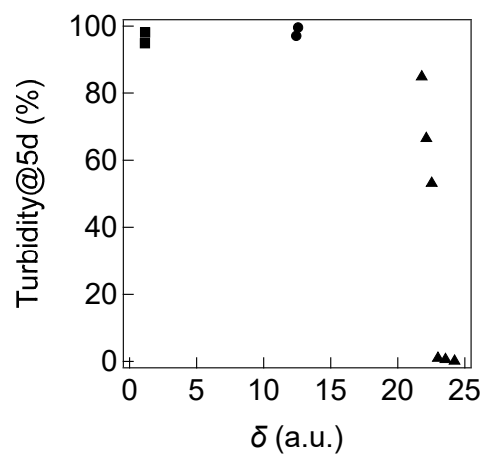


Figure 3-10. Turbidity of EF-O/W emulsion at 5 days after preparation plotted as a function of Hildebrand solubility parameters of (●) fatty acids, (■) vegetable oils, and (▲) hydrocarbons.

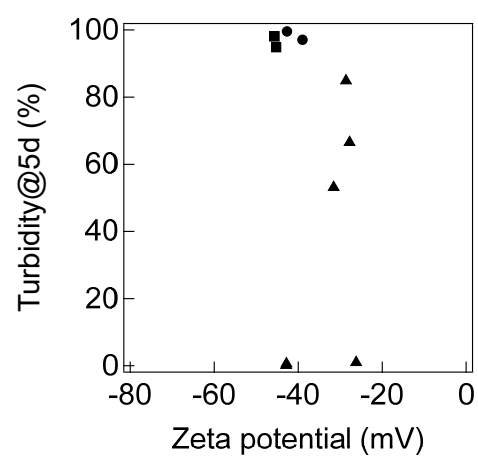


Figure 3-11. Turbidity of EF-O/W emulsion at 5 days plotted as a function of zeta potential of oil droplets in (●) EF-FA/W emulsion, (■) EF-VEGH/W emulsion, and (▲) EF-HDC/W emulsion.

3.4 まとめ

第2章で確認した EF-O/W エマルションの調製に有効な HPBath-US を用いて植物油を分散質とした EF-O/W エマルションを調製し、その分散安定性を評価した。その結果、植物油を分散質として用いた EF-VEG/W エマルションは分散安定性が高いことがわかった。また、使用した油剤の密度が約 0.8 g cm^{-3} より高く、粘度が約 20 mPa s より高く、油剤と水の間の界面張力が約 50 mN m^{-1} より低い場合に、EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなることが明らかになった。油剤の密度や粘度が高く、界面張力が低い場合、ラプラス圧や界面自由エネルギーの観点から EF-O/W エマルションの油滴は微細化され、クリーミングが抑制されることにより分散安定性が高く維持されていることが明らかとなった。また、水と油界面張力から計算されたヒルデブランド溶解度パラメータ（油剤の水に対する溶解度）が低いほど（15 以下）EF-O/W エマルションの分散安定性が高いことがわかった。溶解度の低さはオストワルドライプニング進行速度を抑制する方向に働くため、ヒルデブランド溶解度パラメータと EF-O/W エマルションの分散安定性の相関があると考えられる。一方で EF-O/W エマルションの油滴の静電的反発力（ゼータ電位）は油剤による分散安定性の違いとの関連性が無いこともわかった。

以上のことから、細かい油滴を有する EF-O/W エマルションを調製し、長期分散化させるためには、密度、粘度が高く、水との界面張力が低く、水に対する溶解度の低い植物油のような油剤を使用することが有効であることが明らかになった。エマルション製品に使用されることの多い植物油を分散質とする EF-O/W エマルションの分散安定性が高いことは、EF-O/W エマルションの実用化の可能性を感じさせる結果であった。この章の結果は、EF-O/W エマルションの実用化に有用な油剤の選択において有用な知見の一つになると考えられる。

References

1. 日本油化学会, 油化学辞典: 脂質・界面活性剤. 2004: 丸善.
2. 佐藤清隆, 上野聡, 脂質の機能性と構造・物性: 分子からマスカラ・チョコレートまで. 2011: 丸善出版.
3. Sakai, T., Kamogawa, K., Nishiyama, K., Sakai, H., Abe, M., *Molecular diffusion of oil/water emulsions in surfactant-free conditions*. Langmuir, 2002. **18**(6): p. 1985-1990.
4. Kamogawa, K., Sakai, T., Momozawa, N., Shimazaki, M., Enomura, M., Sakai, H., Abe, M., *Evolution and Growth of Oil Droplets in Emulsifier-free, Metastable Aqueous Solutions: A Light Scattering and Conductive Probe Study*. J. Jpn. Oil Chem. Soc., 1998. **47**(2): p. 159-170.
5. Sakai, T., Kamogawa, K., Harusawa, F., Momozawa, N., Sakai, H., Abe, M., *Direct observation of flocculation/coalescence of metastable oil droplets in surfactant-free oil/water emulsion by freeze-fracture electron microscopy*. Langmuir, 2001. **17**(2): p. 255-259.
6. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Abe, M., Kondow, T., *Monitoring Growth of Surfactant-Free Nanodroplets Dispersed in Water by Single-Droplet Detection*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(13): p. 2921-2926.
7. Sakai, T., *Surfactant-free emulsions*. Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2008. **13**(4): p. 228-235.
8. Kamogawa, K., Matsumoto, M., Kobayashi, T., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilizing Effects of n-Hexadecane on Tetralin and Benzene Metastable Droplets in Surfactant-Free Conditions*. Langmuir, 1999. **15**(6): p. 1913-1917.
9. Kamogawa, K., Akatsuka, H., Matsumoto, M., Yokoyama, S., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Surfactant-free O/W emulsion formation of oleic acid and its esters with ultrasonic dispersion*. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 2001. **180**(1-2): p. 41-53.
10. Kamogawa, K., Kuwayama, N., Katagiri, T., Akatsuka, H., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilization in Water of Droplets of Hydrophobic Organic Liquids with the*

- Addition of Hydrophobic Polymers*. Langmuir, 2003. **19**(10): p. 4063-4069.
11. Kamogawa, K., Okudaira, G., Matsumoto, M., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Preparation of oleic acid/water emulsions in surfactant-free condition by sequential processing using midsonic-megasonic waves*. Langmuir, 2004. **20**(6): p. 2043-2047.
 12. Sakai, T., Seo, K., *Colloidal Stability of Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Effect of Oil Property*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2014. **87**(11): p. 387-392.
 13. Sakai, T., Urabe, S., Seo, K., *Emulsifier-free Water-in-Oil Emulsions: Colloidal Stabilization by Vegetable Oil*. J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2016. **89**(10): p. 333-339.
 14. Sakai, T., Oishi, T., *Colloidal stabilization of surfactant-free emulsion by control of molecular diffusion among droplets*. J. Taiwan Inst. Chem. Emgrs., 2018. **92**: p. 123-128.
 15. Hiemenz, P. C., Rajagopalan, R., *Principles of Colloid and Surface*, Hiemenz, P. C., Rajagopalan, R., 1977. Marcel Dekker Inc.: New York. p. 257-259.
 16. 日本油化学会, 「界面と界面活性剤」編集委員会, *界面と界面活性剤: 基礎から応用まで*. 改訂第2版 ed. 2009: 日本油化学会. xi, 345p.
 17. Taylor, A. J., Wood, F. W., *Electrophoresis of hydrocarbon droplets in dilute solutions of electrolytes*. Trans. Faraday Soc., 1957. **53**: p. 523-529.
 18. Pashley, R. M., *Effect of degassing on the formation and stability of surfactant-free emulsions and fine teflon dispersions*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(7): p. 1714-1720.
 19. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Kondow, T., *Surface Properties of Surfactant-Free Oil Droplets Dispersed in Water Studied by Confocal Fluorescence Microscopy*. J. Phys. Chem. B, 2004. **108**(20): p. 6359-6364.
 20. Marinova, K. G., Alargova, R. G., Denkov, N. D., Velev, O. D., Petsev, D. N., Ivanov, I. B., Borwankar, R. P., *Charging of Oil-Water Interfaces Due to Spontaneous Adsorption of Hydroxyl Ions*. Langmuir, 1996. **12**(8): p. 2045-2051.
 21. Stachurski, J., Michalek, M., *The Effect of the z potential on the Stability of a Non-Polar Oil-in-Water Emulsion*. J. Colloid Interface Sci., 1996. **184**(2): p. 433-436.

22. Beattie, J. K., Djerdjev, A. M., *The Pristine Oil/Water Interface: Surfactant-Free Hydroxide-Charged Emulsions*. Angew. Chem. Int. Ed., 2004. **43**(27): p. 3568-3571.

第4章 乳化剤フリーO/W エマルションの分散安定性に及ぼす温度の影響

4.1 はじめに

O/W エマルション、W/O エマルション、およびその技術は食品、化粧品、医薬品、化成品などの製品そのものや、製造工程へと幅広く実用化、応用されている[1-3]。その理由は、エマルションは水と油の双方のメリットを付与できる有用な技術・素材であるためである。例えば、O/W エマルション食品であるマヨネーズには醸造酢が使用されており、そのままでは刺激が強く食用に適さない。ここに卵や植物油を加えてエマルションにすることにより、油特有のコク味を付与して美味しくするだけでなく、醸造酢の刺激を和らげるような付加価値を高めることができる。

エマルションは熱力学的に不安定なため、エマルション製品は界面活性剤や両親媒性ポリマー等の乳化剤、安定剤を用いて調製、保存されることが一般的である。他方、近年注目が集まっている乳化剤フリーエマルション製品は、乳化剤を使用しないため分離してしまい調製や保存が難しい。実際に乳化剤フリーエマルション製品を製造し、保存するためには、圧力や pH、温度変化などの外的要因が乳化剤フリーエマルションの分散安定性に及ぼす影響を確認する必要がある。

第3章の検討では、EF-O/W エマルションに使用する油剤の種類やパラメータによって乳化、分散安定性が異なることが明らかになった。特に、油剤の密度や粘度が高く、水との界面張力や水に対する溶解度（ヒルデブランド溶解度パラメータ）の低い植物油を使用した EF-O/W エマルションは分散安定性が高かった。植物油は油脂単体だけでなくエマルションなどの加工品としても広く使用されており、我々の生活にも身近でなじみ深い油剤である。そこで本章では、エマルションの調製・保存過程において分散安定性に影響を及ぼす温度に注目し、トリオレイン（TO）を油剤に使用して調製した EF-TO/W エマルションの分散安定性と温度の関係を調査した。TO は脂肪酸の一種であるオレイン酸 3 分子がグリセリンにエステル結合したトリアシルグリセライド（Triacylglyceride, TG, TAG）の 1 つ

で、オリーブ油などの植物油脂に多く含まれており、それ故に医薬品や化粧品、食品など様々なところで使用されている[4]。また、TGは結晶多型現象（polymorphism）を持ち、温度条件はTGの結晶相変化に影響する[5]。TGを含む製品の品質は製造・保存時の温度により大きく左右されるため、TGを含むエマルション製品の製造、保管工程において、温度管理は非常に重要な項目の一つとなっている[6, 7]。

4.2 実験

4.2.1 EF-TO/W エマルションの調製

TO ($\text{C}_{57}\text{H}_{104}\text{O}_6$, > 99 %, Merck KGaA) 0.1 mL と超純水 200 mL をフラスコに入れ、高出力バス型超音波照射機（HPBath-US）にて 5 分間 28 kHz（300W）の条件下で超音波を照射し乳化を行った。乳化処理はウォーターバスの温度をそれぞれ 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 °C に設定した温度条件下で実施された。調製後のエマルションを試験管、およびガラスセルに入れ、調製温度と同じ温度帯の恒温機（15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 °C）に入れて 30 日間静置した。

4.2.2 EF-TO/W エマルションの分散安定性の評価

EF-TO/W エマルションの分散安定性は、静置した EF-O/W エマルションの濁度を目視、および紫外可視分光光度計（V-630, 日本分光株式会社）を用いて測定することで評価された。試験管に入れた EF-TO/W エマルションは目視観察に、ガラスセルに入れた EF-TO/W エマルションは濁度測定に用いられた。濁度測定に使用した波長は 700 nm, 測定温度は調製温度、保存温度（15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 °C）に準じた。紫外可視分光光度計の光路はガラスセルの底部から 5 mm の高さを通過し、EF-TO/W エマルションのクリームングによる濁度の低下を分散安定性の指標とした。

4.2.3 トオレインの物性評価

15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 °C 各温度における水、および TO の密度測定は標準比

重計（19-4，アズワン株式会社）を用いて実施された。また，各温度における水と TO 間の界面張力は CBVP-A3（協和界面科学株式会社）を使用したウィルヘルミー法（Wilhelmy method）にて測定された。

TO の温度に対する応答は示差走査熱量測定（Differential Scanning calorimetry, DSC）を用いて測定された。使用した DSC は熱流束型（Q200，ティー・エイ・インスツルメント・ジャパン株式会社）のものをを用いた。

4.2.4 エマルション物性の評価

調製，保存温度と同じ 15，20，25，30，35，40，50，60 °C 各温度における EF-TO/W エマルション中の TO 液滴のゼータ電位を測定した。測定は Zetasizer Nano（スペクトリス株式会社）を用い，電気泳動散乱法（electrophoretic light scattering method, ELS）によって行われた。EF-TO/W エマルションの TO 液滴の粒子径（メディアン径）測定は LA-950（株式会社堀場アドバンステクノ）によるレーザー回折法にて行われた。粒径測定時の温度も各エマルションサンプルの調製，保管温度に準じた。

4.3 結果および考察

4.3.1 EF-TO/W エマルションの分散安定性に及ぼす温度の影響

水，TO 共に単体では透明であるが，超音波を 5 分照射した後は全体的に白濁しており，EF-TO/W エマルションの生成が確認された（Figure 4-1）。調製後静置した EF-TO/W エマルションを温度別に比較してみると，15，20，30 °C で保管した静置 30 日後の EF-TO/W エマルションの底部は白濁が他の温度帯よりも少し薄くなっていることが確認された。この白濁変化には勾配があり，EF-TO/W エマルションの白濁部分は主に容器上部に集まり，容器底部付近が少し透明になった（Figure 4-1）。その一方で調製，保存が 40 °C 以上の温度帯の EF-TO/W エマルションは調製後 30 日経過しても白濁に大きな変化は確認されなかった（Figure 4-1）。紫外可視分光光度計による温度と経過日数，濁度変化に注目すると，調製，保管温度が 15，20，35 °C の EF-TO/W エマルションの濁度が保管日数の経過とともに減少

していく傾向が確認された (Figure 4-2 中のプロット○, ●, △). 加えて, 25 °C と 30 °C の濁度はさらに大きく減少した (Figure 4-2 中のプロット□, ■). 対照的に, 40 °C 以上の EF-TO/W エマルションの濁度は目視の結果と同じくほとんど変化が見られなかった (Figure 4-2 中のプロット▲, ▽, ▼). 調製後 20 日経過した EF-TO/W エマルションの濁度に対し調製, 保管温度をプロットすると, 15 °C から 25 °C にかけて濁度が低下, 25 °C から 40 °C にかけて濁度が上昇, および 40 °C 以上で白濁を維持していた (Figure 4-3). すなわち, EF-TO/W エマルションの分散安定性は 15 °C から 25 °C へ温度が上昇すると減少し, 25 °C から 40 °C へ温度が上昇すると分散安定性が上昇する結果となった. 15 °C から 25 °C へ温度が上昇すると分散安定性が低下する理由は, 温度上昇に伴う熱運動 (ブラウン運動) 増加による TO 液滴の衝突頻度の増加や, 温度上昇に伴う TO の水に対する溶解度の上昇に起因するオストワルドライピングの進行 (Eq. 1-10, Eq. 1-11, Eq. 1-12) が原因であると考えられる. 比較のために, EF-TO/W エマルションと同温度条件でドデカン (DD), ヘキサデカン (HD) を用いて調製した EF-DD/W, EF-HD/W エマルションの調製後 5 日目の濁度を, エマルションの調製, 保存温度に対してプロットした (Figure 4-4). EF-DD/W エマルション, EF-HD/W エマルションは双方とも温度上昇と共に濁度が低下し, 分散安定性が低下した. この結果は, 15 °C から 25 °C の温度上昇に伴い EF-TO/W エマルションの分散安定性が低下する結果と合致しており, 温度上昇に伴うブラウン運動, オストワルドライピングの影響で生じた結果と解釈される.

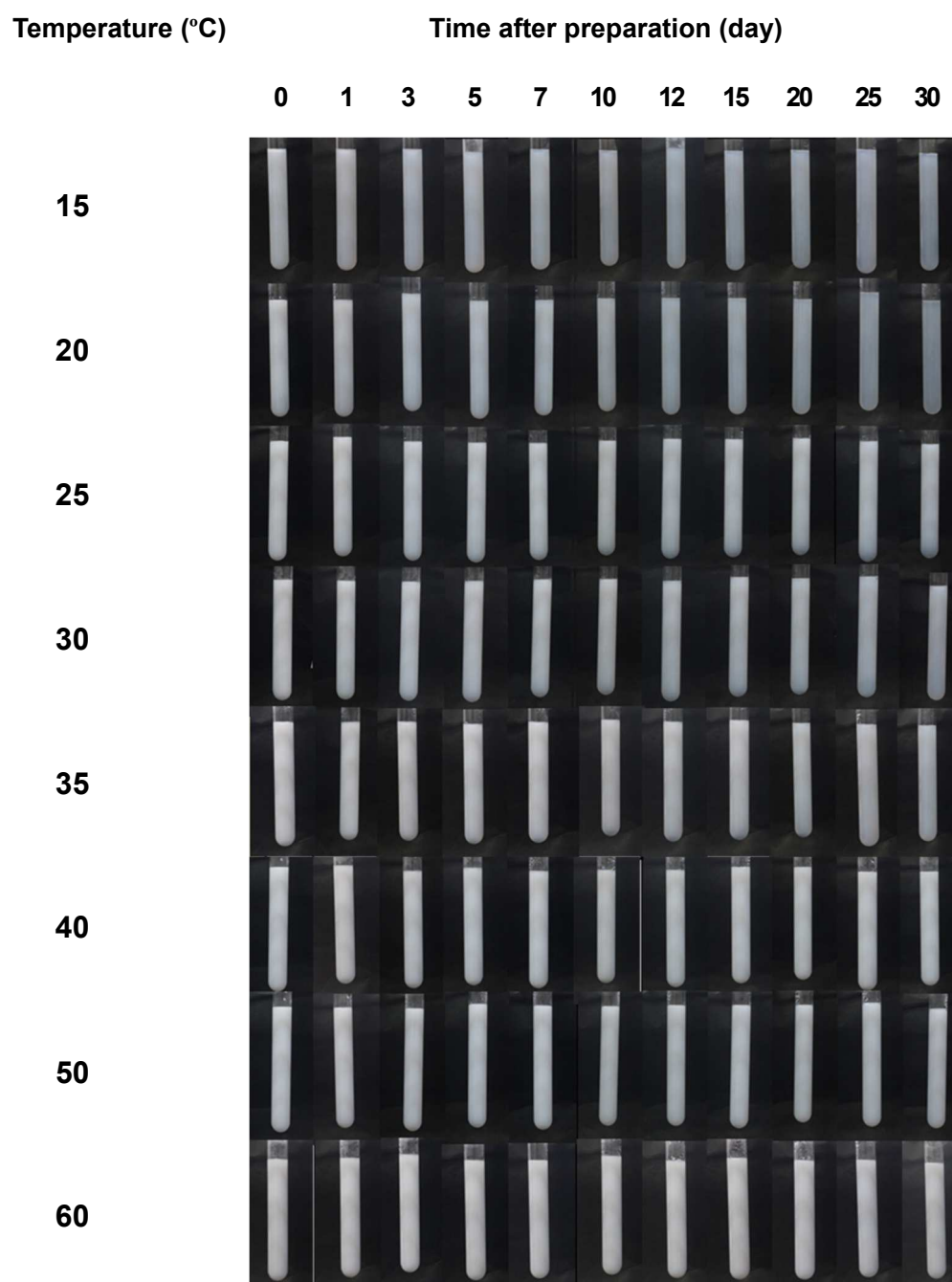


Figure 4-1. Time course changes in EF-TO/W emulsions prepared and stored at 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, and 60 °C.

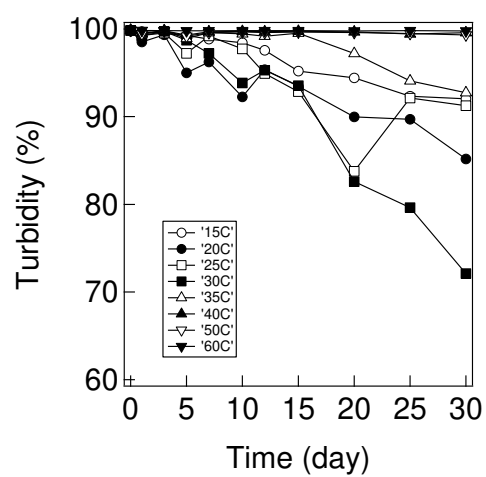


Figure 4-2. Time course changes in turbidity of EF-TO/W emulsion prepared and stored at (○) 15, (●) 20, (□) 25, (■) 30, (△) 35, (▲) 40, (▽) 50, and (▼) 60 °C.

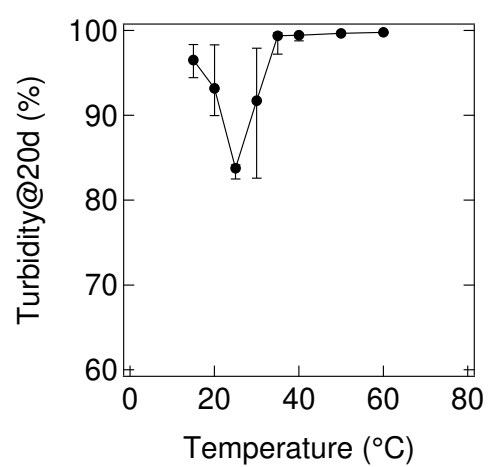


Figure 4-3. (●) Turbidity of EF-TO/W emulsions at 20 days after preparation plotted as a function of temperature. Error bar represents the minimum and maximum turbidity of EF-TO/W emulsions in each measurement ($n = 3$) at 20 days after preparation.

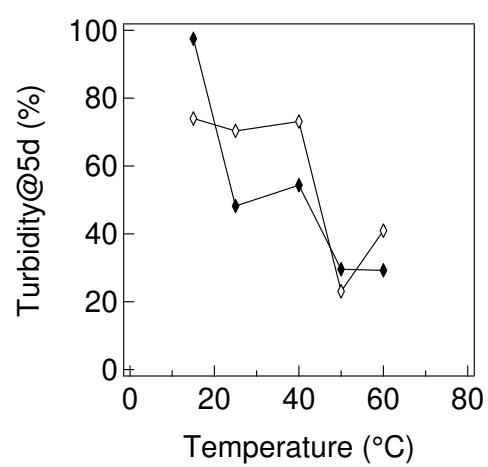


Figure 4-4 Turbidity of (◆) EF-Dodecane/W emulsion and (◇) EF-Hexadecane/W emulsion at 5 days after preparation plotted as a function of temperature.

4.3.2 EF-TO/W エマルションの分散安定性と EF-TO/W エマルションおよびトリオレインの物性値と温度との関係

4.3.2.1 油滴の粒子径と温度の関係

EF-TO/W エマルションの分散安定性が特異的な温度依存を示すメカニズムを理解するため、TO の物性値や EF-TO/W エマルションの物性値が EF-TO/W エマルションの分散安定性に及ぼす影響を検討した。

まず、EF-TO/W エマルションの 25 °C から 40 °C における温度上昇に伴った分散安定性の向上、および 40 °C 以上での高分散安定性維持と、エマルションの解乳化要因の一つであるクリーミングとの関連性を評価した。一般的にエマルション中の液滴はストークスの式 (Eq. 1-3) に則り、水と油の密度差から、O/W エマルションは油滴が上昇し、W/O エマルションでは水滴が沈降してクリーミング（または沈殿）が生じる。Figure 4-5 にレーザー回折法により測定された調製直後の EF-TO/W エマルションの TO 液滴の粒度分布を示す。EF-TO/W エマルションの粒子径の温度依存性をみると、15 °C から 35 °C の温度域での粒子径は約 2.0 μm 程度であったのに対し、40 °C 以上は約 1.7 μm 前後と少し小さな値であった (Figure 4-6a)。Eq. 1-3 より、クリーミング速度 u は油滴の半径 r の 2 乗に比例する。40 °C 以上の TO 液滴の粒子径は 35 °C 以下よりも小さいためにクリーミングは抑制されるが、粒子径の差は小さいため、クリーミングに与える寄与は無視できる程度であると考えられる。また、調製後 7 日間静置した EF-TO/W エマルションの TO 液滴の粒度分布や粒子径と温度の関係を確認すると、15 °C から 60 °C にかけてどの温度帯でも若干の粒子径の減少がみられるが、温度による差は確認されず、どの温度帯も類似していた (Figure 4-5, Figure 4-7)。しかし 25 °C から 40 °C における EF-TO/W エマルションの分散安定性の変化は、Figure 4-5, Figure 4-6a, Figure 4-7 に見られるような粒子径変化の温度依存性では説明ができない。以上の結果から、EF-TO/W エマルションの調製、保存温度が 25 °C から 40 °C のときの分散安定性の上昇、および 40 °C から 60 °C の間の分散安定性の維持と、EF-TO/W エマルションの TO 液滴の初期粒子径とは関連が無いと考えられる。

4.3.2.2 トリオレインと水の密度差と温度の関係

次に、温度に対する TO と水の密度差に注目した。15 °C から 60 °C にかけて密度差は約 0.08 g cm^{-3} から 0.09 g cm^{-3} へ僅かに上昇した (Figure 4-6b)。これは、物質は一般的に温度上昇と共に熱運動に伴う体積の膨張によって密度は減少していくが、水は水素結合を有するため分子間相互作用が強い一方、TO は水素結合のような強い結合をもたないため、分散相である水よりも TO の密度が低下したことが原因であると考えられる。しかし密度差の上昇は分散安定性に対して不利にはたらく (Eq. 1-3) ので、EF-TO/W エマルションの調製、保存温度が 25 °C から 40 °C における分散安定性の上昇、および 40 °C から 60 °C の間の分散安定化は、TO と水の密度差と関連がないことが明らかとなった。

4.3.2.3 トリオレイン油滴界面の静電的反発と温度の関係

TO 油滴界面の静電的反発と温度の関係が EF-TO/W エマルションの分散安定性へ及ぼす影響を検討するため、TO 油滴界面のゼータ電位の温度依存性について調べた。DLVO 理論によると、Eq. 1-4 で表される粒子間相互作用において、粒子の静電的反発 (Eq. 1-6) が強まると分散安定性は増加する。ゼータ電位は粒子間の静電的相互作用の指標となる値で、ゼータ電位の絶対値が上昇すると静電的反発が強くなり、粒子間の凝集が抑制されるためである。第 3 章でも述べた通り、乳化剤を使用しない場合でも O/W エマルションの液滴は負に帯電し[8]、EF-O/W エマルションのゼータ電位はおおよそ -30 mV から -60 mV 程度である[9-13]。EF-TO/W 中の TO 液滴のゼータ電位を測定してみると、実際にこちらも -30 mV から -60 mV 程度の負のゼータ電位を有しており、温度の上昇と共に徐々にその絶対値が減少していった (Figure 4-5c)。一方で EF-TO/W エマルションの分散安定性変化で確認されたような 25 °C から 40 °C の温度域における急激な変動は確認されなかった。よって、EF-TO/W エマルションの TO 油滴の静電的反発 (ゼータ電位) は EF-TO/W エマルションの分散安定性の温度特異性とは関係ないことがわかった。

4.3.2.4 トリオレインと水界面の界面張力と温度の関係

EF-TO/W エマルションの温度特異的な分散安定性の挙動と TO と水界面の界面自由エネルギー (G) の影響について検討を行うため、TO と水界面間の界面張力の温度依存性を調べた。Eq. 1-1 に表されるように界面自由エネルギーは界面張力 (γ) と界面積 (S) の積で表現される。界面積の変化を無視できる場合は界面張力によって界面自由エネルギーを評価できる。温度に対する TO と水界面の界面張力の値を測定したところ、35 °C から 40 °C にかけて界面張力が大きく低下していた (Figure 4-6d)。比較のために炭化水素系の油剤であるドデカン (DD)、ヘキサデカン (HD) についても水との界面張力を測定したが、TO に見られたような温度依存性は確認されなかった (Figure 4-8)。また、40 °C 以上で調製した EF-TO/W エマルションの TO 油滴の粒子径が 40 °C 以下の温度帯と比較して小さかったことも、界面張力が 40 °C 以上で急激に低下したことと関係があると考えられる (Figure 4-6a)。これらの結果から、EF-TO/W エマルションの調製、保存温度が 25 °C から 40 °C のときに分散安定性が上昇し、40 °C 以上で分散安定性が安定的に維持された理由は、TO と水の界面張力の低下による界面自由エネルギーの低下が原因であることが明らかとなった。

4.3.2.5 オストワルドライブニングと温度の関係

EF-TO/W エマルションの 25 °C から 40 °C における温度上昇に伴った分散安定性の向上や、40 °C 以上で分散安定性が高く維持されていた現象に対するオストワルドライブニングの影響について検討を行った。オストワルドライブニングは小粒子が分散媒中に拡散して大粒子に吸収されていく解乳化過程の一つで、Eq. 1-12 が示すようにオストワルドライブニングの進行速度は分散質の分散媒に対する溶解度によって理解することができる。TO は温度が上昇すると水に対する溶解度が高くなるため、温度が上昇すると TO 油滴のオストワルドライブニングが進行して EF-TO/W エマルションの分散安定性は低くなると想定される。しかし 25 °C から 40 °C に温度が上昇すると EF-TO/W エマルションの分散安定性は上昇し、更に 40 °C 以上で分散安定化していた。この結果から、25 °C から 40 °C における温度上昇に伴った分散安定性の向上および 40 °C 以上における分散安定化に、オストワルドライブ

ニングの影響は寄与していないと考えられる。

4.3.2.1 でも言及したように、EF-TO/W エマルション中の TO 油滴の粒度分布は、どの温度帯においても 7 日間経過後もあまり変化しなかった (Figure 4-5)。TO 液滴のメディアン径は、7 日間における経時変化において、どの温度帯でも約 2.2 μm から約 1.3 μm へ減少する傾向が見られた (Figure 4-7)。この経時変化における粒子径の減少は、TO 液滴のクリーミングによる浮上によって引き起こされている可能性が高い。時間経過による粒子径 (メディアン径) の減少は 15 $^{\circ}\text{C}$ から 60 $^{\circ}\text{C}$ にかけてすべての温度帯で同様の傾向を示していることから、クリーミングによって大きな TO 油滴は上昇し、浮上速度の遅いより微細な油滴がカウントされた結果と解釈された (Figure 4-7)。これらの結果も、25 $^{\circ}\text{C}$ から 40 $^{\circ}\text{C}$ における温度上昇に伴った分散安定性の向上や 40 $^{\circ}\text{C}$ 以上での高分散安定性にはオストワルドライプニングが関与していないという考察を支持するものである。

4.3.3 温度が変化することによるトリオレインと水の界面張力の低下要因

温度上昇に伴い TO と水の界面張力が低下した理由を検討するために、TO の DSC 測定を行った (Figure 4-9, Figure 4-11)。-33.4 $^{\circ}\text{C}$ 付近 (Figure 4-9 中の peak 1) と -13.7 $^{\circ}\text{C}$ 付近 (Figure 4-9 中の peak 2) に 2 つの発熱ピーク、3.2 $^{\circ}\text{C}$ 付近に大きな吸熱ピーク (Figure 4-9 中の peak 3) が確認された。TO のような TG は複数の結晶状態を持つ結晶多形 (polymorphism) が存在し、一般に結晶化条件の違いによって α 型、準安定相である β' 型、安定相の β 型が発生することが知られている (Figure 4-10) [5]。今回測定された DSC 曲線において、それぞれ Figure 4-9 中の peak 1 は TO の α 型結晶 から β' 型結晶 への結晶構造転移、Figure 4-9 中の peak 2 は β' 型結晶 から β 型結晶 への結晶構造転移、Figure 4-9 中の peak 3 は β 型結晶の融解ピークと想定される (Figure 4-9) [14]。一方で、Figure 4-9 中の peak 3 (融点) オフセット以降の領域を拡大すると、約 20 $^{\circ}\text{C}$ から 40 $^{\circ}\text{C}$ にかけて微弱ながらピークが確認された (Figure 4-11 中の peak 4)。ヒートフローの温度微分をとると、20 $^{\circ}\text{C}$ 付近からベースラインの熱異常が確認され、吸熱と発熱が重なった複雑なピークであることがわかった (Figure 4-11)。TO は融点以上の温度域でドメインのような構造体が複数種存在し、約

20 °Cから 40 °Cにかけて、温度上昇と共にドメイン構造の融解と別のドメイン構造への多形転移が連続して起こる融液媒介転移（melt-mediated crystallization）が生じていると考えられる。

油脂の一つである TG は、その融液中に TG 分子で構成されるミクロドメイン構造（クラスター）が存在し、その構造（相）は温度により変化されている[15-20]。例えば Larsson, Hernqvist らは小角 X 線回折等の結果から、融液中の TG の取りうる構造は不安定なパラメラ様（スメクチック相）構造を形成している、と主張している[15-17, 20]。Ueno, Akiyoshi らもシンクロトロン軌道放射光を用いた X 線回折法によって融液状態の SOS（*sn*-1,3-stearoyl-2-oleil-glycerol）に類似の結果が見られたことを報告した[21]。一方 Cebula らは TG の 1 種であるトリラウリンを重水素化したサンプルを用いて中性子回折を行ったところ、Larsson らの主張したパラメラ構造は確認されず、TG 分子によって構成されたネマチック相様のクラスター構造を形成しているのではないかと提案している[18]。また、Corkery らはモンテカルロ法を活用し、Cebula, Larsson, Hernqvist らの主張を踏まえた上で、低温側では TG の 3 本のアルキル鎖が h 型に配座した h 型状（h-conformation）でラメラを形成し（Figure 4-12a）、温度が上昇するにしたがって TG の 3 本鎖が 120°に開いて広がった Y 型状（Y-conformation）の TG 分子が、対称性を伴って円柱状に重なった‘ディスコティック相’を形成している可能性があるとして提案している（Figure 4-12b）[19]。他方、結晶多形を持つ TG は一度加熱により融解させても温度を一定以上上昇させずにいると融解前の結晶状態を鋳型のように記憶し、再冷却時にその結晶形を再現する、いわゆる‘メモリー効果’と呼ばれる現象が知られており[20]、チョコレート中に含まれるココアバターのような、複数の分子種が混在する植物油脂でも同様の効果が存在することがわかっている[22-24]。これらの報告からも、TO 融液中には、TG で報告されているような TO 分子からなるミクロドメイン構造が存在し、35 °C から 40 °C の温度変化を境にそのミクロドメイン構造に変化（相転移）が生じたと考えられる。

35 °C から 40 °C にかけて確認された TO と水の界面張力の低下の要因について、TO 融液中のクラスターのようなミクロドメイン構造にはたらく相互作用の観点から考察を行った。

TO の融点から 35 °C の間に存在すると想定されるドメイン構造（以下、低温側ドメイン）（Figure 4-12a）は、40 °C 以上へ温度が上昇することによって構造が変化したドメイン（以下、高温側ドメイン）（Figure 4-12b）と比較し、油分子間の熱運動が抑制されて分子間のパッキングが密になると想定される。また、分子間のパッキングが密になる（分子の電子密度が高くなる）と van der Waals 力のような分子間相互作用が強くなるので、ドメインに働く相互作用も強くなると考えられる。一方高温側ドメインは低温側ドメインと比較してパッキングが疎であり、熱運動の影響も加わってドメインに働く相互作用は相対的に弱くなるはずである。界面張力は界面分子と内部（bulk）の分子との相互作用の強さによって決定されるので、低温側ドメイン構造は TO 油滴界面の TO 分子と強く相互作用して界面張力が強くなる（Figure 4-12c）。一方、温度が上昇すると低温側ドメインから高温側ドメインへ構造が変化し、TO 油滴界面の TO 分子との相互作用が低下することで、結果的に水との界面張力が低下したものと考えられる（Figure 4-12d）。

Kamogawa, Abe, Sakai らは、ベンゼンやドデカンなどを使用した分散安定性の低い EF-O/W エマルションの油相に、ヘキサデカンやスクワランのような別の種類の疎水性分子を添加することで EF-O/W エマルションの分散安定性が上昇し、その濃度により分散安定性が変化すると報告している[25, 26]。Abe, Sakai らは、添加した疎水性分子が油滴界面に配向すること、また油滴内部において添加した疎水性分子同士の凝集（ミクロな相分離）が生じ、添加濃度によって凝集体の分布や配向が変化し、分散安定性の変化に寄与するという機構を提案している[26]。すなわち、EF-O/W エマルションの油滴内部の分子配向やミクロな相分離の存在が EF-O/W エマルションの分散安定性に寄与していることを提案している。本実験では、トリオレインは単一組成であるが、ミクロドメイン構造が存在し、その構造が変化するなど、トリオレイン中にミクロな相分離が生じていると解釈すると、Abe, Sakai らの見解[26]とも一致する。以上のことから、EF-TO/W エマルションの TO 油滴中の TO 分子のミクロドメインが EF-TO/W エマルションの分散安定性に寄与していることが支持される。

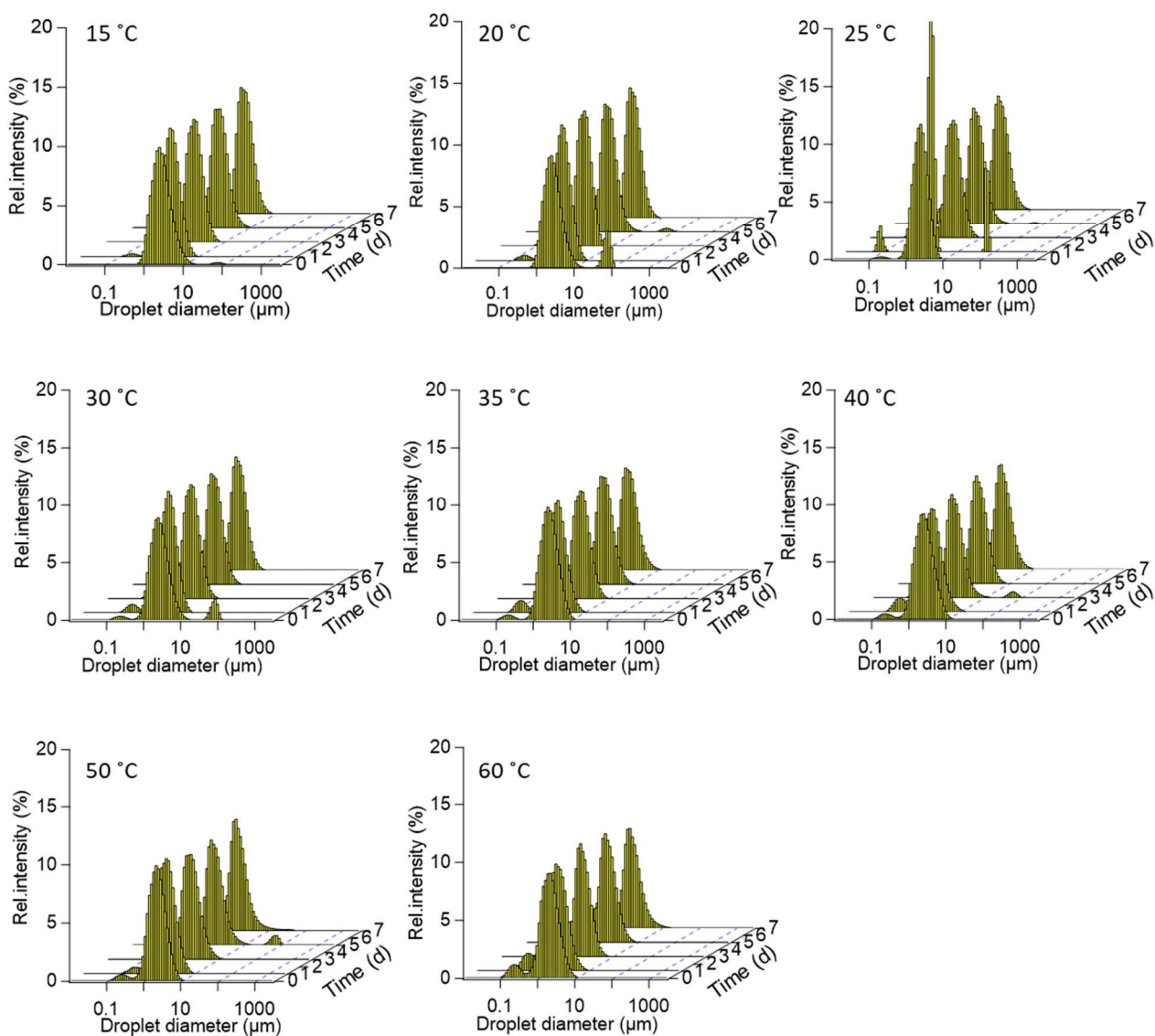


Figure 4-5. Time course changes in droplet size distributions of TO droplets in EF-TO/W emulsions prepared and stored at 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 °C.

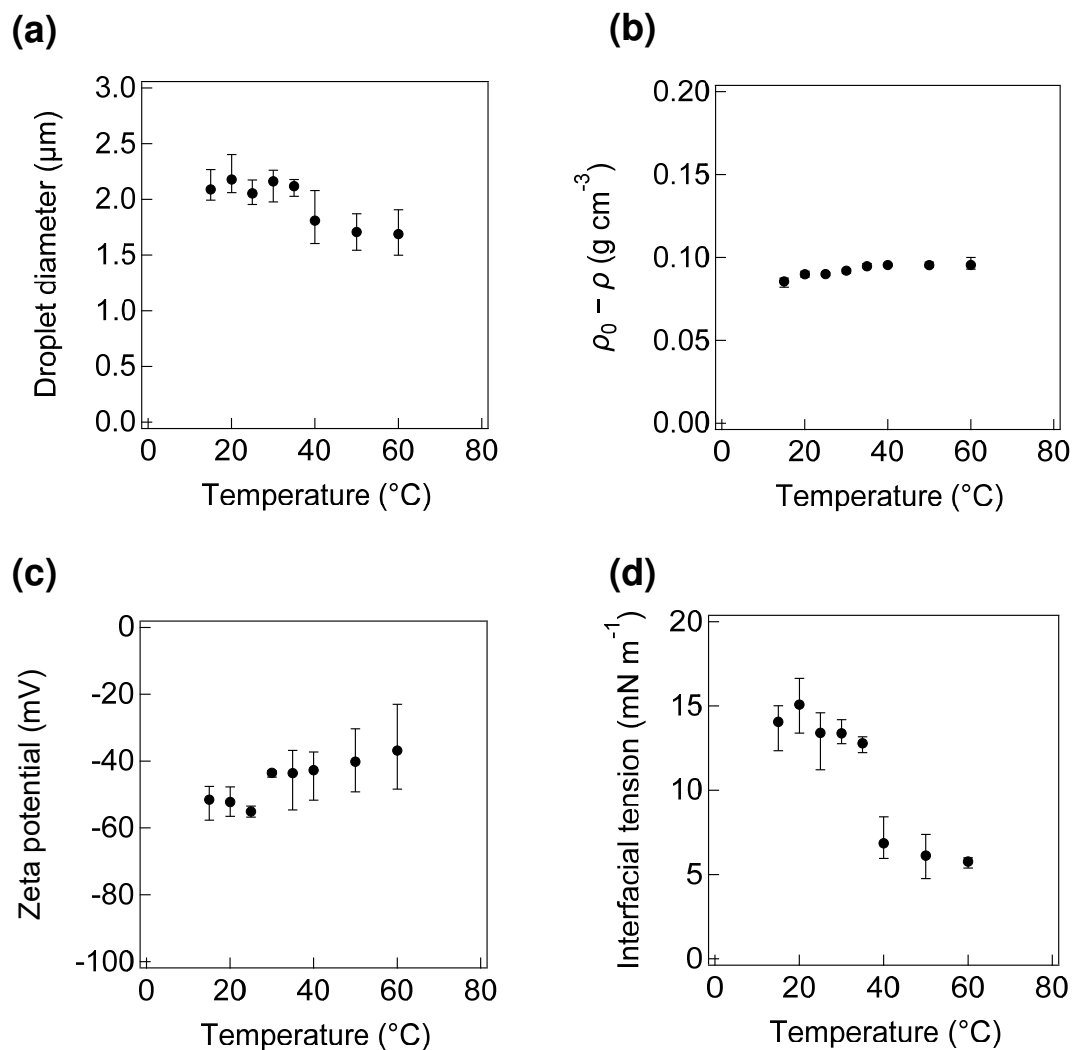


Figure 4-6. (a) Average median diameter of TO droplets in EF-TO/W emulsions right after preparation, (b) average density difference between water and TO ($\rho_0 - \rho$), (c) average zeta-potential of TO droplets in EF-TO/W emulsions right after preparation, and (d) average interfacial tension between TO and water plotted as a function of temperature. Error bar represents the minimum and maximum in each measurement ($n = 3$).

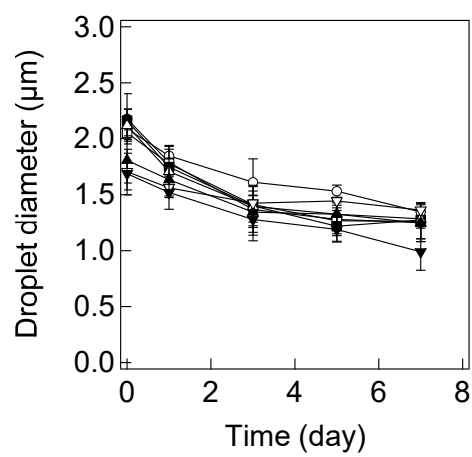


Figure 4-7. Average median diameter of TO droplets in EF-TO/W emulsions recorded with elapsed time after emulsification at (○) 15, (●) 20, (□) 25, (■) 30, (△) 35, (▲) 40, (▽) 50, and (▼) 60 °C. Error bar represents the minimum and maximum median diameter of EF-TO/W emulsions in each measurement ($n = 3$) after preparation.

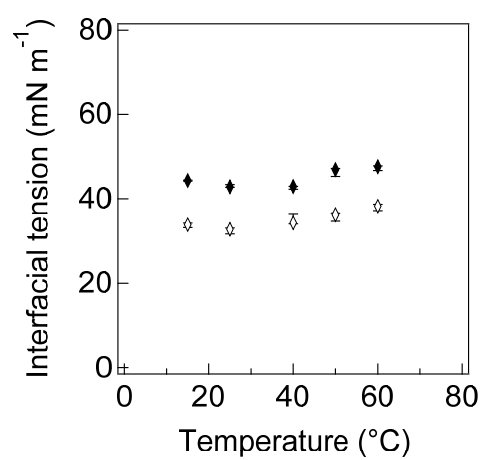


Figure 4-8. Average interfacial tension between (♦) dodecane and water, and (◇) hexadecane and water plotted as a function of temperature. Error bar represents the minimum and maximum of interfacial tension in each measurement ($n = 3$).

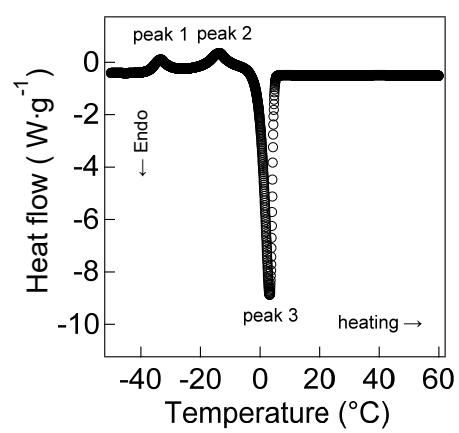


Figure 4-9. DSC profile of triolein at heating rate of 2.5 °C min⁻¹.

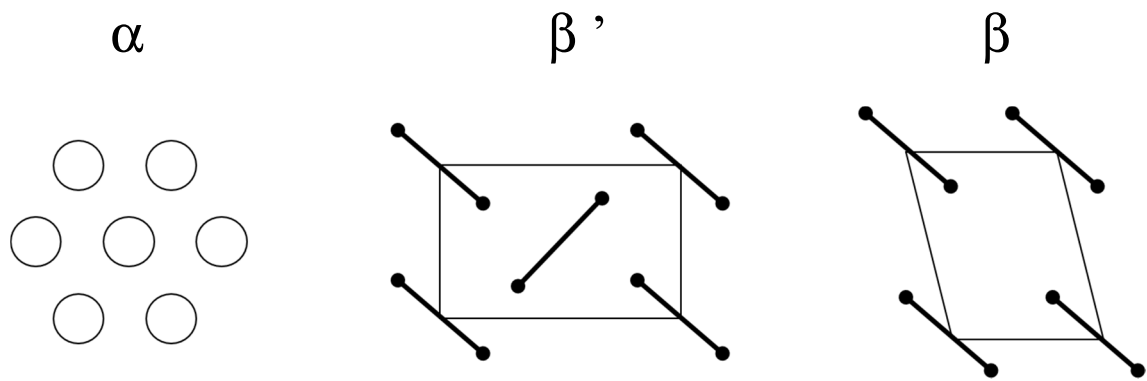


Figure 4-10. Typical subcell structures in the TG morphism[5].

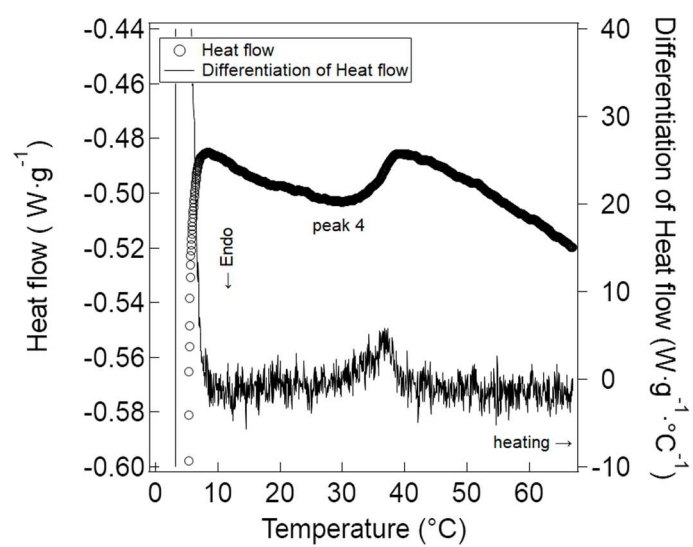


Figure 4-11. DSC profile of Triolein (enlarged view of Figure 4-9): (○) heating flow and (-) temperature derivative curve of heating flow.

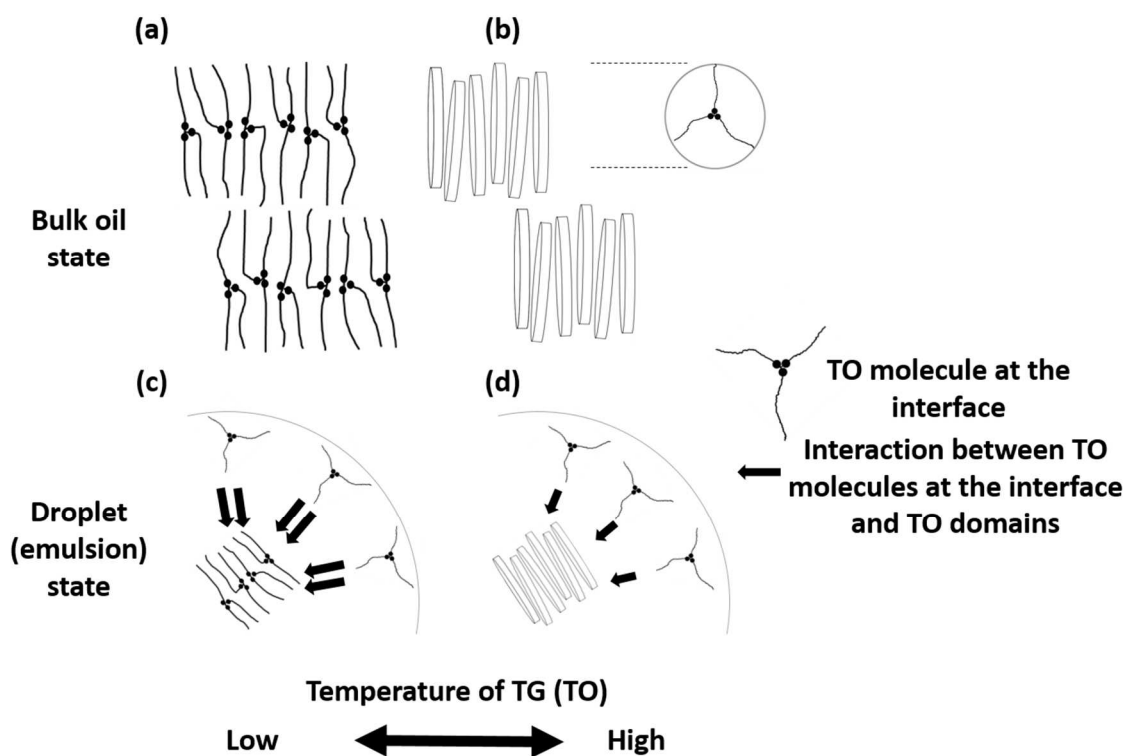


Figure 4-12. Schematic illustration on micro-domain structure of TG in melt state at (a) lower temperature and (b) higher temperature[19]. Schematic illustration on interaction between TG molecules at interface between TG and water and micro-domain of TG inside TG droplets at (c) lower temperature and (d) higher temperature.

4.4 まとめ

乳化剤を使用せずに調製した水中油型トリオレイン (EF-TO/W) エマルションは、調製、保存温度が 15 °C から 25 °C まで上昇すると分散安定性は低下し、一方で 25 °C から 40 °C へ温度が上昇するにつれて EF-TO/W エマルションの分散安定性は上昇していくことが明らかとなった。25 °C から 40 °C への温度上昇に伴う分散安定性の向上は、トリオレイン (TO) と水の界面張力が温度上昇に伴い減少することに起因していた。界面張力の減少は、TO 融液中に存在するマイクロドメイン構造が 35 °C から 40 °C の温度変化によって構造変化することに起因していると考えられた。これらの EF-TO/W エマルションの分散安定性の温度依存性は炭化水素系の油剤を用いた EF-O/W エマルションでは得られなかった知見であり、油剤の種類、およびその油剤の温度による融液状態や構造がエマルションの安定性に寄与する可能性を示したユニークなものである。

EF-TO/W エマルションは 40 °C を超える温度で調製、保存されるとその分散安定化は高いまま維持されていたことから、トリオレインのような TG を使用した EF-O/W エマルションは 40 °C を超える高い温度で調製、保存が行われると分散安定性が維持できると考えられるなど、油剤の種類によって EF-O/W エマルションの分散安定性に適した温度が存在することが明らかとなった。EF-O/W の実用化には分散安定性の維持が必要であり、今回の得られた結果は、TG における EF-O/W エマルションの実用化において重要な知見になると考えられる。

References

1. *Food emulsions (4th ed.)*, Friberg, S. E., Larsson, K., Sjöblom, J., 2004. Marcel Dekker: New York
2. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques (2nd ed.)*, McClements, D. J., 2005. CRC Press: Boca Raton
3. *Pharmaceutical Emulsions*, Sarker, D. K., 2013. WILEY Blackwell: Oxford.
4. 藤田哲, 食用油脂: その利用と油脂食品. 改訂 ed. 2011: 幸書房.
5. 佐藤清隆, 上野聡, 脂質の機能性と構造・物性: 分子からマスカラ・チョコレートまで. 2011: 丸善出版.
6. 藤田哲, 食品の乳化: 基礎と応用. 2006: 幸書房.
7. 山崎勝利, 朝田仁, 賞味期限設定・延長のための各試験・評価法ノウハウ: 保存試験・加速(虐待)試験・官能評価試験と開発成功事例. 2018: エヌ・ティー・エス.
8. Taylor, A. J., Wood, F. W., *Electrophoresis of hydrocarbon droplets in dilute solutions of electrolytes*. Trans. Faraday Soc., 1957. **53**: p. 523-529.
9. Sakai, T., Kamogawa, K., Harusawa, F., Momozawa, N., Sakai, H., Abe, M., *Direct observation of flocculation/coalescence of metastable oil droplets in surfactant-free oil/water emulsion by freeze-fracture electron microscopy*. Langmuir, 2001. **17**(2): p. 255-259.
10. Kamogawa, K., Kuwayama, N., Katagiri, T., Akatsuka, H., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilization in Water of Droplets of Hydrophobic Organic Liquids with the Addition of Hydrophobic Polymers*. Langmuir, 2003. **19**(10): p. 4063-4069.
11. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Abe, M., Kondow, T., *Monitoring Growth of Surfactant-Free Nanodroplets Dispersed in Water by Single-Droplet Detection*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(13): p. 2921-2926.
12. Pashley, R. M., *Effect of degassing on the formation and stability of surfactant-free emulsions and fine teflon dispersions*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**(7): p. 1714-1720.
13. Sakai, T., Takeda, Y., Mafune, F., Kondow, T., *Surface Properties of Surfactant-Free Oil*

- Droplets Dispersed in Water Studied by Confocal Fluorescence Microscopy*. J. Phys. Chem. B, 2004. **108**(20): p. 6359-6364.
14. Akita, C., Kawaguchi, T., Kaneko, F., *Structural Study on Polymorphism of Cis-Unsaturated Triacylglycerol: Triolein*. J. Phys. Chem. B, 2006. **110**(9): p. 4346-4353.
 15. Larsson, K., *Molecular Arrangement in Glycerides*. Fette, Seifen, Anstrichmittel, 1972. **74**(3): p. 136-142.
 16. Hernqvist, L., *On the Structure of Triglycerides in the Lipiquid State and Fat Crystallization*. Fette, Seifen, Anstrichmittel, 1984. **86**(8): p. 297-300.
 17. Larsson, K., *On the Structure of the Liquid-State of Triglycerides*. J. Am. Oil Chem. Soc., 1992. **69**(8): p. 835-836.
 18. Cebula, D. J., McClements, D. J., Povey, M. J. W., Smith, P. R., *Neutron-Diffraction Studies of Liquid and Crystalline Trilaurin*. J. Am. Oil Chem. Soc., 1992. **69**(2): p. 130-136.
 19. Corkery, R. W., Rousseau, D., Smith, P., Pink, D. A., Hanna, C. B., *A case for discotic liquid crystals in molten triglycerides*. Langmuir, 2007. **23**(13): p. 7241-7246.
 20. Hernqvist, L., Larsson, K., *On the Crystal Structure of the β' -Form of Triglycerides and Structural Changes at the Phase Transitions $LIQ. \rightarrow \alpha \rightarrow \beta' \leftarrow \beta$* . Fette, Seifen, Anstrichmittel, 1982. **84**(9): p. 349-354.
 21. Ueno, S., Minato, A., Seto, H., Amemiya, Y., Sato, K., *Synchrotron Radiation X-ray Diffraction Study of Liquid Crystal Formation and Polymorphic Crystallization of SOS (sn-1,3-Distearoyl-2-oleoyl Glycerol)*. J. Phys. Chem., 1997. **101**(35): p. 6847-6854.
 22. Feuge, R. O., Landmann, W., Mitcham, D., Lovegren, N. V., *Tempering triglycerides by mechanical working*. J. Am. Oil Chem. Soc, 1962. **39**(7): p. 310-313.
 23. Vaeck, S., *Die Polymorphie (Vielgestaltigkeit) einiger Naturfette*. International Chocolate Review, 1951. **6**: p. 100-113.
 24. van Malssen, K., Peschar, R., Brito, C., Schenk, H., *Real-time X-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. III. Direct β -crystallization of cocoa butter: Occurrence of a*

- memory effect*. J. Am. Oil Chem. Soc, 1996. **73**(10): p. 1225-1230.
25. Kamogawa, K., Matsumoto, M., Kobayashi, T., Sakai, T., Sakai, H., Abe, M., *Dispersion and Stabilizing Effects of n-Hexadecane on Tetralin and Benzene Metastable Droplets in Surfactant-Free Conditions*. Langmuir, 1999. **15**(6): p. 1913-1917.
26. 阿部正彦, 酒井俊郎, 疎水性物質の添加によるサーファクタントフリーエマルションの分散安定化. FRAGRANCE J., 2001. **29**(12): p. 21-29.

第 5 章 結論

本研究は、EF-O/W エマルションを実用化するために必要な基礎的知見を得ることを目的として下記について検討した。

- (1) 種々の乳化機を用いて EF-O/W エマルションを調製し、乳化機の乳化性能と調製された EF-O/W エマルションの分散安定性を評価し、EF-O/W エマルションの調製に適した乳化機を連続式乳化装置へ展開することで EF-O/W エマルションの量産化の可能性を検討した。
- (2) エマルション食品に使用されている植物油を分散質とした EF-VEG/W エマルションの分散安定性を調査し、炭化水素油、高級脂肪酸を分散質とした EF-O/W エマルションの分散安定性と比較して検討した。
- (3) EF-O/W エマルションの調製、保存温度が EF-O/W エマルションの分散安定性に与える影響を検討するため、トリオレイン (TO) を分散質として用いて調製された EF-TO/W エマルションの分散安定性と温度の影響を検討した。

第 2 章では、ドデカンと水を材料に用い、機構の異なる 4 種の乳化機（バス型超音波照射機 (Bath-US)、ホーン型超音波照射機 (Horn-US)、高出力バス型超音波照射機 (HPBath-US)、ローターステーターホモジナイザー (RS-HG)) による EF-DD/W エマルションの乳化過程や分散安定性の評価を行った。また、フローチャンバー接続型の連続式 HPBath-US とバッチ式 HPBath-US の EF-DD/W エマルションによって調製された EF-DD/W エマルションの乳化過程や分散安定性を比較し検証した。これらの実験から得られた結果を下記に記す。

- (1) EF-O/W エマルションの調製には乳化機の機構によらず高出力な乳化器 (HPBath-US, Horn-US, RS-HG) が有効である。また、微細な油滴かつ分散安定性の高い EF-O/W エマルションを調製するためには高出力かつ超音波式の乳化機 (HPBath-US, Horn-US) が有効である。

(2) HPBath-US のようなバス型超音波照射機は Horn-US のようなホーン型超音波照射機よりも EF-O/W エマルションの油滴を微細化することができる。

(3) 高出力かつ照射面積の大きな超音波照射機 (HPBath-US) とフローチャンバーを連結させた連続式 HPBath-US はバッチ式 HPBath-US と同等レベルに油滴の粒子径が小さく、分散安定性の高い EF-O/W エマルションを調製することができる。

以上の結果から、分散安定性の高い EF-O/W エマルションを調製するためには、高出力かつ照射面積の大きい超音波照射機 (HPBath-US) が有効であることがわかった。HPBath-US と Horn-US は両者とも微細な油滴を形成して分散安定性の高い EF-O/W エマルションを調製することが可能だったが、HPBath-US はエマルションに対する超音波照射面積が大きく、Horn-US よりも微細な油滴を形成することができたと考えられる。また、実用化に必要な EF-O/W エマルションの量産化は、フローチャンバーを接続させた連続式の HPBath-US を用いることで実現が可能であり、フローチャンバーの流速やサイクル数を制御することで EF-O/W エマルションの油滴の粒子径を調節できると予想される。

第 3 章では、第 2 章で EF-O/W エマルションの調製に有用であるとわかった HPBath-US を乳化機として用い、植物油を分散質とした EF-VEG/W エマルションの分散安定性を評価した。実験により得られた結果を下記に示す。

(1) 植物油を分散質とした EF-VEG/W エマルションの濁度は調製後 30 日経過しても約 80 %であり分散安定性が維持される。炭化水素を用いた EF-HDC/W エマルションは、炭化水素鎖長が長くなるほどエマルションの分散安定性が高くなるが、EF-VEG/W エマルションよりも分散安定性は低くなる。最も分散安定性が高かった EF-HD/W エマルションは調製後 7 日経過すると濁度は約 80 %になる。高級脂肪酸を用いた EF-FA/W エマルションの濁度は調製後 30 日経過すると約 50 %前後となり、EF-HDC/W エマルションより分散安定性が高いが、EF-VEG/W エマルションより低くなる。

(2) 密度が約 0.8 g cm^{-3} より高く、粘度が約 20 mPa s より高く、油剤と水の間の界面張力が約 50 mN m^{-1} より低く、ヒルデブランド溶解度パラメータが約 15 より小さい植物油のような油剤は、EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなる。

(3) 密度、粘度が高く、油剤と水の間の界面張力が低い油剤を分散質として使用した EF-O/W エマルションは、ラプラス圧や界面自由エネルギーの観点から油滴の粒子径が小さくなり、クリーミングが抑制されて分散安定性が向上する。また、ヒルデブランド溶解度パラメータが低いほどオストワルドライプニングが抑制されて EF-O/W エマルションの分散安定化に寄与する。なお、油滴の静電的反発力（ゼータ電位）は油剤に依存せず-30 mV から-50 mV であり、EF-O/W エマルションの分散安定性の違いとの相関はない。

以上の結果から、植物油を分散質とし、高出力超音波照射機で乳化した EF-O/W エマルションは、油の密度、粘度が高く、油と水界面張力が低いことにより、油滴は微細化して、EF-O/W エマルションの分散安定性が高くなる。エマルション食品で実際に使用されている植物油を用いた EF-O/W エマルションの分散安定性が高いことは、EF-O/W エマルションの実用化の可能性を示している。

第4章では、EF-O/W エマルションの調製、保存温度が分散安定性に与える影響について検討を行った。第3章にて植物油を用いた EF-O/W エマルションが長期分散安定化することがわかったので、分散質は植物油の主成分であるトリグリセリドを用いた。トリオレインおよび TO/W エマルションの物性値（EF-TO/W エマルションの油滴の粒子径、トリオレインと水の密度差、トリオレインの粘度、EF-TO/W エマルションの油滴のゼータ電位、トリオレインと水の界面張力、トリオレインの水に対する溶解度）の温度依存性と分散安定性を比較検討し、考察を行った。以下に得られた結果を記す。

(1) EF-TO/W エマルションの分散安定性は、調製、保存温度が 15 °C から 25 °C までは温度上昇と共にその分散安定性は低下する。また、25 °C から 40 °C へ調製、保存温度が上昇すると EF-TO/W エマルションの分散安定性は上昇する。さらに、40 °C から 60 °C に調製、保存温度が上昇すると EF-TO/W エマルションは高い分散安定性が維持される。

(2) EF-TO/W エマルションの油滴の粒子径、トリオレインと水の密度差、トリオレインの粘度、EF-TO/W エマルションの油滴のゼータ電位、トリオレインの水への溶解度に対する温度依存性は、EF-TO/W エマルションの調製、保存温度による EF-TO/W エマルションの分散安定性の変化と相関がない。

(3) トリオレインと水の界面張力は温度上昇に伴って低下して、35 °C から 40 °C にかけて劇的に低下し、40 °C 以上では低い値が保たれる。

以上の結果から、EF-TO/W エマルションの調製、保存温度における特異的な分散安定性の変化は、トリオレインと水の界面張力の低下によって生じたものと考えられる。35 °C から 40 °C の温度上昇に伴う界面張力の低下は、トリオレイン油滴中に存在するマイクロドメイン構造の変化に起因していると考えられる。EF-TO/W エマルションの 15 °C から 25 °C における不安定化は温度上昇に伴うオストワルドライプニング、トリオレインの油滴の衝突頻度の上昇に起因すると予想される。25 °C から 40 °C ではトリオレイン油滴中のマイクロドメインの構造変化による界面張力の低下によって分散安定化が向上し、40 °C 以上では界面張力が低いため EF-TO/W エマルションの高分散安定性が維持される。これらの検討結果から、EF-O/W エマルションは油剤の種類によって分散安定性に適した温度帯があり、トリオレインのようなトリグリセリドを用いた EF-O/W エマルションの場合、調製、保存温度が高いと分散安定性が高いことが予想される。これらの知見は EF-O/W エマルションの製造、保存における有用な知見となることが期待される。

本研究の結果から、①乳化剤を使用しない EF-O/W エマルションの調製には高出力かつ超音波照射面積の大きいバス型超音波乳化機を用いて調製することが有用である、②高出力かつ照射面積の大きいバス型超音波乳化機をフローチャンバーに接続させた連続式乳化器にすると EF-O/W エマルションの量産化に対応することができる、③植物油のような、密度、および粘度が高く、界面張力、溶解度パラメータが低い油剤を用いると分散安定性が高い EF-O/W エマルションを調製することが可能である、④油剤の種類により分散安定化に適した温度が存在し、調製や保存時の温度を考慮する必要があること等がわかった。これらは EF-O/W エマルションを製品の実用化に応用する上で非常に重要な知見となることが期待される。

本研究によって得られた EF-O/W エマルションの実用化に関する知見は、エマルション製品の製法や処方に対し、従来の乳化剤を使用する製法や処方とは異なる、乳化剤を使用しない新たな製法、処方の選択肢を提供するものである。エマルション製品は、その目的

や用途によって求められる賞味期限や使用期限，分散安定性は異なる．従来のエマルション製品は乳化剤を使用することで目的の製品仕様を実現してきたが，本研究による知見を活用することで，乳化剤を使用しなくても製品仕様に準じた製法へ情報提供，処方の提案ができる可能性がある．また，エマルション製品に使用したい油剤の物性値や製法から予想される分散安定性や賞味期限を推察し，場合によっては従来のエマルション技術と組み合わせ，さらに付加価値の高いエマルション製品の処方を提供できる可能性を秘めている．

本論文で得られた結果が EF-O/W エマルション技術の普及，および様々な産業界への研究開発へ適応されることを願ってやまない．

謝辞

本論文の執筆にあたり，多くの方に多大なご支援をいただきました。

所属する界面化学研究室の皆様より研究に関する多くのご支援をいただきましたこと，御礼申し上げます。

東京フード株式会社の皆様には，遠方への通学，研究に対し多くのご支援，ご協力を頂きました。誠にありがとうございます。

茨城大学リビングソフトマター研究室の皆様，月島食品工業株式会社の皆様におきましては研究内容に対する多くのご助言を頂きましたこと，御礼申し上げます。

また，本研究のために最終審査にご協力いただきました野崎功一准教授，清野竜太郎准教授，岡田友彦准教授，東京理科大学酒井秀樹教授より，貴重なご助言，ご指導を賜りましたこと，感謝申し上げます。

主指導教員である酒井俊郎教授には，研究の着想や実験へのアドバイス，プレゼンテーション指導や論文執筆など多岐にわたるご指導をいただきましたこと，心より御礼申し上げます。

最後に，研究活動続ける私を陰ながら支えてくれた家族へ感謝いたします。

ありがとうございました。