

単分散エマルジョン調製技術を利用した 機能性微粒子の開発

工学院大学先進工学部環境化学科 准教授 あかまつ
赤松 かずき
憲樹



1. はじめに

シングルエマルジョンとは液体中に微細な液滴が分散した系のことであり、水中に油滴が分散した系は Oil-in-Water (O/W) エマルジョン、逆に油中に水滴が分散した系は Water-in-Oil (W/O) エマルジョンと呼ばれる。ダブルエマルジョンとは、液体中に分散している液滴の内部に、さらに微細な液滴が分散した系のことである。水中に分散している油滴の内部にさらに微細な水滴が分散した系は Water-in-Oil-in-Water (W/O/W) エマルジョン、逆に油中に分散している水滴の内部にさらに微細な油滴が分散した系は Oil-in-Water-in-Oil (O/W/O) エマルジョンと呼ばれる。さらに複雑な階層構造を有するエマルジョン¹⁾や、水性二相系(複数種類のポリマーや塩を高濃度で含む水溶液が、自発的に二相に分離する系)を利用したエマルジョン²⁾も存在する。これらの複合エマルジョンはそれ自体も多くの分野で利用されており、さらに、エマルジョン液滴を反応場とした、あるいはエマルジョン液滴を鋳型とした機能性微粒子の開発も盛んに行われている。

エマルジョン調製は、機械的攪拌を利用した手法が簡便である。近年では膜やマイクロ流体デバイスを用いた新しい乳化法も研究されており、機械的攪拌を利用した手法と比較して、液滴径分布のシャープなエマルジョン液滴調製が可能である。本稿では膜乳化法、およびガラス製マイクロ流体デバイスを用いた乳化法によるエマルジョン調製技術を概説し、これらの手法を利用した機能性微粒子調製に関する研究について、我々の取り組みを中心に紹介する。

2. 膜乳化法とマイクロフルイディック乳化法

2.1 膜乳化法

膜乳化法は、Shirasu Porous Glass (SPG) 膜の用途として、研究開発が進められてきた。SPG 膜とは南九州に広く産出するシラスと呼ばれる火山灰を主原料としたユニークな多孔質ガラス膜である。膜作製条件を制御することで細孔径を 50 nm ~ 20 μm の範囲で調節でき、機械的強度や耐アルカリ性に優れるなどの特徴がある³⁾。

単に膜乳化法と言えば、直接膜乳化を指すことが多い。これは図 1 に示すように、膜を介して分散相溶液を連続

相溶液に圧入分散することで液滴を生成する手法であり⁴⁾、液滴径の CV (変動係数=標準偏差値/平均値)は 10% 程度となる。ただし、複合エマルジョンのワンステップ調製は難しく、膜乳化で調製したシングルエマルジョンを、再度膜乳化するといった手法により複合エマルジョンを得ることはできる。液滴径は使用する膜細孔の約 3 倍となり、膜の細孔径を適切に選定することで、液滴径が 0.5 ~ 50 μm 程度の単分散エマルジョンを調製できる。

さらに透過膜乳化法という手法もあり、これは、多分散で粗大なエマルジョンを機械的攪拌等の手法を利用してあらかじめ調製し、これを加圧して膜を透過させることで、膜内部でのエマルジョンの分裂を利用して単分散液滴を生成する手法である⁵⁾。細孔径より大きなエマルジョンも変形して細孔に侵入できるが、3 次元的に発達した細孔内で分裂を繰り返し、最終的には細孔径の 1 ~ 2 倍の大きさの液滴となる。液滴径の CV は直接膜乳化法より少し大きくなるが、エマルジョン生成速度は直接膜乳化法と比較して非常に大きい。

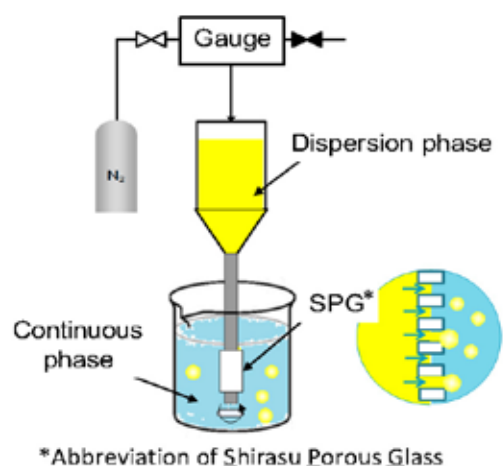


図 1 膜乳化法によるシングルエマルジョン調製のコンセプト

2.2 マイクロフルイディック乳化法

マイクロ流体デバイスを用いた乳化では、CV が 2% 以下という単分散な液滴生成も可能であり、複合エマルジョンの調製を得意とする。ただし、その液滴径は、膜乳

化法で調製される液滴と比較して大きくなり、50 μm ~ 1 mm 程度となる。一般にマイクロ流体デバイスはポリジメチルシロキサン (PDMS) で作製されることが多いが、多くの有機溶媒に膨潤するため、乳化を目的とする場合に使用できない溶媒も多い。一方で、ガラス製のマイクロ流体デバイスの研究も行われている。PDMS と比較して使用できる溶媒の制限が圧倒的に少ないため、乳化用途にはより好適と言える。一例として、内径 1 mm 程度のキャピラリーをガラス板上に固定したガラス製マイクロ流体デバイスを 図 2 に示す。ガラスキャピラリーを利用したデバイスは 2005 年に Weitz らのグループによって報告され⁶⁾、その後デバイスの改良が進み、近年ではダブルエマルションだけでなく、トリプルエマルションやクアドラプルエマルションの調製も報告されている⁷⁾。

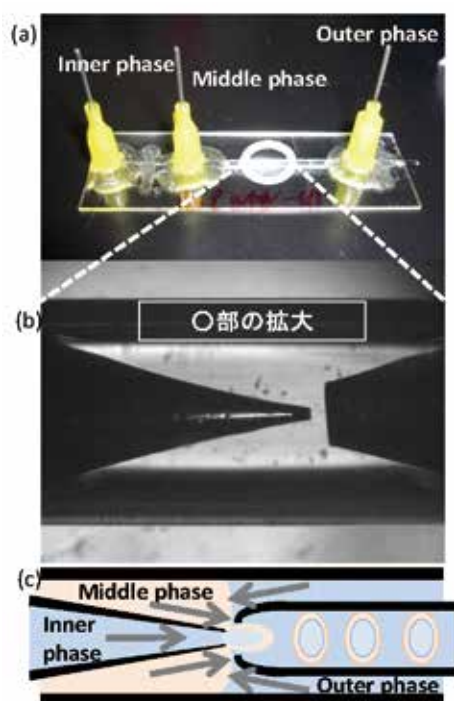


図 2 (a) ガラス製マイクロ流体デバイス外観, (b) 乳化部拡大, (c) ダブルエマルション調製のコンセプト

2.3 膜乳化とマイクロフルイディック乳化の融合

膜乳化法とマイクロフルイディック乳化法の特徴を紹介してきたが、これを纏めて改めて表 1 に示す。ここから明らかのように、いずれの手法を用いても、液滴径が小さな (=ミクロンオーダー以下の) 単分散複合エマルションの調製が難しい。我々は 2 つの乳化技術を融合することで、この課題に挑んできた。具体的には、ガラス製マイクロ流体デバイスを用いて単分散ダブルエマルションを調製し、これを SPG 膜に透過させる透過膜乳化により小液滴化するという新規手法を検討した。一例として、図 3 にガラス製マイクロ流体デバイスを用いて調製した W/O/W エマルションと、親水性 SPG 膜 (細孔径 50 μm) に透過後の W/O/W

O/W エマルションを示す⁸⁾。SPG 膜透過後のダブルエマルションは中間相が非常に薄くなっていることが分かる。写真を撮る前に分離しているが、同時に O/W エマルションも多く生成しており、膜透過時に中間相が剥ぎ取られていると推察される。またダブルエマルション液滴径も小さくなっている。膜透過速度、膜細孔径など様々な操作条件を変化させたところ、細孔径の約 2 倍の大きさで、中間相が非常に薄いダブルエマルションが得られることが明らかとなった。O/W/O エマルションでも同様の現象が確認されている。

ダブルエマルションが SPG 膜を透過する様子を in-situ で観察するのは容易ではないため、1 流路が 2 流路に分岐する、膜細孔を模したマイクロ流体デバイスを作製し、ダブルエマルションの挙動を in-situ 観察した結果を図 4 に示す⁹⁾。大別して 3 つのモードが確認された。膜透過速度が小さいときは、(a) 変形するものの分裂しないモードが多くみられる。膜透過速度が大きくなると、(b) 2 つの小さなダブルエマルションに分裂するモードと、(c) ダブルエマルションの中間相が剥ぎ取られ、1 つの中間相の薄いダブルエマルションと 1 つのシングルエマルションに分裂するモードが多くみられるようになる。SPG 膜を用いた検討でも、エマルションの膜透過速度を大きくした方が得られるダブルエマルション液滴径が小さくなることが分かっている。これらのことから、ダブルエマルションの膜透過は、一定以上の膜透過速度であれば、まず (b) と (c) の挙動が繰り返され、エマルションサイズが膜細孔径と同等かやや大きい程度になると、細孔内で変形は起きるものの分裂しなくなる、といった現象と考えられる。

表 1 膜乳化法とマイクロフルイディック乳化法の特徴

	膜乳化法	マイクロフルイディック乳化法
乳化液滴径	0.5 ~ 50 μm	50 μm ~ 1mm
CV	10% 程度	2% 程度
主な適用可能系	シングルエマルション	シングルエマルション ダブルエマルション

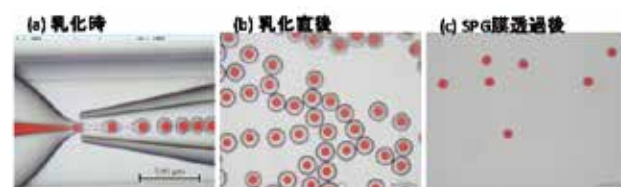


図 3 (a), (b) ガラス製マイクロ流体デバイスを用いた W/O/W エマルション調製, (c) SPG 膜透過後の W/O/W エマルション⁸⁾



図4 ダブルエマルジョンの分裂挙動⁹⁾ (a) 分裂せず通過, (b) 2つのダブルエマルジョンに分裂, (c) 1つのダブルエマルジョンと1つのシングルエマルジョンに分裂

3. 膜乳化法とマイクロフルイディック乳化法を利用した機能性微粒子調製

3.1 膜乳化法を利用した機能性微粒子調製

膜乳化法により調製するシングルエマルジョン液滴を粒子生成場と捉え、さまざまな機能性微粒子を調製できる。例えば、キトサン水溶液を分散相とした W/O エマルジョンを調製し、液滴内部で架橋反応を起こすことで、DDS (ドラッグデリバリーシステム) 用キトサン微粒子を調製できる。膜乳化で用いる SPG 膜の細孔径を D_m 、W/O エマルジョン液滴径を D_e 、分散相のキトサン濃度を C 、キトサン微粒子の密度と粒径を ρ 、 d とするとき、直接膜乳化を用いれば (1) 式が、液滴内部で粒子が 1 つ生成すると仮定すればキトサンの物質収支から (2) 式が成立する。これらの 2 式から、キトサン微粒子の粒径は (3) 式で記述できる¹⁰⁾。

$$D_e = 3 D_m \quad (1)$$

$$(4\pi/3) \times (D_e/2)^3 \times C = (4\pi/3) \times (d/2)^3 \times \rho \quad (2)$$

$$d = 3 D_m \times (C/\rho)^{1/3} \quad (3)$$

(3) 式は実験結果とよく一致し、これはフィッティングパラメータ無しで所望のサイズの微粒子を設計できることを表している。分散相内に酵素などを封入することもでき¹¹⁾、その場合も (3) 式を利用した粒子設計が可能である。さらに本手法を利用して、粒径 10 ~ 20nm 程度の金属ナノ粒子¹²⁾ や、粒径 50 ~ 200 nm 程度のリポソーム¹³⁾、粒径 400nm ~ 10 μ m 程度のアルギン酸カルシウム粒子¹⁴⁾ なども、粒径設計しながら調製できる。

3.2 マイクロフルイディック乳化法を利用した機能性微粒子調製

マイクロフルイディック乳化法により調製するダブルエマルジョン液滴において、最内相に封入したい物質を、中間相にマイクロカプセル壁在物質 (ダブルエマルジョン調製後

に、液→固反応を利用してカプセル化する) を適切に選定すれば、さまざまな機能性マイクロカプセルを調製できる。例えば、ガラス製マイクロ流体デバイスを用いて、最内相にパラフィン系潜熱蓄熱材、中間相に光架橋シリコーン、最外相にポリビニルアルコール水溶液を供給してダブルエマルジョンを調製後、UV 照射を施して中間相の光架橋シリコーンを固化することで、蓄熱マイクロカプセルを調製できる。一例として、潜熱蓄熱材として *n*-hexadecane を封入したマイクロカプセルを図 5 に示す¹⁵⁾。シリコーンオイルと *n*-hexadecane が完全な非相溶ではないこともあり、純成分の *n*-hexadecane より固液相転移温度が低くなっているが、マイクロカプセル内で繰り返し固液相転移がおり、蓄熱マイクロカプセルとして機能することが分かる。

本手法を用いて機能性物質を封入するマイクロカプセルを調製する際の最大の特長は、乳化時の最内相流量と中間相流量で、封入する機能性物質のマイクロカプセルに占める割合を制御できる点にある。この流量比がダブルエマルジョンの最内相と中間相の構成比と一致するためである。実際、これらの流量を変化させながら調製したマイクロカプセルの蓄熱量を DSC (示差走査熱量計) で評価したところ、最内相流量と中間相流量から推算できる蓄熱量とほぼ一致した。ガラス製マイクロ流体デバイスを用いたダブルエマルジョン調製において、最内相流量を中間相流量に対して非常に大きくすることは難しいため、さらに機能性物質の封入割合を増やすためには、例えば 2.3 項で紹介したダブルエマルジョンの中間相を剥離する手法を併用するといった工夫が必要になる。

二酸化炭素吸収能を有する機能性物質を封入した、二酸化炭素吸収マイクロカプセルの調製も可能である。最内相に炭酸ナトリウム水溶液、中間相に光架橋シリコーン、最外相にポリビニルアルコール水溶液を供給してダブルエマルジョンを調製後、UV 照射を施して中間相の光架橋シリコーンを固化することで得た二酸化炭素吸収マイクロカプセルを図 6 に示す。最内相にはチモールブルーも加えており、pH で二酸化炭素吸収・脱離の様子を目視で観察できるようにしている。常温で二酸化炭素を供給すると作製したマイクロカプセル内部の炭酸ナトリウム水溶液と反応し、窒素を供給すると二酸化炭素が脱離する様子が確認できた。ただし、シリコーン製マイクロカプセル壁の水のバリア性に課題があり、繰り返し使用すると封入している水が抜けることも確認された。マイクロカプセル壁材料は、二酸化炭素の透過性が高く水の透過性が低い素材を選定する必要がある。この他にも、二酸化炭素吸収剤としてモノエタノールアミンを封入したマイクロカプセルや、二酸化炭素吸着剤としてゼオライトを封入したマイクロカプセルの調製なども可能である。

さらに、二酸化炭素吸収剤と潜熱蓄熱材を同時に封入したマイクロカプセルの調製も可能である。最内相にモノエタノールアミン、中間相に光硬化性 2 官能アクリレート: *n*-hexadecane = 8 : 2 の混合溶液を用いて調製したダブ

ルエマルジョンにUV照射を施すことで、二酸化炭素吸収剤と蓄熱材を同時に内包したマイクロカプセルの調製を行った。二酸化炭素吸収に伴う発熱エンタルピーを同時に内包される潜熱蓄熱材の固→液相転移のためのエネルギーとして与え、脱離時は吸熱エンタルピーを潜熱蓄熱材の液→固相転移のエネルギーから賄うことで、擬似的な断熱等温操作が可能で新しい二酸化炭素吸収剤となることを期待している。しかし、現状ではマイクロカプセル壁材の二酸化炭素透過性が非常に小さく、材料設計・選定に課題が残っている。

4. まとめ

機械的攪拌を利用した手法と比べて、単分散性・液滴径制御性・構造制御性に優れた膜乳化法、マイクロフルイディック乳化法、およびこれらを融合した新規乳化法を概説した。また、これらの乳化技術を利用した機能性微粒子開発の現状を紹介した。とくにマイクロフルイディック乳化法は、複雑な階層構造を有する複合エマルジョンが調製できるため、複数の機能性物質を同時に、空間を制御しながら封入できる可能性がある。マイクロカプセル内部を1つのシステムと見なす機能材料設計を可能にすべく、引き続き研究を進めていきたい。

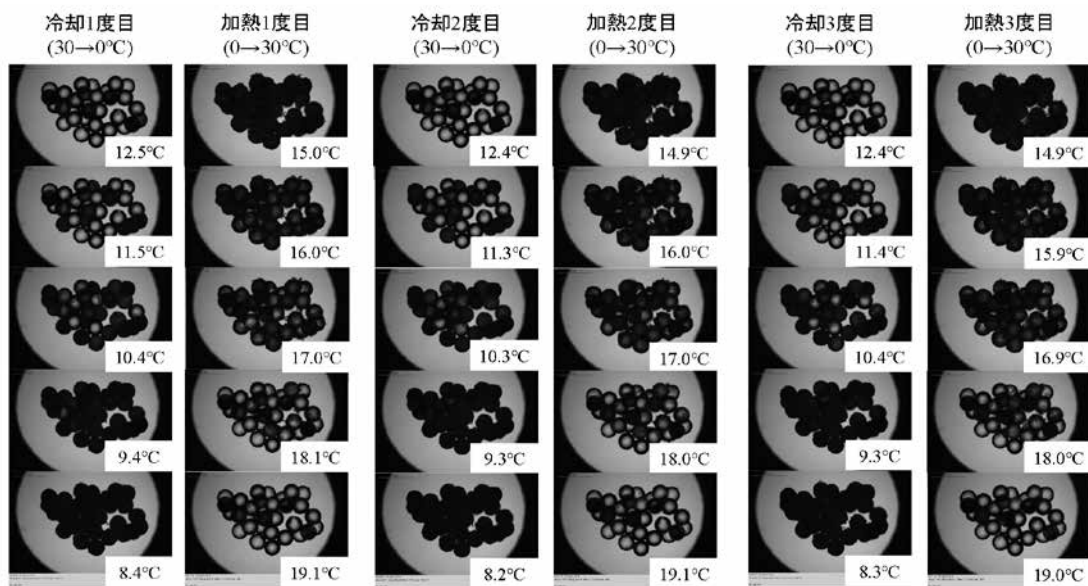


図5 蓄熱マイクロカプセルの応答¹⁵⁾

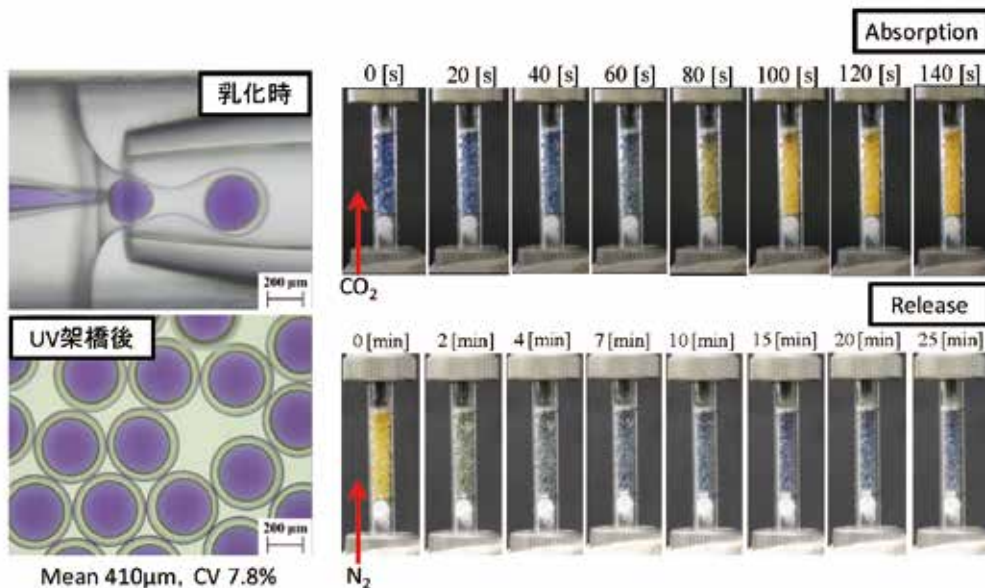


図6 二酸化炭素吸収マイクロカプセルの応答

5. 謝辞

本研究の一部は平成 29 年度公益信託 ENEOS 水素基金の助成を受けて行われた。

－ 引用文献 －

- 1) L. L. A. Adams, T. E. Kodger, S.-H. Kim, H. C. Shum, T. Franke, D. A. Weitz; Single step emulsification for the generation of multi-component double emulsions. *Soft Matter*, 8, 10719-10724 (2012)
- 2) K. Akamatsu, R. Kurita, D. Sato, S. Nakao; Aqueous Two-Phase System Formation in Small Droplets by Shirasu Porous Glass Membrane Emulsification Followed by Water Extraction, *Langmuir*, 35, 9825-9830 (2019)
- 3) 中島忠夫, 黒木祐一; シラスを主原料にした $\text{Na}_2\text{O}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{CaO}$ 系ガラスの分相におよぼす化学組成と熱処理条件の影響, *日本化学会誌*, 8, 1231-1238 (1981)
- 4) 中島 忠夫, 清水 正高; 多孔質ガラス膜による単分散 O/W エマルジョンの調製, *化学工学論文集*, 19, 984-990 (1993)
- 5) K. Suzuki, I. Shuto, Y. Hagura; Characteristics of the membrane emulsification method combined with preliminary emulsification for preparing corn oil-in-water emulsions. *Food Sci. Technol. Int.*, 2, 43-47 (1996)
- 6) S. Utada, E. Lorenceau, D. R. Link, P. D. Kaplan, H. A. Stone, D. A. Weitz; Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device. *Science*, 308, 537-541 (2005)
- 7) S.-H. Kim, D. A. Weitz; One-step emulsification of multiple concentric shells with capillary microfluidic device. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 8731-8734 (2011)
- 8) K. Akamatsu, S. Kanasugi, S. Nakao, D. A. Weitz; Membrane-integrated glass capillary device for preparing small-sized Water-in-Oil-in-Water emulsion droplets, *Langmuir*, 31, 7166-7172 (2015)
- 9) K. Akamatsu, K. Minezaki, M. Yamada, M. Seki, S. Nakao; Direct observation of splitting in oil-in-water-in-oil emulsion droplets via a microchannel mimicking membrane pores, *Langmuir*, 33, 14087-14092 (2017)
- 10) K. Akamatsu, D. Kaneko, T. Sugawara, R. Kikuchi, S. Nakao; Three Preparation Methods for Monodispersed Chitosan Microspheres Using the Shirasu Porous Glass Membrane Emulsification Technique and Mechanisms of Microsphere Formation, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49, 3236-3241 (2010)
- 11) K. Akamatsu, Y. Ikeuchi, A. Nakao, S. Nakao; Size-controlled and monodisperse enzyme-encapsulated chitosan microspheres developed by the SPG membrane emulsification technique, *J. Colloid Interface Sci.*, 371, 46-51 (2012)
- 12) E. Kakazu, T. Murakami, K. Akamatsu, T. Sugawara, R. Kikuchi, S. Nakao; Preparation of silver nanoparticles using the SPG membrane emulsification technique, *J. Membrane Sci.*, 354, 1-5 (2010)
- 13) K. Akamatsu, Y. Shimizu, R. Shimizu, S. Nakao; Facile method for preparing liposomes by permeation of lipid-alcohol solutions through Shirasu Porous Glass membranes, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 52, 10329-10332 (2013)
- 14) K. Akamatsu, Y. Ide, T. Inabe, S. Nakao; Preparation of Monodisperse Calcium Alginate Micro-/Nanospheres via Shirasu Porous Glass Membrane Emulsification Followed by Classification Using Microfiltration Membranes, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 57, 9465-9470 (2018)
- 15) K. Akamatsu, M. Ogawa, R. Katayama, K. Yonemura, S. Nakao; A facile microencapsulation of phase change materials within silicone-based shells by using glass capillary devices, *Colloids Surf. A*, 567, 297-303 (2019)