

## 第4章 実験

### 4.1 はじめに

本章においては、実験の具体的な条件を記述する。まず、油滴の作成にもちいた試料及び界面活性剤について説明する。また、試料である O/W エマルションは大きさを均一にそろえるために、マイクロチャネル法と呼ばれる方法を用いて作られた。その方法について記述する。また実験に用いた試料セルについて説明する。その後、実験の光学系、温度変化の設定をいった具体的な条件について説明する。行われた実験は大きく分けると、エマルションの結晶化をマクロに測定する時分割 SAXS-WAXS-DSC と、単一油滴の結晶をミクロに測定するマイクロビーム X 線散乱の二つである。それぞれについて、行われた実験の内容を説明する。

### 4.2 試料

#### 4.2.1 エマルションの調製

我々は、連続相を蒸留水として、n-Hexadecane (C16) (シグマ-アルドリッチ、純度 99 %) を分散相として、1wt. % 程度の無極性界面活性剤を加えて O/W エマルションを作製した。分散相として用いたのは n-Hexadecane (C16) である。用いた界面活性剤は、Tween 60、Tween 80、Tween 40 (polyoxyethelene sorbitan monopalmitate:  $C_{62}H_{122}O_{26}$  (シグマ-アルドリッチ) である。

エマルションの性質はサイズによって異なるため、油滴サイズが分散しているエマルションを用いた実験では実験結果に分散の影響が出る [20, 24]。本研究では、試料として油滴サイズが単分散な O/W エマルションを実験に用いることで、実験結果に対するサイズの分散の影響を除いた。試料はつくば市にある食品総合研究所にて小林功博士（食品総合研究所）および中嶋光敏教授（同）の協力のもと製作された。O/W エマルションはマイクロチャネル法と呼ばれる方法を用いて作られた。[34] この技術はシリコンで出来た微細な水路に油を流すことで油滴を製作するものである。油は、一定の圧力が加えられ、均等なサイズの水路から水の中に押し出される。水路の出口において油滴がある特定の大きさに成長したとき、出口の側に作られた段差のために、油滴は水中へと流し込まれる。流し込まれた油滴は水の流れによって集められ、一所に集められる。これらの乳化プロセスは、透明なガラス板を通して顕微鏡で見ることで観察される。この方法により、比較的大きなサイズの油滴を単分散なサイズ分布で作ることが出来る。図 4.1 は、マイクロチャネル法の模式図である。これによって、直径が約  $30\text{ }\mu\text{m}$  のエマルションが作られた。

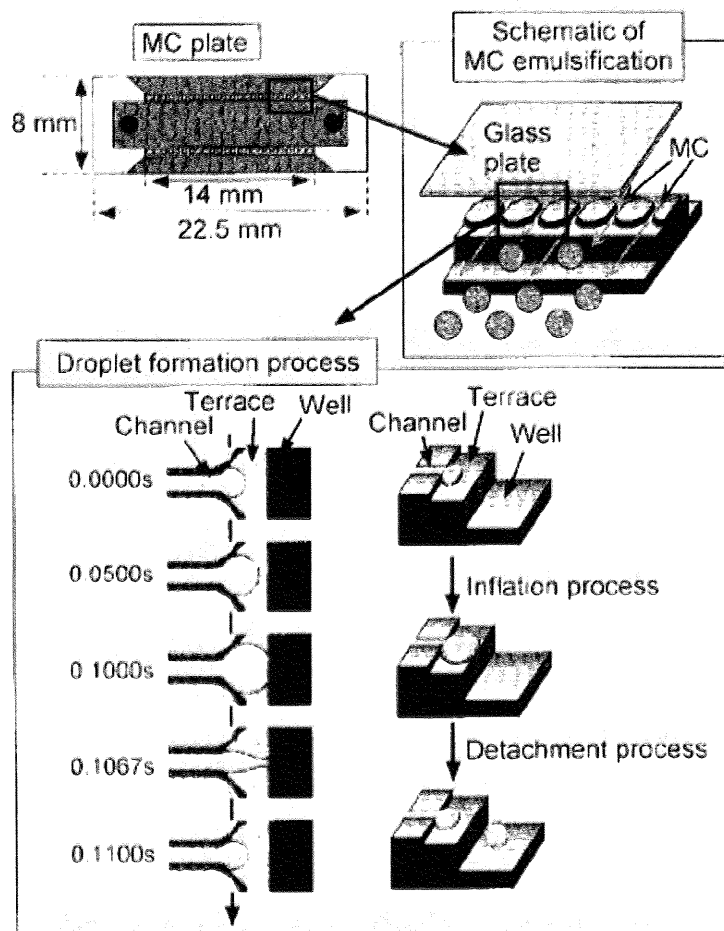


図 4.1: マイクロチャネル法のモデル図

左上図：マイクロチャネル基盤の形状 右上図：マイクロチャネル付近の拡大図

下図：油滴作製過程の概念図 [34]

## 4.2.2 試料セル

図4.2は、通常サイズのX線ビームを用いた実験に使われた試料セルの形状であり、材質はアルミである。直径3 mmの大きな穴を覆うように両側からカプトンフィルムを貼り付けた。注入は0.6 mmの穴から注射器を用いて行う。まずあらかじめセルに蒸留水を満たしておき、エマルションの注入はもう一つの0.6 mmの穴から水を押し出しながらい行われる。気泡が入らないように十分注意する。

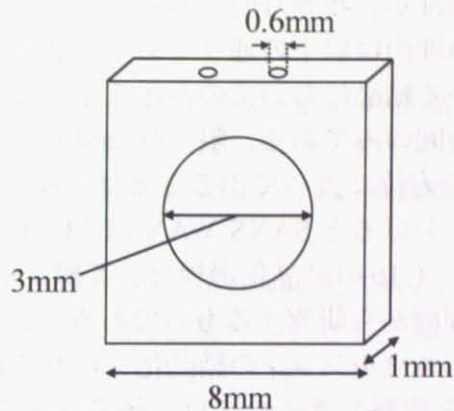


図 4.2: 通常サイズのX線ビームを用いた実験に用いられたサンプルセルの形状。

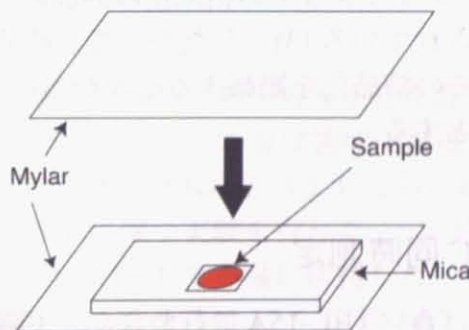


図 4.3: マイクロビームX線を用いた実験に使われたサンプルセル。

図4.3はマイクロビーム実験の試料セルである。セルは穴を開けたマイカの薄片の両側に、マイラを貼り付けることで作った。マイクロビーム実験においては、一つの油滴にX線を照射するため、厚さ方向に油滴がいくつも重なってしまうのは好ましくない。また、セルが薄いほど油滴はマイラに引っかかり固定されやすくなる。ゆえに、セルは可能な限り薄くした。図は、試料注入時のセルの様子である。接着剤を用いて、あらかじめ直径5 mm程度の穴を開けたマイカの薄膜をマイラに貼り付けておく。実験時には、穴に注射器からエマルションを垂らした上で、接着剤を塗ってもう一方のマイラをかぶせる。このとき、エマルションは多すぎるとは複数のエマルションが接してしまい、単一油滴の結晶化現象にならない。また少なすぎればマイクロビームで観察可能な範囲にエマルションが存在しない。さらに、油滴が固定されるか否かは偶然による。ゆえに、測定可能な試料を製作するのに時間がかかった。ビームラインの使用可能な時間は限られているため、測定ができた試料の数は限られた。

## 4.3 実験系

前述のように、C16の回転相は測定するのが難しい[9,20]。したがって、本研究において回転相の検出が確実にできるためには、実験系に工夫を必要とする[7]。本実験では、検出のために二つの工夫が行われている。(a) C16をエマルション化し、油相を多数の油滴に分散させることで結晶化のイベント数を増やす。これによって、回転相を経由した結晶化のイベント数が増える。(b) 二次元検出器を用いて散乱を全方位にわたって検出可能にする。これは回転相からの散乱が、非等方的であることが多く、一次元検出器で観察するのが難しいことによる。その理由は以下の通りである。結晶からの散乱は入射X線と結晶面がBragg条件を満たしている結晶においてのみ起こる。また、回転相は過渡的な相であるため、散乱が出るのは短時間のみである。限られた数の結晶が、短時間のみ出す散乱を観察しているため、散乱が全方位に渡って出るとは少ない。

実際に行った実験は、大きく分けるとSAXS-WAXS-DSC同時測定とマイクロビームX線散乱の二つである。前者は、C16の結晶化過程を、X線による構造変化の観察、DSCによる熱力学的な変化の観察の両面から研究するものである。これは、数千近いエマルションに対して行われ、平均されたエマルションの結晶化プロセスを知ることが出来る。前者が結晶化のマクロなプロセスを観察できるならば、後者はミクロなプロセスについて観察するための実験である。通常のX線散乱実験で用いられる、ビームサイズがmmオーダーのビームによっては、大きさが数十 $\mu\text{m}$ 程度の油滴の局所構造を測定することはできない。これまでの研究により、バルクのような不純物による核生成がプロセスのほとんどを占めるプロセスとは異なり、エマルションの結晶化は界面の影響が加わった複数の結晶化プロセスをもつことが示唆されている[3]。したがって、結晶化プロセスを研究するに際し、単一の油滴に着目し、その結晶化を観察する必要がある。 $\mu\text{m}$ オーダーまでサイズを絞られたX線はそれを可能とする。

### 4.3.1 SAXS-WAXS-DSC 同時測定

実験はPhoton Factory (つくば市) のBL-15Aで行われた。実験の光学系を図4.4に示す。X線の波長は1.50 Åである。CCDカメラはC7300-10-12とC4880-40-24という冷却CCDである。表4.1はCCDカメラの性能を示した物である。

表 4.1: BL-15A で用いた CCD の性能

CCD	CCD type	format (H × V)	frame rate(speed)	cooling temp
C7300-10-12	IL	1280* 1024	250 Hz	room temp.
C4800-40-24A	IL	1280* 1024	5.36 Hz	-50 °C

測定における時間分解能は3 s/frameである。X線イメージインテンシファイヤ(XII)としては、SAXS-WAXS同時測定を目的とする際には、開口部が9 inchのものを使い、カメラ長も約160 mmまで縮めることで、C16のSAXSとWAXSを同時に観察した。C16のSAXSのみに着目して変化を観察する際には開口部が6 inchのX線イメージインテンシファイヤを使い、カメラ長を長くにとって、小角散乱を観察した。特に、SAXS-WAXS同

時測定の際、WAXS と SAXS を同時に S/N 比が良く測定するためには、空気散乱をできるだけ切ることが必要となる。そのために、二つのビームストップを用いた。後方のビームストップは検出系にダイレクトビームが入ることを防ぐための物であり、前方の小さなビームストップはダイレクトビームは可能な限り上流で切るためのものである。前方のビームストップによって、ダイレクトビームによって発生する空気散乱を少なくできる。DSC には、エマルジョンを入れたサンプルセルを設置した。

## 結晶化、融解実験

以前の研究では、Tween 20、Tween 60、Tween 80 の結晶化現象が比較された。その結果、疎水基が、試料のアルカンと形状が近い場合、相互作用がしやすいのではないかと考えられた [5]。今回の実験では、新たに炭素数 16 の飽和結合を疎水基とする界面活性剤 Tween 40 を用いて実験を行う。

また、実験する界面活性剤は重点的に Tween 40 と Tween 80 を選んだ。この二つの界面活性剤は用いる界面活性剤の中で、疎水基の形状として最も C16 に近いものと最も異なる物であり、比較実験の対象としてふさわしい物と考えられる。

試料は DSC に設置し、温度を 25 °C から -8 °C まで 2 °C/min で冷却してエマルジョンを結晶化させたのち、-8 °C から 25 °C まで 2 °C/min で昇温させて融解させた。そして、その結晶化、融解挙動を X 線散乱によって観察した。

## 等温結晶化実験

等温結晶化実験は、融解実験と同様に回転相の安定性を評価するために行われた。実験内容としては、結晶化実験で回転相が表れた温度領域で温度を固定して、長時間にわたって観察を行った。後述するように回転相は約 13.5 °C であらわれ、約 11 °C で消えるので、本実験では試料を 13 °C と 12.5 °C に保つ実験を行った。。まず、13 °C の設定では、25 °C から 13 °C まで、2 °C/min で冷却し、13 °C で等温に保持した。12.5 °C の設定では 25 °C から 13 °C まで、2 °C/min で冷却し、13 °C からは 12.5 °C まで 0.1 °C/min で降温した。その後、12.5 °C で等温に保持した。

## エマルジョンサイズの変更

基本的に、エマルジョンの直径は 30  $\mu\text{m}$  に統一されている。それは、エマルジョンの結晶化がエマルジョンのサイズの影響を大きく受けるため、サイズからの影響を実験結果より除くためである。しかしながら、結晶化を考えると、サイズの影響は外せない要素である。ゆえに、今回の実験では、直径 0.8  $\mu\text{m}$  のエマルジョンを広島大の上野助教授に作成して頂き、結晶化過程と融解過程を観察した。

### 4.3.2 マイクロビーム X 線散乱測定

マイクロビーム X 線散乱実験は当初結晶化過程をマイクロビームによって、時分割で測定することが目的の一つであった。しかしながら、放射光施設において実際に光学系を組

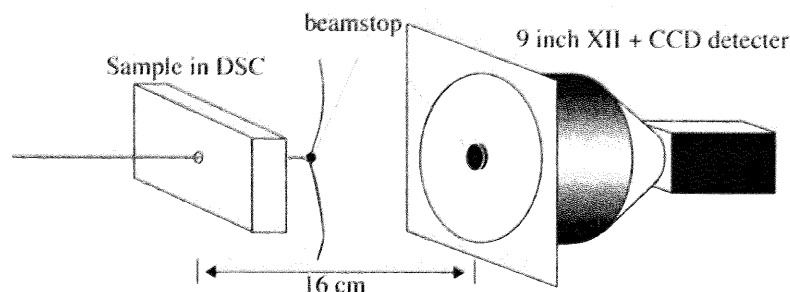


図 4.4: SAXS-WAXS-DSC 測定の測定系図。CCD カメラには高速撮影が可能な C7300-10-12 を用いた。カメラ長は約 160 mm である。

み立ててみると、試料をマイクロビームの焦点にもってくるため試料と LINKAM の間にワッシャーをかませる必要があった。顕微鏡観察のために、LINKAM の蓋を外さねばならないことと合わせて、温度変化の履歴は厳密に制御することができないと考えられた。また、回転相が transient であることから考えて、マイクロメートルサイズの X 線を油滴に入射したとしても、偶然に散乱条件を満たす回転相に照射される可能性は少ないと考えられた。また、サンプルセル内で油滴が固定されるか否かは偶然によるものが大きく、一回の測定を成功させるのには時間がかかる。そのために、限られたビームタイムの期間では、有意義な結果を導き出すのは難しいと考えられた。そのため、結晶化挙動の時分割測定は行わなかった。その代わりに、結晶化終了後の油滴を空間的に走査しながら観察する実験（走査型 SAXS）を行った。この実験は、 $\mu\text{m}$  オーダーまで絞り込んだ X 線を油滴内を走査することで、油滴内部の結晶構造の不均一性について調べるものである。実験初期においては、SAXS-WAXS 同時測定を行っていたが、途中からは SAXS のみの測定となった。

マイクロビーム X 線を用いた実験は、Photon Factory (つくば市) の BL-4A で行われた。実験の光学系は図 4.5 に示す。ここでは、X 線は多層膜ミラーによって、 $1.54 \text{ \AA}$  に単色化されている。この実験系で用いる CCD カメラは C4880-50-26 である。表 4.2 は CCD の性能をまとめた表である。

表 4.2: BL-4A で用いた CCD の性能

CCD	CCD type	format (H $\times$ V)	frame rate(speed)	cooling temp
C4880-50-26A	FFT	1024* 1024	2.7 Hz	-50 $^{\circ}\text{C}$

X II とカメラ長については、SAXS-WAXS-DSC と同様である。すなわち、SAXS-WAXS 測定時には、開口部が 9 inch の XII でカメラ長 160 mm、SAXS のみの測定の値は 6 inch の XII をもちいて、カメラ長 640 mm とした。同様に SAXS-WAXS 測定時には空気散乱を切るためのビームストップを用いた。



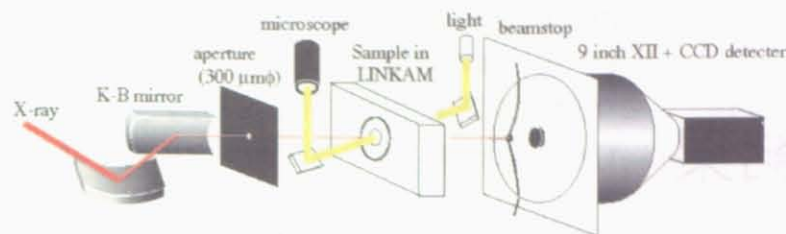


図 4.5: SAXS-WAXS-DSC 測定の実験系図。CCD カメラには、高感度の測定が可能な冷却 CCD である C4880-50-26A を用いた。カメラ長は約 160 mm である。

### 4.3.3 光学顕微鏡による観察

試料の結晶化過程、融解過程を光学顕微鏡を用いて観察した。データは CCD カメラによって、動画として取り込んだ。動画の撮影に用いたカメラは、130 万画素 USB カメラの CMOS130-USB2 である。それを、4 倍、20 倍の対物レンズがついた顕微鏡に取り付けて撮影した。カメラのフレームレートは 30 Hz に設定したため、約 0.033 秒の時間分解能をもつ。試料は、LINKAM に設置することで、温度制御を行ったが、顕微鏡のレンズを近づけるために、LINKAM の蓋を外さざるを得なかった。そのため、温度制御の精度は低い。実験の際には、4 倍のレンズで観察位置を決定し、実際の動画測定は 20 倍のレンズで行った。

## 第5章 結果

### 5.1 SAXS-WAXS-DSC 同時測定の結果

#### 5.1.1 結晶化実験の結果

図 5.1 は、結晶化過程の散乱像のうち、回転相の強度が強いものを選択したものである。図のような二次元画像に対し  $30^\circ$  の円周平均を行うことで、一次元散乱強度プロファイルを計算した。

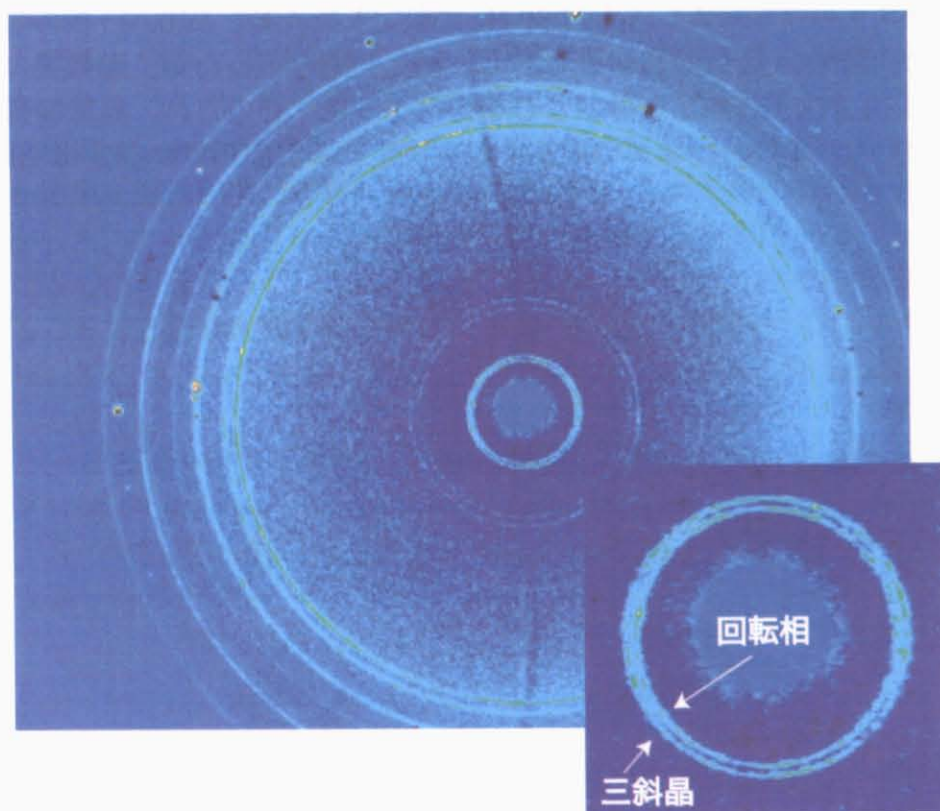


図 5.1: 観察される散乱像。右下の図は散乱中心付近を拡大した物であり、二つの同心円のうち、内側が回転相からの散乱であり、外側が三斜晶からの散乱である。

結晶化過程における散乱 X 線の強度変化を、図 5.2～図 5.5 に示す。図は縦軸が温度、横軸が散乱の散乱中心からの距離であり、CCD を用いているために pixel 数で表している。赤色に近い程強度が強く、青色に近いほど強度が弱い。

全ての図において、 $14^\circ\text{C} \sim 11^\circ\text{C}$  から、低温まで存在する 2 本のピークは、三斜晶からの散乱によるものである。pixel 数の少ないものから順に SAXS の 1st ピーク、2nd ピーク



となっている。Tween 20、Tween 40、Tween 60 の図において、13 °C～11 °Cの領域の三斜晶ピークの内側にあらわれているのが、回転相のピークである。

図 5.2～図 5.5 において、回転相の相対的な強度を比較すると、図 5.3 > 図 5.4 > 図 5.2 > 図 5.5 である。これを界面活性剤で表すと、Tween 40 > Tween 60 > Tween 20 > Tween 80 である。

図 5.6 は、X線散乱における回転相ピークの強度を回転相ごとに比較したグラフである。縦軸はX線散乱の強度、横軸は温度である。X線強度についてはノイズを除くために 30 °で平均をとっている。Tween 40 使用のエマルションでは、Tween 60、Tween 80 に比較して回転相の強度が大きかった。Tween 60 は、以前の研究において回転相からの散乱が最も強い界面活性剤であった。それに比較して、Tween 40 使用下の散乱強度はとても強いことが分かる。

図 5.7 は、結晶化過程の実験結果に関して、各界面活性剤使用下における三斜晶からの散乱X線の強度を、温度に対して DSC のデータと共にプロットしたものである。

図 5.7 における DSC の 14 °C 付近のピークは、Shinohara の研究において、界面活性剤、エマルションサイズとは無関係であったこと、再現性がなかったこと、また、バルクの C16 の結晶化温度付近であることから、サンプルセルの注入口内やセル内部にバルクとして存在する C16 によるものであると考えられた [5]。また、Tween 40 の DSC データは、ピークを二つ持つ。ここで、高温側のピークは回転相の結晶化によるものであり、低温側のピークは三斜晶の結晶化による物であると考えられる。

グラフより、以下の特徴が読み取れる。

1. DSC 実験結果より、結晶化による発熱ピークの温度は Tween 40 の回転相ピーク > Tween 60 のピーク  $\approx$  Tween 40 の低温側ピーク > Tween 20 のピーク > Tween 80 のピークとなっている。
2. X線強度が立ち上がる温度は Tween 40 > Tween 60 > Tween 20 > Tween 80 である。
3. X線強度の立ち上がりの傾きは、Tween 40, Tween 60 > Tween 20, Tween 80 である。

図 5.7 より、X線強度の変化、および DSC ピークの温度を比較してみると、Tween 40 使用のエマルションと Tween 80 使用のエマルションの比較において最も違いが明らかである。以下において、界面活性剤を Tween 40 と Tween 80 にしぼり、二つの界面活性剤を用いた実験結果を主に比較する。

図 5.8 は、二つの界面活性剤について、三斜晶からの散乱強度、回転相からの散乱強度、DSC をまとめたものである。図 5.8 より、Tween 40 の使用下では、13 °C 付近で回転相が表れ、12 °C 付近で回転相は消滅している。そして、回転相の消滅と、同じ温度領域で三斜晶からの散乱強度が急激に増加していることがわかる。それに対して、Tween 80 の使用下では、回転相は表れず、三斜晶強度の増加は比較的ゆっくり行われる。

### 5.1.2 融解実験の結果

図 5.9 は、結晶化実験後に、結晶化したエマルションについて、再び温度を上昇させて融解させた実験の結果である。融解においては回転相は表れなかったため、三斜晶の X線強度と DSC のデータのみを示す。

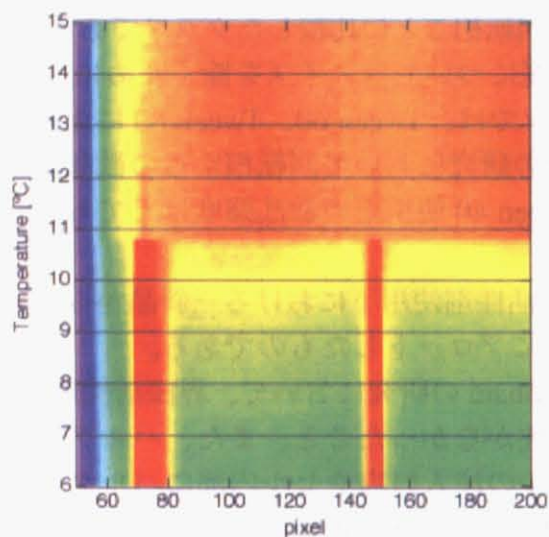


図 5.2: 小角領域のX線強度のイメージプロット：Tween 20。縦軸が温度、横軸が散乱中心からの距離。色が赤に近いほど強度が強い。

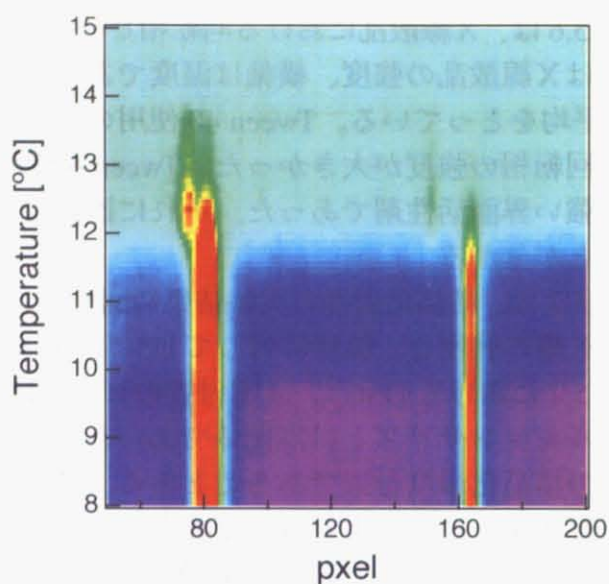


図 5.3: 小角領域のX線強度のイメージプロット：Tween 40。縦軸が温度、横軸が散乱中心からの距離。色が赤に近いほど強度が強い。

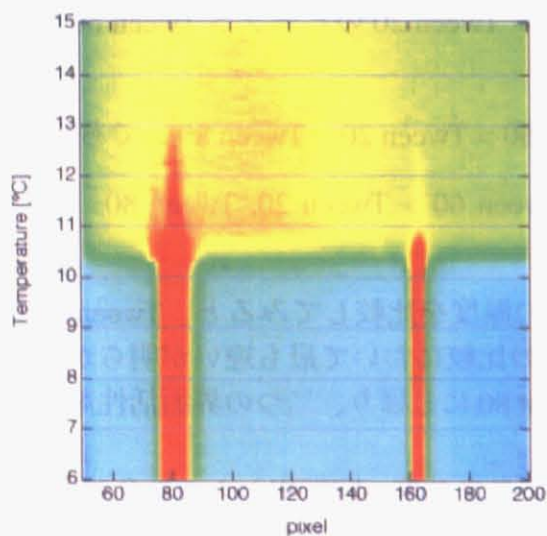


図 5.4: 小角領域のX線強度のイメージプロット：Tween 60。縦軸が温度、横軸が散乱中心からの距離。色が赤に近いほど強度が強い。

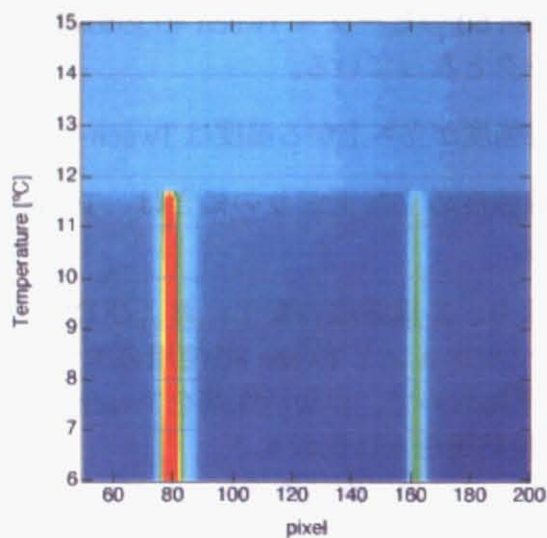


図 5.5: 小角領域のX線強度のイメージプロット：Tween 80。縦軸が温度、横軸が散乱中心からの距離。色が赤に近いほど強度が強い。

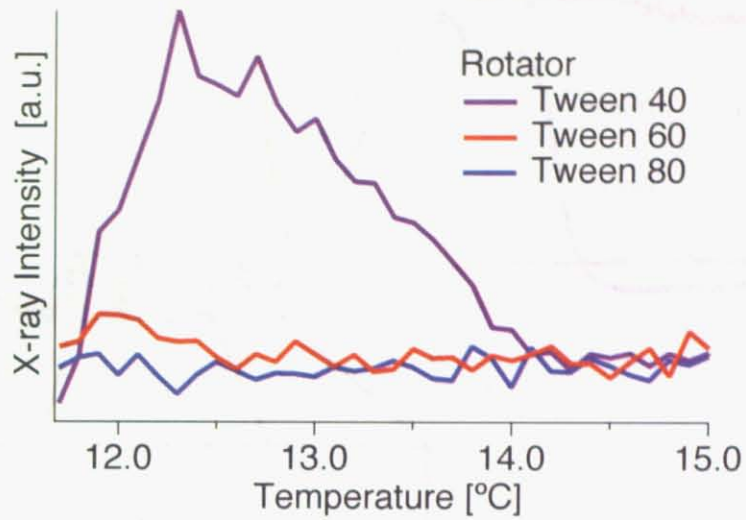


図 5.6: Tween 40, Tween 60, Tween 80 における、回転相からの散乱強度の比較。Tween 40 において、特に散乱強度が強い。

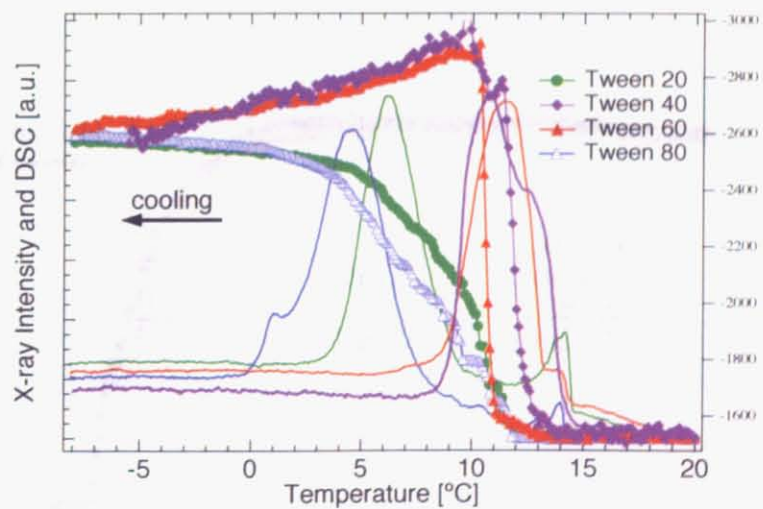


図 5.7: 2D-SAXS-DSC 同時測定の結果。結晶化過程における三斜晶の X 線強度と、DSC のデータを表している。

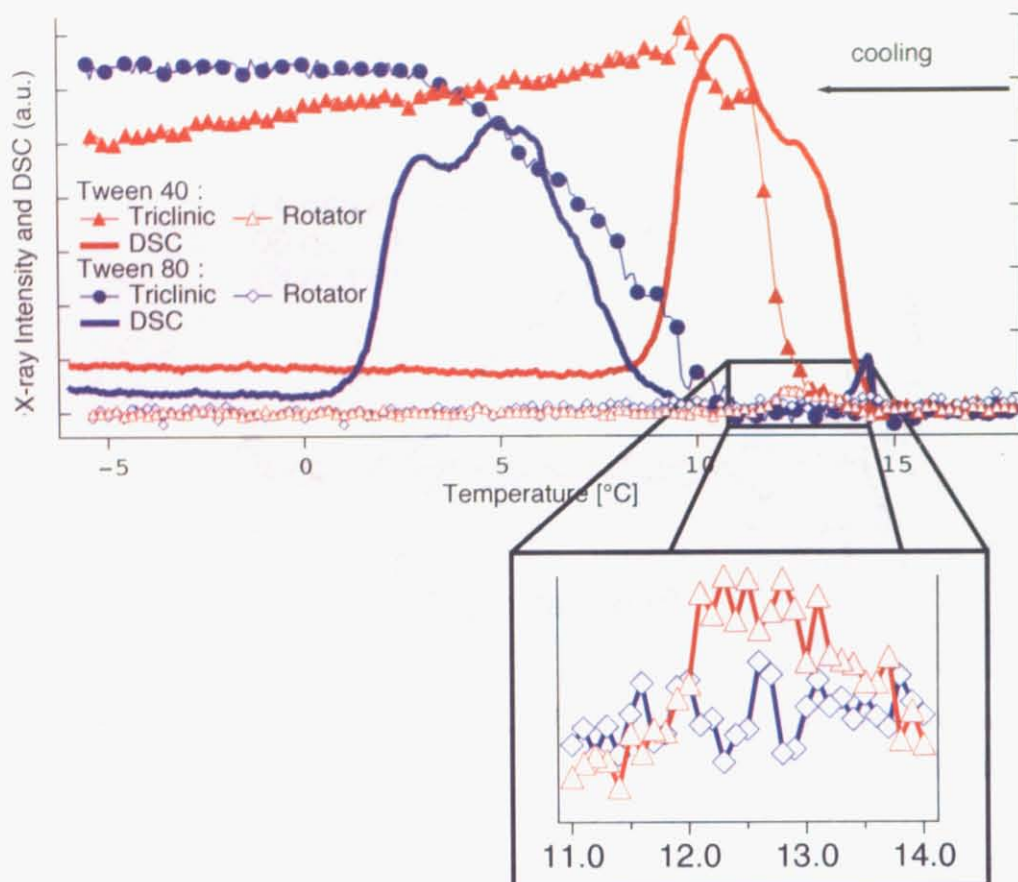


図 5.8: Tween 40 使用下と Tween 80 使用下の結晶化過程の違い。右下の図は、回転相の散乱強度について拡大した図である。

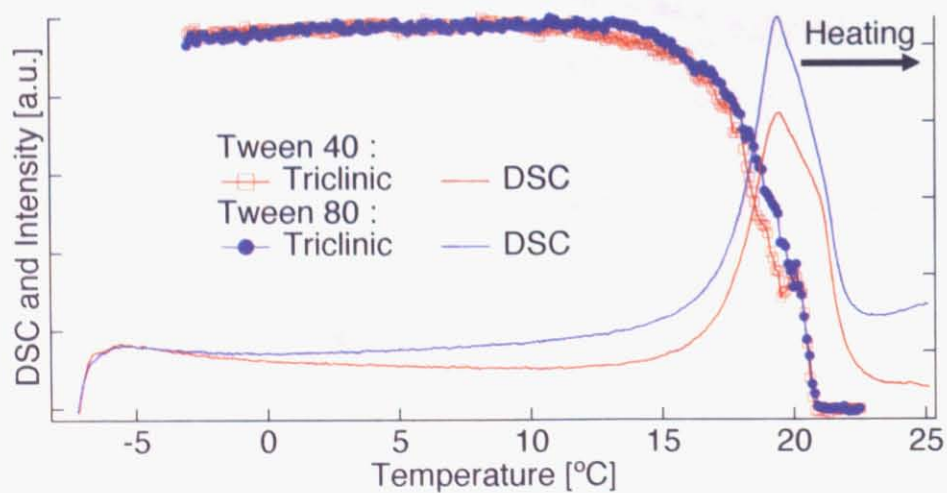


図 5.9: 融解過程における SAXS-DSC 同時測定実験の結果。融解実験では、回転相が出なかったため回転相の強度はプロットしていない。

図 5.9 からは、Tween 40 と Tween 80 において融解過程に大きな違いはないことがわかる。DSC の強度差は、サンプルセル内部に注入できたエマルシヨンの量の違いであると思われる。

### 5.1.3 等温結晶化実験の結果

図 5.10 と図 5.11 は、界面活性剤 Tween 40 について、等温結晶化過程と冷却結晶化過程での X 線散乱強度の変化を時間に対して表した物である。図の縦軸は三斜晶、回転相からの X 線強度であり、図の横軸は、試料が 14 °C に至った時点からの経過時間を表す。X 線強度の変化をみやすくするために、各データについて、それぞれの強度最大のデータで割ることで規格化している。Cooling は、通常の結晶化実験で得られたデータを比較のためにプロットしたものである。参考として、図 5.12 にそれぞれの実験での温度履歴を表す。

図 5.10 において回転相の強度をみると、13 °C および 12.5 °C の設定において回転相の生存する時間は 100 sec 程である。これを図 5.11 と比較してみると、等温結晶化と冷却結晶化で回転相の生存時間にさほど違いはないことがわかる。

### 5.1.4 エマルションサイズの変更

図 5.13 は、Tween 40 使用下のエマルシヨンの結晶化過程について、エマルシヨンの直径が 30  $\mu\text{m}$  のものと 0.8  $\mu\text{m}$  のものを比較した図である。図において、直径 0.8  $\mu\text{m}$  のエマルションにおいては回転相がみられなかったため、0.8  $\mu\text{m}$  の回転相の散乱強度はグラフから省いた。

図より、直径 30  $\mu\text{m}$  のエマルションが 13 °C 付近で結晶化を始めているのに対し、直径 0.8  $\mu\text{m}$  のエマルションは 5 °C 付近で結晶化を始めているのがわかる。

## 5.2 マイクロビーム X 線散乱実験の結果

### 5.2.1 走査型 SAXS

空間的な走査実験の結果を表すには、散乱像の二次元マッピングが最も有効である。しかしながら、散乱像そのままではわかりにくい。そこで、マッピングの前に散乱像の特徴が把握しやすくなるように画像変換を行った。図 5.14 は、画像変換の例を示している。左図における散乱スポットが、右図において線へと変換されている。散乱の方向は線の方角で、散乱の強度は線の長さで表される。

#### 走査型 SAXS の実験結果 : Tween 80

図 5.15 に示したのは、Tween 80 における画像処理後の散乱像について、二次元に配置した物である。その上に、エマルシヨンの光学顕微鏡写真をのせることで、エマルション界面の位置について示している。



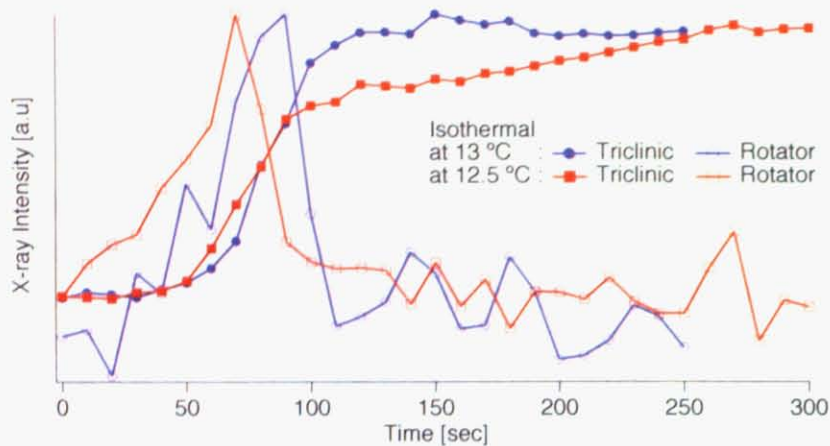


図 5.10: 等温結晶化実験の結果を表したグラフ。縦軸がX線散乱の強度、横軸が試料が 14 °C に至った時点からの経過時間である。

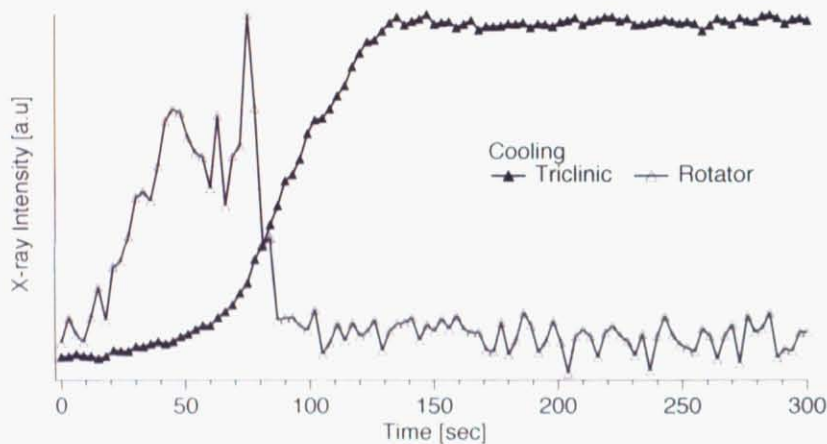


図 5.11: 冷却における結晶化実験の結果を表したグラフ。縦軸がX線散乱の強度、横軸が試料が 14 °C に至った時点からの経過時間である。

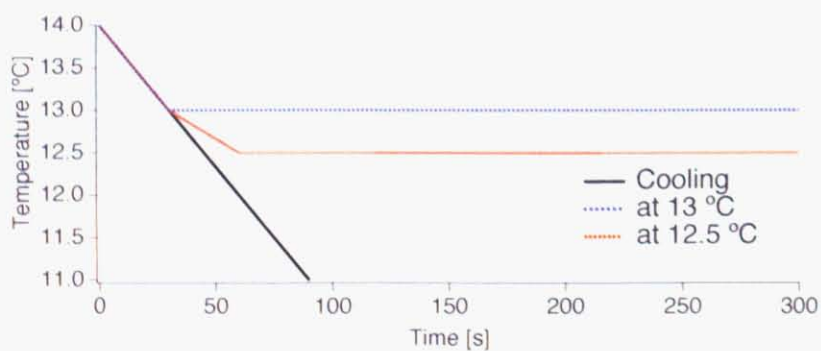


図 5.12: 等温実験、および冷却実験における温度履歴。

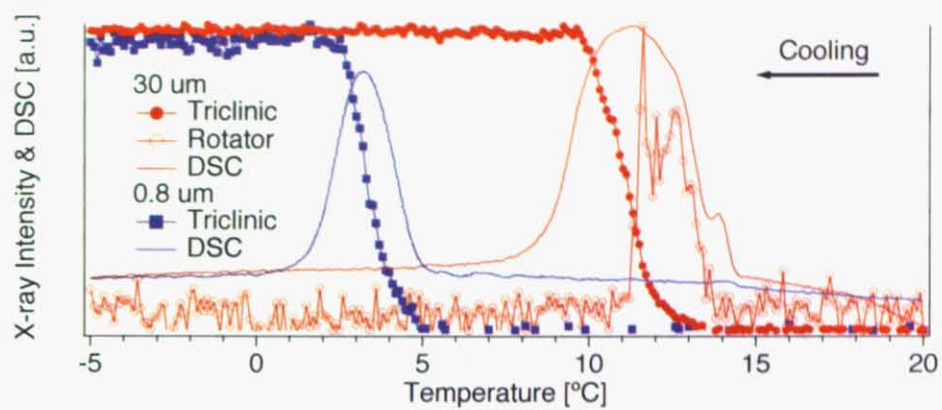


図 5.13: Twee 40 使用下のエマルジョンの結晶化過程の SAXS-DSC 同時測定実験の結果。エマルジョンの直径が、 $30\text{ }\mu\text{m}$  のものと  $0.8\text{ }\mu\text{m}$  のものを比較している。

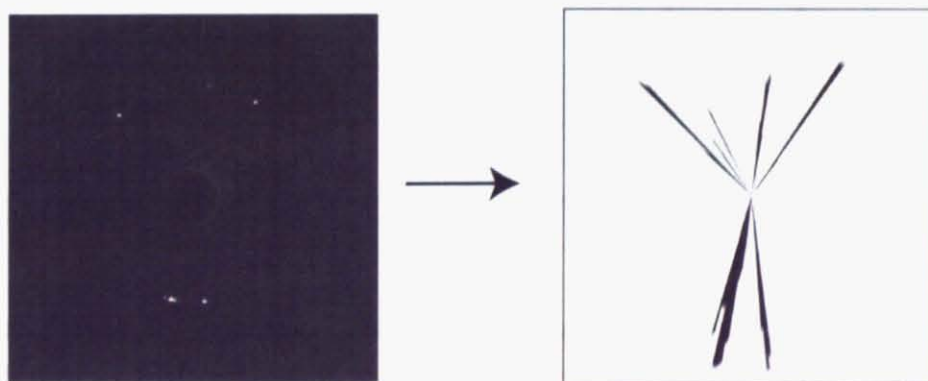


図 5.14: 走査型 SAXS 実験の結果の解析：画像変換の例  
左図：元の散乱像 右図：画像変換後の散乱像。

図 5.15 より、比較的、エマルション中心部において散乱の出ている方角が多いことがわかる。

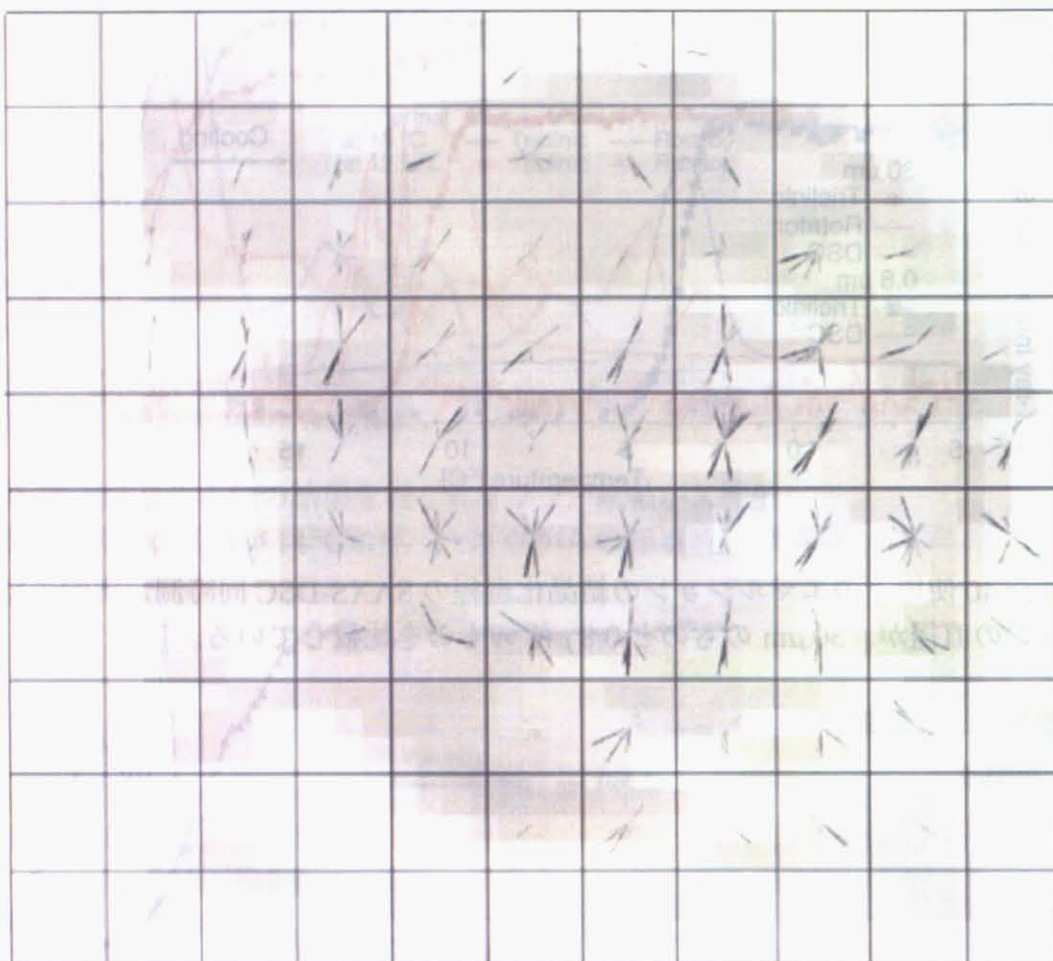


図 5.15: Tween 80 の使用下での走査型 SAXS 実験の結果の二次元マッピング (a)。

#### 走査型 SAXS の実験結果 : Tween 40

図 5.17 は、Tween 40 使用の油滴についての、走査型 SAXS の実験結果である。Tween 80 における結果と比較すると以下の点で違いが見受けられる。

1. 散乱の出ている方向が Tween 80 に比較して少ない。場所によって散乱が不均一であるために比較は難しいが、全般的に、出ている散乱の数が図 5.15 より少ない。
2. エマルションの中心部よりも、エマルションの周辺部において散乱が多いことである。これは、Tween 80 使用の油滴とは逆の結果となっている。
3. 以前の実験より、周辺部における散乱が界面と垂直な方向に出る傾向があることは分かっていた。その傾向が Tween 40 の方が Tween 80 よりも大きい。

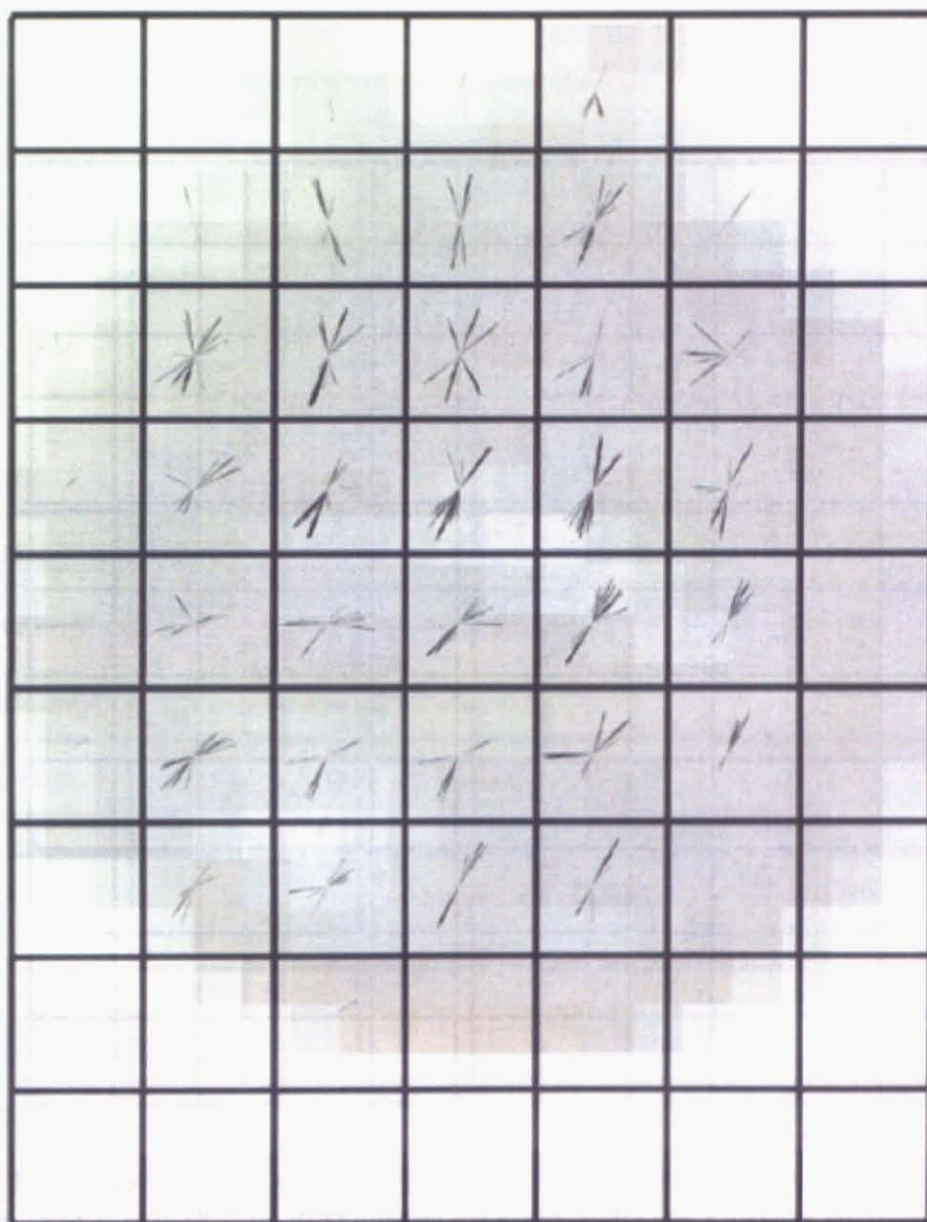


図 5.16: Tween 80 の使用下での走査型 SAXS 実験の結果 の二次元マッピング (b)。



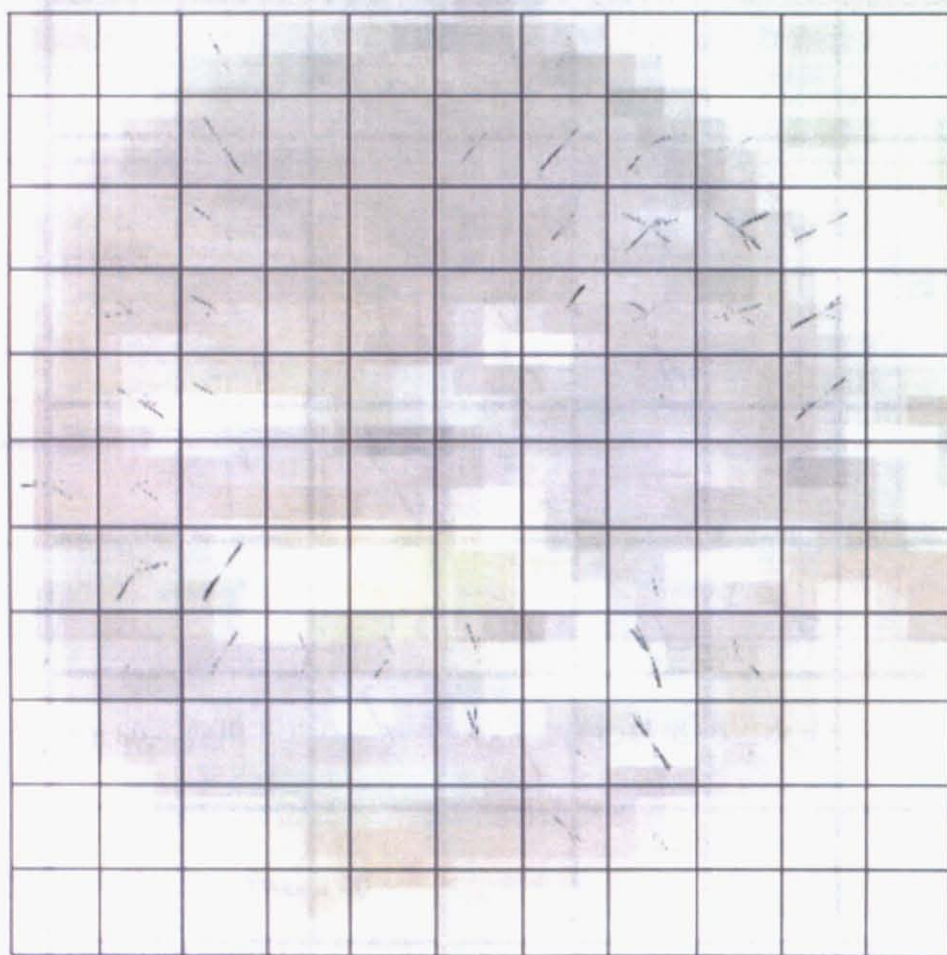


図 5.17: Tween 40 の使用下での走査型 SAXS 実験の結果 の二次元マッピング (a)。



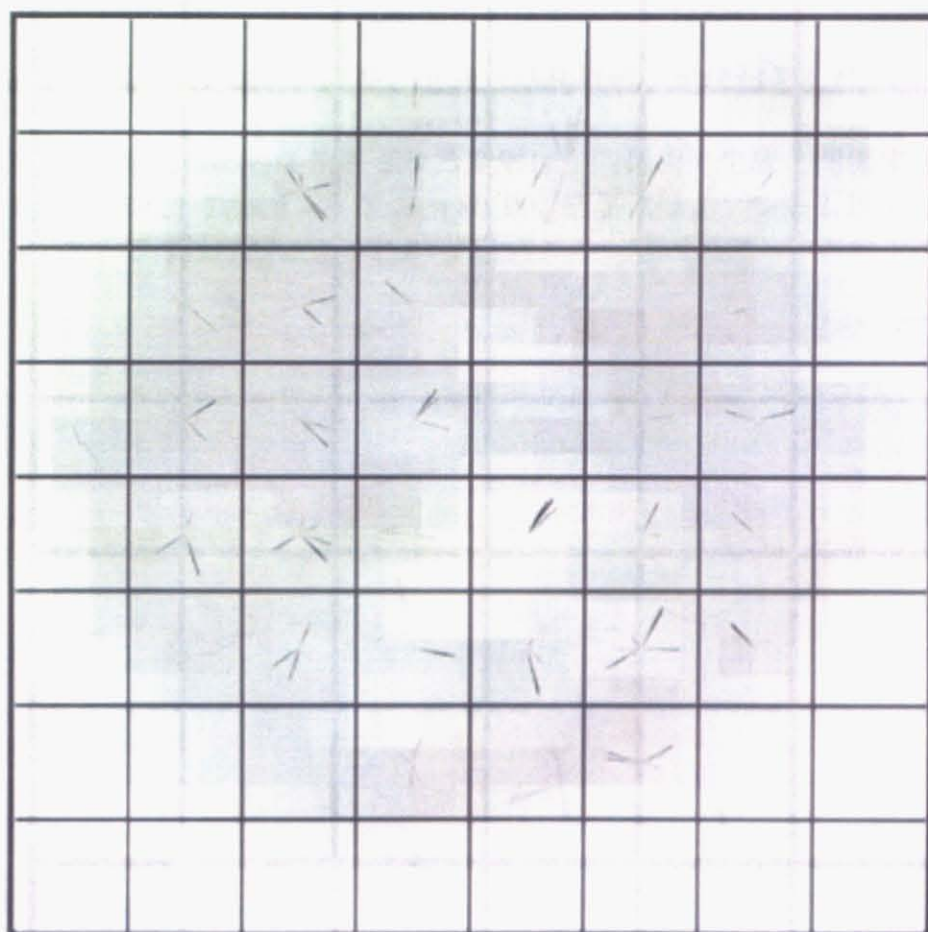


図 5.18: Tween 40 の使用下での走査型 SAXS 実験の結果 の二次元マッピング (b)。

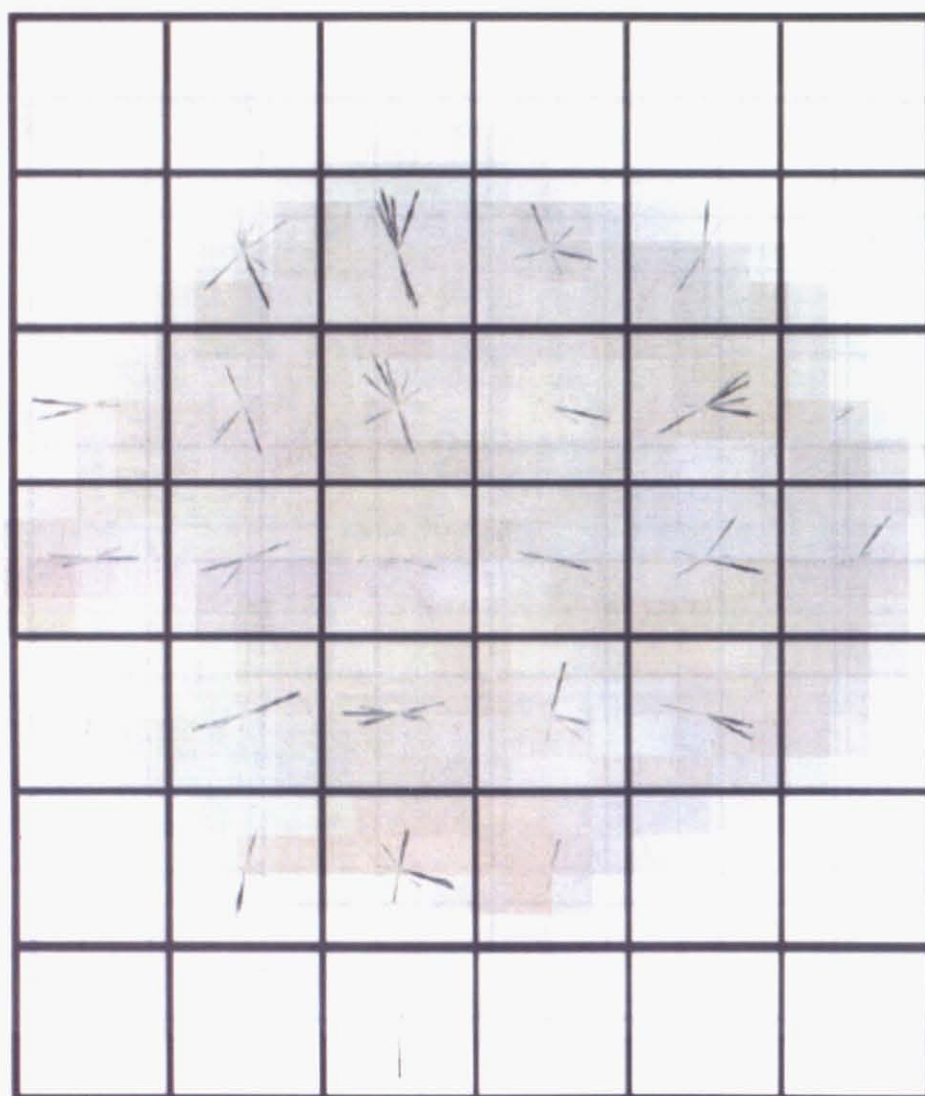


図 5.19: Tween 40 の使用下での走査型 SAXS 実験の結果 の二次元マッピング (c)。

### 5.2.2 光学顕微鏡による観察

この実験は結晶化過程および融解過程において行った。しかしながら、融解過程については Tween 40 使用の油滴と Tween 80 使用の油滴の間にほとんど違いはみられなかった。図 5.20 は、9 °C/min の冷却によって結晶化させた際の油滴の変化である。各エマルションについて、結晶化が未だ始まっていない時点を開始時として約 10 sec 毎の画像を並べている。なお、各エマルションにおける開始時の温度は異なる。

図 5.20 より、結晶化過程について二つの特徴が観察された。

1. Tween 40 使用の油滴においては、多数のエマルションが比較的、一斉に結晶化するのに対し、Tween 80 においては結晶化がばらばらに行われる。
2. Tween 40 使用のもとでは、多数の油滴は結晶化前に形状が歪んだ。

Tween 40 使用の油滴において観察される変形は、回転相の生成と関係するのではないかと考えられる。また、Tween 40、Tween 80 共に結晶化は 1 フレーム以下の時間、すなわち 0.033 sec 以下で行われることがわかった。

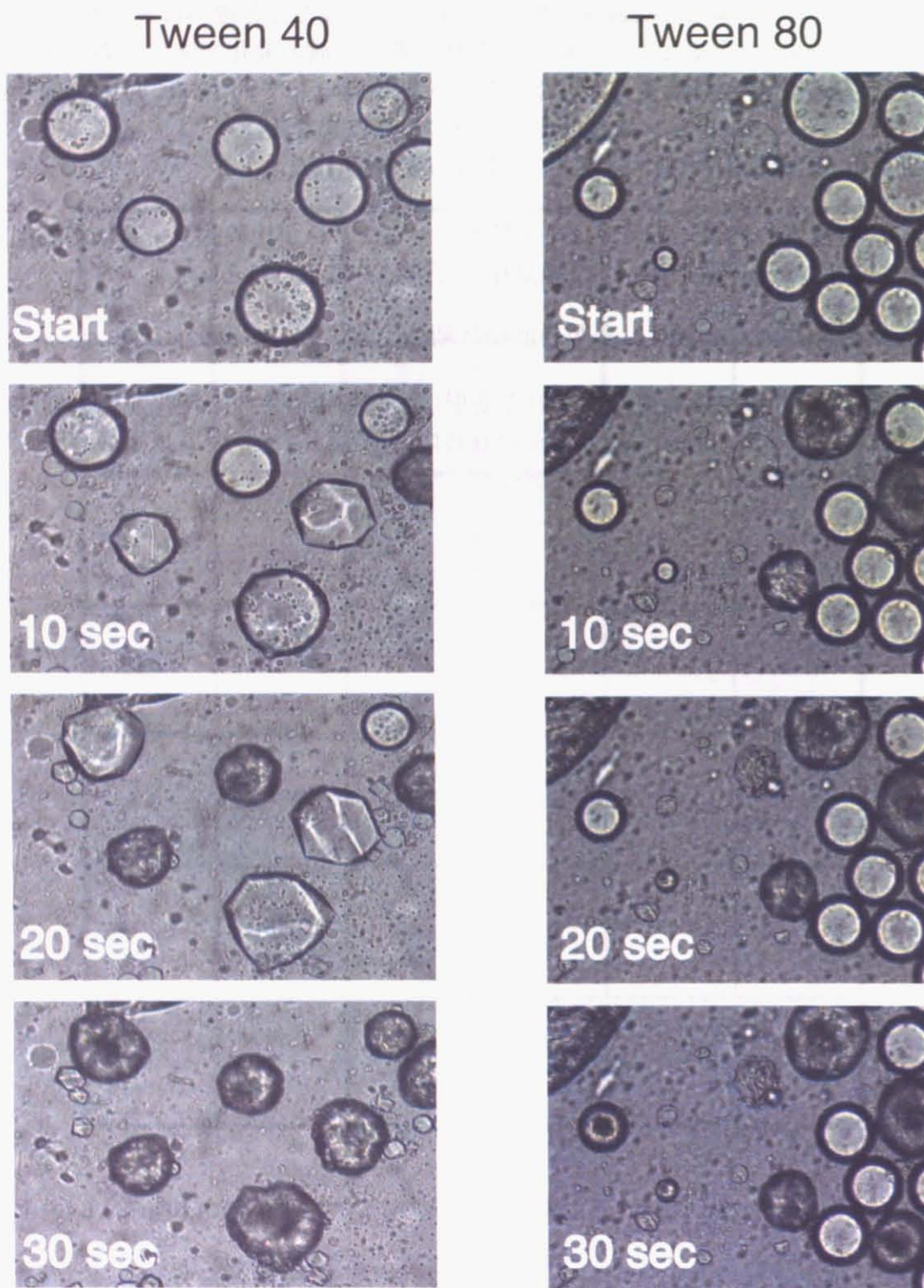


図 5.20: 光学顕微鏡による結晶化過程の観察、油滴の結晶化前からの 10 sec 毎の変化を観察した。

## 第6章 考察

### 6.1 考察

#### 6.1.1 結晶化挙動の比較

表 6.1: 各界面活性剤使用下における結晶化挙動の比較、時分割 SAXS の結果。

名称	疎水基	回転相からの散乱強度	三斜晶の結晶化温度
Tween 20	12 (飽和)	弱い	中
Tween 40	16 (飽和)	特に強い	高い
Tween 60	18 (飽和)	強い	高い
Tween 80	18 (不飽和)	表れず	低い

表 6.1 に同時測定から得られた回転相、三斜晶のデータについてまとめる。今回の実験の結果において、Tween 40 の使用下において回転相からの散乱の強度が最も強かったという事実は、疎水基の形状が C16 に近いほど回転相の強度が大きくなるという考えを裏付けている。その理由について以下で考察する。Shinohara 等の研究より、界面付近において C16 は界面と垂直に配列することがわかっている。この現象は表面結晶化現象と似ている。すなわち、疎水基の形状が相似であることによって油水界面での表面結晶化現象が促進されるのでありと考えられる。この効果は Tween 40、Tween 60、Tween 20 の順で形状が C16 から離れるとともに弱まり、それに対応して回転相の強度が弱まる。ここで、回転相が全く観察されなかった Tween 80 は、炭素数は Tween 60 と同じだが二重結合をもっている。二重結合が存在するという形状、あるいは二重結合を持つことによる疎水基の運動性の変化が、回転相の形成を阻害したのでありと考えられる。

上記のことから、Tween 40 は回転相の形成における結晶化の誘型としての作用をもつと思われる。以前の研究および実験結果より、回転相の強度が強い界面活性剤ほど結晶化温度が高いこと、図 5.8 より回転相の強度の消滅とともに三斜晶の強度が急増していることがわかっている。これらの結果より、回転相は結晶化において以下のような役割を果たすと思われる。まず界面活性剤の誘型としての作用により、回転相が生成する。成長した回転相は三斜晶へと転移し、それによって三斜晶結晶を核として結晶化が急激に進む。一方、Tween 80 のように回転相が存在しにくい界面活性剤では、結晶化は主に液体から三斜晶に直接転移するか、あるいは回転相が存在したとしても非常に短い時間に限られる。ことで行われる。この場合、三斜晶の結晶化を助ける準安定相はほとんどない。そのため、三斜晶は形成しにくく、結晶化はゆっくり進むと思われる。



光学顕微鏡による観察実験において、Tween 40 で多数の油滴が同温度域で一斉に結晶化し、Tween 80 で油滴は一つ一つ結晶化していくことが分かった。この実験結果は上記の Tween 40 と Tween 80 における結晶化過程の違いを裏付けている。また、Tween 40 の油滴において油滴の変形が観察されている。変形過程を観察してみると、油水界面上にできた結晶が、曲面であった界面を平面へと変形させ、油滴の形状を歪ませていくのがわかる。歪んだ油滴は、ある時点で透明から不透明に一瞬で (0.033 s 以下) で変わり、それと同時に油滴は球形となる。この過程において、結晶化は二段階に行われている。X線散乱測定の結果から、一つ目の段階で行われるのが回転相の形成、二つ目の段階で行われるのが三斜晶の結晶化ではないかと思われる。Tween 40 で回転相が大きく成長することは、結晶化過程の観察より明らかになっており、光学顕微鏡の観察結果からは次のような過程が考えられる。まず、Tween 40 を鋳型に回転相は成長する。このとき、回転相は結晶構造から平面状に成長するのを好む。複数の場所で、回転相は成長し、互いにぶつかり合っても尚大きく広がろうとする。ゆえに、球面であった油水界面は回転相の拡大にあわせて形を変え、油滴は多角形へと歪む。これらの回転相でできた平面は、三斜晶の結晶化とともに破壊され、三斜晶へと構成し直される。結果、結晶化終了後の油滴は球形となる。油滴の曲率と回転相については、添加剤 DAS-750 を使用下の実験及びエマルジョンサイズを変更しての実験とも関連するため、後述する。

### 6.1.2 走査型 SAXS の実験結果の考察

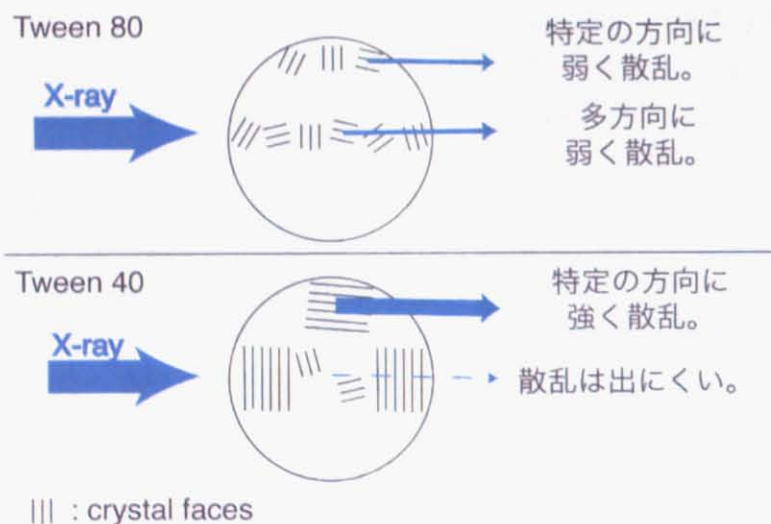


図 6.1: 走査型 SAXS の解釈。並行線で表されているのは、C16 の長軸方向の結晶面である。青色の矢印は X 線を表し、強度が太さに対応している。

散乱は入射 X 線と結晶面が Bragg 条件を満たすときに起こる。ここで結晶面と呼ぶのは C16 のラメラ構造の長周期がなす面である。Bragg 条件によると、入射 X 線と結晶面のなす角が約  $2^\circ$  であるとき、結晶からの散乱は強め合い、散乱スポットとして検出される。したがって、走査型 SAXS で観察されるのは、エマルジョン内部に存在する結晶のうち、結晶面が入射 X 線と  $2^\circ$  をなすものである。この事実を元に、図 6.1 を用いて Tween 80、Tween 40 のマイクロビーム X 線の結果を説明する。

界面活性剤が Tween 80 である実験結果においては、散乱は全般的に多方向にでており、また周囲部分の散乱よりも中心部分の方が散乱の方向が多い。これは、ランダムな方向に結晶面をもつ多数の結晶が存在することを意味している。結晶面の方向がランダムである場合、散乱スポットの数は X 線照射体積内の結晶数に比例する。この場合、スポットの数を主に決定するのは X 線照射部分のエマルションの厚みである。そのため、油滴中心部分では散乱の方向は多く、周辺部では散乱は少なくなる。

一方、界面活性剤が Tween 40 である場合には、中心部よりも周辺部において散乱が多く、比較的、散乱は界面に垂直に出ている。これは、Tween 40 を使用した油滴のもとでは界面に平行な結晶面ができやすいと考えると説明できる。このとき、Bragg 条件より油滴界面が入射 X 線に対して平行に近い部分から散乱が出る。そして、油滴周辺部は結晶面が入射 X 線に対して平行になりやすい。ゆえに、散乱を出しやすく、また出る散乱スポットは界面に対し垂直な方向をとりやすい。それに対して、中心部では、入射 X 線に対して垂直な方向に結晶ができやすい。この結晶面は Bragg 条件を満たしにくいので、散乱はでにくい。

以上の考察における Tween 40 使用の油滴と Tween 80 使用のものの違いは界面活性剤の持つ鑄型効果によって説明できる。すなわち、Tween 40 使用下では界面活性剤が前駆体となるために、結晶面が界面に平行に成長し、Tween 80 使用下では前駆体が存在しないために、ランダムな結晶面を持つ結晶が成長する。

また、Tween 40 の実験結果と Tween 80 の実験結果において、比較は難しいものの全体的に散乱スポットの数は Tween 40 < Tween 80 である。ここで、全体の散乱スポットの数は結晶の数に対応する。油滴のサイズ自体は変わらないために、単一油滴内の結晶の数は Tween 40 < Tween 80 であると考えられる。この結果は回転相の存在によると思われる。結果について考える際に、光学顕微鏡による実験結果である、Tween 40 において油滴が多角形になったことは、興味深い。これは回転相の平面によるのではないかと前述した。この回転相の平面は冷却とともに三斜晶へ転移する。生成した三斜晶の平面は、三斜晶の大きな結晶核となる。この結晶核は、ランダムに生じる結晶核に比較し、サイズが大きいいため油滴の結晶化において主要な結晶核となるが、数は少ない。したがって、ランダムに生じるものが主要な結晶核となる Tween 80 におけるよりも、Tween 40 では結晶の数が少ない。

### 6.1.3 回転相の安定性

結晶化実験、及びマイクロビーム実験の結果は、Tween 40 使用下では、他の界面活性剤に比べて回転相がエネルギー的に安定化することを示している。その安定化の程度を調べるために融解実験と等温結晶化実験を行った。

融解実験の結果、融解過程では回転相は表れなかった。この結果は、Tween 40 使用下でも回転相は Stable にはならないことを示している。融解実験は、Shinohara 等によって、添加剤 DAS-750 使用下のエマルションについても行われており、その結果は、同様に Stable ではないというものであった。

本研究における等温実験の結果では、Tween 40 の使用下において回転相の生存時間は等温過程でも冷却過程でもほとんど変わらなかった。この結果からは、Tween 40 においても、回転相は Transient であるといえる。一方で、以前行われた添加剤使用下の等温結

晶化実験では、今回の実験結果とは異なり、回転相は長時間生存した。よって、添加剤使用時には、回転相は metastable であるといえる。界面活性剤、添加剤による C16 への影響は前述のように C16 を並行に並べることである。また添加剤の場合には、分子が大きいために存在している部分で油水界面の曲率を大きくする作用ももつと思われる。これらの作用により、界面活性剤及び添加剤は回転相が形成するときの鑄型として働く。ここで注意すべきこととして、これらの物質が鑄型となるのは分子軸がラメラの周期に垂直な回転相においてであり、分子軸が傾いている結晶である三斜晶においては鑄型としては働かないか、働いたとしても比較的弱いと思われる。

#### 6.1.4 界面の曲率の影響

エマルションの結晶化過程において、油滴のサイズもまた重要な要素である。ゆえに、エマルションの直径を変えた実験を行った。その結果、Tween 40 使用の油滴において、直径 30  $\mu\text{m}$  のエマルションは 13.5  $^{\circ}\text{C}$  で回転相が表れ、直径 0.8  $\mu\text{m}$  のエマルションでは結晶化が起こらなかった。これらの結果について、Shonohra 等が添加剤 DAS-750 を用いて行った実験と比較すると興味深いことがわかる。表 6.2 は、回転相の結晶化温度をまとめたものである。

表 6.2: エマルションの条件とそのときの回転相の結晶化温度

	30 $\mu\text{m}$	10 $\mu\text{m}$	0.8 $\mu\text{m}$
Tween 20 使用下	13.2 $^{\circ}\text{C}$	13.1 $^{\circ}\text{C}$	none
Tween 20 使用下 With DAS-750	13.6 $^{\circ}\text{C}$	13.4 $^{\circ}\text{C}$	6.5 $^{\circ}\text{C}$
Tween 40 使用下	13.5 $^{\circ}\text{C}$		none

表において、Tween 20 使用下で DAS-750 を加えたエマルションと、Tween 40 使用下で DAS-750 を加えないエマルションの回転相の結晶化温度はほぼ同じであることがわかる。これらは、界面活性剤を Tween 20 から Tween 40 に変えることと、DAS-750 を使用することが同程度の回転相の安定化をもたらすと考えられる。しかしながら、エマルションの直径を 0.8  $\mu\text{m}$  にした場合、DAS-750 と Tween 40 使用の間に大きな違いが起きている。添加剤使用時には、低温でありながらも回転相は観察されるが、界面活性剤 Tween 40 では、回転相は観察されない。

この実験結果は、油滴の曲率が回転相に与える影響について考えることで解釈できる。分子の配列から回転相は平面上に構成されると考えられ、光学顕微鏡実験の結果はそれを裏付けている。このとき、界面を球状に保とうとする力と回転相の結晶化の駆動力との間で競合が起こる。ここで、表面張力を  $\gamma$ 、表面積を  $A$ 、界面の曲率を  $\frac{1}{R}$ 、結晶化の駆動力を  $G$  とおくと、回転相が成長する条件は、 $G > \gamma \times \frac{1}{R} \times A$  である。式の右辺は界面を球状に保とうとする力を表すが、界面の曲率  $\frac{1}{R}$  が大きいほど、大きな値をとる。ゆえに、界面の曲率が大きいほど、回転相は形成されにくく、界面活性剤は鑄型としての働きを果たしにくい。以前の研究において、実際にエマルションサイズが小さくなるほど回転相の結晶化温度が低温になることが分かっている [5]。

このことを元に、上記の実験結果を解釈する。図6.2は考え得るモデルである。DAS-750は、炭素数18個のアルキル基が10個集まった形状をしており、その形状はエマルションサイズの影響を受けない。ゆえに、小さなエマルション内においても平面として存在し、そこから回転相は成長することが出来る。たいてい、界面活性剤でできた結晶の鑄型は添加剤による鑄型よりも油滴の曲率の影響を受けやすい。ゆえに、サイズを小さくすることで界面活性剤は急激に結晶化の鑄型としての能力を失うのではないかと考えられる。

図 6.2: モデル：Tween 40 及び DAS-750 に対するエマルションサイズの影響。

## 第7章 総括

本研究において、我々は界面活性剤の疎水基が油滴内部の結晶化挙動に与える影響を調べるために、時分割 SAXS-WAXS-DSC 同時測定およびマイクロビーム X 線を用いた走査型 SAXS を行った。

その結果、準安定相である回転相について、疎水基の形状が C16 が同じである場合に最も散乱強度が強くなることが分かった。以前の研究で、疎水基の形状が C16 に近いほど回転相の強度が強くなるという考察がなされており、本研究の結果によってそれが確認された。回転相の挙動について、以前の研究と同様に、形成された回転相が三斜晶の結晶化を誘起する現象が観察された。

また、走査型 SAXS によって、単一油滴内部の結晶構造を調べた結果、形状の同じ疎水基では C16 の長鎖が界面に垂直に配列した結晶が生成することがわかった。また、平均の結晶サイズも、形状の異なる疎水基の場合より大きかった。

最近の研究において界面活性剤が油水界面に表面結晶化現象を引き起こすという成果があるが、本研究の結果は、界面活性剤の疎水基と C16 の形状が一致させることで表面結晶化がさらに促進されることを意味している。油水界面に加えた添加剤が結晶化において回転相の形成を促進する鋳型となるという研究があるが、上記の結果は界面活性剤においても同様な鋳型としての働きがあることを示している。

添加剤による鋳型と界面活性剤による鋳型の違いは、油滴の曲率を大きくした際に強く表れた。曲率を大きくしたとき、添加剤使用下では回転相は形成されたが、界面活性剤のみの場合には疎水基の形状を一致させても回転相の散乱は表れなかった。この結果は、界面活性剤が添加剤よりも分子が小さいために、油水界面の曲率の増加による分子配列の歪みの影響を強く受け、鋳型として働けなくなったことによると思われる。

本研究の今後の展開について述べる。まず、添加剤と界面活性剤の鋳型としての働きの違いについてより詳細に研究することが考えられる。特に、より細かくエマルションサイズを変更して実験を行えば、界面の曲率が界面活性剤の鋳型としての働きに与える影響についてより詳細に知ることが出来る。また、別の方針として、界面活性剤疎水基ではなく親水基を変更して実験を行うことが考えられる。親水基の大きさを小さくすることは、疎水基の密度を増加させることにつながるため、鋳型としての働きに影響を与えられ



# 謝辞

本論文の研究は以下の多くの方々にお世話いただき、行うことができました。本論文の結びに感謝の意を示したいと思います。

雨宮慶幸教授は、研究に必要な場を与えてくださり、また研究の方針について助言をいただきました。また日頃、学生としての姿勢についてご指導頂きました。のみならず、私的な問題についても相談にのって頂きました。

広島大学院生物圏科学研究科 上野聡助教授には、研究を進めるうえで必要な試料を頂きました。

独立行政法食品総合研究所 中嶋光敏教授には、サンプル作成の場を与えて頂きました。

同 小林功博士には、試料作成について助力頂きました。

助手の上エ地義徳博士には、研究室での生活において様々な面で助けて頂きました。

博士2年の篠原佑也さんには、論文テーマの設定から、実験、結果の解析、論文の手直しに至る全ての面でご助力頂きました。私が、無事に論文を仕上げられたのは、彼の助力による物です。

修士2年の栗山徹さんには、同年代として大学生活において親しくして頂き、また解析についての助言を頂きました。

修士1年の神原一暁さんには、研究全般について助言をいただき、実験を手伝っていただきました。

修士1年の前島健人さんには、研究に限らない様々な話につきあって頂きました。

学部4年の小嶋秀徳くんには、実験を手伝って頂きました。また、その研究に対する熱意と姿勢には教えられることも多かったと思います。

学部4年の西川くんには、研究室での生活において親しくして頂きました。

本論文を書き上げる上で、ここに挙げた以外の多くの方々にもお世話になりました。

みなさまのおかげで本論文を書くことが出来たことを感謝し本論文の結びにしたいと思います。

## 参考文献

- [1] D. Turnbull and R. L. Cormia, "Kinetics of crystal nucleation in some normal alkane liquids," *J. Chem. Phys.*, vol. 34, pp. 820-831, 1961.
- [2] A. B. Herhold, D. Ertas, A. J. Levine, and H. E. King Jr., "Impurity mediated nucleation in hexadecane-in-water emulsions," *Phys. Rev. E*, vol. 59, no. 6, pp. 6946-6955, 1999.
- [3] S. Ueno, Y. Hamada, and K. Sato, "Controlling polymorphic crystallization of n-alkane crystals in emulsion droplets through interfacial heterogeneous nucleation," *Cryst. Growth Design*, vol. 3, pp. 935-939, 2003.
- [4] 川崎直彦, 修士論文, 東京大学, 2003.
- [5] Y. Shinohara Master's thesis, The University of Tokyo, 2005.
- [6] 篠原佑也, 上野聡, 雨宮慶幸, "X線小角・広角散乱同時測定によるエマルション中でのアルカン結晶化過程の観察," *放射光*, vol. 19, pp.394-400, 2006.
- [7] Y. Shinohara, S. Ueno, N. Kawasaki, I. Kobayashi, M. Nakajima, and Y. Amemiya, "Observation of the transient-rotator phase of n-hexadecane in emulsion droplets using two-dimensional small-and wide-angle x-ray scattering," *Phys Rev. Lett.*, vol. 94, 097801, 2005.
- [8] D. M. Small, "The Physical Chemistry of Lipids," Plenum, New York, 1986.
- [9] E. B. Sirota and A. B. Herhold, "Transient phase-induced nucleation," *Science*, vol. 283, pp. 529-532, 1999.
- [10] E. B. Sirota, H. E. King Jr., D. M. Singer, and H. H. Shao, "Rotator phases of the normal alkanes: An x-ray scattering study," *J. Chem. Phys.*, vol. 98, pp. 5809-5824, 1993.
- [11] E. B. Sirota and D. M. Singer, "Phase transitions among the rotator phases of the normal alkanes," *J. Chem. Phys.*, vol. 101, pp. 10873-10882, 1994.
- [12] J. C. Earnshaw and C. J. Hughes, "Surface-induced phase-transition in normal alkane fluids," *Phys. Rev. A*, vol. 46, pp. R4494-R4496, 1992.
- [13] X. Z. Wu, E. B. Sirota, S. K. Sinha, B. M. Ocko, and M. Deutsch, "Surface crystallization of liquid normal-alkanes," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 70, no. 7, pp. 958-951, 1993.
- [14] B. M. Ocko et al., "Surface freezing in chain molecules: Normal alkanes," *Phys. Rev. E*, vol. 55, no. 3, pp. 3164-3182, 1997.

- [15] E. B. Sirota and A. B. Herhold, "Transient rotator phase induced nucleation in n-alkane melts," *Polymer*, vol. 41, pp. 8781-8789, 2000.
- [16] E. B. Sirota, "Remarks concerning the relation between rotator phases of bulk n-alkanes and those of langmuir monolayers of alkyl-chain surfactants on water," *Langmuir*, vol. 13, pp. 3849-3859, 1997.
- [17] A. B. Herhold, H. E. King Jr., and E. B. Sirota, "A vanishing nucleation barrier for the n-alkane rotator-to-crystal transformation," *J. Chem. Phys.*, vol. 116, no. 20, pp. 9036-9050, 2002.
- [18] 佐藤清隆, 小林雅道, "脂質の構造とダイナミックス", 共立出版株式会社, 1992.
- [19] A. Keller and Z. D. Cheng, "The role of metastability in polymer phase transitions, " *Polymer*, vol. 39, pp. 4461-4487, 1998.
- [20] R. Montenegro and K. Landfester, "Metastable and stable morphologies during crystallization of alkanes in miniemulsion droplets," *Langmuir*, vol. 19, pp. 5996-6003, 2003.
- [21] W. Lei and C. D. Bain, "Surfactant-induced surface freezing at the alkane-water interface," *Phys Rev. Lett.*, vol. 92, no. 17, pp. 176103, 2004.
- [22] E. B. Sirota, "Supercooling, nucleation, rotator phases, and surface crystallization of n-alkane melts," *Langmuir*, vol. 14, pp. 3133-3136, 1998.
- [23] H. Kraack, E. B. Sirota, and M. Deutsch, "Measurements of homogeneous nucleation in normal-alkanes," *J. Chem. Phys.*, vol. 112, no. 15, pp. 6873-6885, 2000.
- [24] E. Dickinson, D. J. McClements, and M. J. W. Povey, "Ultrasonic investigation of the particle size dependence of crystallization in n-hexadecane-in-water emulsions," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 142, no. 1, pp. 103-110, 1991.
- [25] S. Hindle, M. J. W. Povey, and K. Smith, "Kinetics of crystallization in n-hexadecane and cocoa butter oil-in-water emulsions accounting for droplet collision-mediated nucleation, " *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 232, pp. 373-380, 2000.
- [26] N. Kaneko et al., "Impurity effects on crystallization rates of n-hexadecane in oil-in-water emulsions," *J. Cryst. Growth*, vol. 197, pp. 263-270, 1999.
- [27] T. Awad, Y. Hamada, K. Sato, "Effects of addition of diacylglycerols on fat crystallization in oil-in-water emulsion" *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* vol 103, pp. 753-741, 2001
- [28] T. Sonoda, Y. Takata, S. Ueno, and K. Sato, "Effects of Emulsifiers on Crystallization Behavior of Lipid Crystals in Nanometer-Size Oil-in-Water Emulsion Droplets," *Cryst. Growth Design* vol. 6, no. 1, pp. 306-312, 2006.
- [29] K. Sato, "Solidification and phase transformation behaviour of food fats - a review," *Fett/Lipid*, vol. 101, pp. 467-474, 1999.

- [30] M. Sakamoto, A. Ohba, S. Ueno, D. Sato, "Influences of fatty acid moiety and esterification of polyglycerol fatty acid esters on the crystallization of palm mid fraction in oil-in-water emulsion," *Colloids and Surfaces B*, vol 37, pp. 27-33, 2004.
- [31] 菊田惺志, "X線回折・散乱技術(上)", 東京大学出版会, 1992.
- [32] 伊藤和輝, 雨宮慶幸, 放射光, vol 13, pp. 372 — 381, 2000.
- [33] Y. Amemiya *et al.*, "Large-aperture tv detector with a beryllium-windowed image intensifier for x-ray diffraction," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 66, pp. 2290-2294, 1995.
- [34] S. Sugiura, M. Nakajima, and M. Seki, "Prediction of droplet diameter for microchannel emulsification," *Langmuir*, vol. 18, pp. 3854-3859, 2002.